

審査の結果の要旨

氏名 寺内 康夫

本研究はグルコキナーゼ欠損マウス、グルコキナーゼ・インスリン受容体基質-1 ダブル欠損マウスの作製と解析を通して、多因子病である2型糖尿病発症の分子機構の解明を試みたものであり、以下の結果を得ている。

1. β 細胞内に取り込まれたグルコースは解糖系の一番最初に位置する酵素 グルコキナーゼによりリン酸化され、グルコース-6リン酸になる。グルコキナーゼを膵 β 細胞で特異的に欠損するマウスを世界に先駆けて樹立した。グルコキナーゼヘテロ欠損マウスはインスリン分泌不全に起因する耐糖能異常をおこし、ホモ欠損マウスは著明な高血糖による脱水状態となって数日で死亡した。免疫組織染色を用いた検討より、グルコキナーゼは膵臓の形態形成、細胞分化、インスリン生合成には必須ではないことがわかった。また、グルコキナーゼヘテロ欠損膵島ではグルコース濃度の上昇に対するインスリン分泌増加が障害され、グルコキナーゼホモ欠損膵島ではグルコース濃度上昇に対するインスリン分泌反応が全く見られなかった。また、グルコキナーゼホモ欠損膵島ではグリベンクラミドに対してある程度反応し、アルギニンに対してほぼ正常に反応したことより、これら分泌刺激物質に対する反応上必須のものではないことも明らかとなった。このように、グルコキナーゼが膵島においてグルコースセンサーの役割を果たしていることを個体レベルおよび細胞レベルで直接証明した。グルコキナーゼヘテロ欠損マウスはインスリン分泌不全を有する糖尿病モデル動物となる。
2. グルコキナーゼ欠損マウス新生児の体重、血糖値、インスリン値を測定することにより、胎児期のインスリン分泌が胎児の成長・出生時体重を規定する可能性を検討した。雄ヘテロ欠損マウスと雌野生型マウスの交配により得られたヘテロ欠損マウスは

出生直後の血糖値が野生型マウスと同レベルでありながら、低インスリン血症と低体重を呈しており、出生時低体重は胎児期のグルコース応答性インスリン分泌低下とリンクしていた。グルコキナーゼ遺伝子異常をもつものは胎児期においてグルコース応答性のインスリン分泌が低下し、そのために成長障害がおき、出生時低体重になると考えられた。このグルコキナーゼヘテロ欠損マウスの低体重の成績はヒトグルコキナーゼ遺伝子異常児の低体重の報告とも合致しており、胎児期のインスリン分泌・作用が胎児の成長を規定するという fetal insulin 仮説を支持する。

3. 膵β細胞特異的グルコキナーゼヘテロ欠損マウスはインスリン分泌不全とそれに起因する耐糖能障害を呈したが、糖尿病には至らなかった。ヒトのグルコキナーゼ遺伝子異常症ではインスリン分泌不全に加えて、インスリン抵抗性が認められ、糖尿病を発症する。そこで、インスリン抵抗性を持たない膵β細胞特異的グルコキナーゼヘテロ欠損マウスに遺伝因子によるインスリン抵抗性が加わるとどうなるか検討するため、インスリン分泌不全を遺伝的に有する膵β細胞特異的グルコキナーゼヘテロ欠損マウスと、インスリン抵抗性を遺伝的に有するインスリン受容体基質-1 (IRS-1) 欠損マウスとの交配を行った。膵β細胞特異的グルコキナーゼヘテロ欠損マウスはインスリン分泌能が低下しているため耐糖能異常は認められるものの、インスリン抵抗性は無いため糖尿病を発症するには至らない。IRS-1 欠損マウスはインスリン抵抗性は有するものの、高インスリン血症により代償され、耐糖能は正常である。ところが両者を掛け合わせたグルコキナーゼ (ヘテロ) IRS-1 (ホモ) ダブル欠損マウスでは相乗的に耐糖能の悪化を認め糖尿病を発症した。組織学的検討の結果、IRS-1 欠損によるインスリン抵抗性があっても膵β細胞過形成により十分に代償されるため、血糖の上昇がみられない。しかし、グルコキナーゼヘテロ欠損をかけ合わせるによりグルコースに対するインスリン分泌低下が加わった場合には、インスリン抵抗性に対し膵β細胞過形成が“正常”におこっても十分には代償されず、糖尿病を発症すると考えられた。このように糖尿病候補遺伝子の欠損マウスのかけ合わせにより多因子病としてのヒト糖尿病を再構成し、糖尿病の発症進展にはインスリン分泌不全とインスリン抵抗性の

両者の存在が重要であることを個体レベルで直接示した。

以上、本論文は発生工学を用いたグルコキナーゼ欠損マウス、グルコキナーゼ・インスリン受容体基質-1 ダブル欠損マウスの作製と解析を通して、グルコキナーゼが膵島においてグルコースセンサーの役割を果たしていること、胎児期のインスリン分泌が胎児の成長を規定すること、糖尿病の発症進展にはインスリン分泌不全とインスリン抵抗性の両者の存在が重要であることを示した。ヒト2型糖尿病の発症・進展においてもインスリン分泌不全とインスリン抵抗性の両者が相乗的に働いていることが示唆された。本研究はヒト2型糖尿病発症の分子機構の解明という糖尿病・代謝学の重要な分野への貢献は極めて大きいと考え、学位の授与に値するものと考えられる。