The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Examination of a Viral Infection Mimetic Model in Human iPS Cell-Derived Insulin-Producing Cells and the Anti-Apoptotic Effect of GLP-1 Analogue
Author(s)	馬殿, 恵
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59556
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

[Format-P02]

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	馬殿　恵
論文題名 Title	Examination of a Viral Infection Mimetic Model in Human iPS Cell-Derived Insulin-Producing Cells and the Anti-Apoptotic Effect of GLP-1 Analogue （ヒトiPS細胞から誘導したインスリン陽性細胞におけるウイルス感染モデルの検討およびウイルス感染状態におけるGLP-1アナログの抗アポトーシス効果について）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

1型糖尿病は膵β細胞の破壊によりインスリン分泌が枯渇して発症する糖尿病である。中でも日本人急性発症1型糖尿病患者の約20%を占める劇症1型糖尿病は、特に急激でほぼ完全な膵β細胞破壊を特徴とし、発症時にはインスリン分泌が枯渇している。劇症1型糖尿病の膵β細胞傷害の機序についてはいまだその正確な病態は解明されておらず、近年劇症1型糖尿病発症時の患者血清におけるウイルス抗体価の上昇や、患者剖検膵におけるウイルスの膵島内検出など、劇症1型糖尿病の発症にウイルス感染が関与する可能性が報告されているが、膵β細胞自体のウイルス感染に対する反応を検討した報告は少ない。そこで、膵β細胞におけるウイルス感染モデルを確立し、ウイルス感染による膵β細胞障害の機序およびこれを抑制する分子を明らかにすることを目的に検討を行った。

〔方法(Methods)〕

マウス膵β細胞系培養細胞であるMIN6細胞にウイルス感染・複製時に細胞内で増加するdsRNAと類似した合成RNAであるポリイノシンポリシチジン酸(Polyinosinic-polycytidylic acid, PIC)を、Lipophectamine2000を用いてトランスフェクションし、ウイルス感染モデルを作成した。このモデルにおいてリアルタイムPCRを用いてサイトカイン・ケモカイン、ウイルス受容体、Ⅰ型IFNを介した抗ウイルス経路の遺伝子の発現変化を評価し、カスパーゼ3活性測定とTUNEL染色を用いてアポトーシスを評価した。また、トランスフェクションの前後で小腸L細胞から分泌されるインクレチンホルモンGlucagon-like peptide-1 (GLP-1) の受容体作動薬であり糖尿病薬として用いられるExendin4を培地中に添加し、PICによる遺伝子変化に対する影響や抗アポトーシス効果を検討した。さらにGLP-1の受容体 (GLP-1R) およびExendin4の膵β細胞内における抗アポトーシス効果に関わるシグナル伝達経路の主要な因子であるPKA、PI-3Kを、各々の阻害薬を用いて阻害し、Exendin4の抗アポトーシス効果の変化を検討した。さらに、健常人由来iPS細胞から低分子化合物投与により誘導したインスリン陽性細胞においてもPICのトランスフェクションによるウイルス感染モデルを作成し、TUNEL染色を用いてアポトーシス及びExendin4の抗アポトーシス効果について評価した。

〔成績(Results)〕

MIN6細胞においてPICのトランスフェクションによりⅠ型IFN、CXCL10、Fas、ウイルス受容体、Ⅰ型IFNを介した抗ウイルス経路の遺伝子発現が上昇し、ウイルス感染状態が模倣されたと考えられた。PICにより上昇したⅠ型IFN、CXCL10、Fasの遺伝子発現はExendin4により有意に低下した。また、PICによりカスパーゼ3活性、TUNEL陽性率の増加を認め、これらはExendin4により抑制された。このExendin4の抗アポトーシス効果はGLP-1R、PKA、PI-3K各々の阻害により抑制された。さらに、健常人由来iPS細胞から誘導したインスリン陽性細胞においても、PICによりTUNEL陽性率の増加を認め、これはExendin4により抑制された。

〔総　括(Conclusion)〕

MIN6細胞および健常人iPS細胞より誘導したインスリン陽性細胞を用いたウイルス感染モデルを確立し、Exendin4はウイルス感染により惹起されるアポトーシスを抑制する効果を持つことを明らかとした。

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　馬殿　恵

		（職）	氏　名
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	下村伊一郎
	副　査	大阪大学教授	宮崎純一
	副　査	大阪大学教授	大薗恵一

論文審査の結果の要旨

劇症1型糖尿病の発症にウイルス感染の関与が示唆されている。本研究では膵β細胞におけるウイルス感染模倣モデルを確立し、ウイルス感染による膵β細胞障害の機序およびこれを抑制する分子を明らかにすることを目的に検討が行われた。MIN6細胞に合成dsRNAポリイノシンポリシチジン酸(PIC)をトランスフェクションすると、Ⅰ型IFN、CXCL10、Fas、ウイルスdsRNA認識受容体、抗ウイルス経路の遺伝子発現上昇やカスパーゼ3活性、TUNEL陽性率の上昇を認めた。また、これらの上昇はExendin4の添加により低下した。さらにヒトiPS細胞から誘導したインスリン陽性細胞にPICをトランスフェクションしたモデルにおいてもTUNEL陽性率はPICにより上昇し、Exendin4の添加により低下した。本研究はPICによるウイルス感染模倣モデルを確立し、さらにExendin4がウイルス感染模倣状態において膵β細胞に対し抗アポトーシス効果を持つことを初めて明らかにしたものであり、学位の授与に値すると考えられる。