

|             |                                                                                                                                                                                                                                                  |
|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名         | 原 田 範 雄                                                                                                                                                                                                                                          |
| 学位(専攻分野)    | 博 士 (医 学)                                                                                                                                                                                                                                        |
| 学 位 記 番 号   | 医 博 第 3211 号                                                                                                                                                                                                                                     |
| 学位授与の日付     | 平 成 20 年 3 月 24 日                                                                                                                                                                                                                                |
| 学位授与の要件     | 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当                                                                                                                                                                                                                          |
| 研究科・専攻      | 医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻                                                                                                                                                                                                                              |
| 学 位 論 文 題 目 | A novel gastric inhibitory polypeptide (GIP) receptor splice variant influences GIP sensitivity of pancreatic $\beta$ -cells in obese mice<br>(新たな gastric inhibitory polypeptide (GIP) 受容体スプライシングバリエーションは肥満状態マウスにおける膵 $\beta$ 細胞の GIP 感受性に影響する) |
| 論文調査委員      | (主 査)<br>教 授 小 泉 昭 夫 教 授 永 田 和 宏 教 授 中 尾 一 和                                                                                                                                                                                                     |

### 論 文 内 容 の 要 旨

Gastric inhibitory polypeptide (GIP) は主に近位小腸に存在する K 細胞から食事摂取により分泌され膵 $\beta$ 細胞からのインスリン分泌を増強するインクレチンである。高脂肪食負荷実験で GIP 受容体欠損マウスは野生型マウスと比較して食後の代償的高インスリン血症がみられず血糖が上昇することから、GIP は肥満における代償的高インスリン血症に関与すると考えられている。肥満状態で血中 GIP 濃度が上昇するという報告はあるが、GIP 受容体の感受性が変化するかどうかについては明らかではない。GIP 受容体は G 蛋白質共役型受容体であり、その遺伝子は 14 エクソンから構成されている。G 蛋白質共役型受容体は一般に様々なスプライシングバリエーションが存在し、野生型受容体機能に影響することが多く報告されている。本論文ではマウス膵 $\beta$ 細胞において GIP 受容体のスプライシングバリエーション（以下変異型 GIP 受容体と略す）を同定し肥満における GIP シグナルへの影響について検討した。

今回同定した変異型 GIP 受容体は mRNA のスプライシング過程でイントロン 8 が残存するため、GIP 受容体第 4 膜貫通部位をコードする部分で終止コドンが生じる。その結果、C 末端 263 アミノ酸が欠損した受容体構造となる。この変異型 GIP 受容体の機能を解析するため、COS-7 細胞に野生型 GIP 受容体を一時的に発現させ GIP 刺激を行ったところ、変異型受容体では野生型受容体で認められる細胞内 cAMP の誘導が認められなかった。さらに野生型と変異型の両受容体を共発現させたところ、変異型受容体は野生型受容体による GIP の細胞内 cAMP 誘導を有意に抑制した。また、変異型受容体は野生型受容体に対する GIP 結合も有意に阻害した。両受容体の局在を検討したところ、野生型受容体は細胞膜表面に発現したのに対し、変異型受容体は小胞体内に発現が認められ、両受容体を共発現させたところ、野生型受容体の細胞膜表面の発現は減少し、小胞体内に発現が多く認められた。以上の結果から、変異型 GIP 受容体は野生型 GIP 受容体の小胞体から細胞膜への発現を阻害することで dominant negative 効果を有することが判明した。

変異型 GIP 受容体の生体内での意義を検討するため、C57BL/6 マウスに 10 週間の高脂肪食負荷（45%脂肪食）を行い、食事性肥満マウスを作成した。高脂肪食負荷マウスでは、通常食負荷（10%脂肪食）マウスと比較して糖負荷後の代償的高インスリン分泌の上昇を認め、血糖は有意な差を認めなかった。両マウスの単離膵島を用いて GIP 刺激による cAMP 産生及びインスリン分泌を比較したところ、高脂肪食負荷マウスで有意に増加したことから、高脂肪食負荷マウスの膵 $\beta$ 細胞において GIP に対する感受性亢進が認められた。膵 $\beta$ 細胞での総 GIP 受容体 mRNA 発現量は両マウスで有意な差を認めないが、高脂肪食負荷マウスでは総 GIP 受容体に対する変異型 GIP 受容体の mRNA 発現比率は減少していた。以上の結果から、高脂肪食による肥満では、dominant negative 効果を有する変異型 GIP 受容体の相対的発現量が減少することにより、GIP 受容体の感受性が亢進し、食後の代償的高インスリン血症に関与する可能性が示唆された。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

Gastric inhibitory polypeptide (GIP) は小腸に存在する K 細胞から食事摂取により分泌され膵 $\beta$ 細胞からのインスリン

分泌を増強するインクレチンである。GIP は肥満における代償性高インスリン血症に関与すると考えられているが、肥満状態での膵β細胞における GIP 受容体の感受性については殆ど検討されていない。

申請者はマウス膵β細胞において GIP 受容体のスプライシングバリエント（変異型 GIP 受容体）を固定し、肥満における GIP シグナルへの影響について検討を試みた。固定した変異型 GIP 受容体は mRNA のスプライシング過程で生じること、また COS-7 細胞を用いた機能解析では野生型 GIP 受容体の小胞体から細胞膜への発現を阻害することで **dominant negative** 効果を有することを明らかにした。さらに、高脂肪食肥満マウスにおいて、代償的インスリン分泌により糖負荷後の血糖が維持されることを確認し、膵β細胞での GIP に対する GIP 受容体感受性が増加すること、膵島細胞における総 GIP 受容体に対する変異型 GIP 受容体の mRNA 発現比率が減少することを明らかにした。以上の結果から、肥満における食後の代償性高インスリン血症に変異型 GIP 受容体に関与する可能性が示唆された。

以上の研究は、肥満における GIP シグナルの役割の解明に貢献し、糖尿病学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みとめる。

なお、本学位授与申請者は、平成 20 年 1 月 28 日実施の論文内容とそれに関連した諮問を受け、合格と認められたものである。