



Title	ヒドロキシアミンの糖取り込み促進作用とその作用機構解析 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	木村, 太郎
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第11390号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/55892
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Taro_Kimura_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博 士（農学）

氏名 木 村 太 郎

学 位 論 文 題 名

ヒドロキシアミンの糖取り込み促進作用とその作用機構解析

糖尿病は世界的に広がる疾病であり、患者数が年々増加している。世界の糖尿病有病者数は 2013 年現在で 3 億 8200 万人（有病率 8.3%）、治療や対策を施さなければ、2030 年までに 5 億 9200 万人に増加すると予測されている。このように世界的に増加している糖尿病患者であるが、2013 年の時点で日本における成人糖尿病人口は 720 万人にのぼり、2012 年の 710 万人からわずかであるが増加している。この増加傾向は今後も続くことが予測されており、深刻な状況である。

このような状況を改善するため、これまでに多くの糖尿病治療薬が開発されてきた。例えば、インスリン製剤、スルホニル尿素薬、 α グルコシダーゼ阻害剤、インスリン感受性改善薬などである。しかしながら、人体の 50%を占める主要な細胞であり、食後の糖代謝に重要で、さらにⅡ型糖尿病患者ではその糖代謝が大きく低下することも報告されている骨格筋細胞に対して直接作用する薬剤の種類は少ない。そこで、骨格筋細胞に対する糖取り込み促進作用を指標にしたスクリーニング研究を行った結果、ヒドロキシアミン (HA) が活性を示すことを見出した。

HA とその塩類は還元剤として知られており、生物活性も複数報告されている。例えば、HA は脂肪酸の酸化防止剤としての作用を持つ、またマウスを用いた実験では HA 関連化合物に抗炎症作用や抗アレルギー作用があることが確かめられている。さらに糖取り込み促進作用に関わる報告としては、HA が L929 繊維芽細胞に対してグルコーストランスポーター1 (GLUT1) を介して糖取り込み促進作用を示す事も報告されている。本研究では、HA 関連化合物の糖取り込み促進作用試験を行い、さらに HA の筋細胞に対する作用メカニズム解析も行うことで、新規の糖尿病治療薬の開発につながる知見を得ることを目的とした。

糖取り込み促進作用の評価は、マウス骨格筋由来のモデル細胞である C2C12 細胞を用いた。分化させた C2C12 細胞に対して HA、benzohydroxamic acid (BzA)、*N*-methylhydroxylamine (*N*-MA)、*N*-benzylhydroxylamine (*N*-BA)、*O*-Benzylhydroxylamine (*O*-BA)、Ammonium chloride (AC) を作用させた結果、HA 以外は弱い活性しか見られなかった。

次に、過去に HA の活性を担っているとして報告されている nitroxyl や HA に構造が類似した化合物であるアミン関連化合物の活性に関わっていることが報告されている過酸化水素が関わっているか検討した。Nitroxyl のスカベンジャーとして報告されている L-cysteine、活性酸素種の補足剤であるグルタチオンを作用させ、HA の活性が阻害されるかどうかを検討したが、阻害は見られなかった。従って、HA の活性は nitroxyl や過酸

化水素によるものでなく、新しいものあることが示唆された。

そこで次に、骨格筋細胞において主要な糖取り込みを担うグルコーストランスポーターである GLUT4 の関連する経路に着目して解析を行った。骨格筋細胞におけるその代表的な経路はインスリンシグナル経路と AMPK シグナル経路である。これらの経路の阻害剤を用いて糖取り込み促進作用試験を行った結果、インスリンシグナル経路の一部である PI3K の阻害剤である LY294002 を用いた場合に HA の糖取り込み促進作用の阻害が見られ、AMPK の阻害剤である dorsomorphin を用いた場合は阻害が見られなかった。従って、HA の糖取り込み促進作用はインスリンシグナル経路に関わることが示唆された。

さらにインスリンシグナル経路に関わる各種タンパク質の活性化状態をウェスタンブロットティングまたは阻害剤を併用した糖取り込み促進活性試験によって確かめた。ウェスタンブロットティングの結果、HA を作用させることで IRS1 と Akt のリン酸化が促進し、活性化されることが確認された。また、糖取り込みを担う GLUT4 をグルコーストランスポーターの阻害剤である Cytochalasin B を用いて阻害した結果、HA の糖取り込み促進作用は阻害された。以上より、HA は GLUT4 を介して糖取り込みを促進しており、その作用機構は IRS1、PI3K 及び Akt を介する経路であることが確認された。

このように本研究では HA が骨格筋細胞に対して糖取り込み促進作用を持つことを示した。また、HA の作用機構はこれまで報告されているアミン関連化合物の例とは異なり、nitroxyl や過酸化水素による作用ではないことも確かめられた。さらに HA はインスリンシグナル経路によって作用していることも明らかとした。