

## 論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（薬学）	氏名	長田 麻央
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
論文題目			
モノアミン受容体阻害による膵β細胞からのインスリン分泌抑制機序に関する研究			
最終試験担当者			
主査	教授	森岡 徳光	印
審査委員	教授	高野 幹久	
審査委員	准教授	木下 英司	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>非定型抗精神病薬であるオランザピンは，ドパミン受容体（D<sub>2, 3, 4</sub>）やセロトニン受容体（5-HT<sub>2A, 2B, 2C, 6</sub>），ヒスタミン受容体（H<sub>1</sub>），アドレナリン受容体（α<sub>1</sub>），アセチルコリン受容体（M<sub>1, 2, 3, 4, 5</sub>）など多くの受容体に対して拮抗することで抗精神病作用を示す多元受容体遮断薬である。一方，オランザピンは副作用として血糖値の上昇に伴う糖尿病性ケトアシドーシスを惹起することが報告されている。これまでに，アドレナリン α<sub>2</sub> 受容体刺激薬が血糖値を変動させることが示されていることから，オランザピンによる血糖値の上昇にモノアミン受容体遮断作用が関与している可能性が考えられる。本研究では，ハムスター由来膵β細胞株である HIT-T15 細胞を用いて，膵β細胞からのインスリン分泌におけるドパミン，セロトニンおよびヒスタミン受容体の関与を解明することを目的とした。</p> <p>HIT-T15 細胞におけるドパミン受容体（D<sub>2, 3, 4</sub>），セロトニン受容体（5-HT<sub>2A, 2B, 2C, 6</sub>）およびヒスタミン受容体（H<sub>1, 2</sub>）の発現は，ウエスタンブロット法および RT-PCR 法で解析した。インスリン分泌の評価は，HIT-T15 細胞をオランザピンまたは各受容体の刺激薬または遮断薬を含む 10 mM グルコース含有培地で 1 時間インキュベーションし，培地中に分泌されたインスリン量を ELISA 法で測定することにより実施した。さらに，オランザピンの長期曝露の影響を解析するため，HIT-T15 細胞を 100 nM のオランザピンを含有した培地中で 30 日間培養し，上記と同様の方法でインスリン分泌を評価した。</p> <p>RT-PCR 法による解析の結果，HIT-T15 細胞に D<sub>2, 3, 4</sub>，5-HT<sub>2A, 2B, 2C, 6</sub> および H<sub>1, 2</sub> 受容体 mRNA の発現が確認された。また，ウエスタンブロット法により D<sub>2</sub> および 5-HT<sub>2A</sub> のタンパク質発現が確認された。</p> <p>臨床血中濃度（60-160 nM）に相当するオランザピンの単回曝露は HIT-T15 細胞からのインスリン分泌を有意に抑制した。また，100 nM のオランザピンを 30 日間</p>			

曝露した場合、オランザピンを含んでいない培地で培養した群と比べて、インスリン分泌は低下した。また、オランザピンの単回曝露によるインスリン分泌の低下が認められなかった。

インスリン分泌とドパミン受容体との関連について解析した結果、インスリン分泌は、 $D_2$  受容体刺激薬の共存により抑制され、遮断薬の共存により亢進された。一方、インスリン分泌は  $D_3$  受容体刺激薬の共存により亢進され、遮断薬の共存により有意に抑制された。さらに、 $D_4$  受容体刺激薬および遮断薬の共存はいずれもインスリン分泌を有意に抑制した。以上の結果から、膵  $\beta$  細胞からのインスリン分泌抑制には  $D_2$  および  $D_4$  受容体の刺激作用が関与し、分泌亢進に  $D_3$  受容体の刺激作用が関与することが明らかになった。次に、インスリン分泌におけるセロトニン受容体の関与について解析した。 $5-HT_{2A}$  および  $5-HT_6$  受容体の刺激薬および遮断薬の共存はインスリン分泌量に影響を示さなかった。また、 $5-HT_{2B}$  受容体刺激薬の共存はインスリン分泌をわずかに増加させたが、遮断薬の共存では変動しなかった。一方、 $5-HT_{2C}$  受容体刺激薬はインスリン分泌に影響しなかったが、遮断薬はインスリン分泌をわずかに抑制した。これらの結果は、膵  $\beta$  細胞からのインスリン分泌亢進に  $5-HT_{2B}$  受容体の刺激作用が関与することを示すものである。

最後にインスリン分泌におけるヒスタミン受容体の関与を解析した。 $H_1$  受容体刺激薬の共存はインスリン分泌を有意に増加させ、遮断薬の共存はインスリン分泌を有意に抑制した。一方、 $H_2$  受容体刺激薬を共存させた場合、インスリン分泌は低下したが、遮断薬はインスリン分泌ほとんど影響を示さなかった。以上の結果から、膵  $\beta$  細胞からのインスリン分泌は  $H_1$  受容体の刺激により促進され、 $H_2$  受容体の刺激により抑制されることが明らかになった。これらの結果より、オランザピンは  $D_3$ 、 $5-HT_{2B}$  および  $H_1$  受容体を遮断することでインスリン分泌を抑制することが考えられた。

本研究により、膵  $\beta$  細胞からのインスリン分泌の調節には  $D_3$ 、 $5-HT_{2B}$  および  $H_1$  受容体が関与することを明らかにした。また、膵  $\beta$  細胞におけるオランザピンによる上記モノアミン受容体の遮断作用が、副作用としての高血糖発症機序のひとつであることが示唆された。さらに、オランザピンの服用期間によって膵  $\beta$  細胞におけるモノアミン受容体の発現量や機能が変化し、インスリン分泌に対するモノアミン受容体の寄与率が変動する可能性があると考えられた。

以上の結果から、本論文は各種モノアミンによるインスリン分泌の変動機序、およびオランザピンの高血糖副作用の発現機序の解明において極めて重要な知見であると高く評価され、今後の薬学研究の発展に大きく貢献するものである。

よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（薬学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。