

[別紙2]

## 審査の結果の要旨

氏名 脇 裕 典

本研究は、脂肪細胞由来でインスリン感受性や動脈硬化において重要な役割を果たすアディポネクチンの多量体構造と、その生理活性における役割、またヒトアディポネクチン変異における多量体形成能の変化の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. ヒトおよびマウス血清中、3T3-L1 脂肪細胞より分泌されるアディポネクチンや、NIH-3T3 線維芽細胞、大腸菌に発現させたアディポネクチンが、3 量体から SDS-PAGE 上 400kDa をこえる高分子多量体まで幅広い分子サイズの多量体構造を形成していることを、非熱処理・非還元処理下の SDS-PAGE や、ゲルろ過クロマトグラフィーにより示した。
2. マウスアディポネクチン分子内にある 2 つの Cys 残基のうち N 末端側の Cys<sup>39</sup> を介して S-S 結合が存在することを示した。また、この残基を介した S-S 結合がアディポネクチンの 3 量体をこえる多量体形成において必須であることを初めて示した。加えて、Cys<sup>39</sup> をもたない Cys39Ser mutant アディポネクチンや、globular ドメインは 3 量体しか形成しえないことを示した。
3. AMPK 経路の活性化作用における全長アディポネクチンと globular ドメインの生理活性の違いは、globular ドメインが N 末側のコラーゲン様ドメインを欠くためでなく、N 末端側の Cys<sup>39</sup> を欠いているため 3 量体以上の多量体構造を形成しないことに起因する可能性が初めて示唆された。
4. 今回われわれは 8 種類のヒトアディポネクチンの missense 変異によるアディポネクチ

ンの多量体構造の変化を細胞培養系で検討したところ、ヒトGly84Arg, Gly90Ser mutantアディポネクチンは3量体や中間分子量の多量体は野生型と同程度であるが、高分子多量体のみが特異的に消失するという多量体構造上の特徴を有していた。またヒトArg112Cys, Ile164Thr mutantアディポネクチンは細胞内において単量体は合成されるものの正常な3量体が形成されずに、結果としてアディポネクチンが細胞外へ殆ど分泌されないことを示した。興味深いことに、これらの変異は全て糖尿病あるいは低アディポネクチン血症と有意な関連性を認められている。一方、明らかな表現型のないArg221Ser, His241Pro mutantアディポネクチンは野生型と同様な多量体構造を示すことから、これらのmissense変異に伴うアディポネクチンの多量体構造の変化やそれに伴う細胞外分泌の障害が、これらの変異に伴う糖尿病の発症の原因のひとつになっている可能性が強く示唆された。

以上、本論文はいままで詳細な検討がなされていなかった、アディポネクチンの多量体構造とその簡便な検出法を明らかにするとともに、これらが生理活性におよぼす役割、またヒトアディポネクチン変異の発症機序の一つに多量体形成能の変化が関与する可能性を明らかにした点がこの分野への重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。