

氏 名	よね 米 光 新
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2802 号
学位授与の日付	平 成 17 年 1 月 24 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	Troglitazone Induces GLUT4 Translocation in L6 Myotubes. (L6 筋管細胞を用いたトログリタゾンの GLUT4 トランスロケーション促進 作用に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 北 徹 教 授 乾 賢 一 教 授 武 藤 誠

論 文 内 容 の 要 旨

骨格筋は体内最大の糖代謝器官であり、骨格筋におけるインスリン抵抗性は2型糖尿病患者の成因に関与する重要な病態である。抗糖尿病剤チアゾリジン誘導体(TZD)は、インスリン抵抗性改善作用を介して高血糖を是正することが知られているが、TZDが脂肪細胞に存在する核内受容体PPAR- γ と高い親和性を有することから、TZDの骨格筋への作用は主に脂肪細胞を介した間接効果と考えられてきた。しかしながら、TZDの骨格筋への作用はほとんど解析が行われておらず、TZDが直接効果を合わせもつ可能性が十分に想定されていた。そこで本研究では、ラット培養骨格筋細胞(L6筋管細胞:L6)を用いて、TZDの直接効果としての糖利用促進作用について検討を行った。

まず、代表的なTZDであるトログリタゾン(TGZ)をL6培養液中に添加したところ、骨格筋糖利用の律速段階反応である糖取り込み(2デオキシグルコース取り込み率)が時間・濃度依存性に亢進し、その効果は添加後15時間、濃度 10^{-5} Mで最大に達した。骨格筋における糖取り込みは、糖輸送担体GLUT4が細胞表面上にトランスロケーションすることによって惹起されることが知られているが、細胞分画法を用いた検討で、TGZに反応してGLUT4トランスロケーションが生じていることが確認された。

TGZはL6に存在する糖輸送担体(GLUT4, GLUT1, GLUT3)のmRNA量や蛋白量には変化を与えず、糖輸送担体の総量の増加による糖取り込み亢進は否定的であった。また、糖取り込み亢進作用は他のTZD(ダークリタゾン、BRL49653)においても認められたが、TGZを含めた3種の糖取り込み活性とPPAR- γ 親和性との間には相関がなく、TZDが筋のPPAR- γ を介して作用する可能性は否定的であった。

次にTGZが糖取り込みを促進するシグナル伝達過程をインスリンとの比較において検討した。インスリンによる糖取り込みはPI3キナーゼ阻害剤ワートマニンによって阻害されることが知られているが、TGZによる糖取り込みはワートマニン存在下で阻害されず、TGZがPI3キナーゼ、あるいはPI3キナーゼより上流のシグナル伝達経路に作用する可能性は否定的であった。また、TGZがPI3キナーゼより下流に作用する可能性をprotein kinase B(PKB), protein kinase C(PKC)- ζ , PKC- λ , PKC- $\beta 2$ について検討したが、TGZはPKBの蛋白量やリン酸化状態に変化を与えず、PKCの蛋白量にも影響を与えなかった。さらに、運動によって惹起されるインスリン非依存性糖取り込みに関与する5'AMP-activated protein kinase(AMPK) $\alpha 2$ についても検討したが、TGZによるAMPK $\alpha 2$ 活性亢進は認められず、AMPKの関与は否定的であった。一方、TGZによる糖取り込み亢進作用が蛋白合成阻害剤シクロヘキサミド存在下で抑制されたことから、TGZは本研究で検討していない何らかのシグナル伝達分子、あるいはGLUT4トランスロケーション関連分子の発現調節を介して作用する可能性が示唆された。

本研究は、これまで脂肪細胞のPPAR- γ を標的とするインスリン感受性改善剤として位置づけされてきたTZDが、骨格筋を標的とするインスリン非依存性の糖代謝活性化作用を有する可能性を明らかにしたものである。本研究の成果は、TZDが骨格筋細胞に直接に作用しGLUT4トランスロケーションを惹起して糖取り込みを促進することを示すとともに、そ

の効果の発現機序に関する多くの示唆を与えるものである。

論文審査の結果の要旨

本研究は、核内受容体 PPAR- γ を標的とするインスリン感受性改善剤として位置付けされてきたチアゾリジン誘導体 (TZD) が、骨格筋に直接作用してインスリン非依存性に糖代謝を活性化する作用を併せ持つことを示したものである。まず、代表的な TZD であるトログリタゾンについて検討を行い、トログリタゾンがラット培養骨格筋細胞 (L6 myotube) の主要な糖輸送担体である GLUT4 の膜表面へのトランスロケーションを促進して糖取り込み活性を時間・濃度依存性に亢進することを明らかにした。同様の糖取り込み促進は他の TZD であるダゲグリタゾン、BRL49653 においても認められた。しかし、TZD の PPAR- γ 親和性と糖取り込み活性との間には相関は認められず、TZD が PPAR- γ を介さない機序で糖取り込みを促進する可能性が示唆された。また、トログリタゾンによる糖取り込みが PI3 キナーゼ阻害剤ワートマニンによって阻害されなかったことや、トログリタゾンによる PI3 キナーゼ下流分子 (protein kinase B, protein kinase C- ζ , λ , $\beta 2$) への影響も認められなかったことより、TZD がインスリンとは異なるシグナル伝達機構を介して糖取り込みを促進することが示唆された。以上の研究は TZD の骨格筋における糖代謝活性化メカニズムの解明に貢献し、糖尿病治療薬としての TZD の意義の確立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17年1月5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。