

京都大学	博士（医 学）	氏 名	下 田 平 眞 生 子
論文題目	Rapamycin impairs metabolism-secretion coupling in rat pancreatic islets by suppressing carbohydrate metabolism （rapamycin はラット膵島において炭水化物代謝を抑制することにより代謝分泌連関を抑制する）		
（論文内容の要旨）			
ラパマイシン(Rap)は免疫抑制薬として臓器移植や 1 型糖尿病における膵島移植において臨床的に使用されている。Rap の作用は serine/threonine kinase である mammalian target of rapamycin (mTOR)の抑制を介すると考えられており、Rap による臨床的な催糖尿病作用や動物実験における膵β細胞機能障害が報告されている。しかし、Rap の膵β細胞機能障害作用の機序については十分に解明されておらず、特に細胞内代謝の観点から検討を行なった。 コラゲナーゼ法により単離した雄性 Wistar ラットの膵島を、Rap 存在下または対照として非存在下に 24 時間培養しインスリン分泌を検討したところ、低濃度グルコース刺激に対する分泌は対照群、Rap 各濃度群で有意差はなく、高濃度グルコース刺激に対するインスリン分泌は Rap の濃度依存性に低下を認めた。Rap はこの実験条件での膵島の DNA 含量、インスリン含量には影響与えず、上記の結果はβ細胞量減少効果ではなく、β細胞機能障害を反映していると考えられた。膵β細胞にとりこまれたグルコースは、細胞質における解糖系やミトコンドリア内で代謝され ATP が産生され、代謝分泌連関が作動しインスリン分泌が生じる。高濃度グルコース刺激後の細胞内 ATP 含量は Rap 曝露によって低下し、Rap によるグルコース代謝障害が示唆された。 TCA 回路の反応速度の指標である glucose oxidation は、Rap 曝露群で有意な低下を認め、呼吸鎖の障害や TCA 回路代謝障害を含むミトコンドリア代謝障害が示唆された。Rap はミトコンドリアの呼吸鎖の複合体Ⅰ、Ⅲ、Ⅳ、Ⅴの蛋白量や、複合体Ⅱより下流におけるミトコンドリア ATP 産生に影響を与えなかったが、TCA 回路の代謝産物によるミトコンドリア ATP 産生を抑制した。そこで TCA 回路の酵素活性を測定したところ、Rap 曝露群で TCA 回路の律速酵素の一つとされているα-ketoglutarate dehydrogenase (KGDH) の活性低下を認めた。KGDH の特異的阻害剤であるα-keto-β-methyl-n-valeric acid (KMV)はミトコンドリアからの ATP 産生を KMV の濃度依存性に抑制し、KMV によるミトコンドリア ATP 産生抑制効果と KMV による KGDH 活性抑制効果の濃度依存性に矛盾はなく KGDH がミトコンドリア ATP 産生の律速段階であることが示された。 以上から、Rap 曝露により KGDH の活性が低下し、ミトコンドリアの TCA 回路における炭水化物代謝が障害され、高濃度グルコース刺激による膵島からのインスリン分泌が低下することが示された。			

(論文審査の結果の要旨) 代謝センサーとして重要な分子である mammalian target of rapamycin (mTOR)の作用を阻害するラパマイシン(Rap)は免疫抑制剤として臨床応用されているが催糖尿病性が知られている。本研究では、Rap の膵島インスリン分泌に対する効果とその機序について検討した。ラットの単離膵島を Rap に 24 時間曝露することにより、グルコース刺激によるインスリン分泌が低下した。その際、グルコースによる細胞内 ATP 含量の増加が抑制されたことからグルコースの代謝障害がインスリン分泌障害の原因と考えられた。さらに、Rap によるグルコースの代謝障害部位の詳細について検討した。その結果、解糖系の律速酵素である glucokinase 活性には影響せず TCA 回路で代謝される基質によるミトコンドリア ATP 産生が低下したことから TCA 回路の代謝障害と考えられた。さらに TCA 回路の酵素活性を検討したところ、律速酵素となりうるα-ketoglutarate dehydrogenase (KGDH)の Rap による活性低下を認めた。したがって、Rap 曝露による膵島インスリン分泌障害は、TCA 回路における KGDH の活性低下を伴うミトコンドリア炭水化物代謝障害により生じると考えられた。 以上の研究は、膵島における免疫抑制剤ラパマイシンのインスリン分泌障害とその機序の理解に貢献した。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 22 年 6 月 14 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。
