

【課程—2】

審査の結果の要旨

氏名 中村 元信

本研究は、インスリン抵抗性が存在しても、インスリンの近位尿細管 Na-HCO₃ 共輸送体 (NBCe1) 輸送活性亢進作用が保たれることを、肥満から高インスリン血症となりインスリン抵抗性を呈し糖尿病となることが知られているラット (Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rat) およびインスリン抵抗性を有するヒト腎悪性腫瘍症例において証明したものである。その原因として、インスリンは近位尿細管では IRS2 を介してシグナルを伝えること、およびインスリン抵抗性が存在しても腎近位尿細管 IRS2 発現が保たれていることによるという下記の結果を得ている。

1. Wistar rat を使用し、インスリンにより近位尿細管 NBCe1 活性亢進作用が濃度依存性に増加することを証明した。そして、この反応は、PI3 キナーゼ (PI3K) の阻害薬である Wortmannin により完全に抑制されることを証明した。以上より、インスリンの近位尿細管 NBCe1 輸送活性亢進作用は PI3K を介していることが示された。
2. Wistar rat の脂肪細胞を使用し、インスリンによるブドウ糖取り込み能の評価を試みるために蛍光色素 (2-[N-(7-Nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl) amino]-2-deoxy-D-glucose (2-NBDG)) を使用した。その結果、cytochalasin B により抑制される GLUT4 を介した糖取り込み量を正確に測定できる結果を得た。
3. Wistar rat の近位尿細管および脂肪細胞において si-RNA による遺伝子発現抑制実験 (anti-IRS1 および anti-IRS2) を行い、si-RNA の特異性と効果を評価した。その結果、インスリンの近位尿細管 NBCe1 活性機能亢進作用においては、IRS2 依存性シグナルが主であることが示された。一方、インスリンの脂肪細胞における糖取り込み促進作用は IRS1 が主であることが示された。
4. 次に、インスリン抵抗性存在下でのインスリンの脂肪細胞と近位尿細管作用を検討した。肥満により高インスリン血症およびインスリン抵抗性が発症

する OLETF ではインスリン刺激の脂肪細胞糖取り込み促進作用は著しく減弱していた。しかしながら、近位尿細管 NBCe1 活性亢進作用は完全に保たれていた。インスリンシグナル伝達経路についても確認したところ、OLETF では、インスリン刺激による Akt のリン酸化が脂肪細胞では低下していた。また、肝臓、筋肉、脂肪組織において IRS1 および IRS2 mRNA 発現量が減少していた。しかしながら、腎近位尿細管では Akt のリン酸化および IRS2 mRNA 発現は保たれていた。腎皮質では IRS2 蛋白の発現量も保たれていた。

5. 次に、ヒトでも同様の検討を行った。ヒトでもラットと同様に、インスリン刺激の脂肪細胞糖取り込み促進作用は著しく減弱していた。しかしながら、近位尿細管 NBCe1 活性亢進作用は完全に保たれていた。同様に、インスリン抵抗性が存在すると、インスリン刺激による Akt のリン酸化が脂肪細胞では低下していたが、近位尿細管ではインスリン抵抗性に関係なく、Akt のリン酸化は保たれていた。また、インスリン抵抗性が存在すると脂肪組織では IRS1 と IRS2 mRNA が共に減少していたが、腎皮質では IRS2 mRNA の発現は保たれていた。

6. 最後に内容をよりよく反映するためにタイトルを **Stimulatory effect of insulin on renal proximal tubule NBCe1-dependent sodium transport is preserved in insulin resistance.** (インスリン抵抗性でもインスリンの近位尿細管の NBCe1 によるナトリウム輸送機能は保たれる。)に変更した。

以上のことから、本論文では、インスリンは腎臓では IRS2/PI3K/Akt を介して NBCe1 輸送活性を亢進させ、この作用はインスリン抵抗性でも保たれることが示された。インスリン抵抗性ではインスリンの血管拡張作用が減弱すること合わせ、高インスリン血症による腎 Na 再吸収亢進が高血圧発症の一因となっていることが強く示唆された。これらの結果は、インスリン抵抗性における高血圧発症機序の解明に深く寄与するものと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。