The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Pancreatic β Cell-specific Expression of Thioredoxin, an Antioxidative and Antiapoptotic Protein, Prevents Autoimmune and Streptozotocin-induced Diabetes
Author(s)	堀田, 瑞夫
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41176
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【 116 】

氏　　名	堀　田　瑞　夫（ほっ　た　みず　お）
博士の専攻分野の名称	博　　士（医　　学）
学 位 記 番 号	第　14310　号
学位授与年月日	平成11年3月3日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	Pancreatic β Cell-specific Expression of Thioredoxin, an Antioxidative and Antiapoptotic Protein, Prevents Autoimmune and Streptozotocin-induced Diabetes. **(膵β細胞特異的に，抗酸化ストレス作用および抗アポトーシス作用をもつタンパク質であるチオレドキシンを過剰発現させると，自己免疫性糖尿病ならびにストレプトゾトシン誘発性糖尿病の両方においてその発症が抑制される。)**
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 荻原 俊男 (副査) 教 授 宮崎 純一　教 授 松澤 佑次

論 文 内 容 の 要 旨

「目的」 近年，1型糖尿病における免疫細胞による膵β細胞傷害の機序に酸化ストレスが重要な役割を果たすことを示唆する報告がなされている。また，チオレドキシンは，最近その抗酸化ストレス作用および抗アポトーシス作用が注目されるタンパク質である。本研究では，1型糖尿病のモデル動物であるNOD（non-obese diabetic）マウスを用いて，チオレドキシンを膵β細胞特異的に発現するトランスジェニックマウスを作製することで，この膵β細胞傷害の機序に酸化ストレスが重要な役割を果たしていることをin vivoで直接証明することを試みた。

「方法ならびに成績」 ヒトインスリンプロモーターにヒトチオレドキシンcDNAを接続したトランスジーンを構築し，これをNODマウス受精卵雄性前核細胞にマイクロインジェクションして，トランスジェニックマウスを作製した。次にトランスジェニックマウスの主要臓器よりRNAを抽出してRT-PCR法による解析を行った。その結果，トランスジェニックマウスの膵にのみ，ヒトチオレドキシンが発現することを確認した。最終的にトランスジェニックマウスは3系統樹立されたが，膵島を単離してタンパク質を抽出し，ウエスタンブロッティング法を用いることにより，ヒトチオレドキシンの発現を確認するとともに定量化し，3系統のうち2系統のトランスジェニックマウスの膵島でチオレドキシンが過剰発現していることを確認した。さらに膵島におけるマウスの内在性のチオレドキシンの発現を解析し，膵外分泌細胞と比較してその発現量が低いことを確認した。

次にこれらトランスジェニックマウスの糖尿病発症率を，経時的に尿糖を検出することで解析した。その結果，チオレドキシンの過剰発現がみられた2系統のトランスジェニックマウスでは，対照群（negative littermate）に対して有意に発症が抑制されたが，過剰発現のみられなかった系統のマウスでは発症率に有意差を認めなかった。なお，チオレドキシンの過剰発現を認めるトランスジェニックマウスの12週齢雌における膵島炎の程度を組織学的に検討したが，トランスジェニックマウスと対照群との間に有意差を認めなかった。

さらに，これらトランスジェニックマウスとC57BL/6（B6）マウスとのF1マウスを作製し，これらマウスに酸化ストレスを介して糖尿病を誘発するとされる薬剤ストレプトゾトシン（STZ）を投与した。その結果，F1のトランスジェニックマウス群では対照群に比較して，有意に血糖の上昇が抑制された。さらに膵のインスリン含有量を測定し

たところ，トランスジェニック群で有意にインスリン含有量は保持されていた。なお，トランスジェニックマウスと対照群とでは，その膵島のインスリン分泌能に有意差を認めないことを確認している。

「総括」 抗酸化ストレス作用をもつタンパク質，チオレドキシンを膵β細胞で過剰発現するNODマウスでは，その糖尿病の発症が有意に抑制された。しかも膵島への免疫細胞浸潤の程度に有意差を認めないことから，その糖尿病発症抑制機序は，浸潤した免疫細胞による酸化ストレスに対する膵β細胞の抵抗性によることが考えられる。さらに，酸化ストレスを介して膵β細胞を傷害すると考えられている薬剤STZの投与実験においても，糖尿病発症が抑制されることが示された。これらの結果から，酸化ストレスが膵β細胞傷害に重要な役割を果たしていることが示唆された。また，膵β細胞において内因性のチオレドキシンの発現が膵外分泌細胞に比較して少ないことを示し，このことが酸化ストレスに対する膵β細胞の脆弱性の原因の1つである可能性を示唆した。

論文審査の結果の要旨

本研究において遺伝子工学的・発生工学的手法を用いた糖尿病の発症機構の解析をおこない，特に本研究では抗酸化ストレスおよび抗アポトーシス作用をもつタンパク質チオレドキシンを1型糖尿病モデルであるNODマウスの膵β細胞に過剰発現させることによりその糖尿病発症が抑制されることを示した。さらにこの膵β細胞特異的にチオレドキシンを過剰発現するトランスジェニックマウスでは，酸化ストレスを介して膵β細胞を選択的に傷害する薬剤ストレプトゾトシンに対しても抵抗性を持つことを示した。これらの結果は，in vivoで初めて酸化ストレスが自己免疫性糖尿病の発症に重要な役割を果たしていることを直接的に示唆するものであり，今後の糖尿病における膵β細胞傷害の機序を研究する上で大きな意義を有するものと思われる。

さらに本研究では，抗酸化ストレス療法が膵島炎の発生以後であっても1型糖尿病の発症予防および治療に有用である可能性をin vivoで直接的に示唆したものであり，学位の授与に値するものと認められる。