

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 泉 和生

本研究は 2 型糖尿病の発症において必須の因子である相対的インスリン分泌不全の発生メカニズムを明らかにして 2 型糖尿病の予防方法および治療方法を検討するため、ラット膵β細胞株 INS-1D を用いてパルミチン酸刺激による相対的インスリン分泌不全モデルを構築し、このモデルに対するアディポネクチンの作用とそのメカニズムの解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. パルミチン酸を始めとする遊離脂肪酸（FFA）は長時間の刺激で膵β細胞のグルコース応答性インスリン分泌（GSIS）を抑制する脂肪毒性の作用を有し、高 FFA 血症は相対的インスリン分泌不全の誘引と考えられている。本研究ではラット膵β細胞株 INS-1D に対して生理的濃度のパルミチン酸刺激を行い、刺激強度を調節することによって細胞数変化を来たさない状態でグルコース応答性インスリン分泌を再現性良く抑制する脂肪毒性モデルを構築した。本モデルは 2 型糖尿病発症の際の相対的インスリン分泌不全状態のうち、治療的介入に適するステージの 1 モデルと考えられた。
2. 大腸菌を用いて発現・精製したマウス全長アディポネクチン（fAN）は、生理的濃度の範囲内で濃度依存的に INS-1D 細胞の GSIS を増強し、構築した脂肪毒性モデルにおいて脂肪毒性を解除することを示した。また、fAN の GSIS 増強作用は脂肪毒性下でより強力であることも明らかになった。
3. グルコース刺激に対する INS-1D 細胞内 ATP 量の経時変化を測定し、脂肪毒性下ではグルコース刺激に応答する ATP 量の増加が抑制されていること、fAN による脂

脂肪毒性解除時にはベースの ATP 量の上昇とグルコース刺激に応答する ATP 増加量の回復が認められることを初めて明らかにした。また、TaqMan 法による real-time RT-PCR によって fAN は UCP2 の発現量を有意に増加させており、UCP2 発現量の低下によって ATP 量が増加しているのではないことも示された。

4. fAN による脂肪毒性解除作用時には同時に細胞内中性脂肪含量が増加していることが示された。膵β細胞の脂肪毒性が解除または緩和される際に細胞内中性脂肪の増加を認めた報告はこれまでにない。また、fAN は非脂肪毒性下の INS-1D 細胞に対しては、細胞内中性脂肪を増加させないことも明らかになった。
5. fAN の GSIS 増強作用が脂肪毒性下でより強力なこと、また脂肪毒性解除作用と同時に細胞内中性脂肪含量が増加することについて、細胞内脂肪酸プールのパーティションとキャパシティという作業仮説を提出し、この仮説で多くを説明できることを示した。
6. 本研究の実験系が生理的範囲内の血中パルミチン酸と低アディポネクチン血症を再現していることを指摘し、アディポネクチン作用の減少が相対的インスリン分泌不全を介して2型糖尿病の発症と増悪に重要な役割を果たしている可能性を指摘した。また、生理的範囲内の濃度のアディポネクチンを補充することで脂肪毒性を解除できたことから、2型糖尿病の予防と治療においてアディポネクチンが強力な手段となり得ることを指摘した。

以上、本論文は膵β細胞株 INS-1D において、アディポネクチンが脂肪毒性解除作用を有することを明らかにし、この作用の少なくとも一部は ATP 産生能の増強にある可能性を初めて示した。また、脂肪毒性と細胞内中性脂肪の関連について、新たな視点を提供した。本研究は、これまで解明が進まなかった相対的インスリン分泌不全の発症メカニズムの解明と治療方法の確立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。