

論文審査の結果の要旨

氏名：河野 玄太

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：グルコース応答性インスリン分泌における TCA 回路酵素の役割の検討

審査委員：（主査） 教授 榎 島 誠

（副査） 教授 高山 忠輝 教授 阿部 雅紀

教授 森山 光彦

膵臓のβ細胞におけるグルコース応答性インスリン分泌 (GSIS) には、「triggering」経路と「amplifying」経路が関わっている。グルコース代謝により生成される ATP によって惹起されるのが「triggering」経路であり、インスリン分泌の 2 相目に関連する「amplifying」経路には、ミトコンドリア由来の citrate や glutamate などの関与が報告されている。TCA 回路の fumarate hydratase 1 の欠損マウスは重篤な糖尿病になることが報告されているが、病態メカニズムは明らかにはなっていない。本研究では、膵臓β細胞由来 MIN6 細胞を用いて、TCA 回路の fumarate hydratase 1 や oxoglutarate dehydrogenase のノックダウンを行い、GSIS への影響を検討した。

MIN6 細胞において、fumarate hydratase 1 遺伝子 *Fh1*、oxoglutarate dehydrogenase をコードする遺伝子 *Ogdh* 及び *OgdhL* に対してドキシサイクリン誘導性 shRNA を作成し、細胞に導入した。ドキシサイクリン処理により *Fh1*、*Ogdh* または *OgdhL* をノックダウン (KD) させた。Western blot によってそれぞれのタンパク質の発現低下を確認した。[5-³H]glucose を用いて解糖系を、[U-¹⁴C]glucose を用いてミトコンドリア代謝を評価した。また、GSIS の測定、及び LC-MS/MS を用いたメタボライト解析を実施した。

Fh1-KD 細胞では、解糖系流量の増加、ミトコンドリア代謝の増加、ATP/ADP 比の増減無し、citrate や glutamate の減少を認め、GSIS は低下した。*Ogdh*-KD 細胞では、解糖系流量の減少、ミトコンドリア代謝の減少、ATP/ADP の減少傾向、citrate などの TCA 回路代謝物の減少を認めたが、glutamate は増加し、GSIS は維持されていた。*OgdhL*-KD 細胞では解糖系流量の増加、ミトコンドリア代謝の増加、glutamate の増加を認め、GSIS の第 2 相が増加していた。

本研究により、TCA 回路の酵素のノックダウンによる glutamate の変化が、GSIS に関連することが明らかになった。glutamate が、ミトコンドリア由来のシグナルとして、GSIS、特に第 2 相のインスリン分泌に影響を与えることが示唆された。ヒトの 2 型糖尿病の病態メカニズムの解明に結び付く内容であり、今後の研究の発展が期待できる。

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

令和 4 年 2 月 24 日