OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	Probucol Preserves Pancreatic β-Cell Function through Reduction of Oxidative Stress in Type 2 Diabetes
Author(s)	五郎川, 伸一
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43691
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【11】

氏名	五郎川 伸一（ごろがわ しんいち）
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	第 16808 号
学位授与年月日	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学位論文名	Probucol Preserves Pancreatic β-Cell Function through Reduction of Oxidative Stress in Type 2 Diabetes （プロブコールは2型糖尿病において酸化ストレスを軽減することにより膵β細胞機能を保護する）
論文審査委員	（主査） 教授 堀 正二 （副査） 教授 松澤 佑次　教授 荻原 俊男

論文内容の要旨

【背景、目的】

糖尿病患者においては慢性高血糖に伴い全身性に酸化ストレスが亢進し、これが動脈硬化や糖尿病性細小血管合併症の発症・進展に深く関わることが示唆されている。酸化ストレスの標的になるという点においては膵β細胞も例外ではなく、むしろ膵β細胞では活性酸素の消去系である抗酸化系酵素の発現が極めて弱いことから、他の組織に比し、より大きな影響を受ける可能性がある。実際、糖尿病動物の膵β細胞においては酸化ストレス指標の発現亢進が認められる一方で、我々は外来性に酸化ストレスを誘導した膵β細胞においてインスリン生合成能が低下することなどを見いだしている。

そこで本研究においては、2型糖尿病モデル動物に抗酸化剤プロブコールを投与し、膵β細胞機能に及ぼす影響を検討した。これにより、2型糖尿病の膵β細胞障害における酸化ストレスの病態生理学的意義を明らかにするとともに、将来における抗酸化剤治療の臨床応用に向けてプロブコールの潜在的有用性を検討した。

【方法】

2型糖尿病モデルであるC57BL/KsJ db/dbマウス（6週齢）を無作為に2群に分け、一方には通常食（コントロール群、以下C群）を、もう一方にはプロブコール（1%）含有食（プロブコール群、以下P群）を与え、10週齢および16週齢時において以下のような検討を行った。

1．酸化ストレス指標の評価：単離膵標本を用いて、4-hydroxy-2-nonenal modified protein（以下、4-HNE）及びheme oxygenase-1（以下、HO-1）の免疫組織染色を行った（10週齢、16週齢）。

2．グルコース負荷試験：Overnightで絶食後、1 g/kgのグルコースを腹腔内に投与し、尾静脈よりヘパリン採血した後（0、30、60、120分）、血漿グルコース及びインスリン濃度を測定した（10週齢、16週齢）。

3．インスリン負荷試験：Overnightで絶食後、2 U/kgのインスリンを腹腔内に投与し、尾静脈よりヘパリン採血し（0、30、60、90分）、血漿グルコース濃度を測定した（10週齢、16週齢）。

4．膵島容量の評価：膵のヘマトキシリン－エオジン染色を行い、画像をコンピューター処理して膵ランゲルハンス氏島（以下、膵島）面積／全膵面積を測定した（16週齢）。

5．インスリン含量の測定：膵島をコラゲナーゼ法により分離し、acid-ethanol法にて抽出したインスリンを測定し

た（10週齢、16週齢）。

6．脂質代謝の評価：Overnightで絶食後、左心室より採血し、血漿脂質濃度を測定した（16週齢）。

7．膵島内脂肪含量の評価：膵島をコラゲナーゼ法により分離し、高張食塩水及び超音波処理にて抽出した中性脂肪を測定した（16週齢）。

【結果】

1．膵島における抗酸化効果の検討

過酸化脂質を反映する4-HNE、細胞内酸化ストレスを反映するHO-1の免疫組織染色を行ったところ、C群ではこれらの酸化ストレスマーカーがともに膵島で誘導されていた。これに対し、P群では10週齢、16週齢ともにその誘導が著明に軽減されていた。

2．抗糖尿病効果の生理学的検討

P群では、すでに10週齢においてグルコース応答性のインスリン分泌能がC群と比較して保持されていた（P群：1068±88、C群：691±46（pmol/l）、30min、$p<0.05$）。さらに、P群では10週以降16週齢にかけてインスリン分泌能が保持されたのに対し、C群では低下傾向を示した（P群：924±165、C群：335±91（pmol/l）、30min、$p<0.05$）。これと符合するように、グルコース負荷後の血糖値はP群で有意に低値であった（P群：42.2±1.6、C群：34.1±2.1（mmol/l）、120min、10週齢、$p<0.05$）。但し、両群間で空腹時の血漿インスリン濃度、血漿グルコース濃度において差を認めなかった。一方、両群間で、体重の推移、摂餌量とも差を認めず、また、インスリン負荷試験ではインスリン負荷後の血糖値の低下率に両群間で差を認めなかった。以上の結果より、血糖値の改善は主としてプロブコールのインスリン分泌改善作用によりもたらされたものと考えられた。

3．膵β細胞保護効果の検討

膵島容量（P群：1.87±0.48、C群：0.76±0.05（%）、16w、$p<0.05$）及び膵島細胞あたりインスリン含量（P群：1.70±0.30、C群：0.65±0.09（ng/ng-DNA）、16w、$p<0.05$）は、P群でともに保持されていた。P群ではインスリン分泌能も保持されていたことから（上述）、インスリン生合成能が改善された結果であると考えられた。

4．脂質代謝に及ぼす効果の検討

P群においてはC群に比し、血清遊離脂肪酸値、中性脂肪値、総コレステロール値の有意な低下を認めた。加えて、膵島の中性脂肪含量もP群で有意に低下した（P群：0.12±0.01、C群：0.27±0.04（μg/ng-DNA）、$p<0.05$）。最近、膵島の中性脂肪含量が増大するとインスリン分泌能が障害される（Lipotoxicity）とする報告があり、膵島の中性脂肪含量の改善もインスリン分泌を改善した可能性が考えられた。

【総括】

2型糖尿病におけるプロブコール投与は、慢性高血糖により誘導される酸化ストレスの軽減を通じて膵β細胞機能を保護し抗糖尿病効果を発揮することが示された。その際、インスリン分泌のみならず、膵島容量およびインスリン含量も保持されたことから、プロブコールは細胞数の維持とインスリン生合成の改善をもたらしたものと考えられた。抗高脂血症薬として臨床の場で広く用いられているプロブコールがマウスの2型糖尿病モデルにおいて強い抗糖尿病効果を発揮したことで、将来のヒト2型糖尿病に対する抗酸化剤治療への期待は大きく高まった。

論文審査の結果の要旨

糖尿病患者においては慢性高血糖に伴い全身性に酸化ストレスが亢進している。一方、酸化ストレスは動脈硬化や糖尿病性細小血管合併症の発症・進展に深く関わることが示されている。酸化ストレスの標的臓器になるという点では膵β細胞も例外ではない。実際、糖尿病動物の膵β細胞においては酸化ストレス指標の発現亢進が認められる一方で、我々は外来性に酸化ストレスを誘導した膵β細胞においてインスリン生合成能が低下することなどを見いだしている。

そこで五郎川伸一君は、2型糖尿病モデル動物に抗酸化剤プロブコールを投与することにより、2型糖尿病の膵β細胞障害における酸化ストレスの病態生理学的意義を明らかにし、将来における抗酸化剤治療の臨床応用に向けてプロブコールの潜在的有用性を検討した。

その結果、2型糖尿病におけるプロブコール投与は、慢性高血糖により誘導される酸化ストレスの軽減を通じて膵β細胞機能を保護することが示された。その際、インスリン分泌のみならず、膵島容量およびインスリン含量も保持されたことから、プロブコールは膵β細胞数の維持とインスリン生合成の改善をもたらしたものと考えられた。

プロブコールは抗高脂血症薬として既に臨床の場で広く用いられているおり、今回の研究の成果はヒト2型糖尿病に対する抗酸化剤治療にも繋がりうるものであり、学位に値するものと認めた。