

学位授与番号：甲 1 0 3 8 号

氏 名：林 毅

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 29 年 3 月 22 日

学位論文名：

High glucose stimulates mineralocorticoid receptor transcriptional activity through the protein kinase C β signaling

学位論文名（翻訳）：

（高血糖は PKC β シグナルを介してミネラルコルチコイド受容体の転写活性を活性化する）

学位審査委員長：教授 佐々木敬

学位審査委員：教授 朝倉正 教授 吉村道博

論文要旨

論文提出者名	林 毅	指導教授名 宇都宮 一典
<p data-bbox="194 409 438 443">主論文題名</p> <p data-bbox="194 459 1396 544">High glucose stimulates mineralocorticoid receptor transcriptional activity through the protein kinase C β signaling</p> <p data-bbox="194 555 1428 640">(高血糖は PKC β シグナルを介してミネラルコルチコイド受容体の転写活性を活性化する)</p> <p data-bbox="180 651 1428 784">Takeshi Hayashi, Hirotaka Shibata, Isao Kurihara, Kenichi Yokota, Mitsuishi Yuko, Kennosuke Ohashi, Ayano Murai-Takeda, Rie Jo, Takako Ohyama, Masaya Sakamoto, Katsuyoshi Tojo, Naoko Tajima, Kazunori Utsunomiya, Hiroshi Itoh.</p> <p data-bbox="212 795 917 828">International Heart Journal. 2017, in press.</p> <p data-bbox="194 840 1428 1305">アルドステロンの受容体であるミネラルコルチコイド受容体(MR)は、大規模臨床試験でその阻害薬の心保護作用が報告されるようになってから、単に血圧に関する作用よりも心血管疾患に対する影響が注目されるようになった。糖尿病に代表される治療抵抗性高血圧では、しばしば血中アルドステロン濃度に依らずに MR 拮抗薬が著効することがあり、組織における MR の活性化が示唆されている。また、RAAS 系阻害薬に MR 拮抗薬の追加投与がさらなる糖尿病合併症マーカーの改善をもたらすことが報告されていることから、糖尿病患者では組織における病的な MR の活性化が存在し、合併症の進展に関わっている可能性がある。今回、糖尿病の合併症の進展と深く関連している PKC と MR の関わり合いについて検討した。</p> <p data-bbox="194 1317 1428 1736">腎臓由来の HEK293 細胞に MR を定常発現させた HEK293-MR 細胞を用いた検討では、PKC 刺激、特に PKC α と PKC β により MR 蛋白、転写活性、MR 応答内因性 mRNA が増加することが確認された。高血糖環境下では、PKCα に比べて PKC β が優先的に活性化を受け、MR 蛋白の増加に関わっている事が判明した。また免疫沈降法を用いた検討では、高血糖環境下では MR 蛋白のセリンリン酸化が増加した一方でユビキチン化が減少しており、蛋白の安定化が確認された。db/db マウスを用いた検討では、コントロールと比較して PKC β、MR の増加が認められた。古典的 PKC 阻害薬の投与では、MR の減少と降圧が確認された。</p> <p data-bbox="194 1747 1428 2024">以上の結果より、高血糖では PKC β シグナルを介した機序により MR の病的な活性化が生じている可能性が考えられた。糖尿病では PKC α の活性化が見られることや、遊離脂肪酸が PKC α を活性化する報告などからは、メタボリックシンドローム全体では PKC α と PKC β の両者が MR の活性化に作用していると考えられた。今後、糖尿病の合併症進展を抑制するために、PKC シグナルの抑制を再度注目してゆくことは重要であると考えられた。</p>		

学位審査の結果の要旨

主論文のタイトルは、「高血糖におけるミネラルコルチコイド受容体活性化機構における Protein Kinase C β シグナルの意義の検討」と題するもので、high glucose stimulates mineralocorticoid receptor transcriptional activity through the protein kinase C β signaling という英文名をタイトルとする原著論文を基にしております。基になったのは、欧文雑誌 Int Heart J の 2017 年 9 月号に掲載予定 in press の論文です（同誌の最新のインパクトファクターは 1.938）。

アルドステロンの生体における受容体であるミネラルコルチコイド受容体（以下 MR と略します）は、糖尿病の合併症の発症進展においては、Protein Kinase C（以下 PKC と略します）のシグナルを介して作用の増大が認められること、また人では MR 阻害薬が心保護作用を示すこと、などが知られています。今回、林氏は、各種培養細胞を用いて、高血糖が MR の作用発現に及ぼす作用機序に関して、PKC β シグナルの意義を中心に検討しました。

林氏の口頭試問による学位審査は、平成 29 年 2 月 27 日、吉村道博教授、朝倉 正教授の両審査委員の臨席のもとに開催され、林氏による研究概要の発表に続いて、口頭試験を実施いたしました。

試験においては、活発な質問がなされました。すなわち、

- MR タンパクは PKC によりリン酸化を受け、これが MR タンパクのユビキチン化に影響を及ぼすという。この MR のユビキチン化はそのリン酸化だけで制御されているものなのか？
- 高濃度ブドウ糖環境による MR の活性化が認められるが、その現象はリガンドすなわちアルドステロンに非依存的に起こるものなのか？あるいは高ブドウ糖下に起こる変化もリガンド依存的であるのか？
- MR を対象とした実験の条件としてはナトリウム濃度ならびに浸透圧が重要だが、この実験ではどのように設定されたか？
- MR の活性が上昇する因子は高ナトリウム濃度や酸化ストレスを始め多く存在するが、MR の活性を「低下させる」因子は知られているのか？
- この実験では上皮性の細胞を用いたが、細胞種により MR の反応性が異なることを考慮したか？

などの質問がなされ、有用な議論がなされました。林氏は、本研究の意義に即して、また今日の臨床実地上の課題などに関連させながら、これらの質問に対し適切に回答致しました。

吉村、朝倉両教授とともに慎重に審議した結果、林氏の論文は、高血糖状態ではPKC β シグナルを介した機序によりMRの病的な活性化が生じている可能性を示し、現今の内分泌学の発展に貢献する大変意義のある研究であり、学位を授与するに十分な価値があるものと認めた次第であります。