

(別紙様式第7号)

学位論文審査の結果の要旨

氏名	Xiaoqing Chu
審査委員	主査 横田 一成 印 副査 長屋 敦 印 副査 赤壁 善彦 印 副査 地阪 光生 印 副査 一柳 剛 印
題目	Modulation of adipogenesis program in cultured preadipocytes transfected stably with cyclooxygenase isoforms in the sense or antisense orientation (センスあるいはアンチセンス方向にシクロオキシゲナーゼアイソフォームで安定に形質転換した培養前駆脂肪細胞の脂肪細胞形成プログラムの調節)
審査結果の要旨 (2,000 字以内)	
<p>本論文は、脂肪細胞へ分化する培養前駆脂肪細胞株を用いて、プロスタグランジン (PG) の生合成に関与するアラキドン酸シクロオキシゲナーゼ (COX) 経路の律速酵素の COX アイソフォームをセンスあるいはアンチセンス方向に安定に形質転換し、それらの COX アイソフォーム酵素の発現を特異的に促進もしくは抑制することを検討した。これらの研究により脂肪細胞の異なるステージでの2つの COX アイソフォームの新規の役割を解明した研究である。</p> <p>本研究では、まず、COX-1 あるいは COX-2 のそれぞれを安定に発現することによる脂肪細胞機能の変化を評価するために、マウスの前駆脂肪細胞株の 3T3-L1 細胞での COX アイソフォームの発現を操作した。COX-1 あるいは COX-2 のそれぞれで形質転換したクローン化細胞では、対応するそれぞれの酵素アイソフォームの mRNA とタンパク質を高レベルで発現しており、外因性のアラキドン酸やカルシウムイオノフォア A23187 での処理による PGE₂ の生成量が有意に増加した。脂肪細胞の分化誘導と成熟課程を見ると、COX-1 と COX-2 のそれぞれで安定に形質転換した細胞では、通常の細胞の分化誘導過程から成熟過程に至るときに典型的に見られる細胞増殖の促進が認められず、また、成熟期でも通常細胞で観察される脂肪滴の蓄積も顕著に抑制された。COX 阻害剤のアスピリンあるいは他の COX ア</p>	

イソフォーム特異的な阻害剤は、COX イソフォームでの形質転換細胞で認められる脂肪蓄積の低下を阻害することができなかった。したがって、上記の分化誘導プログラムの抑制は、COX イソフォームの過剰発現による脂肪細胞の分化抑制作用を示す内因性 PG 類の生成による効果とは別のものであることが考えられた。一方、COX-2 イソフォームでの形質転換細胞は、核内受容体で脂肪細胞の分化誘導や成熟過程での中心的制御因子であるペルオキシソーム増殖剤応答性因子 (PPAR) γ の活性化リガンドに感受性があり、それらの処理により脂肪蓄積の促進作用が観察された。しかし、COX-1 による形質転換細胞は、PPAR γ の活性剤に対して応答しなかった。それらの結果は、成熟期の脂肪細胞での PPAR γ や分化誘導プログラムの各種マーカー遺伝子の発現の抑制の結果と一致した。以上より、前駆脂肪細胞に COX-1 あるいは COX-2 のそれぞれのイソフォームの安定発現は、内因性プロスタノイドの関与とは別の機構で脂肪細胞の分化誘導プログラムを抑制することを解明した。しかし、その作用に関して、COX-1 と COX-2 の形質転換細胞で作用様式が異なることが示された。

次に、脂肪細胞の制御に関して COX-2 の特異的な役割をさらに解明するために、3T3-L1 培養細胞での COX-2 の持続的な発現抑制をするための研究を行った。COX イソフォームの細胞内での転写と翻訳の発現レベルの解析と細胞応答による内因性のアラキドン酸からの遅延性の PGE₂ 生合成量の測定の結果、前駆脂肪細胞が生育期から分化誘導期を経て成熟期に至る過程で、別の COX-1 イソフォームの発現に影響を与えることなく、特異的に COX-2 の発現が安定に抑制されることが確認された。アンチセンス方向に COX-2 を安定に発現する形質転換細胞では、非形質転換の元の細胞やベクターのみの形質転換細胞に比較して分化誘導期後の成熟期での脂肪蓄積量が有意に増加していた。脂肪細胞の分化誘導課程の典型的なマーカー遺伝子の発現レベルの増加が観察されたことから、COX-2 の発現抑制は脂肪細胞の分化誘導プログラムの促進に関連していると考えられた。成熟期の脂肪細胞での脂肪蓄積の増加は、分化誘導の阻害因子である PGE₂ や PGF_{2 α} により有意に抑制された。また、アンチセンス COX-2 による形質転換細胞での脂肪蓄積の増加は、アスピリンと COX-1 選択的阻害剤により顕著に阻害されたが、COX-2 選択的阻害剤では抑制効果が観察されなかった。以上より、脂肪細胞の成熟期では、COX-2 は内因性の脂肪細胞の分化誘導過程の抑制作用を示す内因性のプロスタノイド類の生成に優先的に関与しているおり、他方、COX-1 は脂肪細胞の成熟過程に促進的に関与していることがわかった。

以上のように、本論文は、脂肪細胞の分化誘導や成熟過程における COX イソフォームの新規の役割を提供した。本論文で記載されている研究成果は、脂質生物学分野の発展に寄与する新規の知見であり、学位論文として十分な価値を有する。従って、本学生は、本学連合農学研究科博士課程修了者として、博士(農学)の学位を与えるのに適合していると判断した。