

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 石 川 孝 太

論 文 題 目


Long-Term Pancreatic Beta Cell Exposure to High Levels of Glucose but Not Palmitate Induces DNA Methylation within the Insulin Gene Promoter and Represses Transcriptional Activity

(膵β細胞において長期間のパルミチン酸ではなく高グルコース暴露はインスリン遺伝子プロモーターにおけるDNAメチル化を誘導し、その転写を抑制する)

論文審査担当者


名古屋大学教授

主 査 委 員

押 田 牙 治 


名古屋大学教授

委 員

石 黒 洋 

名古屋大学教授

委 員

長 谷 川 好 規 

名古屋大学教授

指導教授

大 磯 二 力 

## 論文審査の結果の要旨





今回、過剰栄養状態における膵β細胞でのエピゲノム修飾を検討するため、膵β細胞株（INS-1細胞）を様々な条件で培養し評価した。14日間の高グルコース培養（糖毒性条件）によりインスリン遺伝子プロモーターの cAMP response element における DNA メチル化は培養時間とグルコース濃度依存性に増加した。*Ins* プロモーターを用いた Luciferase Assay と糖毒性条件下における脱メチル化剤添加の検討からは *Ins* プロモーターの DNA メチル化が転写抑制に直接的に関与していることが示唆された。糖毒性によるメチル化誘導機序の検討では、DNA メチル化誘導酵素活性の増加と DNA 脱メチル化酵素活性の低下を認めた。メトホルミンは糖毒性による DNA メチル化増加を抑制し、インスリン遺伝子発現を増加させたことから、エピゲノム修飾への作用を介した抗糖尿病効果を有する可能性が示唆された。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. インスリン遺伝子発現は糖毒性培養開始3日目ですでに90%以上の抑制を認め、それが14日目まで持続した。一方、DNAメチル化は7日目以降に時間依存性に有意な増加を認めた。DNAメチル化増加を認めない3日目でのインスリン遺伝子発現抑制は、酸化ストレス、小胞体ストレスなど既知の糖毒性機序によると考えられた。糖毒性によるインスリン遺伝子発現抑制におけるDNAメチル化の関与を正確に評価することは困難であるが、本研究からは糖毒性条件下で脱メチル化剤の添加により増加した程度のインスリン遺伝子発現の変化には関与していると考えられた。この糖毒性によるDNAメチル化を介したインスリン遺伝子発現抑制の蓄積が、2型糖尿病の進行性で不可逆的な病態に関与していると考えられた。
2. 血管内皮細胞においては数時間の高グルコース負荷により炎症性サイトカイン遺伝子のヒストン修飾が変化し、その後持続する遺伝子発現増加に関与すると知られている。2型糖尿病において食後高血糖が動脈硬化の進展に関与することが知られており、その機序として一過性の血糖変動によるエピゲノム修飾の関与が示唆された。
3. *In vivo* の検討は膵島でのメチル化を評価しており、膵β細胞だけでなく膵α細胞等のメチル化も含んだ結果となっている。膵β細胞以外の組織ではインスリン遺伝子プロモーターの DNA メチル化は 100%メチル化されている為、膵β細胞だけの *In vitro* での検討より高いメチル化率となった。また *In vitro* では腫瘍増殖性を持つ cell line を用いての検討であることもメチル化率の差につながったと考えられた。

以上の理由により、本研究は博士（医学）の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

## 試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※甲第	号	氏名	石川孝太
試験担当者	主査 押田 牙治  石黒 洋  長谷川 好男  指導教授 大石 孝太 			
<p>(試験の結果の要旨)</p> <p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 糖毒性によるインスリン遺伝子発現抑制とDNAメチル化増加の時期の違いについて</li> <li>2. 2型糖尿病患者における血糖変動幅とエピゲノム修飾について</li> <li>3. In vivoとIn vitroにおけるDNAメチル化率の違いについて</li> </ol> <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、糖尿病・内分泌内科学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				