



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Study on Functional Genomic Analysis of Adipocyte Development

| | |
|-------|--|
| メタデータ | 言語: English 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: KICHOONI, CHOI メールアドレス: 所属: |
| URL | http://hdl.handle.net/20.500.12099/2330 |

| | |
|---------|---|
| 氏名(本国籍) | KICHOON CHOI (大韓民国) |
| 学位の種類 | 博士(農学) |
| 学位記番号 | 農博乙第86号 |
| 学位授与年月日 | 平成16年3月15日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第2項該当 |
| 学位論文題目 | Study on Functional Genomic Analysis of Adipocyte Development (脂肪細胞増殖・分化の機能的ゲノム解析に関する研究) |
| 審査委員会 | 主査 信州大学 教授 佐々木 晋 一 副査 信州大学 教授 小野 珠 乙 副査 静岡大学 教授 森 誠 副査 岐阜大学 教授 伊藤 慎 一 副査 信州大学 助教授 鏡 味 裕 |

論文の内容の要旨

現在、脂肪組織の部位特異的発現による肥満が生活習慣病の発症の因子であることに関心が集中している。脂肪組織の発達は脂肪細胞形成(adipogenesis)と密接に関係し、それは遺伝子あるいは栄養、環境因子等により複雑な機構によって調節されている。また、脂肪細胞はホルモン、成長因子、サイトカインといった生理活性物質を産生・分泌し、自己分泌的手法により増殖・分化が調節されてもいる。しかしながら、体脂肪の分布がいかにより調節され、脂肪組織の部位特異的進展に関与する鍵となる遺伝子がいかに発現するかは完全に解明されてはいない。そこで、本論文は、肥満に関連する様々な問題の解決を導く標的因子を明らかにし、脂肪細胞の増殖・分化のメカニズムを解明するため、①脂肪組織における特異的遺伝子発現の部位差、②種々動物の部位的脂肪蓄積におけるアクチン結合タンパク質の一種であるコフィリンの発現レベル、③脂肪細胞増殖・分化期間中のPI3-キナーゼあるいはMAPキナーゼカスケードの役割、④脂肪細胞におけるGHS-R mRNAの発現および脂肪形成に及ぼすグレリンの役割について論じたものである。本論文の内容は以下のように要約される。

最初に、高脂肪食給餌マウスの皮下および腹腔内脂肪組織の遺伝子発現をDifferential Display RT(DDRT-PCR)によって比較し、普通食および高脂肪食給餌マウスにおける脂肪蓄積部位に関与する4つの遺伝子、Myosin 1C、bHLHB2、Rbbp4、Rcppを同定した。さらに、半定量RT-PCR解析により、それ等4つの

遺伝子が皮下脂肪組織と比較して腹腔内脂肪組織で高く発現し、また、高脂肪食誘導によってその発現が上向きに調節されることを確認している。

次いで、細胞骨格形成に関与するとされている遺伝子、非筋型コフィリンの皮下および腹腔内脂肪組織における発現の違いを、半定量 RT-PCR 解析により、マウス、ブタ、黒毛和種牛で検索した。マウスとブタにおいてその mRNA 発現量は皮下よりも腹腔内で高く、その違いが普通食給餌マウスよりも高脂肪食給餌マウスでより顕著であるという結果を得ている。マウス、ブタとは逆に、黒毛和種牛においては皮下脂肪組織で発現が強いことを明らかにしている。そして、単胃動物と反芻動物における脂肪細胞形成に関与する遺伝子に部位的、機能的相違が存在することを示唆している。

さらに、脂肪細胞の増殖・分化制御機構を理解する上で、種々因子の細胞内情報伝達機構を明らかにすることは必須の条件である。しかしながら、その機構は反芻動物においては不明である。そこで、本論文は、反芻動物であるめん羊脂肪前駆細胞の増殖・分化に関与する PI3-キナーゼおよび MAP キナーゼの役割を明らかにしたものである。その結果、分化初期の代表的な分子マーカー遺伝子、PPAR- γ 2 の発現が MAP キナーゼの抑制剤 (PD098059) によっては影響されず、PI3-キナーゼの抑制剤 (LY294002) によって著しく抑制されること、また、その抑制剤は分化プログラムを用量、時間依存的に抑制することを観察しており、反芻動物においても脂肪前駆細胞の分化過程には、他の動物と同じように、PI3-キナーゼの活性化が必要であることを証明している。

最後に、growth hormone secretagogus (GHS)受容体のリガンドであるグレリンと生体エネルギーバランスおよび組織との密接な関係が示唆されていることから、脂肪細胞におけるグレリンと GHS 受容体の脂肪生成過程との関係を明らかにするために、ラット脂肪細胞における GHS 受容体と PPAR- γ 2 の mRNA 発現量を半定量 RT-PCR 法を用いて解析している。その結果、GHS 受容体 mRNA が加齢により増加し、脂肪前駆細胞の分化に伴って顕著に増加することを示した。さらに、グレリンは脂肪前駆細胞の分化を促進し、PPAR- γ 2 mRNA の発現量を上向きに調節し、脂質分解を用量依存的に抑制することを示した。それ故、グレリンがラットの脂肪形成過程において重要な役割を演じている可能性を示唆している。

上述したように、本論文は、脂肪細胞の脂質代謝および脂肪形成過程において特定の遺伝子およびグレリンが重要な役割を演じており、また、それ等が肥満に関連する様々な問題の解決を導く重要な標的因子であることを示唆し、バイオナノデバイスの開発に一石を投じるものと考えられる。

審 査 結 果 の 要 旨

本論文の公開学位論文発表会は、審査委員全員を含む関連教官や学生の出席のもと、平成 16 年 1 月 27 日 (火) 午後 4 時より信州大学農学部において実施された。発表論文の内容は以下のとおりである。

本論文は機能的ゲノムツールを用いて、脂肪細胞の増殖・分化の分子メカニズムの一端を明らかにしたものである。

最初に、高脂肪給餌マウスの皮下および腹腔内脂肪組織の遺伝子発現を Differential Display RT(DDRT-PCR)によって比較し、普通食および高脂肪給餌マウスにおける脂肪蓄積部位に関与する4つの遺伝子、Myosin 1C, bHLHB2, Rbbp4, Rcpp を同定し、さらに半定量 RT-PCR 解析により、それら4つの遺伝子が皮下脂肪組織と比較して腹腔内脂肪組織で高く発現し、また高脂肪食誘導によってその発現が上向き調節されることを確認している。

次いで、細胞骨格形成に関与する遺伝子、非筋型コフィリンの皮下および腹腔内脂肪組織における発現の違いを、半定量 RT-PCR 解析により、マウス、ブタ、黒毛和種牛で検索し、マウスとブタにおいてその mRNA 発現量は皮下よりも腹腔内で高く、その違いが普通食給餌マウスよりも高脂肪給餌マウスでより顕著であるという結果を得ている。マウス、ブタとは逆に、黒毛和種牛においては皮下脂肪組織で発現が強いことを明らかにしている。そして、単胃動物と反芻動物における脂肪細胞形成に関与する遺伝子に、部位的、機能的相違が存在することを示唆している。

さらに、脂肪細胞の増殖・分化制御機構を理解する上で、種々因子の細胞内情報伝達機構を明らかにすることは必須の条件である。しかしながら、反芻動物においては不明である。そこで、本論文は、反芻動物であるめん羊脂肪前駆細胞の増殖・分化における PI3-キナーゼおよび MAP キナーゼの役割を明らかにしたものである。その結果、分化初期の代表的な分化マーカー遺伝子 PPAR- γ 2 の発現が MAP キナーゼの抑制剤によっては影響されず、PI3-キナーゼの抑制剤によって顕著に抑制されること、またその抑制剤は分化プログラムを用量および時間依存的に抑制することを観察しており、反芻動物においても脂肪前駆細胞の分化過程には他の動物と同様 PI3-キナーゼの活性化が必要であることを証明している。

最後に、GHS 受容体のリガンドであるグレリンと生体エネルギーバランスおよび組織との密接な関係が示唆されていることから、脂肪細胞におけるグレリンと GHS 受容体の脂肪生成過程との関係を明らかにするために、ラット脂肪細胞における GHS 受容体と PPAR- γ 2 の mRNA 発現量を半定量 RT-PCR 法を用いて解析している。その結果、GHS 受容体 mRNA が加齢により増加し、脂肪前駆細胞の分化に伴って顕著に増加することを示した。さらに、グレリンは脂肪前駆細胞の分化を促進し、PPAR- γ 2 mRNA の発現量を上向き調節し、脂質分解を用量依存的に抑制することを示した。それ故、グレリンがラットの脂肪形成過程において重要な役割を演じている可能性を示唆している。

以上のように、本論文は肥満に関連する様々な問題の解決を導く重要な標的因子を明らかにし、脂肪細胞の増殖・分化の分子メカニズムの一端を明らかにしている。よって、慎重に審議した結果、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文として十分価値のあるものと認めた。

【学位論文の基礎となる学術論文】

- 1) Choi,K.C., Roh,S.G., Hishikawa,D., Miyahara,H., Kuno,M., Tsuzuki,H., Tomimatsu,A., Hong,Y.H., Cho,K.K., Han,K.H. and Sasaki,S. (2003). Differential Expression of the Nonmuscle-typeCofilin Gene between Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 67(10):2262-2265.
- 2) Choi,K.C., Shrestha,Y.B., Roh,S.G., Hishikawa,D, Kuno,M., Tsuzuki,H., Hong,Y.H. and Sasaki,S. (2003). The Role of Phosphatidylinositol 3-kinase and Mitogenic Activated Protein Kinase on the Differentiation of Ovine Preadipocytes. *Asian-Aust.J.Anim.Sci.* 16(8):1199-1204.
- 3) Choi,K.C., Roh,S.G., Hong,Y.H., Shrestha,Y.B., Hishikawa,D., Chen,C., Kojima,M., Kangawa,K. and Sasaki,S. (2003). The Role of Ghrelin and Growth Hormone Secretagogues Receptor on Rat Adipogenesis. *Endocrinology* 144(3):754-759.

【既発表学術論文】

- 1) Roh,S.G., Chen,C., Choi,K.C., Shrestha,Y.B. and Sasaki,S. (2002). Is GHRH Receptor Essential GHRP-2-Induced GH Secretion in Primary Cultured Rat Pituitary Cells? *Endocrinology* 143:1964-1967.
- 2) Roh,S.G., Choi,K.C., Shrestha,Y.B., Yoon,C., Woo,J.H. and Sasaki,S. (2002). Increase in Expression of Growth Hormone Secretagogues-Receptor on Differentiation of Ovine Preadipocytes. *Anim.Sci.J.* 73:305-308.
- 3) 佐々木晋一、盧尚建、崔基春 (2002). めん羊前駆および成熟脂肪細胞の増殖・分化制御機構。 *栄養生理研究会報* 46:101-119.