

## 審査の結果の要旨

氏名 窪田 直人

本研究ではperoxysome proliferator-activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ )の個体における生理的役割を明らかにするためにPPAR $\gamma$ ノックアウトマウスを作製し、下記の結果を得ている。

1. PPAR $\gamma$ の脂肪細胞分化における役割を明らかにするためにPPAR $\gamma$ 欠損マウスの胎児線維芽細胞を用いて、脂肪細胞への分化誘導実験を行った。その結果、PPAR $\gamma$ ホモ欠損胎児線維芽細胞は全く脂肪細胞に分化せず、PPAR $\gamma$ が脂肪細胞分化に必須であることが証明された。またPPAR $\gamma$ の発現量が半分であるPPAR $\gamma$ ヘテロ欠損胎児線維芽細胞では脂肪細胞分化の程度も約半分になることから脂肪細胞分化はPPAR $\gamma$ の発現量依存的に起こっていることも明らかとなった。さらにPPAR $\gamma$ ホモ欠損胎児線維芽細胞ではチアゾリジン誘導体を作用させても脂肪細胞への分化は全く認められないことから、チアゾリジン誘導体の脂肪細胞分化作用はPPAR $\gamma$ を介していることも明らかとなった。次に脂肪細胞分化が起こらなかったホモ欠損型胎児線維芽細胞にレトロウイルスを用いてPPAR $\gamma$ 遺伝子を導入したところ、導入された細胞では、分化能が野生型と同程度にまで回復した。以上のことから脂肪細胞分化にはPPAR $\gamma$ が必要かつ十分であることが証明された。

2. PPAR $\gamma$ の肥満やインスリン抵抗性における役割を明らかにするために高脂肪食負荷を行い検討を加えた。野生型及びヘテロ欠損マウスにそれぞれ高脂肪食及び高炭水化物食負荷を行い、体重、白色脂肪組織重量、白色脂肪細胞の大きさを測定した。高脂肪食負荷群においてヘテロ欠損マウスでは体重の増加、白色脂肪組織重量の増大、脂肪細胞の肥大化の程度がいずれも野生型に比し有意に低下していた。またインスリン負荷試験を行ったところ、高脂肪食負荷前では野生型とヘテロ欠損型において差は認められなかったが、負荷15週後では野生型がインスリン抵抗性をきたしたのに対し、ヘテロ欠損型ではこのようなインスリン抵抗性の出現は認められなかった。このように、PPAR $\gamma$ ヘテロ欠損マウスでは高脂肪食負荷時、脂肪細胞の肥大化や脂肪蓄積が抑制され、それに伴ってインスリン抵抗性の出現も軽度となっていた。

3. PPAR $\gamma$ ヘテロ欠損マウスにおける脂肪蓄積の抑制のメカニズムを検討するために、高脂肪食負荷時の野生型とヘテロ欠損型の摂餌量と直腸温を測定したところ、ヘテロ欠損型では有意に摂餌量の減少と直腸温の上昇が認められ、ヘテロ欠損マウスでは高脂肪食負荷時、エネルギー摂取の低下とエネルギー消費の亢進が起きそれに伴い、脂肪細胞肥大化や脂肪蓄積の抑制、およびインスリン抵抗性出現の抑制されていることが明らかとなった。これらはレプチン作用の亢進として説明できる可能性があると考え検討したところ、高脂肪食負荷群のヘテロ欠損型は白色脂肪細胞の大きさが野生型に比し、小型であるにもかかわらず、白色脂肪組織におけるレプチンの発現量、血中レプチンレベルが高値であった。次にこのヘテロ欠損型で認められたレプチンの発現量の増加や血中レプチンレベルの上昇について胎児線維芽細胞より分化させた脂肪細胞にて検討を加えた。前述と同様に野生型、ヘテロ欠損型、ホモ欠損型の胎児線維芽細胞を用いて脂肪細胞分化の実験を行い、分化に伴うレプチンの発現量を検討したところ、ホモ欠損型では全くその発現が確認できなかったのに対し、ヘテロ欠損型では中性脂肪含量が少ないにも関わらず、野生型に比しその発現が増加していた。またこの時の培養液中のレプチン濃度を測定したところ、ヘテロ欠損型では野生型に比しレプチン分泌量の上昇を認め、個体レベルで認められたレプチン発現量の増加と血中レプチンレベルの上昇は脂肪細胞の転写レベルで制御されていることが明らかとなった。成熟脂肪細胞においてレプチンの発現量はPPAR $\gamma$ アゴニスト投与により約3/4落ちること、またPPAR $\gamma$ アゴニストはC/EBP $\alpha$ のレプチン転写活性化能を抑制することから、今回ヘテロ欠損型で認められたレプチンの発現量及び分泌量の増加はPPAR $\gamma$ 遺伝子が半分になったため、レプチン遺伝子に対するPPAR $\gamma$ の抑制が部分的に解除された結果によるものと考えられた。

以上、本論文ではPPAR $\gamma$ ノックアウトマウスを作製し、PPAR $\gamma$ が高脂肪食負荷による脂肪細胞肥大化、脂肪蓄積、インスリン抵抗性の出現を媒介し、その作用の一部はレプチン発現の抑制を介するものであることを示した。この発見は、肥満とそれに伴うインスリン抵抗性の分子機構の解明に重要な貢献を成すものと期待され、学位の授与に値するものと考えられる。