

論文審査の結果の要旨

氏名：田 中 彩

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：膵β細胞由来細胞株 MIN6 からのグルコース濃度依存的インスリン分泌能を規定する新規遺伝子の同定

審査委員：（主査） 教授 森 山 光 彦

（副査） 教授 榎 島 誠 教授 相 馬 正 義

教授 松 本 太 郎

申請者は、これまでに糖尿病代謝内科学分野にて作製された、グルコース応答性の遺伝子以外の遺伝子を挿入し作製された MIN6 細胞のサブクローンを検討し、グルコース応答性のインスリン分泌能の異なるサブクローンを選別し、次にこれらのサブクローンに対して、転写産物のマイクロアレイ解析を行い、転写産物の発現の違いを解析した。

この結果、グルコース応答性の良いサブクローン 3 群と比較的に悪いサブクローン 3 群を比較し、グルコース応答性の良いクローンと比較的に悪いクローンにおいて一定して発現量の異なる遺伝子が 633 個見出された。このうち 29 個はすでに、グルコース応答性やβ細胞特異的な機能に重要であることが示されている遺伝子であった。

次に、これらの遺伝子の発現亢進が、実際にインスリン分泌に影響を与えるかどうかを検討するために、これらの遺伝子のうち 47 個の遺伝子について、ドキシサイクリン依存性に目的遺伝子を過剰発現させ、グルコースによるインスリン分泌に対する影響を検討した。

その結果、過剰発現がインスリン分泌能を上昇させた遺伝子 12 個と減少させた遺伝子 3 個を発見した。*Cab5b*, *Cited4*, *Crip1*, *Dab1*, *Emilin1*, *Fam151a*, *Sult1c2*, *Tgm5*, *Tmem200a*, *Tspan33*, *Zfp105*, *Zmynd15* の過剰発現は、グルコースによるインスリン分泌を増強し、*Cxcl16*, *Kcnj12*, *Sox11* の過剰発現は、グルコースによるインスリン分泌を減少させた。このうち *Sox11* の過剰発現は、ドキシサイクリンによる発現誘導後速やかに細胞の増殖が抑制され、明らかに細胞数が減少した。*Cited4* (Cbp/P300-interacting Transactivator, with Glu/Asp-rich carboxy-terminal domain 4) の発現増加は HIF1a を抑制し、LDHa の発現を抑制することにより、ミトコンドリアへのピルビン酸の流入を増加させる。そこで、*Cited4* の発現を誘導した細胞と対照細胞での *Glut1* および *Ldha* の発現を定量 PCR で検討した。その結果、*Cited4* の発現を誘導した細胞において、*Glut1* が 67.8%に減少し、*Ldha* が 34.5%に減少した。このようにいくつかの遺伝子はその機能が知られており、グルコースによるインスリン分泌機構を修飾することが推定された。一方で遺伝子産物の機能が不明である遺伝子も存在した。本研究により、申請者はグルコース応答性インスリン分泌の高度であるクローンと比較的に低いクローンとの比較により、発現に差が認められた遺伝子を中心に、インスリン分泌細胞株での遺伝子の過剰発現により、15 個の新たにグルコース応答性インスリン分泌に影響を与える遺伝子を同定した。本研究の結果は、膵β細胞におけるグルコース応答性のインスリン分泌の分子機序を解明するための第一歩になると考える。以上申請論文は大変優れた論文であり、実験を行うに至った経緯、目的の設定、方法論ともに秀逸であり、結論も新規発見が含まれている。

よって本論文は、博士(医学)の学位を授与されるに値するものと認める。

以 上

平成28年2月17日