

論文の内容の要旨

氏名：山 名 碧

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：メタボローム解析を用いたグルコース応答性インスリン分泌における解糖系酵素の役割の検討

インスリン分泌機構の研究においてメタボローム解析が応用されつつあるが、技術・学術的には発展途上にありまだその端緒についたばかりである。今回、解糖系関連酵素の発現を修飾したインスリン分泌細胞におけるグルコース応答性インスリン分泌、インスリン含量とメタボローム変化の関連について検討した。

本研究では Glucokinase (Gck)、Pyruvate dehydrogenase alpha 1 (Pdha1)、Phosphoglycerate kinase 1 (Pgk1)の発現を抑制、また、Phosphoenolpyruvate carboxykinase 1 (Pck1)を強制発現させたドキシサイ

クリン誘導性インスリン分泌安定 MIN6 細胞株を作成し、インスリン含有量、インスリン分泌能の測定を行うとともに、グルコース刺激時の細胞内メタボロームをヒューマンメタボロームテクノロジー社の受託解析を利用して検討した。

Gck ノックダウン細胞では、20 mM グルコース 1 時間培養時の TCA 回路代謝物の低下、ATP/ADP の低下 ($47 \pm 1\%$, $p < 0.01$, $n = 3$) を認め、インスリン分泌は低下した ($48 \pm 8\%$, $p < 0.05$, $n = 4$)。予想された結果であるが、MIN6 細胞におけるメタボローム解析が、インスリン分泌機構の解明の新たな方法になることが検証できたと考えられる。Pdha1 ノックダウン細胞では、ATP/ADP の低下 ($45 \pm 3\%$, $p < 0.01$, $n = 3$) とインスリン分泌低下 ($32 \pm 10\%$, $p < 0.05$, $n = 4$) に加え、興味深いことにインスリン含有量の増加 ($212 \pm 16\%$, $p < 0.01$, $n = 4$) が認められ、解糖系中間体の増加と関連がある可能性が示唆された。そこで、Pgk1 のノックダウン、Pck1 の強制発現により更なる検証を行った。Pgk1 ノックダウンにより酵素反応の下流の解糖系中間体は低下し、インスリン含有量は増加した ($156 \pm 15\%$, $p < 0.01$, $n = 3$)。ATP/ADP の低下 ($72 \pm 4\%$, $p < 0.01$, $n = 3$) にも関わらず、インスリン含有量の増加のため、インスリン分泌量も増加した ($147 \pm 20\%$, $p < 0.05$, $n = 3$)。Pck1 を強制発現させた細胞では、解糖系下位中間体は増加したが、インスリン含有量は変化しなかった。インスリン含有量に影響を及ぼしうる解糖系中間体を検討したが、受託解析にて測定できた代謝産物では特定できず、3-Phosphoglycerate より上流の可能性が残った。今後、検討できていない Dihydroxyacetone phosphate, Glyceraldehyde-3-phosphate, 1,3-Bisphosphoglycerate の測定なども考慮に解析を深めたい。

本研究で解糖系関連酵素の発現を修飾したインスリン分泌細胞におけるインスリンの分泌と含有量を検討し、またその際のメタボロームの変化を明らかにした。その結果、解糖系中間体がインスリン産生制御に重要な役割を果たす可能性が示唆された。