

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	D1-D2ヘテロ多量体を介したドーパミンによるマウス膵 細胞の機能調節の解明
Title(English)	
著者(和文)	上船史弥
Author(English)	Fumiya Uefune
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12172号, 授与年月日:2022年9月22日, 学位の種別:課程博士, 審査員:糸 昭苑,白木 伸明,木村 宏,廣田 順二,徳永 万喜洋,北口 哲也
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12172号, Conferred date:2022/9/22, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

## 論文審査の要旨及び審査員

(2000字程度)

報告番号	乙 第 号	学位申請者	上船 史弥	
	氏 名	職 名	氏 名	職 名
論文審査員	主査 糸 昭苑	教授	徳永 万喜洋	教授
	白木 伸明	准教授	北口 哲也	准教授
	木村 宏	教授		
	廣田 順二	教授		

本論文は「D1-D2 ヘテロ多量体を介したドーパミンによるマウス膵β細胞の機能調節の解明」と題し、五章より構成されている。

第一章「研究背景」では、本論文の研究背景について、血中グルコースを降下させるインスリンを分泌する膵臓β細胞について、ドーパミンがインスリン分泌を抑制すること、β細胞自身がドーパミンを合成、貯蔵、取り込みを行う能力を有していることから、ドーパミンのβ細胞のグルコース応答性インスリン分泌に対する負の調節機構とその役割について解説している。そして、ドーパミンがどのようにインスリン分泌を調節するのかという本研究の目的について述べている。

第二章「実験方法」では、マウス初代β細胞のサンプル調製と、全反射照明蛍光顕微鏡 (TIRFM) を用いたインスリン分泌小胞の開口放出観察実験の手法および数値計算ソフト Matlab を用いた解析法について述べている。

第三章「実験結果」では、まず、マウス膵β細胞におけるドーパミン合成酵素の律速酵素である tyrosine hydroxylase (TH) が一部のβ細胞で発現し、2段階目の反応酵素 aromatic L-amino acid decarboxylase (AADC) がほとんどのβ細胞で発現すること、ドーパミンのインスリン分泌小胞への局在を免疫組織化学により確認し、また、膵島へのドーパミンおよびその前駆体 L-Dopa の取り込みを確認したことを述べている。そして、インスリン分泌は高糖濃度に反応して急峻な第1相分泌と、それに続く緩やかな第2相分泌の2相性分泌を示す。TIRFMを用いた解析により、β細胞によるドーパミンの生成あるいは貯蔵がインスリン分泌2相目を抑制する、と述べている。次にドーパミンがインスリン分泌を抑制するメカニズムを調べた結果、ドーパミンは高グルコース条件において増加した細胞内 Ca<sup>2+</sup>を減少するとともに、細胞内の cAMP の蓄積を阻害し、インスリンの開口放出を抑制することを確認した。そして、このドーパミンによる抑制はドーパミン D1 受容体アンタゴニスト (阻害剤) により回復することを発見した。さらに、β細胞において D1 が D2 とヘテロ多量体を形成しており、D1-D2 ヘテロ多量体アゴニストを用いて活性化すると、高グルコース条件において増加した細胞内 Ca<sup>2+</sup>が一過性に減少することを発見したことについて述べている。また、β細胞における D1-D2 ヘテロ多量体の形成を、Duolink PLA 法およびウエスタンブロット法により明らかにし、ヘテロ多量体形成が D2 の発現量に依存することを確認した、と述べている。加えて、D2 強制発現はドーパミン存在下で細胞死を誘導するが、D1-D2 同時強制発現ではドーパミンによる細胞死が誘導されないこと、また、D2 強制発現下でも D1-D2 ヘテロ多量体アゴニストは細胞死を誘導しないことから、D1-D2 ヘテロ多量体がドーパミンによる細胞死から保護する役割を有することが示唆されたと述べている。

第四章「考察」では、β細胞自身がドーパミンを合成、貯蔵すること、ドーパミンをインスリンと同時に放出することにより、インスリン分泌を負に調節していることについて先行報告と比較検討し、ドーパミンのブレーキとしての役割について論じている。そして、D1-D2 ヘテロ多量体の活性化を通じたインスリン分泌調節のメカニズムについて、神経細胞などにおける先行研究と比較している。

第五章「結語」では、ドーパミン受容体を含めた GPCR 同士の会合によるインスリン分泌の調節機構のさらなる研究への期待と、β細胞におけるドーパミン-ドーパミン受容体シグナルがインスリン分泌を適切に抑制するブレーキシシステムとして働くことの重要性について述べている。

以上を要するに、本論文はβ細胞自身のドーパミン放出がインスリン分泌2相目を抑制するブレーキとしての役割を有することを示し、また、D1-D2がヘテロ多量体を形成することで、ドーパミンによるインスリン分泌が一過性に抑制され、D2の活性化という強い細胞毒性から保護され、β細胞の機能が維持されていることを発見したものであり、理学的に貢献するところが大きい。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分な価値があるものと認められる。