

学 位 論 文 題 名

Involvement of K_{ATP} channels in development
and survival of pancreatic islet cells in mice

(マウスの膵島細胞の発達と生存における K_{ATP} チャネルの関与)

学位論文内容の要旨

グルコースによってインシュリンが分泌される機構には、ATP 感受性 K⁺チャネル（以下、K_{ATP} チャネル）が重要な役割を担っている。グルコースがβ細胞内で代謝され、ATP が産生されると、細胞膜上の sulfonylurea 受容体（SUR1）に結合する。その結果、SUR1 とリンクしている K⁺チャネル分子である Kir6.2 が閉じるため、脱分極状態になり、電位依存性 Ca²⁺チャネルが開き、Ca²⁺が細胞内に流入する。共同研究グループの千葉大の清野らは、K_{ATP} チャネルの機能解析を目的に、Kir6.2 ノックアウトマウスを作製した。このマウスはグルコースや sulfonylurea 剤で刺激しても、インシュリンを分泌できないが、血糖値はほぼ正常であった。しかし、このマウスは老齢になると、中程度の肥満になり、血糖値も上昇した。本研究では、K_{ATP} チャネルを欠損する Kir6.2 ノックアウトマウスにおいて、膵島の形態学的変化を検索し、K_{ATP} チャネル欠損が膵島細胞の分化と生存に与える影響を明らかにした。

Kir6.2 ノックアウトマウスは出生時、4種類の島細胞（α、β、δ、PP 細胞）の分布については正常であった。しかしながら、生後 14 週以降になると、α細胞の数が増加し、島中心部にも出現した。この傾向は加齢に伴って顕著になった。一方、β細胞は数が減少するとともにインシュリン抗体に対する染色性も減弱した。従って、α/β細胞の割合も変化し、60 週令以降ではα細胞がβ細胞より数が多くなった。増加したα細胞は PYY(peptide YY)を発現するのが特徴的であった。glucagon と PYY を同時に発現する細胞は膵島の発生初期にあらわれることから、すべての膵島細胞の stem cell と目されている。以上のことから、K_{ATP} チャネルはβ細胞の生存ばかりでなく島細胞の分化に重要な役割を演じていることが示唆された。

K_{ATP} チャネルはβ細胞以外にもα、δ、PP 細胞にも発現している。K_{ATP} チャネルを欠損すると、β細胞の K_{ATP} チャネルが閉じた状態になるため、脱分極状態が続き、細胞内 Ca²⁺濃度が高い状態を招来する。この細胞内 Ca²⁺濃度の上昇は細胞にとっては危険で、しばしば細胞を傷害する。実際、このマウスでは、β細胞のアポトーシス像が頻繁に観察

された。一方、 α 細胞は減少するどころか、増加していた。そこで次に、KATP チャネル欠損により、なぜ α と β 細胞に異なる変化が現われるのかを calcium-binding protein (CaBP) の存在と結び付けて検討した。なぜなら、CaBP が存在すれば、細胞内 Ca^{2+} の上昇を緩衝して、その値を正常化することが知られているからである。膵島には数種の CaBP が存在するが、calbindin-D28k が主要な CaBP であるとされている。

正常マウスと Kir6.2 ノックアウトマウスで、calbindin-D28k の分布を免疫組織化学的に調べたところ、いずれでも、 α 細胞に calbindin が限局して存在することがわかった。従って、KATP チャネル欠損マウスでは、 β 細胞は高濃度 Ca^{2+} により傷害を受けるが、 α 細胞は CaBP の存在によりダメージを受けずにすむことが予想された。他のげっ歯類では、ラットとモルモットでは、 α 細胞が強く、 β 細胞は一部のものが弱い calbindin 免疫活性を示した。ハムスターは特殊で、 α 細胞と β 細胞を含めてすべての島細胞が抗 calbindin 抗体によって強く染色された。

KATP チャネルはインシュリン分泌の重要な調節因子であるが、一方で、細胞の分化にも関与することが示された。また、加齢とともに、中程度の糖尿病を発症するこの動物は、糖尿病の発症機序や治療の研究には有用な動物モデルになると思われる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 岩 永 敏 彦

副 査 教 授 梅 村 孝 司

副 査 教 授 葉 原 芳 昭

副 査 助 教 授 橋 本 善 春

学 位 論 文 題 名

Involvement of K_{ATP} channels in development and survival of pancreatic islet cells in mice

(マウスの膵島細胞の発達と生存における K_{ATP} チャネルの関与)

グルコースによってインシュリンが分泌される機構には、sulfonylurea 受容体と K^+ チャネル Kir6.2 によって構成される ATP 感受性 K^+ チャネル（以下、 K_{ATP} チャネル）が重要な役割を担っている。本研究では、 K_{ATP} チャネルの機能解析を目的に作製された、Kir6.2 ノックアウトマウスにおいて、膵島の形態学的変化を検索し、 K_{ATP} チャネル欠損が膵島細胞の分化と生存に与える影響を明らかにした。

Kir6.2 ノックアウトマウスは、加齢とともに α 細胞の数が増加し、島中心部にも出現した。一方、 β 細胞は数が減少するとともにインシュリン抗体に対する染色性も減弱した。著しく増加した α 細胞は PYY(peptide YY)を発現するのが特徴的であった。glucagon と PYY を共発現する細胞はすべての膵島細胞の stem cell と目されていることから、 K_{ATP} チャネルは、 β 細胞の生存ばかりでなく島細胞の分化に重要な役割を演じていることが示唆された。

K_{ATP} チャネルは β 細胞以外にも α 、 δ 、PP 細胞にも発現している。 β 細胞の減少は、細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇によって説明されるが、なぜ α 細胞には高 Ca^{2+} 濃度による細胞毒性が生じないかの疑問が生じた。そこで、 Ca^{2+} 濃度の上昇に対して緩衝作用のある calcium-binding protein(CaBP)の存在を検討した。正常マウスと Kir6.2 ノックアウトマウスにおいて、代表的な CaBP である calbindin-D28k の分布を免疫組織化学的に調べたところ、両群において、 α 細胞に calbindin が限局して存在することがわかった。従って、 K_{ATP} チャネル欠損マウスでは、 β 細胞は高濃度 Ca^{2+} により傷害を受けるが、 α 細胞は CaBP の存在によりダメージを受けずにすむことが予想された。

以上の結果は、 K_{ATP} チャネルが膵島細胞の分化や生存にも関与することを明らかにしたもので、膵島の形成機序や糖尿病の発症の解明に大きく貢献すると思われる。

よって、審査員一同は、アディ ウィナルト氏が博士（獣医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。