

京都大学	博士（医学）	氏名	河崎 祐 貴 子
論文題目	Exendin-4 protects pancreatic beta cells from the cytotoxic effect of rapamycin by inhibiting JNK and p38 phosphorylation.		

（論文内容の要旨）

食事摂取に伴い消化管から分泌されインスリン分泌を促進するグルカゴン様ペプチド-1（GLP-1）は、GLP-1 受容体を介して cAMP 濃度を増加させ、炎症性サイトカインや小胞体ストレスによる膵β細胞死を抑制することが報告されている。一方、免疫抑制剤であるラパマイシンは、膵島移植などに使用され移植成績を飛躍的に向上させたが、近年同剤によって誘発される膵β細胞死が懸念されている。そこで本研究では、マウス膵β細胞株 MIN6 および Wistar ラットの膵島を用いて、ラパマイシン誘発性膵β細胞死の機序を明らかにし、GLP-1 受容体作動薬エキセンジン-4 がラパマイシン誘発性膵β細胞死を抑制しうるか検討することを目的とした。

MIN6 細胞では、有効血中濃度 10 nM ラパマイシン負荷後 12 時間目から、ヨウ化プロピジウム（PI）陽性細胞が増加した。また、アネキシン V 陽性細胞も負荷後 12 時間で増加し、カスパーゼ-3 が活性化した。このことから、ラパマイシンが治療有効血中濃度範囲内で膵β細胞死を誘発することが確認された。一方、ラパマイシンに 10 nM エキセンジン-4 を同時負荷すると、負荷後 12 時間で PI 陽性細胞が有意に抑制され、アネキシン V 陽性細胞の減少およびカスパーゼ-3 の不活性化も認められた。その効果は、GLP-1 受容体拮抗薬であるエキセンジン-9 の添加により抑制され、逆にアデニル酸シクラーゼ活性化薬であるフォルスコリンの同時負荷によってもラパマイシン誘発性細胞死が抑制されたことから、エキセンジン-4 は GLP-1 受容体を介して cAMP 濃度を上昇させラパマイシン誘発性細胞死を抑制すると考えられた。ラット膵島においても、ラパマイシンは 10 nM で DNA の断片化およびカスパーゼ-3 の活性化を誘発し、10 nM エキセンジン-4 はこれらを抑制した。

次に、エキセンジン-4 がラパマイシン誘発性膵β細胞死を抑制する機序を検討した。cAMP 濃度の上昇により、PKA や PI3K、ERK が活性化されるため、それぞれの阻害剤を用いた結果、PKA 阻害剤によりエキセンジン-4 の抗アポトーシス効果は有意に抑制され PKA の一部関与が示唆された。一方、PI3K 阻害剤や ERK 阻害剤では変化がなく、他のシグナル伝達経路の関与も示唆された。そこで、細胞増殖・分化・アポトーシスに重要な MAPK に属する JNK および p38 MAPK の関与について検討した。MIN6 細胞では、ラパマイシン誘発性細胞死は JNK 阻害剤および p38 阻害剤により有意に抑制された。また、ラパマイシン負荷後 30 分で JNK と p38 のリン酸化が増強し、エキセンジン-4 の同時負荷により JNK および p38 のリン酸化は抑制された。同様に、ラット膵島においても、ラパマイシン負荷後 30 分で JNK と p38 のリン酸化が増強し、エキセンジン-4 の同時負荷によりそれぞれのリン酸化が抑制された。このエキセンジン-4 の p38 リン酸化抑制効果は、PKA 阻害剤により減弱したことから PKA 経路が関与していることが示唆された。一方、JNK のリン酸化には PKA 阻害剤は影響を与えなかった。

以上の結果より、ラパマイシンはJNKとp38をリン酸化して膵β細胞死を誘発し、エキセンジン-4はそれらのリン酸化抑制を介してラパマイシン誘発性細胞障害から膵β細胞を保護すると考えられた。従って、エキセンジン-4のβ細胞保護作用機序としてJNKやp38のリン酸化調節が重要と考えられた。

（論文審査の結果の要旨） GLP-1は膵β細胞保護作用を有することが報告されている。一方、免疫抑制剤であるラパマイシンは膵β細胞死を誘発することが懸念されている。本研究では、GLP-1受容体作動薬エキセンジン-4がラパマイシン誘発性膵β細胞死を抑制しうるか検討し、その分子機構を明らかにすることを目的とした。 ラパマイシンは、マウス膵β細胞株及びラット膵島において有効血中濃度で細胞死を誘導し、エキセンジン-4はこの細胞死を抑制した。エキセンジン-4の細胞死抑制効果はGLP-1受容体拮抗薬により抑制され、アデニル酸シクラーゼ活性化剤によって再現され、PKA阻害剤により部分的に阻害された。一方、ラパマイシン誘発性細胞死はJNK及びp38阻害剤により抑制された。ラパマイシンはJNKとp38をリン酸化し、エキセンジン-4はこれらのリン酸化を抑制した。PKA阻害剤によりp38のリン酸化は抑制されたがJNKのリン酸化は抑制されなかった。以上から、ラパマイシンはJNKとp38をリン酸化して膵β細胞死を誘発し、エキセンジン-4はGLP-1受容体を介して細胞内cAMP濃度を上昇させ、異なるシグナルを介してJNKとp38のリン酸化を抑制することによりラパマイシン誘発性細胞死から膵β細胞を保護すると考えられた。 以上の研究はGLP-1受容体シグナルによる膵β細胞保護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みとめる。 なお、本学位授与申請者は、平成22年6月7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。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			