

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	西 清 人
論文題目	Nardilysin Is Required for Maintaining Pancreatic β -Cell Function. (ナルディライジンは膵 β 細胞機能の維持に必要である)		
(論文内容の要旨)			
グルコースは生命維持に必要不可欠な栄養素であり、その血中濃度（血糖値）は常に一定の範囲内に収まるように厳密な調節を受ける。膵β細胞より分泌されるインスリンは、血糖値を降下させる唯一のホルモンであり、血糖値の調節に重要な役割を果たす。インスリン分泌の不足は糖尿病の病態に重要な役割を果たすが、膵β細胞機能の制御機構には不明な点も多い。 ナルディライジン（N-arginine dibasic convertase、以下NRDCと略）はM16ファミリーに属するメタロエンドペプチダーゼであり、細胞表面では heparin-binding epidermal growth factor などの膜タンパク質の細胞外ドメイン切断を活性化し、核内では様々な遺伝子の転写を制御する。NRDC 欠損マウス（全身でNRDCを欠損したマウス）を作製したところ、低体温、やせ（脂肪組織の減少）などの表現型を示し NRDC がエネルギー代謝に重要な役割を果たしていることが示唆されたため、グルコース代謝に焦点を絞って解析を進めた。 NRDC 欠損マウスにグルコース負荷試験を行ったところ耐糖能異常を示し、グルコース負荷に対するインスリン分泌反応が著明に減弱していることがその原因と考えられた。次に、Rat insulin promoter cre マウスを用いて膵β細胞特異的NRDC 欠損マウス（β KO マウス）を樹立したところ、β KO マウスはNRDC 欠損マウスと同様にインスリン分泌反応の減弱を認めた。さらに、膵β細胞株 INS832/13 を用いて検討したところ、NRDC のノックダウンによってインスリン分泌の減弱が、NRDC の過剰発現によってインスリン分泌の亢進が、それぞれ認められた。以上の結果から NRDC が膵β細胞において細胞自律的にインスリン分泌を制御していることがわかった。 NRDC 欠損マウスやβ KO マウスの膵島では、インスリン分泌に関わる様々な遺伝子の発現が低下しており、それらの上流にある膵β細胞特異的な転写因子群の内 MafA の発現が特異的に減弱していた。そのため、膵β細胞株 INS832/13 で NRDC の過剰発現と MafA のノックダウンを組み合わせることで解析したところ、NRDC 過剰発現によるインスリン遺伝子（Ins1、Ins2）の発現亢進は、MafA に依存していることがわかった。 NRDC による MafA 発現の制御機構を検討したところ、NRDC が MafA のエンハンサー領域（MafAR3）に結合し、MafAR3 のエンハンサー活性を正に制御することがわかった。また、細胞表面における NRDC の作用を阻害しても MafA の発現が変化しないことも明らかにになり、膵β細胞の NRDC が核内で MafAR3 を介して MafA の転写を調節していることがわかった。			

さらに検討を進め、MafAR3 に結合することが報告されている既知の転写因子の内で Islet1 が NRDC と特異的に複合体を形成することがわかった。そのため、Islet1 に着目して解析を進めたところ、1)NRDC をノックダウンすると MafAR3 上の Islet1 が減少する、2)高度酸性ドメインを欠損したNRDCやLIM ドメインを欠損した Islet1 では複合体形成が著明に障害される、3) 複合体形成が障害される変異体を膵β細胞株に過剰発現しても野生型の過剰発現に比べて MafA の発現上昇が軽度である、ことがわかった。 以上の検討から、NRDC は Islet1 との相互作用を介して MafA の発現を制御し、MafA の発現制御を介してインスリン分泌やグルコース代謝を制御していることが明らかにになった。 (論文審査の結果の要旨) インスリンは膵β細胞から分泌され、血中グルコース濃度の調節に必須のホルモンである。膵β細胞機能不全によるインスリン分泌の不足は糖尿病の病態に重要な役割を果たすが、膵β細胞機能の制御機構には不明な点も多い。本研究では、ナルディライジン (NRDC) 欠損マウスがインスリン分泌不全を示すことに着目して、膵β細胞における NRDC の役割を解析した。 膵β細胞特異的 NRDC 欠損マウスや NRDC をノックダウンした膵β細胞株を用いた検討から、膵β細胞において NRDC が細胞自律的にインスリン分泌やインスリン分泌関連遺伝子の発現を制御していることを明らかにした。また、NRDC が膵β細胞の核内において転写因子 MafA のエンハンサー領域に存在し、MafA の発現調節を介してインスリン分泌関連遺伝子の発現を制御していることもわかった。さらに、NRDC と転写因子 Islet1 が複合体を形成することを見出し、膵β細胞の NRDC が Islet1 との相互作用を介して MafA の発現を調節し、インスリン分泌を制御していることを明らかにした。 以上の研究は、膵β細胞機能制御機構の解明に貢献し、糖尿病・生活習慣病研究の発展に寄与するところが多い。 したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。 なお、本学位授与申請者は、平成29年1月13日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			