

## 【別紙 1】

### 論文の内容の要旨

論文題目 血管内皮細胞における IRS2 はインスリン分泌に重要な役割を果たす

氏 名 橋本 信嗣

#### [背景と目的]

現在、わが国では 2 型糖尿病患者の数が増加の一途をたどっており、最新の厚生労働省の「患者調査」によると糖尿病患者数は 316 万 6,000 人となり、過去最高となっている。2 型糖尿病は、遺伝素因に、過食、運動不足、肥満などの環境因子が加わり、インスリン分泌不全とインスリン抵抗性という 2 つの大きな要因が単独または相互に関連し発症する疾患である。インスリン分泌不全は遺伝因子などによる膵β細胞量と機能の欠損が関与していると考えられ、インスリン抵抗性は過食、運動不足による肥満・内臓脂肪の増加などの環境因子、遺伝因子の両方が関与していると考えられている。インスリン抵抗性の程度に応じて膵β細胞の機能やその量が代償的に亢進・増加し、必要とするインスリン量を供給することで通常は血糖値が維持される。しかしながら、このインスリンの代償的過剰分泌が膵β細胞の疲弊を招き、インスリン分泌障害を経て 2 型糖尿病を発症すると考えられている。

膵β細胞の機能や量の低下は 2 型糖尿病進展の主要な原因であり、2 型糖尿病におけるこの障害メカニズムを解明するべく、これまで多くの研究が行われてきた。それらの多くはβ細胞やα細胞に関するものが主要であったが、近年、膵島血流量とインスリン分泌の関係が注目されている。これまでの研究報告を概観すると、膵島血流量が増加することでインスリン分泌が増加することは明らかにされている。しかしながら、膵島血流量の低下がインスリン分泌におよぼす影響については明確にされていない。そこで本研究では、現在急増している 2 型糖尿病におけるインスリン分泌不全メカニズムを解明すべく、血管内皮機能障害を呈する血管内皮細胞特異的 IRS2 欠損 (ETIrs2KO) マウスの膵β細胞機能およびインスリン分泌に関して解析した。

#### [研究結果]

**結果 1. ETIrs2KO マウスはインスリン分泌能が低下している**

ETIrs2KO マウスおよび野生型マウスにグルコースを負荷し、耐糖能およびインスリン分泌能の評価を行った。ETIrs2KO マウスは野生型マウスに比して耐糖能異常を示し、インスリン分泌が有意に低下していることが明らかとなった。続いてインスリン分泌促進作用を有するグルカゴンおよびアルギニンを負荷し、インスリン分泌能の評価を行った。その結果、ETIrs2KO マウスにおけるグルカゴンおよびアルギニン刺激によるインスリン分泌は、何れも野生型マウスに比して顕著に低下していることが明らかとなった。以上の結果から、ETIrs2KO マウスは野生型マウスに比して様々な刺激物質によるインスリン分泌が減弱していることが明らかとなった。

### **結果 2. ETIrs2KO マウスの膵β細胞に異常を認めない**

膵β細胞のインスリン分泌能を評価すべく、ETIrs2KO マウスおよび野生型マウスより膵島を単離してインスリン分泌を評価した。その結果、2.8 mM および 22.2 mM の何れの条件下においても両群間に差を認めなかった。さらに、単離した膵島を用いて膵島灌流実験を行い、22.2 mM グルコース刺激後のインスリン分泌を継時的に測定したが、何れの時間においても両群間に差を認めなかった。以上の結果から、単離膵島を用いたインスリン分泌については、ETIrs2KO マウスと野生型マウスとの間に差を認めないことが明らかとなった。

膵β細胞のインスリン産生量を調べるために、膵β細胞におけるインスリン遺伝子 (Insulin1 および Insulin2) の発現量およびインスリン含量を測定した。その結果、ETIrs2KO マウスと野生型マウスとの間に遺伝子発現量およびインスリン含量に差を認めなかった。

ETIrs2KO マウスおよび野生型マウスから膵臓を採取し、インスリン染色によって膵島の大きさを計測したが、両群間に有意な差を認めなかった。

膵β細胞の機能異常や数の減少はインスリン分泌不全を呈することが知られているが、ETIrs2KO マウスにはそのような異常は認められなかった。

### **結果 3. ETIrs2KO マウスは膵臓灌流実験ではインスリン分泌不全を呈する**

ETIrs2KO マウスおよび野生型マウスの膵臓を用いて膵臓灌流実験を行った。22.2 mM のグルコース刺激後のインスリン分泌を継時的に測定したところ、野生型マウスに比してETIrs2KO マウスはインスリン分泌が顕著に低下していることが明らかとなった。以上の結果から、ETIrs2KO マウスで認められたインスリン分泌不全は、膵島そのものの異常ではなく、血管を介した何らかのメカニズムで起こっていることが示唆された。

### **結果 4. ETIrs2KO マウスの膵島血流量は顕著に低下している**

マイクロソフィア法を用いて膵島における血流量の評価を実施した。その結果、ETIrs2KO マウスにおける膵島血流量は野生型マウスに比して、飽食条件下およびインスリン刺激条件下において有意に低下していることが明らかとなった。

## 結果 5. ETIrs2KO マウスのインスリン分泌不全は、膵島血流量の低下によって起こっている

エナラプリルを ETIrs2KO マウスに投与したところ、平均血圧、血糖値、血漿インスリン値、膵臓血流量に差を認めなかったものの、膵島血流量が顕著に増加し、野生型マウスと同等まで回復することが明らかとなった。さらに、エナラプリル投与下においてグルコース負荷試験を実施したところ、ETIrs2KO マウスのインスリン分泌は野生型マウスと同等のレベルまで回復することが明らかとなった。

以上の結果から、本研究では血管内皮細胞における IRS2 発現量低下に伴った膵島血流量の減少が、インスリン分泌不全を発症する原因の 1 つであることを明らかにした。