

氏 名	中 野 まさ こ
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	論 医 博 第 1946 号
学位授与の日付	平 成 20 年 1 月 23 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	$\alpha 2$ Isoform-specific activation of 5' adenosine monophosphate-activated protein kinase by 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1- β -D-ribonucleoside at a physiological level activates glucose transport and increases glucose transporter 4 in mouse skeletal muscle (骨格筋5' AMP キナーゼ $\alpha 2$ アイソフォームの生理レベル活性化によって生じる糖輸送活性化と糖輸送担体増加)
論文調査委員	(主 査) 教 授 楠 見 明 弘 教 授 成 宮 周 教 授 前 川 平

論 文 内 容 の 要 旨

骨格筋は体内最大の糖代謝器官であり、運動は骨格筋糖代謝を活性化する強力な生理的刺激である。運動時に収縮した筋（運動筋）では、糖輸送担体（GLUT4）の細胞表面上へのトランスロケーションが生じ、細胞外液中のグルコースが細胞内へ輸送される（インスリン非依存性糖輸送促進）。また、運動筋では GLUT4 の発現が亢進し、繰り返して運動すること（トレーニング）によって GLUT4 の総量が増加する。GLUT4 が増加した筋においては、インスリン刺激に反応してトランスロケーションする GLUT4 が増加し、結果的にインスリンによる糖輸送促進効果が増強される（インスリン感受性亢進）。これらの効果は 2 型糖尿病の予防・改善のための運動療法として広く臨床利用されている。

本研究は、収縮に反応して骨格筋細胞内で活性化を受ける 5' AMP-activated protein kinase (AMPK) に注目し、AMPK が、インスリン非依存性糖輸送活性化と、GLUT4 増加を介したインスリン感受性亢進に関与する可能性を明らかにする目的で行った。

AMPK は $\alpha \cdot \beta \cdot \gamma$ サブユニットからなる 3 量体で、その触媒部位は α サブユニットに存在する。骨格筋には、 $\alpha 1$ ないしは $\alpha 2$ を含んだ AMPK 分子 ($\alpha 1$ -, $\alpha 2$ -AMPK) が発現しているが、運動療法において用いられる中等強度の持久運動（最大酸素摂取量の 50~60% 強度）によって活性化を受けるアイソフォームは $\alpha 2$ -AMPK のみである。

まず、中等強度運動中の骨格筋における $\alpha 2$ -AMPK 活性化の程度を明らかにし、それと同程度に $\alpha 2$ -AMPK を活性化する薬物とその投与条件を検討した。その結果、AMPK 活性化剤として知られる 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1- β -D-ribonucleoside (AICAR) を、C57/B6J マウスに対して 250mg/kg 皮下または腹腔内に投与すると、同マウスを最大酸素摂取量の 60% 強度で 30 分間水泳させた場合と同程度に、運動筋の $\alpha 2$ -AMPK 活性が上昇することが明らかとなった。AICAR 投与による $\alpha 2$ -AMPK 活性の上昇は、水泳によって得られる $\alpha 2$ -AMPK 活性化と同様に一過性のもので（投与後 2 時間以内に消失）、活性上昇に必須とされる α サブユニット Thr172 のリン酸化を伴うこと、内因性基質として知られる acetyl coenzyme A carboxylase をリン酸化することなど、運動による AMPK 活性化と同様の性質を示した。AICAR 投与に反応してインスリン非依存性糖輸送活性は速やかに上昇し、ヒラメ筋においては投与後 30 分から 4 時間にかけて約 30% 亢進した。また、糖輸送活性の亢進と並行してマウスの血糖値の低下が認められた。さらに、マウスに AICAR を 7 日間連続投与したところ、水泳トレーニングを 7 日間行ったマウスと同様に骨格筋 GLUT4 が増加し（ヒラメ筋で 30%）、筋のインスリン依存性糖輸送活性も有意に亢進した（ヒラメ筋で 20%）。

以上の結果より、AICAR を用いた運動療法レベルの $\alpha 2$ -AMPK 活性化に伴って、急性的にはインスリン非依存性糖輸送の促進が、長期的には GLUT4 増加とインスリン感受性の亢進が惹起されることが明らかとなった。本研究は、中等強度の持久運動が抗糖尿病効果を発揮する際に、骨格筋内で活性化を受ける $\alpha 2$ -AMPK がシグナル伝達分子として重要な役割を

している可能性を示唆するものであり、糖尿病運動療法の分子メカニズムの解明に大きく寄与する業績である。

論文審査の結果の要旨

中等度持久運動（有酸素運動）の抗糖尿病作用には、1回の運動による急性効果と、運動の反復継続による慢性効果とが存在し、前者には運動筋におけるインスリン非依存性糖輸送の亢進が、後者には糖輸送担体 GLUT4 の増加によるインスリン依存性糖輸送活性化が寄与している。本研究は、これらの効果の発現に 5'AMP-activated protein kinase (AMPK) が関与する可能性を検討したものである。有酸素運動中には、筋細胞に存在する $\alpha 1$ -AMPK, $\alpha 2$ -AMPK のうち後者のみが活性化されることから、安静状態のマウスに $\alpha 2$ -AMPK 活性化作用のある 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1- β -D-ribonucleoside (AICAR) を皮下ないし腹腔内投与することで、有酸素運動時と同程度になるように後肢筋 $\alpha 2$ -AMPK 活性を一過性に上昇させた。この AICAR 投与によって後肢筋（ヒラメ筋）のインスリン非依存性糖輸送活性が急性に亢進し、また、7 日間の反復投与によってヒラメ筋 GLUT4 が増加するとともに同筋のインスリン依存性糖輸送活性が亢進した。これらの結果は、 $\alpha 2$ -AMPK 活性化が有酸素運動による急性及び慢性効果を惹起させている可能性を示唆している。

以上の研究は、運動筋で生じる $\alpha 2$ -AMPK 活性化の生理的役割の解明に貢献し、糖尿病運動療法の分子基盤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19年12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。