

氏名 西村まさ仁
 学位(専攻分野) 博士(医学)
 学位記番号 論医博第1688号
 学位授与の日付 平成11年5月24日
 学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当
 学位論文題目 Necessity of endogenous GTP derived from glucose-6-phosphate for insulin secretion augmented by glucose under protein kinase A activation
 (プロテインキナーゼA活性化の下でのブドウ糖によるインスリン分泌増強におけるグルコース6リン酸由来のGTPの必要性について)

論文調査委員 (主査) 教授 中尾一和 教授 北徹 教授 清野裕

論文内容の要旨

健常人において血糖値は比較的狭い範囲に調節されていることから、膵β細胞は細胞外のわずかな血糖値の変化を速やかに感知して、インスリン分泌を調整する機構を備えている必要がある。この機構の一部は近年になり、β細胞内でのグルコース代謝に基づいて生成されるATPによりシグナリングされている事実が明らかとなってきた。今までのところグルコース代謝の主経路は解糖系であり、ペントースリン酸サイクルへの代謝はインスリン分泌のコントロールにはあまり重要ではないものと考えられてきた。そこで本研究では、グルコースによるATP感受性K⁺チャンネル(K-ATPチャンネル)閉鎖を必ずしも必要としないインスリン分泌促進機構において、glyceraldehyde 3-phosphate (GA 3-P)以降の解糖系の遠位部に加えて、近位部のglucose 6-phosphate (G 6-P)に由来する新たな代謝シグナルが存在することを明らかにするとともに、そのシグナルを同定する目的で以下の検討を加えた。

雄性Wistar系ラットより膵ラ氏島を単離し、インスリン分泌をbatch incubation法にて測定した。diazoxide (Dz)によりグルコースによるK-ATPチャンネルの閉鎖を阻止すると同時にdb-cAMP添加によりprotein kinase A (PKA)を活性化すると、インスリン分泌はグルコースの濃度依存性に促進された。さらにこの分泌増強はグルコースのG 6-Pへの変換を阻害するmannoheptulose (MH)で消失したことより分泌増強はG 6-P以降の糖代謝を介したシグナルに依存していると考えられた。続いてDz存在下での16.7 mMグルコース刺激によるインスリン分泌は、PKA活性化により有意に増強した。そこでこの効果を示す代謝シグナルが解糖系での最終産物であるATPであると仮定してグルコースの代わりに中間代謝産物を經由するGAまたはketoiso caproate (KIC)を用いて同様の検討を加えたが、分泌は増強を全く示さなかった。したがってPKA活性化の下では代謝シグナルの一つはGA 3-Pより近位部の解糖系から生じており、一方、GA 3-P以降の代謝機構だけでは分泌増強を生じない事実が明らかとなった。そこで次に近位部のどの部位からシグナルが出ているのかを検討した。Dz存在下でPKAを活性化した条件で16.7 mMグルコース刺激によって増強された分泌はglucose-phosphate isomeraseの阻害剤である2-deoxyglucose (2-DG)にてG 6-PからFructose 6-Pへの変換を阻害すると完全に抑制されたが、さらにこの条件下にGAを加えると有意な分泌増強を認めた。一方、この増強はMHで完全に抑制された。GAの代わりにKICを用いても同様の結果を得た。以上の結果よりG 6-P由来のシグナルがインスリン分泌増強に関与している事実が確認された。そこでG 6-P由来のシグナルを同定する目的で次の検討を加えた。Dz存在下でPKAを活性化した条件下で、2-DGとGAを加えると16.7 mMグルコースによる分泌増強が認められた。この分泌はde novo GTP synthesisの阻害剤であるmycophenolic acid (MPA)によって完全に抑制された。しかし、MPAと同時にguanosineを加えてGTPを供給すると、この抑制は解除された。以上より「グルコースのK-ATPチャンネル閉鎖を必ずしも必要としないインスリン分泌機構の中で、①PKA活性化により分泌を惹起する系では、分泌増強にGA 3-P以降の代謝シグナルのみならず、G 6-P由来のシグナルが必要であり、②そのシグナルはペントースリン酸経路を経て生じる内因性GTPである。」今回の結果は、

今まで一般的にはインスリン分泌のコントロールにはあまり重要ではないものと考えられてきたペントースリン酸系が分泌に果たす役割について解明していくうえで大きく寄与するものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

申請者はブドウ糖の K-ATP チャンネル閉鎖を必要としないインスリン分泌系で、G 6-P に由来する代謝シグナルの同定を試みた。膵ラ氏島を単離し、diazoxide (Dz) で K-ATP チャンネルの閉鎖を阻止し、db-cAMP で PKA を活性化した。Dz 存在下で PKA 活性化による分泌をブドウ糖は濃度依存性に増強したが、GA や KIC は増強しなかった。16.7 mM ブドウ糖と 2-DG 存在下では、PKA 活性化による分泌は GA または KIC で有意に増強された。次に DZ+PKA 活性化の下に 2-DG と GA を加えた状態でブドウ糖によって増強された分泌は内因性 GTP 阻害剤の MPA により完全に抑制され、これは guanosine で解除された。インスリン分泌は Nitrendipine にて抑制されたが、細胞内 Ca 動態には変化はなかった。したがって、ブドウ糖の K-ATP チャンネル閉鎖を介さない分泌系で、PKA 活性化による分泌増強には GA-3-P 以降の代謝シグナルのみならず G-6-P 由来の内因性 GTP が必須であることが明らかとなった。

以上の研究はインスリン分泌機構の解明に貢献し、糖尿病成因解明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認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 11 年 4 月 6 日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。