

京都大学	博士 (医学)	氏名	豊田 健太郎
論文題目	GLP-1 receptor signaling protects pancreatic beta cells in intraportal islet transplant by inhibiting apoptosis (GLP-1 受容体シグナルは、アポトーシスを抑制することによって、経門脈的に移植された膵島内のβ細胞を保護する)		
(論文内容の要旨)			
<p>【背景】Glucagon-like peptide-1(GLP-1)は、インスリン分泌促進作用以外にも様々な膵・膵外作用を有している。抗アポトーシス作用はその一つであり、主に<i>in vitro</i>で解析されてきたが、<i>in vivo</i>では、GLP-1により血糖値が低下するため、GLP-1の直接作用なのか糖毒性改善に伴う間接作用なのか評価が困難であった。</p> <p>【目的】GLP-1の膵β細胞保護効果の有無を<i>in vivo</i>で明らかにする。</p> <p>【方法】ドナー、レシピエントともにC57/BL6マウスを用い、ストレプトゾトシンによる糖尿病マウス(STZマウス)の肝右葉内へ膵島を移植した。半減期の短いGLP-1の代わりにGLP-1受容体作動薬のexendin-4を用いた。細胞保護効果を明確に示すため、EGFPを発現する膵島を用いて膵島数と膵島量を移植前後で比較できる系を確立した。はじめに、介入薬剤の効果を生着率改善に伴う血糖値の改善によって評価するために、膵島移植単独では高血糖が改善しない膵島数を探索し、移植膵島数を150個以下とした。そこで、STZマウスへ150個の膵島移植と同時に、体重1kgあたり1nmol/lのexendin-4もしくはvehicleとしてPBSを14日間腹腔内投与し血糖値の推移を観察した。さらに、移植後急性期の細胞保護効果と抗アポトーシス作用を評価する目的で、EGFPを発現する膵島50個を用いて同様の膵島移植を行い、移植1日後(Day1)、3日後(Day3)の膵島数、量、アポトーシス陽性β細胞の割合を比較検討した。</p> <p>【結果】150個を移植したSTZマウスのうち、vehicle(Ex(-))群では血糖値は低下しなかったが、exendin-4投与(Ex(+))群では移植数日後より血糖値が徐々に低下し14日以降に正常化した。移植30日後のOGTTでは、Ex(+群)の耐糖能はSTZ非投与群と同様であった。STZマウスに50個のEGFP発現膵島を移植したところ、Ex(+群)、Ex(-群)の高血糖状態は移植前後で同等のまま変化しなかったが、残存膵島数は、Day1、Day3ともにEx(+群)がEx(-群)より有意に多かった(Day1:46.7vs42.0(p &lt;0.05), Day3:44.6 vs 34.7(p &lt;0.01))。また、EGFP蛍光を指標にしたβ細胞の相対的面積(移植前との比較(%))は、Ex(+群)がEx(-群)より有意に大きかった(Day1: 69.5vs53.3(p &lt;0.01),Day3:64.5 vs 26.9(p&lt;0,05))。さらにアポトーシスの割合(TUNEL陽性β細胞数/総β細胞area(mm<sup>2</sup>))は、Ex(+群)の方がEx(-群)よりも有意に低かった(Day1:36.4 vs 246.5(p &lt;0.01), Day3: 41.3 vs 148.7(p &lt;0.01))。</p> <p>【結論】膵島移植モデルを用いた<i>in vivo</i>実験において、移植後急性期の同等の糖毒性下でexendin-4はβ細胞保護的に作用することによって、血糖改善に寄与することが示唆された。Ex(+群)では、移植後の急性期の移植膵島の数と量が保たれ、TUNEL陽性β細胞数も有意に少なかったことから、exendin-4の細胞保護作用は抗アポトーシス効果による可能性が示された。以上の結果は、GLP-1受容体シグナルを増強することによって、糖尿病の発症や進展を抑制できる可能性や、膵島移植の成績を向上できる可能性を示唆している。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

小腸のL細胞から分泌されるインクレチンであるGlucagon-like peptide-1(GLP-1)は、膵β細胞保護作用を有することが知られているが、GLP-1が有する血糖降下作用のため、*in vivo*において同等の糖毒性下における検討はこれまでになされていない。

申請者はSTZ誘導糖尿病マウスをドナーとする同系膵島移植モデルを用いてGLP-1の*in vivo*における膵β細胞保護作用について詳細に検討した。150個の膵島移植単独群では高血糖の改善は認められず、GLP-1受容体作動薬であるexendin-4投与群では血糖値ならびに耐糖能が正常化した。次に、EGFP発現膵島を用いた50個の膵島移植により、同等の高血糖状態で、移植前ならびに移植1日後、3日後における膵島の数・量の測定とTUNEL染色を行った。exendin-4投与群では非投与群に比べて、移植1日後、3日後のいずれにおいても膵島数・量の減少ならびにアポトーシスが有意に抑制されていた。以上の結果より、GLP-1が*in vivo*において細胞保護作用を有すること、その機序としてGLP-1が抗アポトーシス作用を有することが明らかとなり、GLP-1受容体作動薬が糖尿病の発症予防・進展抑制や膵島移植の成績向上に有用である可能性が示唆された。

以上の研究は、臨床におけるGLP-1の有用性の解明に貢献し、糖尿病学の発展に寄与するところが多い。

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みとめる。

なお、本学位授与申請者は、平成20年4月21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