

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 堀内 雄太

膵臓のβ細胞（膵β細胞）は、血糖値を低下させるホルモンであるインスリンを分泌する細胞である。インスリンの作用不足による慢性的な高血糖状態は糖尿病と呼ばれるが、近年特に、生活習慣の悪化などを遠因とする2型糖尿病の患者数が増加傾向にあり、その発症メカニズムの解明や治療法の確立が喫緊の課題となっている。2型糖尿病の発症過程では、膵β細胞の機能不全、すなわちインスリンの分泌量低下や膵β細胞量の減少が大きな影響をもつことから、どのようにして膵β細胞の機能が悪化するのか、また、どのような機構で膵β細胞の機能が正常に保たれているのかを解明することが2型糖尿病の予防や治療に必要であると考えられる。本研究では、マウスの膵β細胞を用いた実験から、M型のピルビン酸キナーゼであるPKM1とPKM2が膵β細胞の機能維持において重要な役割を果たすことを明らかにした。

本研究ではまず、アミノ酸の一種であるL-システインに着目し、L-システインが膵β細胞の機能に与える影響について明らかにした。その結果、特に1-2 mMという低濃度のL-システインを24時間以上添加した際、グルコース刺激誘導性インスリン分泌（GSIS）が抑制されることを確かめた。また、GSISは二相性をもつことが知られているが、L-システインが第一相、第二相のGSISをともに抑制することも確認した。更にこのGSISの抑制がグルコース刺激後の一時的なATP産生量増加の抑制を介したものであることを明らかにするとともに、代謝産物の網羅的解析（メタボローム解析）から、その原因が細胞内のピルビン酸量の減少であることを示した。また、このピルビン酸の減少がL-システインによるピルビン酸キナーゼの活性抑制によるものであることを確かめるとともに、短時間L-システインを除去することでピルビン酸キナーゼ活性、グルコース刺激後のATP産生量増加、GSISがいずれも回復することも確認し、その抑制が可逆的な機構であることを明らかにした。

本研究では続いて、膵β細胞において発現しているM型のピルビン酸キナーゼ、PKM1とPKM2に着目し、どちらのアイソフォームがGSISに影響を与え

ているのかを確かめた。その結果、PKM2 の発現を抑制した際に GSIS が抑制されることを初めて示したとともに、L-システインが PKM2 の活性を特異的に抑制することも明らかにした。また、PKM2 は四量体で高いピルビン酸キナーゼ活性をもち、二量体、単量体の状態では活性が低下することが知られているが、L-システインが PKM2 の四量体形成を阻害しているということを示した。これらの結果から、膵β細胞において GSIS を担うのが主に PKM2 であり、PKM2 の四量体が多く存在する条件下では GSIS が正常に制御されるのに対し、細胞内 L-システイン濃度の上昇などによって PKM2 の四量体が減少するとピルビン酸の産生量が減少し、GSIS が起こらなくなるという機構を提唱した。

また本研究では、膵β細胞において M 型ピルビン酸キナーゼが果たす役割について更なる検証を行い、PKM1 が小胞体ストレス誘導性アポトーシスを抑制することを明らかにした。小胞体ストレスはタンパク質合成量の増加などによって引き起こされるが、細胞の許容量を超えるとアポトーシスを起こすことが知られており、膵β細胞においては、小胞体ストレスによって生じるアポトーシスが 2 型糖尿病の発症過程における膵β細胞量減少の一因となっていることが示唆されている。本研究では、PKM1 が小胞体ストレス誘導性アポトーシスを抑制する機構として、PKM1 と A-Raf タンパク質の相互作用が重要な役割をもつこと、及び、PKM1 が A-Raf との結合を介して MEK/ERK 経路のリン酸化（活性化）を亢進させることを明らかにした。また、リン酸化された ERK が caspase-9 のリン酸化を行うことで活性化を抑制し、アポトーシスの実行因子となる caspase-9/caspase-3 経路を抑制することも確認した。

本研究は、M 型ピルビン酸キナーゼである PKM1 と PKM2 が、マウス膵β細胞において、それぞれ細胞死の抑制とインスリン分泌の制御という膵β細胞の機能維持に必須となる役割を果たしていることを初めて示したものであり、膵β細胞の機能制御メカニズムの解明や 2 型糖尿病の予防法、治療法等の開発において重要な知見となると考えられる。

以上、本研究の明らかにしたところは極めて重要であり、したがって、本審査委員会は博士（学術）の学位を授与するにふさわしいものと認定する。