

## 論文の内容の要旨

氏名：齊 藤 一 樹

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：時計遺伝子 Chrono の小胞体ストレスによる発現制御の検討および Chrono 欠損マウスにおける糖代謝の解析

生物はサーカディアンリズム/概日リズムと呼ばれる 24 時間で繰り返される自律的なリズムを有している。概日リズムは一群の時計遺伝子によって維持され、2014 年にその一つである Chrono が発見された。Chrono は概日リズムの形成における転写抑制因子として機能するが、その生理的役割は十分には解明されていない。Chrono 遺伝子のプロモーター領域に、小胞体ストレス応答の際に誘導される転写因子 ATF4 の結合部位があることを見出し、概日リズムの破綻や小胞体ストレス応答の不全は糖尿病の発症に関与するため、Chrono が糖代謝において重要な役割を果たすと考えた。Chrono が小胞体ストレス応答遺伝子であるかを検討し、さらに、Chrono KO マウスを用い糖代謝に役割を持つかを検討した。

MIN6 細胞に thapsigargin を添加したところ、RT-PCR にて Chrono mRNA の発現は  $33.29 \pm 2.97$  倍に増えた。ATF4 欠損 MEF 細胞では野生型細胞と比較し thapsigargin 添加時の発現量は  $6.6 \pm 2.0\%$  ( $p < 0.001$ ) であった。ルシフェラーゼアッセイによる Chrono 遺伝子プロモーター活性の検討では、対照にした SV40 プロモーター活性に対し、野生型では小胞体ストレスにより  $17.7 \pm 3.7\%$  から  $39.1 \pm 2.5\%$  に有意に ( $p < 0.001$ ) 上昇したが、ATF4 結合部位に変異を導入すると、 $13.5 \pm 2.7\%$  から  $16.6 \pm 2.6\%$  と上昇は認めなかった ( $p > 0.05$ )。

8 週間の高脂肪食飼育後の Chrono KO マウスの体重は WT より大きく、体重増加量で比較すると KO は  $13.7 \pm 0.8$  g、WT は  $11.3 \pm 1.7$  g と多い傾向であったが有意ではなかった ( $p = 0.052$ )。IPGTT における AUC は KO が WT の  $1.19 \pm 0.04$  倍と有意に高値であった ( $p < 0.01$ )。インスリン分泌実験や膵島面積においては  $\beta$  細胞異常を認めなかった。IPGTT 時にコルチコステロン濃度も測定したが有意な差は認めなかった。ITT では有意な差がなかったが、KO の HOMA-IR は  $0.36 \pm 0.08$  ( $n = 17$ ) と WT の  $0.10 \pm 0.03$  ( $n = 17$ ) より有意に高かった ( $p < 0.01$ )。

Chrono は小胞体ストレス応答遺伝子であることが明らかとなった。また、高脂肪食で飼育をした際に Chrono KO マウスでは糖代謝に異常が見られた。原因として  $\beta$  細胞異常や身体ストレスを検討したところ否定的であったが、KO は HOMA-IR が有意に高く、インスリン抵抗性を呈することが明らかになった。