



Pancreatic beta Cell Mass Preserved in Heterozygous PDK1 Knockout Mice

Takeda, Akihiko

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2008-03-25

(Date of Publication)

2012-03-21

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲4377

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1004377>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏 名	竹田 章彦
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学 位 記 番 号	博い第 1945 号
学位授与の 要 件	学位規則第 5 条第 1 項該当
学位授与の 日 付	平成 20 年 3 月 25 日

【 学位論文題目 】

Pancreatic beta Cell Mass Preserved in Heterozygous PDK1 Knockout Mice(膵ベータ細胞特異的 PDK1 ヘテロノックアウトマウスでは、膵ベータ細胞量が保たれていた)

審 査 委 員

主 査	教 授	横野 浩一
	教 授	黒田 嘉和
	教 授	林 義剛

ヒトの2型糖尿病は、複数の遺伝素因と環境素因が複雑に絡み合っており、糖尿病発症にすると考えられている。

我々が以前作成した膵β細胞特異的 PDK-1 ノックアウトマウス (β PDK-1^{-/-}) は、膵β細胞特異的にインスリン/IGF-1 受容体から PI-3 キナーゼ (クラス 1A) を通るシグナルを完全に遮断させたモデルマウスであり、生後より徐々にβ細胞量減少によるインスリン分泌不全、著明な高血糖に陥り、糖尿病を発症する。一方、膵β細胞特異的に PDK-1 が約 50% 減少した PDK-1 ヘテロノックアウトマウス (β PDK-1^{+/-}) は、通常食負荷の条件下では糖尿病を発症しない。しかし例えば高脂肪食負荷の条件下や、その他各種ストレスがかかる条件下、他の遺伝子操作マウスモデルとの交配により糖尿病を発症する可能性がある。

今回我々はヒトの2型糖尿病のモデルとして、β PDK-1^{+/-}マウスを高脂肪食負荷の条件下で飼育し、耐糖能、膵β細胞量、インスリン分泌能に対する影響を評価した。

膵β細胞特異的 PDK-1 ヘテロノックアウトマウス (β PDK-1^{+/-}) は、膵β細胞特異的に PDK-1 が約 50%減少した糖尿病モデルマウスと考えられるが、通常食負荷の条件下では糖尿病を発症しない。我々はこのモデルマウスを高脂肪食負荷の条件下で飼育し、耐糖能、膵β細胞量、インスリン分泌能の変化をコントロール群 (β PDK-1 flox/+) と比較した。

結果は、体重、随時血糖、血中インスリン値においてコントロール群と有意差は認められず、生後 10 週令、24 週令における経口糖負荷試験においても差は認められなかった。組織学的検索において膵β細胞量を検討したところ、コントロール群と同程度に代償性過形成が起こっており有意差は認められなかった。また膵ラ氏島数、膵β細胞サイズも測定したが、いずれも差を認めなかった。膵β細胞機能評価のため、単離膵島を用いて static incubation によりインスリン分泌能、インスリン含量を測定したが、これらにも差は認められなかった。シグナルの変化を見るため、単離膵島からタンパクを抽出しウエスタンブロット法にて PDK-1 のタンパク量を比較したところ、β PDK-1^{+/-}では確かに PDK-1 の量が約 50%に減少していたが、直接の基質である Akt の 308 番目のスレオニン残基のリン酸化レベルには変化がみられず、Akt 以下のシグナルは保持されていると考えられた。

2 型糖尿病患者のサンプルから、糖尿病感受性遺伝子や SNP が発見される一方で、遺伝子操作糖尿病モデルマウスの作成、解析が先行している。Cre-loxP システムを用いた組織特異的ノックアウトマウスが作成される中、肝、筋肉、脂肪組織などの古典的インスリン感受性臓器と同様、膵β細胞にもインスリンシグナルが存在し、細胞増殖や機能維持に重要な役割を果たしていることが明らかになった。我々もインスリンレセプターの下流にあり、Akt を代表とする多くの重要なエフェクター分子を基質として有する PDK-1 を膵β細胞特異的に欠損したマウス (β PDK-1^{-/-}) を作成し解析した。

β PDK-1^{-/-}が生直後より著明な高血糖に陥り、糖尿病を発症するのに対し、膵β細胞特

異的に PDK-1 が約 50%減少した PDK-1 ヘテロノックアウトマウス (β PDK-1^{+/-}) は、通常食負荷の条件下では糖尿病を発症しなかった。そこで我々はこのマウスを高脂肪食負荷の条件下で飼育し、ヒトの2型糖尿病のモデルと成り得るかどうかについて検討した。

通常食負荷の条件下で飼育した PDK-1 ヘテロノックアウトマウス (β PDK-1^{+/-}) の単離膵島における PDK-1 のタンパク量を比較したところ、確かに PDK-1 の量が約 50%に減少していたが、直接の基質である Akt の 308 番目のスレオニン残基のリン酸化レベルには変化がみられず、Akt 以下のシグナルは保持されていると考えられた。これは PDK-1 という分子の特徴であり、過去にも in vitro の系で knock in による手法を用いて PDK-1 の量を 80%低下させたが、下流のシグナルには変化がなかったという報告 (Lawlor.MA EMBO.J 2002)が存在し、PDK-1 という分子の重要性を裏付ける現象なのかもしれない。

そこで我々は、高脂肪食負荷により膵島における PDK-1 の量がさらに低下し、膵β細胞不全、糖尿病発症に至るのではないかと予想した。ところが予想に反して、高脂肪食負荷で飼育した PDK-1 ヘテロノックアウトマウス (β PDK-1^{+/-}) は糖尿病発症に至らず、体重、随時血糖、血中インスリン値、膵β細胞量、インスリン分泌能についてコントロール群と有意差は見られなかった。そして膵島における PDK-1 の量も 50%以下にはなっておらず、Akt の 308 番目のスレオニン残基のリン酸化レベルには変化がみられなかった。つまり高脂肪食負荷により膵島における PDK-1 の量がさらに低下するという現象は見られなかった。また Akt 以外の PDK-1 の基質 (atypical PKC, p90SGK, p70S6K, RSK etc) については確認できていないが、少なくとも膵β細胞の量や機能に関係するような変化は起こっていないと予想される。

膵β細胞特異的に PDK-1 が約 50%減少した PDK-1 ヘテロノックアウトマウス (β PDK-1^{+/-}) を作成し高脂肪食負荷の条件下で飼育したが、糖尿病を発症するには至らず、残念ながらヒトの2型糖尿病のモデルとはなり得なかった。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第 1946 号	氏 名	竹田 章彦
論文題目 Title of Dissertation	Pancreatic beta Cell Mass Preserved in Heterozygous PDK1 Knockout Mice 膵ベータ細胞特異的 PDK1 ヘテロノックアウトマウスでは、 膵ベータ細胞量が保たれていた		
審査委員 Examiner	主 査 横野 浩一 Chief Examiner 副 査 环 祥剛 Vice-examiner 副 査 黒田嘉和 Vice-examiner		
審査終了日	平成 20 年 4 月 16 日		

（要旨は 1,000 字～2,000 字程度）

ヒトの 2 型糖尿病は、複数の遺伝素因と環境素因が複雑に絡み合っ、糖
尿病発症に至ると考えられている。研究者らが以前作成した膵β細胞特異的
PDK-1 ノックアウトマウス（β PDK-1 ^{-/-} ）は、膵β細胞特異的にインスリン
/IGF-1 受容体から PI-3 キナーゼ（クラス 1A）を通るシグナルを完全に遮断
させたモデルマウスであり、生後より徐々にβ細胞量減少によるインスリン
分泌不全、著明な高血糖に陥り、糖尿病を発症する。一方、膵β細胞特異的
に PDK-1 が約 50% 減少した PDK-1 ヘテロノックアウトマウス（β
PDK-1 ^{+/-} ）は、通常食負荷の条件下では糖尿病を発症しない。しかし例えば
高脂肪食負荷の条件下や、その他各種ストレスがかかる条件下、他の遺伝子
操作マウスモデルとの交配により糖尿病を発症する可能性がある。そこで研
究者はヒトの 2 型糖尿病のモデルとして、β PDK-1 ^{+/-} マウスを高脂肪食負荷
の条件下で飼育し、耐糖能、膵β細胞量、インスリン分泌能に対する変化を
コントロール群（β PDK-1 flox/+）と比較した。
結果は、体重、随時血糖、血中インスリン値においてコントロール群と有
意差は認められず、生後 10 週令、24 週令における経口糖負荷試験において
も差は認められなかった。組織学的検索において膵β細胞量を検討したとこ
ろ、コントロール群と同程度に代償性過形成が起こっており有意差は認めら
れなかった。また膵ラ氏島数、膵β細胞サイズも測定したが、いずれも差を
認めなかった。膵β細胞機能評価のため、単離膵島を用いて static incubation
によりインスリン分泌能、インスリン含量を測定したが、これらにも差は認
められなかった。シグナルの変化を検討するため、単離膵島からタンパクを
抽出しウエスタンブロット法にて PDK-1 のタンパク量を比較したところ、β
PDK-1 ^{+/-} では確かに PDK-1 の量が約 50%に減少していたが、直接の基質で
ある Akt の 308 番目のスレオニン残基のリン酸化レベルには変化がみられず、
Akt 以下のシグナルは保持されていると考えられた。

近年、2 型糖尿病患者のサンプルから糖尿病感受性遺伝子や SNP が発見される一方で、遺伝子操作糖尿病モデルマウスの作成、解析が先行している。Cre-loxP システムを用いた組織特異的のノックアウトマウスが作成される中、肝、筋肉、脂肪組織などの古典的インスリン感受性臓器と同様、膵β細胞にもインスリンシグナルが存在し、細胞増殖や機能維持に重要な役割を果たしていることが明らかになった。研究者らもインスリンレセプターの下流であり、Akt を代表とする多くの重要なエフェクター分子を基質として有する PDK-1 を膵β細胞特異的に欠損したマウス (β PDK-1-/-) を作成し解析した。β PDK-1-/- が生直後より著明な高血糖に陥り、糖尿病を発症するのに対し、膵β細胞特異的に PDK-1 が約 50% 減少した PDK-1 ヘテロノックアウトマウス (β PDK-1+/-) は、通常食負荷の条件下では糖尿病を発症しなかった。そこで研究者はこのマウスを高脂肪食負荷の条件下で飼育し、ヒトの 2 型糖尿病のモデルと成り得るかどうかについて検討した。通常食負荷の条件下で飼育した PDK-1 ヘテロノックアウトマウス (β PDK-1+/-) の単離膵島における PDK-1 のタンパク量を比較したところ、確かに PDK-1 の量が約 50% に減少していたが、直接の基質である Akt の 308 番目のスレオニン残基のリン酸化レベルには変化がみられず、Akt 以下のシグナルは保持されていると考えられた。これは PDK-1 という分子の特徴であり、過去にも in vitro の系で knock in による手法を用いて PDK-1 の量を 80% 低下させたが、下流のシグナルには変化がなかったという報告 (Lawlor.MA EMBO.J 2002) が存在し、PDK-1 という分子の重要性を裏付ける現象なのかもしれない。

以上のように、本研究は膵β細胞における PDK-1 を介する細胞内シグナルについて、そのβ細胞に対する増殖作用を研究したものであるが、従来ほとんど行われなかった PDK-1 ヘテロノックアウトマウスの特性の解析より 2 型糖尿病の発症機構について重要な知見を得たものとして価値ある集積であ

近年、2 型糖尿病患者のサンプルから糖尿病感受性遺伝子や SNP が発見される一方で、遺伝子操作糖尿病モデルマウスの作成、解析が先行している。Cre-loxP システムを用いた組織特異的のノックアウトマウスが作成される中、肝、筋肉、脂肪組織などの古典的インスリン感受性臓器と同様、膵β細胞にもインスリンシグナルが存在し、細胞増殖や機能維持に重要な役割を果たしていることが明らかになった。研究者らもインスリンレセプターの下流であり、Akt を代表とする多くの重要なエフェクター分子を基質として有する PDK-1 を膵β細胞特異的に欠損したマウス (β PDK-1-/-) を作成し解析した。β PDK-1-/- が生直後より著明な高血糖に陥り、糖尿病を発症するのに対し、膵β細胞特異的に PDK-1 が約 50% 減少した PDK-1 ヘテロノックアウトマウス (β PDK-1+/-) は、通常食負荷の条件下では糖尿病を発症しなかった。そこで研究者はこのマウスを高脂肪食負荷の条件下で飼育し、ヒトの 2 型糖尿病のモデルと成り得るかどうかについて検討した。通常食負荷の条件下で飼育した PDK-1 ヘテロノックアウトマウス (β PDK-1+/-) の単離膵島における PDK-1 のタンパク量を比較したところ、確かに PDK-1 の量が約 50% に減少していたが、直接の基質である Akt の 308 番目のスレオニン残基のリン酸化レベルには変化がみられず、Akt 以下のシグナルは保持されていると考えられた。これは PDK-1 という分子の特徴であり、過去にも *in vitro* の系で knock in による手法を用いて PDK-1 の量を 80% 低下させたが、下流のシグナルには変化がなかったという報告 (Lawlor. MA EMBO. J 2002) が存在し、PDK-1 という分子の重要性を裏付ける現象なのかもしれない。

以上のように、本研究は膵β細胞における PDK-1 を介する細胞内シグナルについて、そのβ細胞に対する増殖作用を研究したものであるが、従来ほとんど行われなかった PDK-1 ヘテロノックアウトマウスの特性の解析より 2 型糖尿病の発症機構について重要な知見を得たものとして価値ある集積であ

近年、2 型糖尿病患者のサンプルから糖尿病感受性遺伝子や SNP が発見される一方で、遺伝子操作糖尿病モデルマウスの作成、解析が先行している。Cre-loxP システムを用いた組織特異的のノックアウトマウスが作成される中、肝、筋肉、脂肪組織などの古典的インスリン感受性臓器と同様、膵β細胞にもインスリンシグナルが存在し、細胞増殖や機能維持に重要な役割を果たしていることが明らかになった。研究者らもインスリンレセプターの下流であり、Akt を代表とする多くの重要なエフェクター分子を基質として有する PDK-1 を膵β細胞特異的に欠損したマウス (β PDK-1-/-) を作成し解析した。β PDK-1-/- が生直後より著明な高血糖に陥り、糖尿病を発症するのに対し、膵β細胞特異的に PDK-1 が約 50% 減少した PDK-1 ヘテロノックアウトマウス (β PDK-1+/-) は、通常食負荷の条件下では糖尿病を発症しなかった。そこで研究者はこのマウスを高脂肪食負荷の条件下で飼育し、ヒトの 2 型糖尿病のモデルと成り得るかどうかについて検討した。通常食負荷の条件下で飼育した PDK-1 ヘテロノックアウトマウス (β PDK-1+/-) の単離膵島における PDK-1 のタンパク量を比較したところ、確かに PDK-1 の量が約 50% に減少していたが、直接の基質である Akt の 308 番目のスレオニン残基のリン酸化レベルには変化がみられず、Akt 以下のシグナルは保持されていると考えられた。これは PDK-1 という分子の特徴であり、過去にも in vitro の系で knock in による手法を用いて PDK-1 の量を 80% 低下させたが、下流のシグナルには変化がなかったという報告 (Lawlor.MA EMBO.J 2002) が存在し、PDK-1 という分子の重要性を裏付ける現象なのかもしれない。

以上のように、本研究は膵β細胞における PDK-1 を介する細胞内シグナルについて、そのβ細胞に対する増殖作用を研究したものであるが、従来ほとんど行われなかった PDK-1 ヘテロノックアウトマウスの特性の解析より 2 型糖尿病の発症機構について重要な知見を得たものとして価値ある集積であ

ると認める。よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。