



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_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博 士（農学）

氏名 木 村 太 郎

審査担当者 主 査 教 授 川端 潤
副 査 教 授 原 博
副 査 助 教 加藤英介

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

本論文は和文 53 頁、図 17、引用文献 45 からなり、参考論文 1 編が付されている。

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。その対策としてこれまでにインスリン製剤、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多くの糖尿病治療薬が開発されてきた。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 (HO-NH_2 , HA) が活性を示すことが見出された。本研究は、HA および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 の活性本体として報告されている nitroxyl や、HA に構造が類似したアミン関連化合物の活性発現における作用分子として報告されている過酸化水素が、HA の活性に関わっているかについて検討した。Nitroxyl のスカベンジャーである L-cysteine、活性酸素種の捕捉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や過酸化水素を介したものではなく、別のこれまでに報告されていないもので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検討を行った。骨格筋細胞における代表的な糖取り込み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シグナル経路であるAMPKの阻害剤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よってい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を介するインスリンシグナル経路であることが確認された。

このように本研究では、HAが骨格筋細胞に対する糖取り込み促進作用を示し、その活性は構造の修飾によって大きく低下することを示した。また、HAの作用機構はこれまでに知られていた類縁化合物の場合とは異なり、nitroxylや過酸化水素を介さない独自の作用であることを明らかにした。さらに、このHAの糖取り込み促進作用がインスリンシグナル経路の活性化によるものであることを明らかとした。HAのような小分子がインスリン同様の作用を示すことはきわめて興味深い知見であり、今後画期的な糖尿病予防・治療薬の開発へと繋がることが期待される。

よって審査員一同は、木村太郎が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。