

(様式第 1 3 号)

学 位 論 文 要 旨

氏名: 松野 景

題目: 反芻家畜の脂肪細胞の発達および乳腺細胞の乳汁分泌機能に及ぼす

ケメリン・ケメリン受容体遺伝子の発現様相およびその作用

(The relationships between gene expression pattern of chemerin and chemerin receptor and its role on development of adipocytes and lactation function of mammary gland cells in ruminant)

ケメリンは主に肝臓組織および脂肪組織から分泌される炎症性物質で、ケメリン受容体を持つ細胞に影響を及ぼし、その細胞の脂質分解を促進するなど、物質分泌および生理作用に様々な影響を与えることが報告されている。ケメリンを介した種々の影響によって筋細胞、脂肪細胞および乳腺細胞が相互に影響し合う場合、食肉生産・乳生産において、ケメリンがこれらの細胞に及ぼす影響を把握することは重要である。なぜなら、ケメリンの影響によって食肉を構成する脂肪細胞の生理作用の変動が脂肪の発達に影響を与え、乳腺細胞の機能の変動が直接に乳生産量に関与していると考えられるからである。

1.脂肪細胞分化誘導培地でのヒツジ培養前駆脂肪細胞は培養開始後 12 日でケメリンおよびケメリン受容体遺伝子発現が増加した。また、脂肪細胞の分化マーカーの遺伝子発現も培養開始後 12 日で増加した。ケメリンおよびケメリン受容体遺伝子の発現はヒツジ培養脂肪細胞の分化の進行に伴って増加することが明らかとなった。さらに、ケメリン処理は成熟脂肪細胞内の脂質を減少させ、培養前駆脂肪細胞の分裂を促進させた。この実験により、ヒツジ培養脂肪細胞においてケメリンおよびケメリン受容体の遺伝子発現動態は分化・成熟に伴って増加することが明らかとなった。また、ケメリンはヒツジ成熟培養脂肪細胞の脂質代謝および前駆脂肪細胞の増殖の促進にも関与していることが示された。

2.ヒツジ培養前駆脂肪細胞を炭素鎖数の異なる 10 種類の脂肪酸を含む分化培地で培養を行ったところ、パルミチン酸処理区で脂質蓄積量が増加した。脂質合成関連因子の遺伝子発現が増加したが、脂肪細胞の分化関連因子の遺伝子発現は増加しなかった。さらに、ケメリンの遺伝子発現はオレイン酸を除く 9 種類の脂肪酸処理で増加し、TNF- α の遺伝子発現は酢酸処理区で増加した。この実験で用いた大部分の脂肪酸がケメリンの遺伝子発現を促進することから、ケメリンは脂肪細胞の脂質蓄積および分化過程に関係なく、脂肪酸処理によって分泌が促進されることが示唆された。また、ケメリンは脂肪細胞の分化を誘導する作用を持つことから、ケメリンはヒツ

ジ体内に存在する脂肪酸によって発現が促進される因子で、前駆脂肪細胞の分化を促進し、脂肪組織の発達に関与することが示唆された。

3. ヒツジ成熟脂肪細胞に対するクレアチニン処理によって細胞内の脂肪滴は濃度依存的に減少する傾向が認められた。次に、クレアチニン処理サンプルの PPAR- γ 2、TNF- α 、ケメリンとケメリン受容体の遺伝子の発現を分析した。クレアチニン処理による PPAR- γ 2 の遺伝子の発現の経時的な増減は認められなかった。また、脂質分解に関与する TNF- α の遺伝子の発現は、高濃度クレアチニン処理区で増加した。さらに、ケメリン遺伝子の発現はクレアチニン処理により影響を受けなかった。ケメリン受容体遺伝子の発現は 24 時間の低濃度処理区で低下したが、クレアチニン処理後 72 時間の高濃度処理区で有意な増加が見られた。ケメリン遺伝子の発現はクレアチニン処理によって変化しなかったが、ケメリン受容体の遺伝子はクレアチニン処理によって濃度依存的・経時的に発現が変化することが示唆された。これらの結果から、クレアチニンがヒツジ成熟脂肪細胞のケメリンに対する感受性を制御することで、脂質分解作用を間接的に制御している可能性が示唆された。

4. ウシ培養乳腺上皮細胞 (MAC-T 細胞) を泌乳期のホルモンの条件を再現したプロラクチン無添加・添加およびクレアチニン無添加、低濃度・高濃度を処理した培地で培養し、ケメリン受容体と κ -カゼインの遺伝子の発現を分析した。また、培養後の培地中のグルコース、TG、NEFA および総タンパク質濃度の変化を計測した。ケメリン受容体の遺伝子の発現はプロラクチン無添加区でクレアチニン処理によって減少した。この結果はプロラクチン無添加区でのクレアチニンが MAC-T 細胞においてケメリン受容体の発現を制御し、ケメリンが乳汁分泌機構に及ぼす影響を間接的に制御していることが示唆された。 κ -カゼインの遺伝子の発現はプロラクチン無添加区と添加区の両方で高濃度クレアチニン処理により増加した。また、培地中の TG 濃度はプロラクチン無添加区でクレアチニン添加により減少する傾向を示した。培地中の総タンパク質濃度はプロラクチン無添加・添加にかかわらずクレアチニン高濃度処理により増加した。特にプロラクチン添加区でクレアチニン添加によりケメリン受容体の遺伝子の発現と κ -カゼインの遺伝子の発現が最も大きく変動していることから、泌乳期でのクレアチニンはケメリンの影響の抑制と κ -カゼインを含む乳タンパク質の分泌を促進することが示唆された。

本研究より、反芻家畜の脂肪細胞の発達および乳腺細胞の乳汁分泌機能はケメリン・ケメリン受容体遺伝子の発現がその調節に関与していることが示唆された。また、ケメリン・ケメリン受容体遺伝子の発現が脂肪酸、クレアチニンおよびプロラクチンによって調節される可能性が示唆されたことから、ケメリンが家畜生産において他の物質やホルモンとともに制御に関与する因子であることが示唆された。