

## 末藤 美星 氏の学位論文審査の要旨

### 論文題目

インスリノーマMIN6細胞でのインスリン遺伝子発現におけるCa<sup>2+</sup>/カルモジュリン依存性  
プロテインキナーゼIIの役割

(The role of Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II on insulin gene expression in Insulinoma  
MIN6 cells)

膵β細胞において、Ca<sup>2+</sup>/カルモジュリン依存性プロテインキナーゼIIδ (CaMKII δ)はシナプシンIリン酸化を介してインスリン分泌機構に関与すること、またその過剰発現によりブドウ糖及びSU薬によるインスリン分泌が  
増強することが報告されている。一方、転写因子CREBは、CaMKIIによるリン酸化によりCBPとの結合が低下し、  
CREBの標的遺伝子のプロモーター活性が低下することも知られている。本研究では、マウス由来膵β細胞株MIN6  
細胞をもとにCaMKII δ過剰発現細胞、CaMKII δ発現抑制細胞を構築し、インスリン遺伝子転写調節機構に対する  
CaMKII δの関与を検討した。

CaMKII δ過剰発現にてインスリン遺伝子プロモーター活性およびインスリン mRNA量は有意に低下し、逆に  
CaMKII δ発現抑制にてインスリン遺伝子プロモーター活性およびインスリン mRNA量は有意に上昇した。この  
CaMKII δ過剰発現によるインスリン遺伝子プロモーター活性低下の程度は、グルコース濃度(3mM, 25mM)や  
KCl(30mM)刺激下でも同様であった。以上よりCaMKII δはインスリン遺伝子の転写を負に調節することが示唆さ  
れた。CaMKII δ過剰発現によるインスリン遺伝子プロモーター活性低下作用は、インスリン遺伝子プロモーター  
上のCREB結合部位であるCRE2に変異を加えることで部分的に抑制された。また、CaMKII δ過剰発現によりCREB  
のSer133およびSer142のリン酸化が上昇し、CaMKII δ発現抑制にてCREB Ser133, Ser142のリン酸化が低下し  
た。免疫沈降によりCaMKII δ過剰発現はCREBとCBPの結合を低下させることが示された。以上の結果から、CaMKII  
δによるインスリン遺伝子の負の転写調節にCREBが関与しており、その機序においてCaMKII δによるCREB  
Ser142リン酸化の増加とCREBとCBP結合の低下が関与することが示唆された。

審査の過程において、CaMKIIによるインスリン遺伝子プロモーター抑制効果に関与するCREB以外の因子の存  
在、CaMKIIによる内在性インスリンmRNA量とインスリン含有量の変化に対する評価、膵β細胞におけるCaMKII  
とCaMKIVの発現量の相違、低グルコース条件におけるCaMKIIの活性化機序、グルコース刺激とKCl刺激による  
インスリン遺伝子プロモーター活性の相違、CaMKIIの細胞内局在と核への移行機序、CaMKIIによるインスリン遺  
伝子転写抑制機構の時間的経過、今回の知見の臨床応用への可能性、等に関して質問がなされ、申請者からは概  
ね適切な回答と考察がなされた。

本研究は、CaMKII δのインスリン遺伝子転写抑制に果たす役割についてその機序を示し、高血糖やSU薬長期使  
用によるインスリン合成抑制の分子メカニズムの解明の一端となる可能性を提唱した点で評価でき、学位の授与  
に値する。

審査委員長 病態生化学担当教授

山崎 知也