

氏 名	にしむらまさよし 西村正仁
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	論 医 博 第 1688 号
学位授与の日付	平 成 11 年 5 月 24 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	Necessity of endogenous GTP derived from glucose-6-phosphate for insulin secretion augmented by glucose under protein kinase A activation (プロテインキナーゼ A 活性化の下でのブドウ糖によるインスリン分泌増強におけるグルコース 6 リン酸由来の GTP の必要性について)

論文調査委員	(主 査) 教 授 中 尾 一 和	教 授 北 徹	教 授 清 野 裕
--------	----------------------	---------	-----------

論 文 内 容 の 要 旨

健常人において血糖値は比較的狭い範囲に調節されていることから、膵β細胞は細胞外のわずかな血糖値の変化を速やかに感知して、インスリン分泌を調整する機構を備えている必要がある。この機構の一部は近年になり、β細胞内でのグルコース代謝に基づいて生成される ATP によりシグナリングされている事実が明らかとなってきた。今までのところグルコース代謝の主経路は解糖系であり、ペントースリン酸サイクルへの代謝はインスリン分泌のコントロールにはあまり重要ではないものと考えられてきた。そこで本研究では、グルコースによる ATP 感受性 K⁺ チャンネル (K-ATP チャンネル) 閉鎖を必ずしも必要としないインスリン分泌促進機構において、glyceraldehyde 3-phosphate (GA 3-P) 以降の解糖系の遠位部に加えて、近位部の glucose 6-phosphate (G 6-P) に由来する新たな代謝シグナルが存在することを明らかにするとともに、そのシグナルを同定する目的で以下の検討を加えた。

雄性 Wistar 系ラットより膵ラ氏島を単離し、インスリン分泌を batch incubation 法にて測定した。diazoxide (Dz) によりグルコースによる K-ATP チャンネルの閉鎖を阻止すると同時に db-cAMP 添加により protein kinase A (PKA) を活性化すると、インスリン分泌はグルコースの濃度依存性に促進された。さらにこの分泌増強はグルコースの G 6-P への変換を阻害する mannoheptulose (MH) で消失したことより分泌増強は G 6-P 以降の糖代謝を介したシグナルに依存していると考えられた。続いて Dz 存在下での 16.7 mM グルコース刺激によるインスリン分泌は、PKA 活性化により有意に増強した。そこでこの効果を示す代謝シグナルが解糖系での最終産物である ATP であると仮定してグルコースの代わりに中間代謝産物を經由する GA または ketoiso caproate (KIC) を用いて同様の検討を加えたが、分泌は増強を全く示さなかった。したがって PKA 活性化の下では代謝シグナルの一つは GA 3-P より近位部の解糖系から生じており、一方、GA 3-P 以降の代謝機構だけでは分泌増強を生じない事実が明らかとなった。そこで次に近位部のどの部位からシグナルが出ているのかを検討した。Dz 存在下で PKA を活性化した条件で 16.7 mM グルコース刺激によって増強された分泌は glucose-phosphate isomerase の阻害剤である 2-deoxyglucose (2-DG) にて G 6-P から Fructose 6-P への変換を阻害すると完全に抑制されたが、さらにこの条件下に GA を加えると有意な分泌増強を認めた。一方、この増強は MH で完全に抑制された。GA の代わりに KIC を用いても同様の結果を得た。以上の結果より G 6-P 由来のシグナルがインスリン分泌増強に関与している事実が確認された。そこで G 6-P 由来のシグナルを同定する目的で次の検討を加えた。Dz 存在下で PKA を活性化した条件下で、2-DG と GA を加えると 16.7 mM グルコースによる分泌増強が認められた。この分泌は de novo GTP synthesis の阻害剤である mycophenolic acid (MPA) によって完全に抑制された。しかし、MPA と同時に guanosine を加えて GTP を供給すると、この抑制は解除された。以上より「グルコースの K-ATP チャンネル閉鎖を必ずしも必要としないインスリン分泌機構の中で、①PKA 活性化により分泌を惹起する系では、分泌増強に GA 3-P 以降の代謝シグナルのみならず、G 6-P 由来のシグナルが必要であり、②そのシグナルはペントースリン酸経路を経て生じる内因性 GTP である。」今回の結果は、

今まで一般的にはインスリン分泌のコントロールにはあまり重要ではないものと考えられてきたペントースリン酸系が分泌に果たす役割について解明していくうえで大きく寄与するものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

申請者はブドウ糖の K-ATP チャンネル閉鎖を必要としないインスリン分泌系で、G 6-P に由来する代謝シグナルの同定を試みた。膵ラ氏島を単離し、diazoxide (Dz) で K-ATP チャンネルの閉鎖を阻止し、db-cAMP で PKA を活性化した。Dz 存在下で PKA 活性化による分泌をブドウ糖は濃度依存性に増強したが、GA や KIC は増強しなかった。16.7 mM ブドウ糖と 2-DG 存在下では、PKA 活性化による分泌は GA または KIC で有意に増強された。次に DZ+PKA 活性化の下に 2-DG と GA を加えた状態でブドウ糖によって増強された分泌は内因性 GTP 阻害剤の MPA により完全に抑制され、これは guanosine で解除された。インスリン分泌は Nitrendipine にて抑制されたが、細胞内 Ca 動態には変化はなかった。したがって、ブドウ糖の K-ATP チャンネル閉鎖を介さない分泌系で、PKA 活性化による分泌増強には GA-3-P 以降の代謝シグナルのみならず G-6-P 由来の内因性 GTP が必須であることが明らかとなった。

以上の研究はインスリン分泌機構の解明に貢献し、糖尿病成因解明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 11 年 4 月 6 日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。