

## 「別紙 2」

### 審査の結果の要旨

氏名 飯塚 陽子

本研究は、高血圧自然発症ラット (SHR) におけるインスリン抵抗性の原因遺伝子を探索する目的で、cDNA subtraction 法と gene chip microarray 法を用いて、SHR とその遺伝的コントロールである WKY との間で mRNA の発現の網羅的な比較を行った。得られた陽性クローンの内、*Cd36* に関して詳細な解析を行い、また、SHR における高血圧を含む異常の有力な候補遺伝子である kynurenine aminotransferase 1 遺伝子 (*KAT-1*) についての解析も行い、以下の事柄を明かにした。

*Cd36* に関しては、1) 米国 NIH 由来の SHR にのみ *Cd36* mRNA の長さの違いと発現量の減少が見られたが、日本のオリジナルの SHR/*Izm* にはそのような変化は認められなかった、2) *Cd36* はラット 4 番染色体の *D4Rat8* の近傍に位置することを明らかにした、3) SHR/*NCrj* の *Cd36* 遺伝子および cDNA 上に多様な変異を同定し、特にイントロン 14 の splice-acceptor 部位での 8 塩基欠失は mRNA 異常の直接的な原因と考えられた、4) *Cd36* の変異は、米国 NIH 由来の SHR にのみ見られ、オリジナル SHR/*Izm* のいずれの strain においても変異は認められなかった、5) NIH 由来の SHR に見られる変異は、NIH での飼育中に新たに生じた *de novo* 変異であると考えられた、6) 単離脂肪細胞でのインスリン刺激によるグルコースの取込みとカテコールアミン刺激による NEFA の産生は、WKY に比べると SHR では有意に減少していたが、*Cd36* 変異のある SHR/*NCrj* と変異のない SHR/*Izm* の間での比較では差は認められなかった、7) *in vivo* の phenotype の比較では、変異のある SHR/*NCrj* で、空腹時血糖値と中性脂肪値、および白色脂肪組織重量が有意に低値であり、また空腹時インスリン値も低くなる傾向が見られたが、逆に遊

離脂肪酸値は有意に高値であることが示された、8) IVGTT においても、変異のある SHR/NCrj の方がむしろ良好なグルコース応答性のインスリン分泌反応が示された、9) 膵臓インスリン含量、islet batch incubation 法によるグルコース刺激前後のインスリン分泌反応、長鎖脂肪酸存在下で培養した islet の中性脂肪含量には、両 SHR strain 間で有意差は認めなかった、10) F2 における解析の結果、*Cd36* 変異は、空腹時血糖値とコレステロール値の減少、および遊離脂肪酸値の増加と遺伝的に有意な連鎖を示すことを明らかにした。

*KAT-1* に関しては、1) *KAT-1* 遺伝子は、ラット 3 番染色体の近位端側でマイクロサテライトマーカー *D3Rat54* の近傍に位置すること、2) SHR では、種の違いを超えて保存されている *KAT-1* の 61 番目のアミノ酸であるグルタミン酸 (GAG) がグリシン (GGG) に置換する Glu61Gly ミスセンス変異が同定されること、3) Glu61Gly 変異は、すべての SHR strain に共通して見られる、SHR に特異的な変異であること、4) F2 における解析の結果、Glu61Gly 変異は血圧の上昇、体重の減少、および脂肪細胞でのインスリン刺激によるグルコース取り込みの増加量とイソプロテレノール刺激による NEFA の産生量の各々の低下と有意な連鎖を示すこと、などが示された。

まとめると、NIH 由来の SHR に見られた *Cd36* 変異は、SHR におけるインスリン抵抗性の主要な原因とは考えられないが、血糖値やコレステロール値の減少、あるいは遊離脂肪酸値の増加と遺伝的に関連する可能性が示唆された。一方、*KAT-1* の Glu61Gly 変異は、すべての SHR に共通して見られる特異的な変異であることより、SHR におけるインスリン抵抗性の有力な原因候補遺伝子の一つとして考えられた。

以上、本論文は臨床的にも非常に価値の高い研究課題に対し、科学性の高い方法でアプローチした意欲的な研究である。その結果、新規性の高い知見を得た極めて優れた学位論文である。インスリン抵抗性原因遺伝子の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。