

論文の内容の要旨

氏名：長 澤 瑛 子

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：膵 β 細胞からのインスリン分泌における *Tspan33* の役割

2型糖尿病は、複数の遺伝因子と環境因子による膵 β 細胞からのインスリン分泌不全と、骨格筋・脂肪細胞・肝臓におけるインスリン抵抗性の両者がさまざまな程度に関与し発症する。糖尿病の発症メカニズムおよび治療を考える上で、膵 β 細胞のインスリン分泌に関連する遺伝子の抽出・検討が重要であると考えられる。当教室では、膵 β 細胞におけるインスリン分泌に重要な役割を果たす遺伝子を同定するため、MIN6 細胞由来のインスリン分泌能の良いサブクローンと比較的低下したサブクローンの両群間で DNA マイクロアレイ解析を行った。その結果、両群で発現が異なる遺伝子に、*Tspan33* が認められた。興味深いことに最近、*TSPAN33* は 2 型糖尿病患者のインスリン分泌に影響を与える遺伝子の候補として見出されたが、そのメカニズムについての検討はされていない。そこで、本研究では、膵 β 細胞モデル細胞株である MIN6 細胞の *Tspan33* の発現を変化させ、膵 β 細胞からのインスリン分泌における *Tspan33* の役割を検討した。Doxycycline (Dox) 存在下で *Tspan33* の発現を誘導する MIN6 細胞を作成し、*Tspan33* を過剰発現させたところ、5 mM グルコース刺激で 1.94 倍 (60.0 ± 4.4 ng/well/hr (Dox なし) vs. 116.1 ± 2.3 (Dox 1 μ g/ml), $p = 0.0051$, $n = 3$)、20 mM で 1.52 倍 (737.2 ± 41.2 vs. 1120.5 ± 204.2 , $p = 0.0253$, $n = 3$) に増加した。一方、small interfering RNA (siRNA) を用いて *Tspan33* の発現を抑制したところ、インスリン分泌は 20 mM グルコース刺激で 0.60 倍 (401.0 ± 38.1 (Control siRNA) vs. 239.5 ± 20.7 (*Tspan33* siRNA), $p = 0.0004$, $n = 6$) に低下した。次に、*Tspan33* がインスリン分泌を調節するメカニズムを検討するため、DNA マイクロアレイ解析にてパイロット実験を行ったところ、*Tspan33* の過剰発現で一部の小胞体ストレス応答分子の発現の低下が認められた。ウエスタンブロット法で *Tspan33* と小胞体ストレス応答分子のタンパク発現を検討したところ、*Tspan33* を過剰発現させると一部の小胞体ストレス応答分子の発現は低下した。しかし、*Tspan33* の発現を抑制しても、小胞体ストレス応答分子の発現の増加は認められなかった。これらの結果から、MIN6 細胞において *Tspan33* はインスリン分泌を正に制御することが示唆された。その制御機構として小胞体ストレスを介するメカニズムが考えられるが、すべてを説明することは出来ず、今後他のメカニズムの検討も必要と考えられる。