

## 学位論文抄録

温熱と微弱電流併用療法の2型糖尿病モデルマウスにおける  
膵β細胞機能改善効果および健常人における安全性の確認  
(Heat shock treatment with mild electrical stimulation improves pancreatic  
β-cell function in mice models of type 2 diabetes, and safely reduces  
inflammatory markers in healthy male subjects)

佐々木 一成

熊本大学大学院医学教育部博士課程臨床医科学専攻代謝内科学

指導教員

荒木 栄一 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻代謝内科学

## 学位論文抄録

[ 目的 ] 2型糖尿病における膵β細胞機能不全の一部は、高血糖などに起因した細胞内ストレスに伴う JNK (c-jun N-terminal kinase)活性化により引き起こされる。近年、Hsp72 (Heat shock protein 72) が細胞内ストレスにより活性化された JNK を抑制することが報告されている。著者らは heat shock (HS) と mild electrical stimulation (MES) の併用による相乗的 Hsp72 発現誘導、肥満糖尿病動物における内臓脂肪減少・インスリン抵抗性改善効果について報告を行ってきた。本研究では HS と MES の併用による膵β細胞機能の改善効果を検討した。また、HS と MES 併用のメタボリックシンドロームや 2 型糖尿病への臨床応用を目指し、健常人に対する臨床試験を行った。

[ 方法 ] HS (42°C) と MES (5V, 0.1milli sec, 55 pluses/sec) を MIN6 細胞に同時印加した。印加後の MIN6 細胞を TNF- $\alpha$  存在下で培養し、Hsp72、リン酸化 JNK の発現を検討した。糖尿病モデルの db/db マウス に HS(42°C) と MES (12V, 0.1milli sec, 55 pluses/sec) を週 2 回 12 週間同時印加し、耐糖能を糖負荷試験にて検討、同時に血清インスリンを測定した。膵臓における Hsp72、リン酸化 JNK、PDX-1 (pancreatic and duodenal homeobox-1)、FoxO1 (forkhead transcription factor) の発現を検討した。健常人に対しては HS (42°C) と MES (12V, 0.1milli sec, 55 pluses/sec) を週 2 回、8 週間同時印加し、一般生化学項目、各種代謝マーカー、炎症性サイトカインを測定した。耐糖能を糖負荷試験にて検討し、内臓脂肪量を腹部 CT にて測定した。

[ 結果 ] HS と MES の併用を行った MIN6 細胞において、温熱単独、微弱電流単独と比して Hsp72 の発現上昇を認めた。HS と MES を施行した MIN6 細胞では、TNF- $\alpha$  刺激により活性化された JNK のリン酸化が抑制された。Hsp72 を過剰発現した MIN6 細胞でも同様に、TNF- $\alpha$  刺激により活性化された JNK のリン酸化が抑制された。

HS と MES の併用を行った db/db マウスは sham-treat 群と比べ体重、摂食量は有意差を認めなかったが、空腹時および随時血糖値の有意な低下を認め、空腹時インスリンも低下した。糖負荷試験において、血糖上昇の抑制とインスリン分泌の改善を認めた。血清アディポネクチンは上昇傾向を認めたが、血清レプチンは変化を認めなかった。膵臓において Hsp72 の発現上昇を認め、インスリン mRNA の発現は上昇、インスリン含量も上昇した。膵β細胞において、sham-treat 群において認められた JNK 活性化が抑制された。また免疫組織化学染色にて、FoxO1 の核外移行、PDX-1 の核内発現上昇を認めた。また、アポトーシス関連タンパクの低下、膵β細胞機能改善を示唆するタンパクの増加を認めた。

HS と MES の併用を行った健常人は、体組成、糖代謝、血液生化学に変化なく、有害事象も認めなかった。内臓脂肪、皮下脂肪は約 4% 減少し、中断 8 週後には前値に帰した。血清レプチン、血清アディポネクチンにも変化を認めず、糖負荷試験において、耐糖能は変化しなかった。一方、炎症性サイトカインである TNF- $\alpha$  値と高感度 CRP 値の有意な低下を認めた。

[ 考察 ] HS と MES の併用は 2 型糖尿病モデル動物において膵β細胞機能、インスリン分泌を改善し、この表現型の少なくとも一部は Hsp72 による JNK リン酸化抑制によると考えられた。また健常人に対しても安全に使用でき、炎症性サイトカインを減少させる可能性が示唆され、メタボリックシンドロームや 2 型糖尿病への応用が期待される。

[ 結論 ] HS と MES の併用は糖代謝異常関連疾患に対して、従来の薬物療法とは異なるメカニズム、すなわち抗細胞内ストレス作用を持った新たな治療法として期待される。