

学位論文審査の結果の要旨

氏名	Md. Abdul Mazid
審査委員	主査 横田 一成 (印) 副査 長屋 敦 (印) 副査 松井 健二 (印) 副査 地阪 光生 (印) 副査 山野 好章 (印)
題目	Development of immunological assays specific for prostaglandins D ₂ and J ₂ series to study the regulation of their biosynthesis and the role in adipocytes (プロスタグランジンD₂とJ₂シリーズに対する特異的免疫測定法の開発と脂肪細胞でのそれらの生合成調節と役割に関する研究)
審査結果の要旨 (2,000字以内)	
<p>細胞外刺激に応答して培養細胞で生成される PGD₂ の測定のために、免疫学的測定法は簡便で有用である。しかし、PGD₂ は、生理的な条件で不安定であるので元の PGD₂ に対する特異的な抗体を得ることはこれまで困難であった。この PGD₂ に対する特異抗体の作成のために、新規で化学的に安定な PGD₂ の類縁化合物の 11-デオキシ-11-メチレン-PGD₂ に対する単クローン抗体を調製することを試みた。その結果、我々は、マウスに免疫することにより得たリンパ球を用いて、元の PGD₂ に特異的に反応する単クローン抗体を分泌するハイブリドーマ細胞をクローン化することに成功した。PGD₂ の酵素免疫測定法の開発のために、安定化類縁体の PGD₂ 誘導体を固相化抗原として、これに、遊離の PGD₂ の存在下に競合的に得られた単クローン抗体を反応させた。測定条件の最適化により、50%の置換を示す値が 7.6 pg で、0.32 pg から 0.18 ng の PGD₂ を測定できる高感度の標準曲線が作成できた。PGD₂ は、酵素免疫測定法の反応条件では安定であった。開発した測定法は、マウスの 3T3-L1 脂肪細胞の培養液の PGD₂ を直接、測定するのに有用であった。脂肪細胞の成熟培養液中で PGD₂ を 37°C でインキュベーションすると、化学的に PGD₂ の PGJ₂ への化学変換が観察された。その変換反応は、インキュベーションの 6 時間後により顕著になった。これらの知見は、PGD₂ が化学変換する前に、測定の試料を集める最適な時間を考慮することが重要になることを示している。本研究では、免疫源として 11-デオキシ-11-メチレン-PGD₂ のタンパク質結合物を用いて PGD₂ に対する単クローン抗体をうまく作成することができた。この PGD₂ に対する安定な類縁化合物は、元の化合物に比べてより化学的に安定なことから、特異的に PGD₂ に対する特異的な抗体を作製するには利点がある。今回、開発した酵素免疫測定法は、PGD₂ の生成後の 6 時間以内に試料を採取する限り培養液中の PGD₂ 量を直接かつ正確に測定することができた。以上のことから、今回の新規の酵素免疫測定法は、細胞外刺激に応答して培養細胞で生成される PGD₂ の定量測定には、有用で、信頼性があり、さらに、簡便なものといえる。</p> <p>脂肪細胞は、脂肪貯蔵と遊離脂肪酸の動員において重要な役割を果たし、また、内分泌細胞としても機能する。さらに、脂肪細胞の質的変化は、インスリン抵抗性や他の生活習慣病の発生に関与している。ある種の核内受容体は、脂肪合成に至る一連の変化と共に肥満での脂肪細胞の肥大の調節に関わる。これらの中で、核内受容体であるペルオキシソーム増殖剤応答性因子 (PPARγ) は、脂肪細胞の分化のマスターレギュレーターである。この受容体は、リガンドにより活性化される転写因子で</p>	

あるので、脂肪組織内で PPAR γ の活性化のためには、内因性リガンドが供給されなければならない。その中で、15-デオキシ- $\Delta^{12,14}$ -PGJ $_2$ (15d-PGJ $_2$) は、脂肪合成を促進する PPAR γ の強力な天然リガンドとして同定されている。しかし、PPAR γ を発現している脂肪細胞の PGJ $_2$ シリーズを生成する能力や脂肪細胞のライフサイクルでのそれらの役割については不明のままである。今回、15d-PGJ $_2$ に対する特異的な酵素免疫測定法を開発した。この方法を用いた解析により、成熟期の培養脂肪細胞で内因性の 15d-PGJ $_2$ の生成の増加が明らかになった。シクロオキシゲナーゼ阻害剤を用いたさらなる研究で、成熟脂肪細胞により生成される内因性 15d-PGJ $_2$ がオートクライン的な作用により脂肪貯蔵の促進に寄与することを解明した。また、今回の研究により、15d-PGJ $_2$ の作用は、成熟期の終末分化相の進行に関連していることを確認した。インドメタシンやアスピリンのようなシクロオキシゲナーゼ阻害剤が、アディポネクチンやレプチンのような脂肪細胞特異的な遺伝子の発現を阻害するのに効果的であった。一方、外因性の 15d-PGJ $_2$ は、アスピリンの存在下に脂肪細胞のマーカー遺伝子の遺伝子発現を促進した。これらの結果より、脂肪細胞でつくられる内因性 15d-PGJ $_2$ は、PPAR γ を発現する脂肪細胞で生成し、成熟期での脂肪合成をオートクライン的に増加するという考えを支持する。さらに、関連物質の Δ^{12} -PGJ $_2$ も脂肪合成の増加に貢献すると想定される。これらの結果は、動物体内の脂肪組織での内因性 PGJ $_2$ シリーズの生合成の調節や役割を研究する点で有用な知見と考えられる。

以上より、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。