

京都大学	博士 (医 学)	氏 名	佐 藤 雄 一
論文題目	<p>Palmitate induces reactive oxygen species production and β-cell dysfunction by activating nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase through Src signaling (パルミチン酸はSrc シグナルを介して NADPH オキシダーゼを活性化し活性酸素種産生と β細胞機能障害をもたらす)</p>		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>目的・背景：慢性的な高脂肪酸血症は膵 β 細胞の機能を障害し、脂肪毒性と呼ばれている。一方、糖尿病モデルラット膵島でのグルコースによるインスリン分泌の障害において、非受容体型チロシンキナーゼである Src の活性化による活性酸素種 (ROS) の過剰産生が重要な役割を果たすことが報告されている。本研究では、飽和脂肪酸であるパルミチン酸曝露による β 細胞機能障害における Src シグナルを介する ROS 産生の役割を解明することを目的とした。近年、高脂肪酸血症の肥満糖尿病げっ歯類の膵島でミトコンドリアを介さない ROS 産生経路として知られる NADPH oxidase (NOX) 発現が亢進していること、種々の細胞において NOX の活性化において Src の関与が報告されていることから、NOX の役割にも注目し研究をすすめた。</p> <p>方法：ラットインスリノーマ細胞株である INS-1D 細胞に対して 0.6 mM のパルミチン酸で 24 時間の曝露をおこなった。その後、Src 阻害薬である PP2 (10 μM) の 30 分または 60 分間の存在下もしくは非存在下にグルコースによるインスリン分泌、ROS 産生、NOX 活性を評価した。高脂肪酸血症を伴う肥満糖尿病マウスである KK-Ay マウスの膵島をコラゲナーゼ法により単離し実験に供した。</p> <p>結果：パルミチン酸曝露によって、濃度依存性にグルコースによるインスリン分泌は低下し ROS 産生は増加した。パルミチン酸曝露によるグルコースによるインスリン分泌の低下と ROS 産生の増加は PP2 により Src を阻害すると回復した。パルミチン酸曝露により活性型 Src の増加、NOX 活性の増加、NOX2 の mRNA と蛋白レベルの増加がきたされた。しかしながら PP2 により NOX2 蛋白量は抑制されなかった。一方、パルミチン酸曝露により増加した NOX2 の制御蛋白である p47^{phox} の膜分画における蛋白量は PP2 により減少し、パルミチン酸曝露により減少した p47^{phox} の細胞質分画における蛋白量は PP2 により増加した。したがって、パルミチン酸曝露は Src シグナルを介して p47^{phox} の細胞膜への転位を増加させ、NOX 活性を増加させることが判明した。p47^{phox} 選択的 siRNA により膜分画の p47^{phox} 蛋白量を減少させると、パルミチン酸曝露によるグルコースによるインスリン分泌の低下と ROS 産生の増加はどちらも改善した。さらに KK-Ay マウスの膵島では対象 C57/BL6 マウスの膵島に比べて活性型 Src が増加していた。また KK-Ay マウスの膵島では PP2 によりグルコースによるインスリン分泌は増加し ROS 産生は低下した。</p> <p>結論：Src シグナルによる NOX の活性化は、パルミチン酸慢性曝露によるグルコースによるインスリン分泌の障害や ROS の過剰産生に重要な役割を果たしており、肥満マウスにおける脂肪毒性による β 細胞機能低下の機序を示唆するものであった。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

慢性的な高脂肪酸血症は膵 β 細胞の機能を障害し、脂肪毒性と呼ばれている。本研究ではパルミチン酸 (PA) 曝露による β 細胞機能障害における Src シグナルを介する活性酸素種 (ROS) 産生の役割を解明することを目的とした。PA 曝露によるグルコース刺激インスリン分泌 (GIIS) 低下と ROS 産生増加は PP2 により Src を阻害すると回復した。PA 曝露により活性型 Src の増加、ROS 産生源である NADPH オキシダーゼ (NOX) 2 発現の増加がきたされた。しかし PP2 により NOX2 蛋白量は抑制されなかった。一方、PA 曝露は Src シグナルを介して NOX2 の制御蛋白である p47^{phox} の細胞膜への転位を増加させ、NOX 活性を増加させることが判明した。p47^{phox} 選択的 siRNA により膜分画の p47^{phox} 蛋白量を減少させると、PA 曝露による GIIS 低下と ROS 産生増加はどちらも改善した。さらに高脂肪酸血症を伴う肥満糖尿病モデル KK-Ay マウス膵島では活性型 Src が増加しており、PP2 により GIIS は増加し ROS 産生は低下した。これらの結果は、Src シグナルによる NADPH オキシダーゼの活性化が、パルミチン酸慢性曝露によるグルコース刺激インスリン分泌障害や ROS 過剰産生に重要な役割を果たしていることを示しており、肥満マウスにおける脂肪毒性による β 細胞機能障害の機序を示唆するものであった。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 26 年 3 月 4 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日 以降