

氏 名	ふじもと しん べい 藤 本 新 平
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2315 号
学位授与の日付	平 成 13 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学位論文題目	Augmentation of basal insulin release from rat islets by preexposure to a high concentration of glucose (高濃度ブドウ糖への前曝露によるラット膵ランゲルハンス氏島からのインスリン基礎分泌の増強)
論文調査委員	(主 査) 教 授 中 尾 一 和 教 授 今 村 正 之 教 授 清 野 裕

論 文 内 容 の 要 旨

目的 高濃度ブドウ糖への前曝露によって、以後の分泌刺激に対する膵ランゲルハンス（ラ）氏島からのインスリン分泌は、高濃度ブドウ糖に曝露されなかった場合と比較して増強する現象が、ブドウ糖のプライミング効果として知られている。しかし、高濃度ブドウ糖前曝露の基礎（非刺激）分泌に対する影響は、十分に検討されていない。今回、膵ラ氏島において、高濃度ブドウ糖への前曝露によるインスリン基礎分泌の増強が確認されたので、その機序についても検討を加えた。

方法 ラット膵ラ氏島をコラゲナーゼ法により単離、培養後、一群は、16.7mM ブドウ糖存在下で、もう一群は、対照として、2.8mM ブドウ糖存在下で30分間 incubation した（プライミング期間）。さらに両群を 2.8mM ブドウ糖存在下で15分間 incubation した（介在期間）後、両群に対し 2.8mM ブドウ糖存在下での30分間のインスリン基礎分泌を static incubation で比較検討した。同様の検討は perfusion 法でも行ないインスリン分泌の経時変化を検討した。細胞内の Ca^{2+} 濃度、ATP 濃度を細胞外液の濃度に応じて操作する目的で、膵ラ氏島に対して electrical permeabilization を行った。permeabilization は、介在期間後に行い、細胞内 Ca^{2+} と ATP を除去した条件下でのインスリン分泌を30分間の static incubation で比較検討した。

結果 16.7mM ブドウ糖前曝露によって、基礎分泌の増強がみられた (0.45 ± 0.03 vs. 対照 0.25 ± 0.01 ng/islet/30min, $P < 0.01$)。この基礎分泌の増強は、16.7mM ブドウ糖によるプライミング期間中に、ブドウ糖代謝阻害剤である mannoheptulose を加えることや、プライミング期間中の Ca^{2+} 流入を阻害することにより消失した。perfusion によるインスリン分泌の経時変化の検討では、基礎分泌の増強は、プライミング中止後30分まで有意にみられ、次第に減弱していった。この基礎分泌の増強は、内因性 GTP 合成阻害剤である mycophenolic acid 存在下で培養し、細胞内 GTP を減少させた膵ラ氏島を用いると観察されなかった。プライミング実施後、基礎分泌の観察期間中に Ca^{2+} の除去、oligomycin による細胞内代謝の阻害を行っても、また、開口放出の最終段階に作用して Ca^{2+} 依存性のインスリン分泌を阻害するとされている α_2 アドレナリン受容体阻害剤を共存させても、基礎分泌の増強は残存した。プライミング実施後、permeabilization を行った膵ラ氏島における、細胞内 Ca^{2+} と ATP を除去した条件下でのインスリン分泌は、プライミング群で有意に増強していた（プライミング群 0.41 ± 0.03 vs. 対照群 0.24 ± 0.01 ng/islet/30min. $p < 0.01$ ）。この条件下で観察されるプライミング実施後膵ラ氏島におけるインスリン分泌の増強は、permeabilization 実施後に GDP 類似化合物である GDP β S を共存させることにより、有意に抑制された ($p < 0.01$)。

結論 高濃度ブドウ糖への前曝露によって、インスリン基礎分泌は増強する。その増強の誘導には、プライミング期間中のブドウ糖代謝と Ca^{2+} 流入を必要とする。一度増強したインスリン基礎分泌は、細胞内 Ca^{2+} 、ATP 濃度を減少させても、また α_2 アドレナリン受容体阻害剤を共存させても抑制されない。またその増強機構には、GTP 感受性部位が関与すると考えられる。

論文審査の結果の要旨

高濃度ブドウ糖への前曝露によって、以後の分泌刺激に対する膵ランゲルハンス（ラ）氏島からのインスリン分泌は、高濃度ブドウ糖に曝露されなかった場合と比較して増強するプライミング現象が知られている。しかし、高濃度ブドウ糖前曝露の基礎分泌に対する影響は検討されていない。申請者は、16.7mM ブドウ糖前曝露による基礎分泌の増強を確認した。この基礎分泌の増強は、16.7mM ブドウ糖によるプライミング期間中に、ブドウ糖代謝阻害剤加えることやプライミング期間中の Ca^{2+} 流入を阻害することにより消失した。この基礎分泌の増強は、内因性 GTP 合成阻害剤存在下で培養し、細胞内 GTP を減少させた膵ラ氏島を用いると観察されなかった。プライミング実施後、permeabilization をおこなった膵ラ氏島における、細胞内 Ca^{2+} と ATP を除去した条件下でのインスリン分泌は、プライミング群で有意に増強していた。この条件下で観察されるプライミング実施後膵ラ氏島におけるインスリン分泌の増強は、permeabilization 実施後に GDP アナログを共存させることにより抑制され、その増強機構には、GTP 感受性部位が関与すると考えられた。

以上の研究は、膵ラ氏島におけるインスリン分泌機構の解明に貢献し、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認める。

なお、本学位授与申請者は、平成13年1月15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。