

審査の結果の要旨

氏名 長木 孔明

糖尿病はインスリンの作用不足による慢性高血糖を主徴とした種々の特徴的な代謝異常を伴う症候群であり、年々我が国を含め世界的に患者数が増加しておりその機序の解明と治療法の開発が求められている疾患である。糖尿病研究において薬剤として特にストレプトゾトシン (STZ) を投与することにより高血糖を誘発するモデルが広く利用されている。しかしながら、動物種により STZ に対する感受性には差異の存在することも知られており、ヒトも STZ に対して比較的抵抗性がある特徴を有すると考えられている。糖尿病の原因遺伝子として GWAS 研究によって KCNQ1 遺伝子の SNP が見出されたことから、KCNQ1 遺伝子に変異の存在する自然発症モデルラットとして WTC-dfs ラットが存在することから、このラットの糖尿病研究における有用性を検討することを計画し、その対照動物である WTC ラットに STZ を投与し糖尿病研究を開始したところ、STZ に感受性が高いといわれているラットの中で、STZ の投与によっても血糖値の上昇しない特性を有する系統であることが見出された。そこで、本研究では、WTC ラットにおける STZ 抵抗性の機序を明らかにすることを目的とした。

WTC ラットに対する STZ の影響を用量反応性も含めて検討したところ、いずれの用量においても血糖値の上昇や体重の減少は認められなかった。そして、STZ 投与後においても糖負荷に対するインスリンの分泌能が維持されていることも明らかとなった。生体における糖代謝やインシュリン感受性の増強に関連する因子の 1 つであり小腸から分泌される GLP-1 の濃度や、肝臓や骨格筋に存在する GLP-1 受容体および糖の取り込みに関わるグルコーストランスポーター (GLUT) 遺伝子の発現には、STZ を用いた糖尿病研究に広く利用されている Wistar ラットと比較して差異は認められなかった。そこで、膵臓の β 細胞における STZ の取り込みに関与する ATP 感受性 K チャネルの欠損や GLUT2 の発現低下が、STZ に対する感受性の低下の要因であるという仮説を立て検討した。しかしながら、ATP 感受性 K チャネルをコードする Kir6.2 や GLUT2 遺伝子は、WTC ラットにおいても Wistar ラットと同程度に発現していることが確認された。したがって、WTC ラットにおける STZ 抵抗性は、膵 β 細胞へ STZ が取り込まれた後の機構によって生じているものと考えられた。

一方、STZ による細胞傷害性の発現には活性酸素の関与が疑われていることから、活性酸素を誘導することにより糖尿病を誘発する他の薬剤として知られているアロキサンに対す

る影響について検討を加えた。STZにより生成される活性酸素種の詳細は不明であるが、アロキサンによって膵β細胞の破壊を導く活性酸素種として、スーパーオキシドアニオンから過酸化水素を経て生成されるヒドロキシラジカルであることが報告されている。アロキサンの投与によっても STZ と同様に WTC ラットにおいては糖尿病が誘発されなかった。そして、スーパーオキシドアニオンを過酸化水素に変換する SOD の発現量が、Wistar ラットと比較して WTC ラットでは約半分近くと有意に低いことが明らかとなった。さらにヒドロキシラジカルの生成において抑制機構として働くメタロチオネインが、WTC ラットにおいては STZ 投与によって影響を受けないのに対して Wistar ラットの肝臓および膵臓においてその発現量は減少していることが明らかとなった。これらの結果から、WTC ラットにおける STZ に対する抵抗性はヒドロキシラジカルの産生を抑制する機構が重要であると考えられた。そこで、STZ により高血糖が誘発される Wistar ラットにおいて、活性酸素除去剤のマニトールとアスコルビン酸を前投与した際の影響を調べた。その結果、前処置を行うことにより STZ による血糖値の上昇は有意に抑制され、特にその抑制効果はヒドロキシラジカルの特異的スカベンジャーとして考えられているマニトールで顕著だった。

さらに、WTC ラットの生体機能に関してはほとんど検討されていないことから、循環系と自律神経系機能に関して STZ に対する影響も含め検討を加えた。その結果、WTC ラットは Wistar ラットと比較して体温や活動量には顕著な差異は認められないものの心拍数は有意に少ないことが明らかとなった。その要因として副交感神経系機能が優位な特徴を有することが関与しているものと考えられた。また、STZ 投与に対する影響として Wistar ラットでは心拍数、体温および活動量が有意に低下し、明期に低く暗期に高いというげっ歯類の特徴である日内変動も不明瞭になるのに対して、WTC ラットではその影響が小さく日内変動も保たれており生体機能としても STZ に対して抵抗性を示すことが明らかとなった。マウスに STZ を投与した研究において、心拍数の低下がコリン作動性神経の節前線維もしくは神経節における神経伝達物質の機能低下に起因すると報告されていることから、副交感神経系機能が優位である WTC ラットの特性は、糖尿病の合併症として知られる自律神経障害の見地からも糖尿病性合併症の発症機構を詳細に検討するうえで興味深いモデル動物となることが期待される。

以上の結果から、WTC ラットの STZ に対する抵抗性は、SOD の発現が少なくしかもメタロチオネインの発現が安定していることにより酸化力が極めて強いヒドロキシラジカルの産生抑制機構を有するためであること、加えて STZ による細胞傷害性の活性酸素種としてヒドロキシラジカルの重要性を明らかにした。STZ に対する抵抗性を同様に有するウサギやヒトにおける機序の詳細は未だ不明であるが、糖尿病発症の見地からヒトの膵島の機能を理解する上で抗酸化機構を視点に加え研究を進展させることは、新たな予防法や治療法の開発においても重要な役割を果たすものと考えられた。

これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（獣医学）の学位論文として価値あるものと認めた。