The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	内分泌系におけるビタミンCの生理的意義に関する研究 : 糖尿病時と妊娠期における影響について
Author(s)	井口, 拓馬
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49659
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

【８】

氏　　名	井　口　拓　馬（いぐち　たくま）
博士の専攻分野の名称	博　士（薬　学）
学　位　記　番　号	第　２２８７７　号
学位授与年月日	平成21年３月24日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 薬学研究科応用医療薬科学専攻
学　位　論　文　名	内分泌系におけるビタミンＣの生理的意義に関する研究～糖尿病時と妊娠期における影響について～
論文審査委員	（主査） 教　授　堤　　康央 （副査） 教　授　那須　正夫　　教　授　平田　收正　　教　授　高木　達也

論　文　内　容　の　要　旨

ビタミンCはL-ascorbic acid（AsA）の常用名で知られ、collagenの生成および保持、catecholamineの生成に関与することが明らかにされているほか、抗酸化作用に基づいた生体異物の解毒、抗ガン作用など多くの作用を持つ可能性が報告されている。AsAは感冒や生活習慣病の予防に効果があるなどと言われており、AsAに対する一般の関心は高い。しかし、AsAの分子レベルにおける作用機構の解明は他のビタミンに比べてほとんど進んでおらず、ただ体に良いという漠然としたイメージが強い。近年、分子生物学の発展により、1997年にRusseyらのグループによって、酸化型AsAは促進拡散型グルコース輸送体であるglucose facilitative glucose tranpsport 1、3、4を介することが明らかにされ、1999年にはTsukaguchiらのグループにより、2種のAsA特異的輸送体sodium dependent vitamin C transporter（SVCT）1および2がラットからクローニングされた。その後、AsA輸送系に関しては、機能的な面からの検討が徐々に始まっているが、これまでに提唱されているAsAの作用に関して、これらのAsA輸送系の関与に基づいた検討は骨代謝に関する当研究室での研究や、ケラチノサイトに関するもの以外はほとんど皆無である。例えば、糖尿病時には、血中AsA濃度が低下していることが報告されている。糖尿病ではその合併症が問題となるが、それには様々な組織で発生する酸化ストレスが一因であると報告されていることから、AsAが当該組織で抗酸化作用を発揮することで防御的に働き、その結果、血中濃度が減少していると考えられてきた。そのため、糖尿病時にはAsAの積極的な摂取が推奨されているが、具体的な作用機構については明らかにされていないのが現状である。糖尿病時に限らず、妊娠時にもAsAが低下することが報告されている。妊娠時のAsAの重要性を示すものとして、黄体機能不全の女性へのAsAの十分な摂取が妊娠率の向上につながったという報告があり、AsAが妊娠維持にも関与するのではないかと考えられるが、妊娠時のAsAの具体的な生理的意義についても未だ明らかにされていない。そこで、本研究では、糖尿病時と妊娠期におけるAsAの生理的意義について、AsA輸送系に着目して研究した。

まず、糖尿病合併症に与えるAsAの影響を検討する目的で、streptozotocin誘発糖尿病モデルマウス（STZマウス）を用い、糖尿病時のAsAの体内動態およびSVCTの発現を検討するとともに、糖尿病性高脂血症におけるAsAの生理的意義を解明することを試みた。その結果、STZマウスの副腎ではAsA濃度が有意に上昇しており、副腎のAsA輸送体であるSVCT2のmRNA発現も増加していた。副腎におけるAsAの生理的作用のうちの一つとして、dopamineをnorepinephrine（NE）に変換する際の酵素であるdopamine β-hydroxylaseのコファクターとして働くことが知られている。糖尿病時の様々な合併症のうち、特に高脂肪血症は血漿中のNE濃度に最も影響される。実際に、STZマウスでは血漿NE濃度が増加していたことから、糖尿病モデルマウスに併発する高脂肪血症は、副腎のSVCT2の発現上昇を伴うことが示唆された。次に、STZマウスにAsAを摂取させることで、糖尿病時のAsA摂取の影響について検討した結果、AsAが糖尿病時に増加した副腎SVCT2の発現を抑制することと、副腎へのAsA取り込みを抑制し、NEの過剰産生や高脂肪血症を改善することを見いだ

した。次に、ヒト胎盤の内分泌機能に与えるAsAの影響を検討する目的で、ヒト胎盤絨毛細胞株であるJEG-3細胞をモデル細胞として用い、妊娠維持に関与するホルモンであるhCG、progesterone、estradiol産生を測定した結果、いずれのホルモン産生もAsAにより促進されることが明らかとなった。胎盤でのAsA輸送は主にSVCT2を介することが報告されていることから、AsAによるヒト胎盤内分泌機能への影響がSVCT2を介したものであるかを検討するために、レトロウイルス発現ベクターを用いたRNA干渉法を用いてSVCT2ノックダウンJEG-3細胞を作製した。作製したノックダウン細胞ではAsAによるホルモン産生促進作用も抑制された。しかし、AsAがSVCT2を介して細胞内に取り込まれた後、どのようなシグナル伝達経路を介して各ホルモン産生を促進するのかについては不明なままである。そこで、細胞内に取り込まれたAsAがどのようなシグナルを介して作用を示すのかを明らかにするために、hCGの活性本体であるhCGβの中でも胎盤で主に発現しているhCGb5に着目し、そのプロモーター上のAsA応答領域をレポーターアッセイにより絞り込んだ結果、hCG β5の転写開始点より上流-347 bp～-323 bp にAsA応答領域が存在することを見いだした。以上より、糖尿病時と妊娠期におけるAsAの生理的意義について、AsA輸送体であるSVCTを介した作用が明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

ビタミンC（AsA）は、抗酸化作用に基づいた生体異物の解毒、抗ガン作用、生活習慣病の予防効果など、多様な生理作用を発揮しうるものと考えられているものの、その分子作用メカニズムは殆ど解明されていない。例えば、糖尿病時には、血中AsA濃度が低下していることが報告されている。糖尿病では、往々にして合併症が問題となるが、その発症は種々の組織で発生する酸化ストレスが要因の1つと考えられている。この際にAsAは、当該組織で抗酸化作用を発揮することで防御的に働き、その結果、血中濃度が減少しているものと推定されている。そのため現状では、経験的に、糖尿病時には、AsAの積極的な摂取が推奨されているが、具体的な作用機構については明らかとされていない。糖尿病時に限らず、妊娠時にもAsAが低下することが報告されているが、妊娠時のAsAの具体的な生理的意義についても未だ明らかにされていない。一方で近年、酸化型AsAが促進拡散型グルコース輸送体であるglucose facilitative glucose tranpsport 1、3、4を介することが明らかにされ、またAsA特異的輸送体sodium dependent vitamin C transporter（SVCT）1および2がクローニングされた。そこで本研究では、糖尿病時と妊娠期におけるAsAの生理的意義について、AsA輸送系に着目して研究を実施し、以下の知見・結論を得た。

1. 糖尿病時に併発するnorepinephrineの上昇および高脂肪血症には、副腎のSVCT2の発現制御が関与している可能性を示した。
2. AsAは糖尿病時に増加した副腎SVCT2の発現を抑制することで、副腎へのAsA取り込みを抑制し、norepinephrineの過剰産生や高脂肪血症を改善する可能性があることを見出した。
3. AsAはヒト胎盤モデル細胞のhCGおよびステロイドホルモン産生を促進していること、その作用にはSVCT2が関与していることを明らかとした。
4. AsAによるhCGの発現上昇は、hCG・5プロモーター領域の上流約-347 bp～-323 bpにおける応答領域を介して引き起こされることを認めた。

以上、本研究では、糖尿病時と妊娠期におけるAsAの生理的意義について、AsA輸送体であるSVCTを介した作用が明らかとなった。本研究成果は、糖尿病やその合併症、種々妊娠時の問題、更年期障害などに対する最適治療法等の情報を提供するものであり、博士（薬学）の学位を授与するにふさわしいものと考える。