

(様式 3 号)

学 位 論 文 の 要 旨

氏名 中林 容子

〔題名〕

膵β細胞における時計遺伝子 *Dbp* と *E4bp4* による *Arnt* の発現制御に関する研究

〔要旨〕

時計遺伝子が膵β細胞機能の制御にも関わっていることが報告されているが、その詳細な分子機構は不明である。我々は、重度の糖尿病を発症する *Wfs1*^{-/-} *A^y/a* マウスの膵ラ氏島では、時計遺伝子 *Dbp* の発現が減少し、*E4bp4* の発現が増加していることをマイクロアレイ解析によって見出した。DBPは転写活性化因子、E4BP4は転写抑制因子であり、D-box配列に結合する。現在、これらのターゲットは数種類しか同定されておらず、膵β細胞におけるターゲットは未解明である。我々は、膵β細胞におけるDBPとE4BP4のターゲットの候補として、ARNTに着目した。ARNTは2型糖尿病患者の膵ラ氏島で発現が低下し、膵β細胞特異的 *Arnt* 欠損マウスはインスリン分泌が低下する膵β細胞機能にとって重要な遺伝子の一つであるが、その発現制御に関してはまだ十分に解明されていない。

リアルタイムRT-PCRを用いた解析では、野生型マウスの膵ラ氏島では *Dbp* および *E4bp4* の発現は明確な概日リズムを示し、*Arnt* の発現も微弱ながら概日リズムを示した。*Wfs1*^{-/-} *A^y/a* の膵ラ氏島では、Zeitgeber Time 12時において、野生型と比較し、*Dbp* と *Arnt* の発現が減少し、*E4bp4* の発現が増加していた。培養細胞にDBPを過剰発現させると、内因性 *Arnt* の発現が増加した。レポーター遺伝子アッセイでは、DBPが *Arnt* のプロモーターを活性化し、E4BP4がその活性化を阻害した。ChIPアッセイでは、*Arnt* のプロモーター領域にDBPおよびE4BP4が直接結合することが示された。以上より、膵β細胞において時計遺伝子であるDBPとE4BP4は直接的にARNTの発現を制御していると考えられ、ARNTが時計遺伝子群と膵β細胞機能を関連付ける遺伝子として機能している可能性が示唆された。

作成要領

1. 要旨は、日本語で800字以内、1枚でまとめること。
2. 題名は、和訳を括弧書きで記載すること。

学位論文審査の結果の要旨

医学系研究科応用医工学系 (医学系)

報告番号	甲 第 1327号	氏 名	中 林 容 子
論文審査担当者	主査教授	甲 井 彰	
	副査教授	玉 田 耕 治	
	副査教授	谷 澤 幸 生	
学位論文題目名 (題目名が英文の場合は、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。)			
膵β細胞における時計遺伝子 <i>Dbp</i> と <i>E4bp4</i> による <i>Arnt</i> の発現制御に関する研究			
学位論文の関連論文題目名 (題目名が英文の場合は、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。)			
Clock-controlled output gene <i>Dbp</i> is a regulator of <i>Arnt/Hif-1β</i> gene expression in pancreatic islet β-cells (膵β細胞において時計遺伝子 <i>Dbp</i> は <i>Arnt/Hif-1β</i> の発現を制御する)			
掲載雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications 第 434 巻 第 2 号 P. 370 ~ 375 (2013年4月掲載)			
(論文審査の要旨)			
<p>時計遺伝子が膵β細胞機能の制御にも関わっていることが報告されているが、その詳細な分子機構は不明である。申請者らは、重度の糖尿病を発症する <i>Wfs1^{-/-} A/a</i> マウスの膵ラ氏島では、時計遺伝子 <i>Dbp</i> の発現が減少し、<i>E4bp4</i> の発現が増加していることをマイクロアレイ解析によって見出した。DBP は転写活性化因子、E4BP4 は転写抑制因子であり、D-box 配列に結合する。現在、これらのターゲットは数種類しか同定されておらず、膵β細胞におけるターゲットは未解明である。申請者らは、膵β細胞における DBP と E4BP4 のターゲットの候補として、ARNT に着目した。ARNT は時計遺伝子に類似したドメイン構造を持ち、2型糖尿病患者の膵ラ氏島で発現が低下している。また、膵β細胞特異的 <i>Arnt</i> 欠損マウスはインスリン分泌が低下するなど、膵β細胞機能にとって重要な遺伝子の一つであるが、その発現制御に関してはまだ十分に解明されていない。</p> <p>リアルタイム RT-PCR を用いた解析では、野生型マウスの膵ラ氏島では <i>Dbp</i> および <i>E4bp4</i> の発現は明確な概日リズムを示し、<i>Arnt</i> の発現も微弱ながら概日リズムを示した。<i>Wfs1^{-/-} A/a</i> の膵ラ氏島では、Zeitgeber Time 12 時において、野生型と比較し、<i>Dbp</i> と <i>Arnt</i> の発現が減少し、<i>E4bp4</i> の発現が増加していた。培養細胞に DBP を過剰発現させると、内因性 <i>Arnt</i> の発現が増加した。レポータージーンアッセイでは、DBP が <i>Arnt</i> のプロモーターを活性化し、E4BP4 がその活性化を阻害した。ChIP アッセイでは、<i>Arnt</i> のプロモーター領域に DBP および E4BP4 が直接結合することが示された。以上より、膵β細胞において時計遺伝子である <i>Dbp</i> と <i>E4bp4</i> は直接的に <i>Arnt</i> の発現を制御していると考えられ、<i>Arnt</i> が時計遺伝子群と膵β細胞機能に関連付ける遺伝子として機能している可能性が示唆された。</p> <p>本研究課題の目的および研究の進め方は論理的であり、実験方法も信頼度が高いものであった。得られた結果の解釈も妥当なものであった。時計遺伝子群と膵β細胞機能障害の分子機序に対して新たな洞察を加える研究成果であるものと判定された。</p> <p>以上、本論文は学位論文として価値あるものと認められた。</p>			

備考 審査の要旨は800字以内とすること。