

京都大学	博士（医学）	氏 名	小湊 理恵子
論文題目	Src activation generates reactive oxygen species and impairs metabolism-secretion coupling in diabetic Goto-Kakizaki and ouabain-treated rat pancreatic islets (Src 活性化は、糖尿病モデルの Goto-Kakizaki ラット膵島及び ouabain を作用させたラット膵島において、活性酸素種産生と代謝一分泌連関の障害をきたす)		
(論文内容の要旨)			
膵β細胞においては、細胞内グルコース代謝の亢進がインスリン分泌増強をきたす代謝-分泌連関が存在する。Na+/K+ ATPase 抑制物質であるウアバインは 30 分以上の急性曝露により、高濃度グルコース存在下の膵島からのインスリン分泌を抑制する。この作用は、ウアバインがミトコンドリアにおける活性酸素種（ROS）産生増強を介して、ATP 産生を抑制するために生じるが、その詳細は不明であった。 以前より心筋細胞では Na+/K+ ATPase による ROS 産生機構に非受容体型チロシンキナーゼである Src の関与が報告されている。そこで本研究は、膵島における Na+/K+ ATPase を介する ROS 産生機構における Src の関与を検討した。 抗 Src 抗体を用いてウェスタンブロットを行ない Src のリン酸化を検討したところ、ウアバインは曝露後約 3 分で活性化を示す 418 位のチロシンリン酸化を亢進したが、不活性化を示す 529 位のチロシンリン酸化には影響を与えなかった。この結果は、膵島における Na+/K+ ATPase 抑制は、早期に Src 活性化をきたすことを示している。また Src の特異的阻害剤である PP2、herbimycin A、SU6656 により、高濃度グルコース存在下での、ウアバインによる ATP 産生抑制効果は消失し、PP2 はウアバインによる ROS 産生増強効果を抑制した。またミトコンドリアにおける TCA サイクルの代謝指標である Glucose Oxidation の高濃度グルコース存在下でのウアバインによる抑制効果も、PP2 及び ROS スカベンジャーにより回復した。さらに、ウアバインのグルコースによるミトコンドリア内膜過分極抑制効果も PP2 により回復した。以上の結果より、ウアバインによる Na+/K+ ATPase 抑制は、Src の活性化をきたし、内因性の ROS 産生を増強することにより、ミトコンドリアでの TCA 回路の抑制・ATP 産生障害ひいてはインスリン分泌障害をきたすことが明らかとなった。 次に、糖尿病状態でのインスリン分泌障害における Src 活性化を介する ROS 産生機構の役割を検討した。2 型糖尿病モデル動物である Goto-Kakizaki (GK) ラットの膵島においては、高濃度グルコースによるインスリン分泌が選択的に障害されており、グルコースによる ATP 産生の増加も障害されている。PP2 および ROS スカベンジャーは、GK ラット膵島における高濃度グルコースに対するインスリン分泌増強の低下、ATP 産生増加の低下を対照の Wistar ラットと同様の程度まで回復した。また高濃度グルコース存在下での ROS 産生は PP2 により抑制されたが、ウアバインによる増強はみられなかった。 以上より、糖尿病状態の膵島においては内因性 Src 活性化により、ROS 産生が増強しており、グルコースによる ATP 産生障害、インスリン分泌障害をきたしていることが明らかとなり、Src 活性化を介する ROS 産生機構の膵β細胞代謝-分泌連関障害における意義が明らかとなった。			

（論文審査の結果の要旨）			
膵β細胞においては、細胞内グルコース代謝の亢進がインスリン分泌増強をきたす代謝-分泌連関が存在する。Na⁺/K⁺ ATPase抑制物質であるウアバインは30分以上の急性曝露により、高濃度グルコース存在下の膵島からのインスリン分泌を抑制する。この作用は、ウアバインがミトコンドリアにおける活性酸素種（ROS）産生増強を介して、ATP産生を抑制するために生じるが、その詳細は不明であった。 申請者は、膵島におけるNa⁺/K⁺ ATPaseによるROS産生機構への非受容体型チロシンキナーゼであるSrcの関与を検討した。その結果、ウアバインによるNa⁺/K⁺ ATPase抑制は、Srcの活性化をきたし、内因性のROS産生を増強することにより、ミトコンドリアでのTCA回路の抑制・ATP産生障害ひいてはインスリン分泌障害をきたすことが明らかとなった。さらに、2型糖尿病モデル動物であるGoto-Kakizaki（GK）ラットの膵島において、内因性Src活性化により、ROS産生が増強しており、グルコースによるATP産生障害、インスリン分泌障害をきたしていることが明らかとなり、Src活性化を介するROS産生機構の膵β細胞代謝-分泌連関障害における意義が明らかとなった。 以上の研究は、膵β細胞インスリン分泌障害の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 20 年 10 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。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			