

(52)

氏名(生年月日)	タカヤマ スミヨ子 高 山 澄 子
本 籍	
学 位 の 種 類	医学博士
学位授与の番号	乙第804号
学位授与の日付	昭和62年 1 月23日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当 (博士の学位論文提出者)
学位論文題目	Phorbol esters modulate insulin receptor phosphorylation and insulin action in cultured hepatoma cells (ラット肝癌細胞におけるインスリン受容体の磷酸化, 及びインスリン作用に対するフォルボールエステルの影響について)
論文審査委員	(主査) 教授 平田 幸正 (副査) 教授 鎮目 和夫, 教授 今井 康晴

論 文 内 容 の 要 旨

目的

フォルボールエステル (phorbol myristate acetate 以下 PMA と略) はプロテインキナーゼ C を受容体とする発癌物質である。本研究は PMA のインスリン作用やインスリン受容体磷酸化への影響を検討し、インスリン受容体とプロテインキナーゼ C およびその他のキナーゼとの関係を知るとともに、インスリン作用における受容体磷酸化の意義を明らかにすることを目的とした。

実験材料

全ての実験にラット Reuber 肝癌細胞の一種である Fao 細胞を使用した。

方法

1) ^{125}I インスリン受容体結合：培養液に種々の濃度の無標識インスリンと ^{125}I インスリンを加え、細胞に結合した放射活性を測定した。

2) グリコーゲン合成酵素, およびチロシンアミノトランスフェラーゼ (TyrATase) 活性の測定：インスリンあるいは PMA で刺激後、細胞を集め、破砕、遠心し、その上清中の各酵素活性を測定した。

3) インスリン受容体の磷酸化：細胞を ^{32}P オルト磷酸にて標識し、インスリンあるいは PMA で刺激後、可溶化し、超遠心した。上清をレクチンカラムにかけ、溶出した糖蛋白から、インスリン受容体抗体によって免疫沈降した ^{32}P 標識蛋白をゲル電気泳動によって分

別し、X 線フィルムに感光させ蛋白を同定した。その後、ゲルより分子量 95K のインスリン受容体を切り取り、その切片をトリプシン処理後、2 次元ペプチドマッピングを行ない、さらに塩酸を加え、 110°C にて加水分解後、ホスホアミノ酸を同定した。

結果

Fao 細胞においては、1) PMA はインスリンとインスリン受容体との結合に影響しなかった。2) PMA はインスリンによって刺激されるグリコーゲン合成酵素, および TyrATase 活性を抑制した。3) PMA はインスリン受容体の主にセリン残基の磷酸化を促進したが、インスリンにより誘発されるチロシン残基の磷酸化を抑制した。PMA はインスリン受容体に対し、インスリンによる磷酸化部位と異なった部位の磷酸化を促すことが判明した。

考察と結論

PMA はプロテインキナーゼ C の活性化物質であるため、プロテインキナーゼ C がインスリンの作用、インスリン受容体磷酸化に関与することが推察された。しかし、このプロテインキナーゼ C のインスリン受容体に対する関与が直接作用か間接作用かは、断定できなかった。また、PMA によりインスリン作用が阻害され、且つ、インスリン受容体のチロシン残基の磷酸化が阻害されたことより、細胞レベルにおけるインスリンの生物学的作用発現の一步として、チロシン残基に

における受容体磷酸化が重要である可能性が示唆された。

論文審査の要旨

本論文はインスリンの作用発現に際して起こるインスリン受容体磷酸化機構の一端を明らかにしたものであって、学術上価値あるものと認める。

主論文公表誌

Phorbol esters modulate insulin receptor phosphorylation and insulin action in cultured hepatoma cells (ラット肝癌細胞におけるインスリン受容体の磷酸化及びインスリン作用に対するフォルボールエステルの影響について)

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America
Vol. 81, 7797~7801p (1984)

副論文公表誌

- 1) Differences in the sites of phosphorylation of the insulin receptor in vivo and in vitro (in vivo 及び in vitro におけるインスリン受容体の磷酸化部位の相違について)
J Biol Chem 260 (16) 9470~9478 (1985)
- 2) 若年発症糖尿病患者における病型分類および家族歴に関する研究
糖尿病 26 (4) 477~483 (1983)
- 3) 血漿交換療法が著効を示した重症筋無力症併発の72歳糖尿病の1例
糖尿病 26 (11) 1151~1157 (1983)