

(様式第 9 号)

学位論文審査の結果の要旨

氏 名	Mohammad Sharifur Rahman
審 査 委 員	主査 横田一成 印 副査 地阪光生 印 副査 赤壁善彦 印 副査 一柳 剛 印 副査 西村浩二 印
題 目	Role of cyclooxygenase-1 in adipogenesis and biosynthesis of prostacyclin at the maturation phase of adipocytes (脂肪細胞形成におけるシクロオキシゲナーゼ-1の役割と脂肪細胞の成熟期でのプロスタサイクリンの生合成)
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能力を持つ前駆脂肪細胞株を用いて、脂肪細胞形成におけるシクロオキシゲナーゼ (COX) -1、すなわち、構成的な COX アイソフォームの役割と脂肪細胞の成熟期におけるプロスタグランジン (PG) I₂とも呼ばれるプロスタサイクリンの生合成経路の制御に関する細胞科学研究を行い、それらについて有用な知見を明らかにした研究である。</p> <p>PGs は、別名 COX とも呼ばれる PGH 合成酵素の酵素反応が遊離脂肪酸の放出後の PG 類の生成の律速段階であるアラキドン酸 COX 経路を介して生合成される。その COX 酵素は、常在性の COX-1 と誘導性の COX-2 のような 2 つの種類のアイソフォームとして存在することが知られている。アラキドン酸 COX 経路は、脂肪細胞の異なるライフステージで脂肪細胞形成に異なる効果を示す数種類の内因性 PG 類の生成に関与する。しかし、内因性 PG 類の生合成調節における、この経路の律速段階の酵素である COX アイソフォームの特異的な役割は不明のままである。そこで、アンチセンス方向に位置したマウス COX-1 を暗号化する cDNA を組み込んだ哺乳動物の発現ベクターで安定発現したクローン化前駆脂肪細胞を単離することで、培養前駆脂肪細胞での常在性の COX-1 を選択的に抑制することであった。その遺伝子発現の解析により、常在性 COX-1</p>	

の転写産物とタンパク質の発現レベルは、アンチセンス COX-1 で形質転換して単離されたクローン化細胞で有意に抑制された。対照的に、誘導型 COX-2 の発現は、アンチセンス COX-1 で安定な形質転換細胞で影響を受けなかった。アンチセンス COX-1 で安定に形質転換されたすべての細胞は、脂肪細胞形成の抑制因子として作用する PGE₂ の即時的な生成反応の著しい低下を示した。アンチセンス方向に COX-1 を安定に発現すると、成熟期での脂肪細胞での脂肪蓄積の有意な促進が誘導され、それは、脂肪細胞特異的な遺伝子のより高い発現レベルに関係していた。そのことは、脂肪細胞形成プログラムの正の調節を示している。さらに、脂肪細胞形成の調節の促進は、アンチセンスの COX-1 による形質転換細胞による脂肪細胞形成の促進因子として知られる 15-デオキシ- $\Delta^{12,14}$ -PGJ₂ や Δ^{12} -PGJ₂ のような J₂ シリーズの PG 類のより高い生成を伴っていた。それらの結果より、誘導性の COX-2 が、常在性の COX-1 の発現抑制を補償することにより、成熟期の脂肪細胞形成を促進する自己分泌性のメディエーターとして作用する内因性 PGJ₂ 誘導体の生成に貢献できることを示唆している。

別名、PGL₂ と呼ばれるプロスタサイクリンは、アラキドン酸 COX 経路により生合成される不安定な代謝産物である。以前の研究により、プロスタサイクリンの類縁体が脂肪細胞の分化の強力な効果因子として作用できることが示唆されている。しかし、PGL₂ の生合成は、脂肪細胞の異なるライフステージで詳細に検討されていない。PGL₂ は、生体の溶液中で安定産物の 6-ケト-PGF_{1 α} に急速に加水分解される。それゆえ、PGL₂ の生成は、6-ケト-PGF_{1 α} の量として定量することができる。本研究では、6-ケト-PGF_{1 α} に対する特異的なマウス抗血清を用いて固相化免疫測定法 (ELISA) を開発することを試みた。今回の ELISA の典型的な標準曲線で、6-ケト-PGF_{1 α} は測定あたり 0.8 pg から 7.7 ng まで定量できる。この ELISA の評価により、使用した抗血清は、他のプロスタノイド関連物質とほとんど交差反応性を示さず、PGF_{2 α} に対して 1.5% の交差反応性を示すのみであることが明らかになった。その結果、今回の ELISA は、異なる段階の 3T3-L1 培養細胞により生成される内因性 6-ケト-PGF_{1 α} の定量に適用した。本培養細胞により、成熟期の 4-6 日の間で 6-ケト-PGF_{1 α} を生成する能力が最も高いことを示された。この結果は、PGI 合成酵素や PGL₂ に対する IP 受容体の遺伝子発現の協調的な変動に一致していた。これらの現象の後、脂肪蓄積は、14 日まで連続的に促進された。従って、6-ケト-PGF_{1 α} に対する特異的な今回の免疫学的測定法は、脂肪細胞形成の異なるライフステージでの不安定な元の PGL₂ の内因性の生成レベルを調べ、培養脂肪細胞の脂肪細胞形成での正の調節との潜在的な関連についてさらなる研究をするのに意義深い。

以上のように、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重要な研究であり、学位論文として十分な価値を有する。申請者は、本学連合農学研究科において博士 (農学) の学位を与えるのに適合していると判断した。