

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 高本 偉 碩

本研究は、急増する糖尿病を制御する上で重要な研究テーマであると考えられる、高脂肪食誘導性のインスリン抵抗性に対する代償性の膵β細胞過形成の分子メカニズムを明らかにするために、インスリン分泌低下型耐糖能異常を呈する膵β細胞特異的グルコキナーゼヘテロ欠損マウスに対して高脂肪食を負荷しインスリン抵抗性を惹起する系にて、耐糖能や膵島、膵β細胞量の解析、膵島の DNA チップ解析等を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1) 野生型マウス、グルコキナーゼヘテロ欠損マウスに高脂肪食を負荷すると、両者は同程度の肥満とインスリン抵抗性の増悪を呈した。糖負荷試験を行うと、高脂肪食負荷野生型マウスは代償性高インスリン血症によりほぼ正常な耐糖能を維持したのに対し、高脂肪食負荷グルコキナーゼヘテロ欠損マウスは代償性高インスリン血症を欠き、耐糖能が悪化して糖尿病を発症した。膵組織像では、高脂肪食負荷野生型マウスでは著明な膵島の増大が認められたが、高脂肪食負荷グルコキナーゼヘテロ欠損マウスでは膵島の増大が認められなかった。膵β細胞数、膵β細胞面積、BrdU 染色、PCNA 染色、アポトーシス反応の検討から、高脂肪食負荷グルコキナーゼヘテロ欠損マウスでは代償性過形成(hyperplasia)が障害されているために膵β細胞量が増加しないことが明らかとなった。

2) 代償性過形成の分子メカニズムを網羅的に解析すべく、高脂肪食負荷野生型マウスと高脂肪食負荷グルコキナーゼヘテロ欠損マウスの膵島の遺伝子発現プロファイルを DNA チップにより比較検討した。総数 12490 パネルの遺伝子のうち、高脂肪食負荷野生型マウスに比較して高脂肪食負荷グルコキナーゼヘテロ欠損マウスで発現が亢進していたものは 144 個、低下していたものは 134 個あった。極めて興味深いことに、高脂肪食負荷グルコキナーゼヘテロ欠損マウスの発現低下遺伝子群のなかで、インスリン受容体基質-2(insulin receptor substrate -2 ; IRS-2)の発現レベルは-25 倍と最も低下していた。その上流に位置する IGF- I 受容体は-2.4 倍に、その下流に位置する Pdk-1 は-3 倍に低下していた。RT-PCR ならびに蛋白レベルによる検討でも、高脂肪食負荷グルコキナーゼヘテロ欠損マウスは IRS-2 や IGF- I 受容体の発現亢進を欠くことが確認された。

3) IRS-2 が果たしている役割をより直接的に検証するために、IRS-2 の発現低下モデルとして IRS-2 ヘテロ欠損(IRS-2^{+/-})マウスに高脂肪食負荷し解析した。高脂肪食負荷 IRS-2^{+/-}マウスは高脂肪食負荷野生型マウスと同程度の肥満とインスリン抵抗性の増悪を呈した。このときの膵島最大長径・膵島β細胞面積を評価すると、高脂肪食負荷 IRS-2^{+/-}マウスでは高脂肪食負荷野生型マウスに比較して増加量が少なかった。さらに、IRS-2 ホモ欠損(IRS-2^{-/-})マウスに関しても同様に検討した。IRS-2^{-/-}マウスは短期間の高脂肪食負荷で糖尿病が悪化するが、膵島最大長径の増加が認められなかった。従って、高脂肪食誘導性のインスリン抵抗性に対する膵β細胞代償性過形成において、IRS-2 が重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

4) 膵β細胞でIRS-2を2~3倍程度に過剰発現するマウス(Rip-IRS-2-Tg)をグルコキナーゼヘテロ欠損マウスと交配することで膵β細胞に対し IRS-2 を補充し、高脂肪食負荷グルコキナーゼヘテロ欠損マウスの表現型が rescue されるか検討した。膵β細胞 IRS-2 過剰発現グルコキナーゼヘテロ欠損マウスはグルコキナーゼヘテロ欠損マウスと比較して、膵β細胞面積の増加・BrdU 陽性細胞数の増加を認め、糖負荷試験ではインスリン分泌と耐糖能の部分的な改善を認めた。

以上、本論文は、グルコキナーゼが膵β細胞のグルコース応答性インスリン分泌において重要な役割を担っているのみならず、高脂肪食誘導性のインスリン抵抗性に対する代償性の膵β細胞過形成においても重要な役割を果たしていることを初めて明らかにした。また、DNA チップによる網羅的遺伝子発現解析を手掛かりに、インスリンシグナルの鍵分子である IRS-2 が、高脂肪食誘導性のインスリン抵抗性に対する代償性の膵β細胞過形成において重要な役割を担うことを初めて明らかにした。

本研究は、これまで未知に等しかった、高脂肪食誘導性のインスリン抵抗性に対する代償性の膵β細胞過形成の分子メカニズムの解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。