

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 藤 城 緑

本研究は、糖尿病の原因として重要と考えられている、ストレスを介したインスリン抵抗性の発生機序を明らかにするため、インスリンの主要な標的臓器である脂肪細胞と骨格筋細胞を用いて、MKK6/3-p38 MAP キナーゼ経路や、TNF α 、IL-1 β 、高浸透圧などのストレス刺激の、インスリン作用に与える影響の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 不活性型の p38MAPK および MKK6 と、活性型の MKK6 cDNA をそれぞれ導入したアデノウイルスを過剰発現させた 3T3-L1 脂肪細胞に、インスリンを作用させ、p38 MAP キナーゼ活性を解析した結果、不活性型の p38MAPK および MKK6 の過剰発現により、インスリンによる p38 MAP キナーゼの活性化が強く抑制されることが確認された。一方、活性型の MKK6 の過剰発現により、インスリン非刺激下でも、p38 MAP キナーゼは顕著に活性化された。

2. 上述のアデノウイルスを感染させた 3T3-L1 脂肪細胞および L6 筋肉細胞に、インスリンを作用させ、糖取り込み活性の解析を行ったところ、不活性型の p38 および MKK6 は、インスリンによる糖取り込み能上昇を抑制せず、むしろこれをさらに増強した。活性型の MKK6 を過剰発現させると、基礎状態での糖輸送活性は著明に増加する一方で、インスリン刺激による増加の程度は減少していた。

以上から、p38 MAP キナーゼの活性化は、インスリンによる糖取り込み上昇には重要でないことが示された。

3. MKK6 による、基礎状態での糖輸送活性上昇の機序を調べるため、これらを過剰発現させた 3T3-L1 脂肪細胞を用いて、subcellular fractionation と RNase

protection assay を行い、糖輸送担体蛋白として重要な、GLUT1 および GLUT4 の蛋白および mRNA 発現量を検討した。活性型 MKK6 の過剰発現により、細胞膜 (PM) および細胞内 (LDM) いずれにおいても GLUT1 蛋白量は著増し、GLUT4 蛋白量は激減した。mRNA レベルでも同様の変化が見られた。

4. 活性型 MKK6/3 による糖輸送活性や、GLUT1 および GLUT4 への影響が、p38 MAP キナーゼを介しているかを検討するために、p38MAPK 阻害薬である SB203580 を用いた実験をおこなった。10 μ M の SB203580 を短時間負荷しただけでは、MKK6 による糖取り込み能の増加は抑制されなかったが、長時間負荷すると抑制され、その効果は時間経過に比例して増大した。SB203580 の長時間負荷により、GLUT1 および GLUT4 発現量の変化も復元され、これらの現象において p38 MAP キナーゼが重要であることが示された。

5. 種々のストレス刺激の影響を検討するため、3T3-L1 脂肪細胞に TNF α および IL-1 β 、高濃度ソルビトールを負荷した。これらを 30 分負荷することにより、p38 MAP キナーゼリン酸化の増強が見られたが、糖取り込み活性には変化が見られなかった。しかし、24 時間負荷することにより、糖輸送活性の上昇、GLUT1 蛋白の増加および GLUT4 蛋白の減少が見られた。これらの変化は SB203580 の作用で復元され、p38 を介した効果であることが示唆された。すなわち、脂肪細胞や筋肉において、TNF α 、IL-1 β や高浸透圧などのストレス刺激により、MKK6/3-p38 MAP キナーゼ経路が活性化されると、GLUT1 が増加して basal の糖取り込み能が上昇し、一方で GLUT4 は減少して、インスリン刺激への反応性が低下することが示された。

以上、本論文はインスリンの主要な標的臓器である、脂肪細胞と骨格筋細胞において、TNF α 、IL-1 β や高浸透圧などのストレス刺激により、MKK6-p38MAPK 経路が活性化され、糖輸送担体蛋白の発現が調節されることを明らかにした。本研究は、糖尿病の原因として重要な、インスリン抵抗性の発生機序の解明に必要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。