

氏 名	たか はし あきら 高 橋 輝
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3133 号
学位授与の日付	平 成 19 年 5 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	Sulfonylurea and glinide reduce insulin content, functional expression of K_{ATP} channels, and accelerate apoptotic β -cell death in the chronic phase. (スルフォニル尿素薬及びグリニド薬は慢性期において β 細胞内のインスリン含有量と ATP 感受性 K^+ チャネルの機能的な発現を減少させ、アポトーシスを促進する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 中 尾 一 和 教 授 野 間 昭 典 教 授 乾 賢 一

論 文 内 容 の 要 旨

経口血糖降下薬であるスルフォニル尿素 (SU) 薬の長期投与経過中にその薬効が減弱する 2 次無効の発生メカニズムの詳細は未だ不明な点が多い。本研究では、マウス膵 β 細胞株 MIN6 細胞を用いて、SU 薬 (グリベンクラミドおよびトルブタミド) ならびに SU 薬類似のメカニズムで膵 β 細胞インスリン分泌を惹起するグリニド薬 (ナテグリニド) を用いて、薬剤長期暴露後の膵 β 細胞インスリン分泌機能に与える影響を、インスリン分泌、インスリン含量、膵 β 細胞型 ATP 感受性 K^+ チャネル (K_{ATP} チャネル)、電位依存性 Ca^{2+} チャネル (VDCC)、および膵 β 細胞アポトーシス等に関して検討を行った。

各薬剤の短期急性刺激による最大インスリン分泌量は同等であり、最大インスリン分泌量を示す各薬剤濃度はグリベンクラミド 100nM、トルブタミド 300 μ M、ナテグリニド 100 μ M であった。この濃度を用いて、薬剤長期暴露による検討を行った。各薬剤の長期暴露により、薬剤を暴露していない細胞に比べ非刺激時のインスリン基礎分泌量は約 1/6 に減少した。また長期暴露後の薬剤反応性残存に関して、グリベンクラミドが他の薬剤に比べ強い傾向を示した。MIN6 細胞内インスリン含量は、各薬剤の長期暴露により薬剤を暴露していない細胞に比べ有意に減少したが、薬剤間の差は認めなかった。インスリン分泌経路において重要な役割を担うイオンチャネルである膵 β 細胞型 K_{ATP} チャネルに対するインスリン分泌刺激薬長期負荷への影響を検討した。各薬剤長期暴露後の K_{ATP} チャネルの単一チャネルコンダクタンス (pA/pF) や ATP 感受性は薬剤を暴露していない細胞と比べ有意な差はなかった。whole-cell モードでの検討にて、薬剤長期暴露後の最大 whole-cell コンダクタンスは薬剤を暴露していない細胞と比べ有意に低下しており、薬剤の長期暴露により細胞膜表面への機能的な K_{ATP} チャネルの発現量が減少していることが確認された。この検討で最大刺激濃度で長期暴露した各薬剤間での有意差は認めなかった。さらに K_{ATP} チャネルと同様に膵 β 細胞インスリン分泌経路で重要な役目を担っている電位依存性 Ca^{2+} チャネル (VDCC) への影響を検討した。各薬剤での長期暴露後の VDCC 電流-電圧特性 (I-V curve) や最大コンダクタンスは薬剤を暴露していない細胞と同等であった。次に各薬剤への長期暴露後のアポトーシスを TUNEL 法を用いて検討したところ、薬剤を暴露していない細胞に比べ有意にアポトーシスの頻度が高いことが判明した。薬剤間での有意差は認めなかった。これらの結果より、SU 薬およびグリニド薬治療の慢性期における薬剤刺激によるインスリン分泌障害発生の一因として、膵 β 細胞インスリン含量の減少と細胞膜表面への機能的 K_{ATP} チャネル発現数の減少、アポトーシス促進の関与が示唆された。これらの知見は経口血糖降下薬長期投与後の 2 次無効発生機序解明の一助となるとともに、2 型糖尿病患者に対する薬物治療において臨床的に重要な示唆を与えるものであると考えられた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

インスリン分泌促進薬治療経過中に散見される薬効低下の機序は不明な点が多い。本研究で申請者は、マウス膵 β 細胞株 MIN 6 細胞を用いて、インスリン分泌促進薬で構造と受容体上の結合部位の異なる 2 種類のスルフォニル尿素薬ならびに 1

種類のグリニド薬の長期暴露によるインスリン分泌障害発生機序の一端を解明した。

MIN6 細胞への各薬剤長期暴露により、インスリン分泌障害が惹起され、基礎インスリン分泌量は約 1/6 に減少、反応性インスリン分泌も著明に低下した。細胞内インスリン含量は有意に減少し、電気生理学的検討で膵 β 細胞 K_{ATP} チャネルの単一チャネルコンダクタンス、電流－電圧特性および ATP 感受性は変化せず、細胞膜面上に発現する機能的 K_{ATP} チャネル密度は著明に減少した。電位依存性 Ca^{2+} チャネルの電流－電圧特性や最大電流は変化を認めず、細胞アポトーシス誘導率は上昇した。

本研究の *in vitro* での検討により、各インスリン分泌促進薬長期暴露によるインスリン分泌障害発生原因の一部は、膵 β 細胞インスリン含量の減少、膵 β 細胞機能的 K_{ATP} チャネル発現密度の減少、膵 β 細胞アポトーシス促進が関与していること、薬剤構造や受容体上の結合部位の異なる薬剤でも同様の障害機序によりインスリン分泌障害を惹起しうることが示唆された。

以上の研究はインスリン分泌促進薬の膵 β 細胞機能に及ぼす影響の解明に貢献し、糖尿病治療薬の理解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 4 月 17 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。