

審査の結果の要旨

氏名 西谷しのぶ

肝硬変病態では耐糖能異常を示す患者は 6~8 割、そのうち糖尿病を併発している患者は 1~2 割程度存在することが報告されている。肝硬変病態での糖代謝異常の特徴は、インスリンクリアランスの低下に伴う高インスリン血症とそれに引き続くインスリン抵抗性、耐糖能低下、および臓器中のグリコーゲン量の減少により、食後の耐糖能異常と空腹時の低血糖という管理の難しい糖代謝異常を呈することが知られている。また、こうした糖代謝異常を合併している肝硬変患者においては肝臓癌のリスクが高いことが報告されており、その是正は肝硬変患者の予後改善にきわめて重要である。しかしながら、既存の糖尿病治療薬の多くは肝機能に影響を与えることから、肝疾患時に投薬できる糖尿病治療薬はほとんどなく治療は十分ではない。

そこで、肝硬変治療薬として用いられている分岐鎖アミノ酸製剤に、肝硬変患者の糖代謝異常に対する新たな治療の可能性を見出すために、モデル動物を用いた非臨床研究により分岐鎖アミノ酸の糖代謝改善効果について検討した。

まず、三種類の分岐鎖アミノ酸について糖負荷試験を行った。肝硬変モデルラットにグルコースを負荷後にイソロイシン、ロイシン、バリンを経口投与し、継時的な血糖値の変化と血中インスリン値を測定した。その結果、イソロイシンが最も強い血糖降下作用を示し、ロイシンも有意に低下させたがバリンにはその作用はなかった。ロイシン、イソロイシンはインスリン分泌には影響せず、分岐鎖アミノ酸によるインスリン非依存的な耐糖能改善作用が示唆された。そこで、肝硬変モデルラットのヒラメ筋のみを単離し、インスリン非存在下での糖取り込み量を測定した。ロイシンまたはイソロイシンによりヒラメ筋の糖取り込み量は有意に増加し、この作用は PI3-kinase の阻害剤である LY294002、PKC の阻害剤である GF109203X により完全に抑制された。ヒラメ筋においてイソロイシン投与による糖取り込みシグナル酵素の活性化の程度を、グルコース投与と比較した。グルコースを経口投与した 15 分後に血中インスリン値は最大値になり、以降も有意に上昇し続けており、グルコースにより内因性のインスリン分泌が起こったことが確認できた。また、この時に PI3-kinase のリン酸化活性が上昇していることもオートラジオグラフィを用いて確認した。一方、イソロイシン投与後にはインスリン分泌の有意な上昇は認められなかった。以後の酵素の活性化には内因性インスリンの関与はほとんどないと考えられた。しかし、インスリン分泌は起こらなくてもイソロイシンにより PI3-kinase の活性化がグルコース投与群とほぼ同程度に起こっていることを明らかにした。

次に、糖取り込みシグナルとして知られている Akt のリン酸化活性を調べた。グルコース投与群では Akt の強い活性化が確認できたが、イソロイシン投与群ではその活性化は非常に弱いもので

あった。以上の結果より、イソロイシンはインスリンとはことなるシグナル伝達系を活性化させることにより糖取り込みを促進していることが示唆された。また、PKC の中でも atypical PKC (aPKC) の PKC ζ は GLUT4 の細胞膜移行を促進することが知られているため、PKC ζ によるリン酸化活性を RI を用いて測定した。グルコース投与群では 2 倍程度の活性化が認められたが、イソロイシン群では 10 倍近い強い活性化が認められた。

骨格筋におけるグルコース取り込みの最終過程である GLUT4 の細胞膜移行量を解析した。その結果、グルコース投与群およびイソロイシン投与群において GLUT4 の細胞膜移行が同程度に上昇することが明らかになった。さらに、イソロイシン、ロイシンを経口投与時の骨格筋におけるグリコーゲン合成酵素の活性化を調べたところ、ロイシンにのみグリコーゲン合成酵素が活性化作用があり、rapamycin により完全に抑制されることから mTOR シグナルを介していることが示唆された。

次に、このロイシンおよびイソロイシンの耐糖能改善作用が糖尿病態における有効性を検討した。I 型糖尿病モデルである STZ 投与ラットにおいて、ロイシン、イソロイシンはともに有意に血糖降下作用を示した。また、II 型糖尿病モデルである GK ラットを用いて、糖負荷試験を行ったところ、ロイシン投与により、速攻型インスリン分泌型糖尿病薬と同様に耐糖能改善効果があることが明らかとなった。また、イソロイシンを糖尿病薬と共投与するとインスリンの効果が増強された。

ロイシンおよびイソロイシンは、肝硬変病態モデル動物において、インスリン非依存的に PI3-kinase および PKC ζ の強い活性化を介して GLUT4 を細胞膜へ移行させ、グルコース取り込みを促進して血糖低下させることが示唆された。また、糖尿病モデル動物においても耐糖能改善作用を示すことを明らかにした。さらに、ロイシンには、肝硬変病態の骨格筋において減少したグリコーゲン蓄積量を回復させる作用があることを明らかにした。臨床において、分岐鎖アミノ酸製剤の投与によって、肝硬変患者のインスリン抵抗性の改善や耐糖能の回復、さらに大規模長期投与試験においては、合併症の低減、予後の改善などが報告されているが、本研究はそのメカニズムを明らかにした。さらに、糖尿病に対する有効性も示唆した。インスリン非依存性の耐糖能改善はインスリン抵抗性の治療にも結びつく知見であると考えられる。以上のように、本研究は肝硬変や糖尿病における糖代謝にたいする分岐アミノ酸製剤の効果を示すものであり、博士(薬学)の学位授与に値すると判断した。