

(別紙様式第 7 号)

## 学位論文審査の結果の要旨

氏 名	Li Xu
審査委員	主 査 横田 一成 印 副 査 地阪 光生 印 副 査 山野 好章 印 副 査 松井 健二 印 副 査 長屋 敦 印
題 目	Gene expression of arachidonate cyclooxygenase pathway and the regulation by metabolic factors during life cycle of adipocytes (脂肪細胞のライフサイクルにおけるアラキドン酸シクロオキシゲナーゼ経路の遺伝子発現と代謝調節因子による調節)
審査結果の要旨(2,000 字以内)	
<p>プロスタグランジン(PG)類は、脂肪細胞の脂肪合成や他の細胞機能において多様な役割を果たすことが示されている。内因性 PG 類の役割を明らかにするために、本研究は、脂肪細胞のライフサイクルにおけるアラキドン酸シクロオキシゲナーゼ(COX)経路の生合成酵素アイソフォームの遺伝子発現と代謝調節因子による調節機構を研究したものである。</p> <p>脂肪細胞は、脂肪の貯蔵庫として役立つのみならず、腫瘍壊死因子 <math>\alpha</math> (TNF<math>\alpha</math>) のようなアディポサイトカインを分泌する内分泌性細胞としても重要である。今回、マウスの前駆脂肪細胞株の培養 3T3-L1 細胞で、アラキドン酸 COX 経路の遺伝子発現と内因性 PG 類の役割に注目してライフサイクルの異なる段階の脂肪細胞の応答を解析した。その COX 経路の生合成酵素の遺伝子発現の解析の結果、前駆脂肪細胞で TNF<math>\alpha</math> に応答する COX-2 の mRNA とタンパク質のレベルの顕著な増加が観察された。それに対して、COX-1 の発現は構成的なものであった。さらに、脂肪細胞の異なるサイクルステージでの細胞は、TNF<math>\alpha</math> による刺激で、PGD<math>_2</math>、PGE<math>_2</math>、及び PGF<math>_{2\alpha}</math> の生合成に関与するアイソフォーム酵素の特異的な遺伝子発現を示した。TNF<math>\alpha</math> と共にカルシウムイオノフォア A23187 で前駆脂肪細胞を処理したとき、TNF<math>\alpha</math> のみにより誘導されるアポトーシスによる細胞死を抑制する PGE<math>_2</math> と PGF<math>_{2\alpha}</math> の生成の促進が観察された。これらの PG 類を生合成する脂肪細胞の応答は、分化誘導期と成熟期の進行に伴い低下した。分化誘導期の脂肪細胞を TNF<math>\alpha</math> で処理すると、その後の成熟期での脂肪合成の減少が著しかったが、その TNF<math>\alpha</math> の作用には、内因性 PG 類の介在は認められなかった。また、TNF<math>\alpha</math> は、成熟過程での脂肪合成を抑制する点においても効果的であった。以上より、TNF<math>\alpha</math> は、前駆脂肪細胞の細胞数を制御するのみならず、成熟脂肪細胞の脂肪貯蔵量を制御することができることがわかった。この場合、前駆脂肪細胞に対する TNF<math>\alpha</math> の作用は、COX-2 の誘導を介して生成す</p>	

る内因性 PG 類により調節された。

次に、脂肪細胞のライフサイクルの異なる段階において、 $\text{PGE}_2$  と  $\text{PGF}_{2\alpha}$  の生合成に関与するアラキドン酸 COX 経路の遺伝子発現に焦点をあてた。また、活性化ホルボールジエステルによるそれらの内因性 PG 類の生合成調節や、それにより生成される内因性 PG 類の特異的な役割を検討した。今回の実験に用いた活性化ホルボールジエステルのホルボール-12-ミステート-13-アセテート(PMA)は、マイトジェンによって引き起こされる細胞機能の変化を追跡するのに有用である。脂肪細胞を PMA で処理したとき、COX アイソフォームの COX-1 は定常的に発現していたが、COX-2 の転写レベルと翻訳レベルは PMA によって明らかに増加した。さらに、前駆脂肪細胞では、特に、細胞質性ホスホリパーゼ  $\text{A}_2\alpha$  と PGF 合成酵素の発現の促進が観察された。対照的に、PGE 合成酵素の 3 種類のアイソフォームが、脂肪細胞のライフサイクルの全ての段階で構成的に発現していた。また、各生育相での脂肪細胞を PMA とカルシウムイオノフォアの A23187 で 24 時間、処理したときの遅延性の  $\text{PGE}_2$  と  $\text{PGF}_{2\alpha}$  の生合成は、前駆脂肪細胞において最も活性化していた。一方、分化誘導期の細胞を PMA で処理した後、成熟培養液で培養した場合、あるいは、分化誘導後の成熟期の脂肪細胞を PMA で処理した場合のいずれの場合にも、成熟脂肪細胞での脂肪合成の著しい低下が観察された。分化誘導期の細胞において、PMA に加えて A23187 を添加すると、PMA の脂肪合成の低下作用がさらに促進された。このことは、A23187 により生成された内因性 PG の関与が想定される。分化誘導期と成熟期の脂肪細胞は、それぞれ、外因性の  $\text{PGE}_2$  と  $\text{PGF}_{2\alpha}$  に対して特異的な感受性があり、成熟相での脂肪合成の著しい低下が観察された。

以上のように、本研究は、 $\text{PGE}_2$  と  $\text{PGF}_{2\alpha}$  の生合成に至る COX 経路の生合成酵素アイソフォームの異なる遺伝子発現の様式と代謝調節因子による調節機構を明らかにし、脂肪細胞の異なるサイクルステージでのこれらの内因性プロスタノイド類の役割に関する新たな知見を提供した。これらの研究結果は、種々の代謝調節因子や食品由来因子の作用によるアラキドン酸カスケード反応経路の調節機構の解明や脂肪組織でのエイコサノイド類の新規の機能を探求する基盤研究として意義深いと考えられる。本審査委員会は、本学生が本学連合農学研究科博士課程修了者として十分な学力と見識を有するものと認め、博士(農学)の学位を与えるのに適合していると判断した。