

## 論文審査の要旨

報告番号	総研第 <b>495</b> 号	学位申請者	Timothy Sean Kairupan
審査委員	主査	堀内 正久	学位 博士 (医学)
	副査	奥野 浩行	副査 橋口 照人
	副査	西尾 善彦	副査 宮田 篤郎

**Rubiscolin-6 activates opioid receptors to enhance glucose uptake in skeletal muscle**

(ルビスコリン-6 はオピオイド受容体を活性化することで骨格筋の糖取込みを促進する)

ルビスコリン-6 は d-ribulose-1,5 biphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) 由来の生理活性ペプチドであり、6 残基のアミノ酸、Tyr-Pro-Leu-Asp-Leu-Phe (YPLDLF) から構成される。また、 $\delta$ -オピオイド受容体:  $\delta$  opioid receptor (DOR) と  $\mu$ -オピオイド受容体:  $\mu$ -opioid receptor (MOR) の双方に結合するが、DOR に対してより高い親和性を示す。オピオイド系は痛みの制御において中心的な役割を担っており、hedonic homeostasis、気分や満足感に関与する重要な因子の 1 つである。一方、オピオイドレセプター (OR) のグルコース恒常性における役割が示唆されている。この研究の目的はルビスコリン-6 が骨格筋におけるグルコースの取り込みを促進するかどうか、また、その機序に OR が関与するかどうかを *in vitro*、*in vivo* の双方で確認することである。

本研究において学位申請者はルビスコリン-6 の細胞に対する糖取込みへの影響を検証するために、ラットの筋芽細胞系である L6 とマウス筋芽細胞系である C2C12 を用いた。また学位申請者は、ストレプトゾトシン (STZ) 誘発性糖尿病モデルラットにおけるルビスコリン-6 の *in vivo* での影響を解析した。ルビスコリン-6 によるグルコース取り込みへの影響を検証するため、蛍光試薬である 2-[N-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl) amino]-2-deoxyglucose (2-NBDG) の取り込み実験を L6 および C2C12 で行った。また、ウェスタンブロッティング法により glucose transporter 4 (GLUT4) の細胞や組織における発現および AMP-activated protein kinase (AMPK) の L6 および C2C12 における発現を解析した。

本研究における新たな発見は以下のとおりである。

1. ルビスコリン-6 は濃度依存的にグルコースの取り込みを L6 および C2C12 において促進する。
2. ルビスコリン-6 は AMPK のリン酸化を促進し、GLUT4 の膜分画へのトランスロケーションを促進する。
3. ルビスコリン-6 の影響は OR アンタゴニスト (naltrindole, naloxone, naloxonazine) や関連するシグナル阻害剤 YM-254890 (Gaq/11 阻害剤) と U73122 (PLC 阻害剤)、compound C (AMPK 阻害剤) によって阻害される。
4. ルビスコリン-6 は投与量に依存して STZ-誘発性糖尿病ラットにおける高血糖を抑制し、GLUT4 の骨格筋での発現を亢進する。
5. ルビスコリン-6 は STZ-誘発性糖尿病ラットにおける摂餌量と体重を正常化した。

本研究において学位申請者は、ルビスコリン-6 が骨格筋での GLUT4 のトランスロケーションを引き起こす AMPK の活性化を介したグルコース取り込みの促進機序を示した。さらに、PLC と関連した OR 共役型 Gaq/11 が関与分子として同定された。従って、ルビスコリン-6 は、糖尿病のようなグルコース代謝障害疾患において有益な治療薬となる可能性があると考えられる。

新規ペプチドの糖代謝改善の分子機序を明らかにした本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。