

[課程一 2]

審査の結果の要旨

氏名 岡本好司

本研究は 2 型糖尿病における 21 番染色体の候補領域にある疾患感受性遺伝子を特定し、機能解析を試みたものであり下記の結果を得ている。

1, 21 番染色体の該当領域をプール検体で 65 個の単遺伝子多型 (SNP) をタイピングし、さらに個別タイピングで rs7432xx が候補 SNP である事を明らかにした。周辺の連鎖ブロック構造から候補遺伝子 *GENE X* に絞り込み、プロモーターと全エクソンをシーケンスによって変異検索を行い、変異に対して関連解析を行った。その結果 rs7432xx と rs37468xx に有意な関連を認めた。再現性を確認するため独立したケースサンプルとコントロールサンプルを用意し、同 2 か所の SNP に対し関連解析を行ったところ rs37468xx のみが有意であった。

2, rs37468xx は synonymous SNP であったため、遺伝子発現に影響を与えている可能性を想定し健常人の末梢血における mRNA 発現量を比較したところ、リスクアレルでは高発現である事がわかった。両アレルをクローニングし、HEK293 において強制発現させ、蛋白レベルと mRNA stability assay を行った結果、リスクアレルでは mRNA 安定性を介し高発現となっている事がわかった。

3, 臨床データと遺伝子型の比較検討では、rs37468xx は低 BMI および、早期インスリン導入比率と有意に関連が認められた。この事から *GENE X* は膵β細胞におけるインスリン分泌機能への関与が疑われた。そこで培養インスリノーマ細胞株 (INS-1) において検討を行った。*Gene X* を knock down させると高グルコース時におけるインスリン分泌量が増加し、強制発現によりインスリン分泌量が減少した。

4, *in vivo* で検討するため、*in vivo* siRNA 導入技術を利用して、インスリン分泌低下型糖尿病モデルマウスである Akita mice に knock down 実験を行った。*Gene X* の knock down により糖負荷後血糖が有意に低下し、効果は 2 週間以上持続した。糖負荷前後のインスリン分泌量も有意に改善した。非糖尿病マウスである C57/BL6 mice に対して同様の実験を行ったが、効果はほとんど認められなかった。

以上、本論文は 2 型糖尿病ヒト検体を使って 21 番染色体の候補領域から新規疾患感受性遺伝子 GENE X を発見報告したものである。また臨床検体情報からインスリン分泌能に関連がある事を予測し、ラット培養インスリン分泌細胞と糖尿病マウスを使い、インスリン分泌機能への関与を明らかにした。また RNA 干渉を使って治療への可能性を示した。本研究は糖尿病における新規疾患感受性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。