

## 学位論文審査の結果の要旨

氏名	松野 景
審査委員	主査 一戸 俊義 (印) 副査 佐藤 利夫 (印) 副査 細井 栄嗣 (印) 副査 兵頭 正浩 (印) 副査 宋 相憲 (印)
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
審査結果の要旨 (2,000字以内)	
<p>脂肪組織はアディポカインと総称される生体物質を分泌し、エネルギー代謝や免疫機能など、多様な生理的機能を有する調節器官として注目されている。これまで発見されたアディポカインのうち、炎症疾患と関連する TNF<math>\alpha</math> や IL6 などの炎症性サイトカインは、ヒトのメタボリックシンドロームに深く関連することが知られているが、これらの炎症性物質の他にも様々な新規炎症性アディポカインが発見されている。</p> <p>近年、新規アディポカインとして知られているケメリンは、ヒトやマウスを対象とした研究により、脂肪細胞内脂質分解を誘導する炎症性アディポカインであることが示唆された。さらに、ケメリンの作用に必須であるケメリン受容体は、体内各組織に分布していることから、ケメリンは脂質分解機能のほかにも様々な体内組織に作用するアディポカインである可能性が考えられる。</p> <p>畜産分野では、筋組織内における脂肪交雑の程度、脂肪含量および乳脂肪含量が肉および乳の価値を判断する重要な基準とされていることから、多くの農家が体内脂肪含量の増大を目的とした飼養体系を実施している。反芻胃を有するウシやヒツジなどの反芻家畜のエネルギー代謝は、グルコースを主要なエネルギー源とする単胃動物とは異なり、反芻胃内微生物により産生される揮発性脂肪酸からエネルギー源を獲得するという独特の生理的特徴を有することから、反芻家畜体内の糖・脂質代謝に及ぼす血中アディポカイン作用様式も異なる可能性が考えられるが、反芻家畜の生理代謝に及ぼすアディポカインの影響については明らかにされていない。そこで、本研究ではヒツジおよびウシを研究対象とし、これら反芻家畜の肉・乳生産に深く関連する脂肪細胞、乳腺上皮細胞の発達および乳分泌機能におけるケメリンの作用と共に、ケメリン作用に及ぼす体内代謝産物の影響を明らかにすることを目的とした。主たる研究結果は以下のとおりである。</p>	

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。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ることから、ケメリンは、反芻家畜脂肪細胞の脂質分解および細胞増殖を誘導する調節因子であることを示した。

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結果、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- $\alpha$  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を示した。

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が、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を示した。

4. ウシ培養乳腺上皮細胞にプロラクチンおよびクレアチニンを処理した結果、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を示唆した。 $\kappa$ -カゼインの遺伝子の発現は高濃度クレアチニン処理により増加、培地中の総タンパク質濃度はクレアチニン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  $\kappa$ -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  $\kappa$ -カゼインを含む乳タンパク質の分泌を促進することを示唆した。

本研究により、これまで不明とされてきた反芻家畜の脂肪細胞におけるケメリン分泌動態および細胞内脂質代謝に及ぼす機能を明確するとともに、他組織の代謝産物がケメリンの分泌およびケメリン受容体の分布を調節し、ケメリンの作用を調節する可能性を示唆した。これらの成果は、学術的に重要な知見と、反芻家畜の肉、乳生産効率向上に貢献可能な基礎知識を有しており、本審査会は、本論文を学位論文として充分価値があるものと判定した。