

学位授与番号：甲 9 9 8 号

氏 名：塚本 雅美

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 27 年 12 月 22 日

学位論文名：

GLP-1 受容体作動薬 Exendin-4 の末梢神経保護作用：インスリンおよび RhoA の関与

主論文名：

Neurotrophic and neuroprotective properties of exendin-4 in adult rat dorsal root ganglion neurons: involvement of insulin and RhoA.

(GLP-1 受容体作動薬 Exendin-4 の末梢神経保護作用:インスリンおよび RhoA の関与)

学位審査委員長：教授 加藤総夫

学位審査委員：教授 靱山俊彦 教授 吉田博

論文要旨

塚本 雅美

指導教授名 宇都宮 一典

Neurotrophic and neuroprotective properties of exendin-4 in adult rat dorsal root ganglion neurons: involvement of insulin and RhoA

(GLP-1 受容体作動薬 Exendin-4 の末梢神経保護作用 :

インスリンおよび RhoA の関与)

Masami Tsukamoto, Naoko Niimi, Kazunori Sango, Sizuka Takaku,

Yasushi Kanazawa, Kazunori Utsunomiya

Histochemistry and Cell Biology;2015;144:249~259)

インクレチンの一つである glucagon-like peptide (GLP)-1 は、血糖依存的なインスリン分泌促進、グルカゴン分泌抑制（膵作用）に加え、その多彩な膵外作用が注目されている。中枢神経系では、アルツハイマー型認知症モデルマウスの記憶力低下やパーキンソン病モデルマウスの運動機能低下に対し、GLP-1 受容体作動薬が改善効果を示すことが報告されている。しかしながら末梢神経系に関する報告は少なく、その作用機序も不明である。今回、私たちは成熟ラット後根神経節から単離した DRG ニューロンや株化細胞である PC12 を用いて Exendin-4 の神経栄養的、神経保護的効果を検討した。まず、GLP-1 受容体は神経細胞の中でも、大径ニューロン、小径ペプチドニューロンに幅広く発現していた。また、ラット DRG ニューロンに Exendin-4 を投与することで濃度依存的に神経突起伸長、神経突起割合、細胞生存率が改善した。その効果は、培養液中にインスリンを添加しない状況でより顕著であった。また、PC12 細胞に Exendin-4 を投与すると継時的に RhoA 活性の低下がおこり、その低下は PI3K 阻害剤で抑制された。

以上のことから、Exendin-4 は、PI3K を介して RhoA 活性を抑制することで神経突起伸長や細胞生存に関与している可能性が示唆された。また、神経細胞においては Exendin-4 や他の GLP-1 受容体作動薬は糖尿病性神経障害においてインスリン欠乏を補いその保護的効果を示す可能性が考えられた。

審査審査の結果の要旨

塚本氏の学位請求は、主論文 1 編からなり、近年、糖尿病治療薬として広く使用されている GLP-1 受容体作用薬が培養感覚神経細胞におよぼす影響を解析したものである。

12 月 7 日 靱山俊彦教授、吉田 博教授、そして私を委員とする審査委員会による公開審査会を開催し、学位請求論文の内容の紹介に続き、質疑応答による公開口頭試験を行った。

本論文の内容に関し、下記の質問があった。

- RhoA 系の関与についてどう考えるか。
- RhoA 系の標的タンパクはなにか？
- すでに報告されている脳内での GLP-1 受容体作用薬の効果との関連をどう考えるか？
- データの中に非常にばらつきの多い例があるがその原因をどう考えるか？
- GLP-1 の免疫組織化学的解析に用いた抗体の特異性および受容体の選択性について、どう考えるか？
- Insulin と GLP-1 アゴニストの作用に併用効果はあるのか？ 作用は加算的か？
- PI3K を介した細胞内メカニズムは insulin と共通と考えるのか？ それとも別のメカニズムと考えるのか？
- 細胞の生存数を評価しているが、これは、生存に及ぼす効果と考えているのか、それとも増殖に及ぼす効果と考えているのか？
- PC12 細胞を用いて RhoA の活性を評価しているが、同細胞に GLP-1 の受容体が発現していることは確認したか？
- 培地中に高濃度のグルコースが含まれているが、グルコースの影響を検討したか？
- 二重染色の結果においてほとんどの後根神経節細胞が GLP-1 受容体陽性となっているが、抗体特異性は検討したか？
- インスリン成長因子 IGF の影響は検討したか？ また、その可能性についてどう考えるか？

これらの質問、指摘に対し、塚本氏は、既知の事実、未知の仮説を区別して適切な回答をした。本論文は、後根神経節細胞における GLP-1 受容体の局在と、その作用薬による PI3K 活性化を介した神経突起伸長の促進ならびに神経細胞生存率の改善効果を初めて示したものであり、糖尿病神経障害の治療法の発展に

貢献するものと考えられる

以上に基づき、審査委員会で協議した結果、塚本雅美氏の学位請求は、論文の内容ならびに公開口頭試験の結果から、医学博士の学位にふさわしいものと判断した。