

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名：宋海燕

本研究は、肥満と糖尿病を結びつけるホルモンとされるレジスチンの発現作用機構について、レジスチン発現調節機序を解明するために、分子生物学的方法で解析したものである。3T3-L1 脂肪細胞で、インスリンシグナル伝達や脂肪細胞分化に関する蛋白 (PI3 キナーゼ、Akt キナーゼ、MAP キナーゼ、PPAR α 、C/EBPs、PTEN など) によるレジスチン発現調節を検討し、下記の結果を得ている。

1. アデノウイルスによる C/EBP α の過剰発現により、レジスチンの mRNA と蛋白量をそれぞれ170%,141%と著明に増加した。逆に、C/EBP β はレジスチンの mRNA と蛋白量はそれぞれ85%,80%と著明に減少させた。C/EBP α は、脂肪細胞ではない L6 筋肉細胞でも、レジスチンの発現を誘導した。

2. アデノウイルスによる PPAR γ の過剰発現により、レジスチンの mRNA と蛋白量はそれぞれ60%,43%と著明に減少した。逆に、PPAR α はレジスチンの mRNA と蛋白量に影響が及ぼさなかった。

3. アデノウイルスによる p110 α の過剰発現により、レジスチンの mRNA と蛋白量はそれぞれ 78%, 74%と著明に減少した。PTEN は PI 3-kinase の効果を抑制するとされる、アデノウイルスによる PTEN の過剰発現により、レジスチンの mRNA と蛋白量はそれぞれ 2.1 倍、2.0 倍と著明に増加した。Myristoylated PTEN の過剰発現により、レジスチンの mRNA と蛋白量はそれぞれ 2.8 倍、2.5 倍と著明に増加した。Akt は PI 3-kinase の下流の蛋白の一つである。アデノウイルスによる Akt の過剰発現により、レジスチンの mRNA と蛋白量はそれぞれ 61%, 58%と著明に減少した。myristoylated Akt の過剰発現により、レジスチンの mRNA と蛋白量はそれぞれ 83%, 70%と著明に減少した。

4. ERK, p38, JNK は 3 種類の MAP kinase である。MEK1, MKK6, MKK7 はそれぞれ ERK, p38, JNK の上流にある。アデノウイルスによる MEK1 の過剰発現により、レジスチンの mRNA と蛋白量はそれぞれ 94%, 70%と著明に減少した。同様に、MKK6 はレジスチンの mRNA と蛋白量をそれぞれ 84%, 60%と著明に減少させた。MKK7 は、コントロールと比べて、レジスチンの mRNA と蛋白量をそれぞれ減少させた。

5. PI 3-kinase, Akt, PTEN, MAPK によるレジスチンの調節が、PPAR や C/EBP を介しているかどうかを明らかにするため、3T3-L1 脂肪細胞において PI 3-キナーゼ, Akt, PTEN, MAPK を過剰発現させた際の、PPAR α , PPAR γ , C/EBP α , C/EBP ζ の蛋白量を測定した。PPAR α と PPAR γ の発現は、Akt, PTEN, MAPK の過剰発現による影響を受けなかった。一方で、C/EBP α は p110 α の過剰発現により 102 % と著明な増加を認め、Akt と myr-Akt も C/EBP α をそれぞれ 116 % と 121% と著明に増加させた。PTEN と myr-PTEN は、C/EBP α をそれぞれ 74 % と 77 % と著明に減少させた。MEK1, MKK6, MKK7 は C/EBP α をそれぞれ 69 %, 48 %, 35% と著明に減少させた。p110 α , Akt, myr-Akt, PTEN, myr-PTEN, MEK1 は C/EBP ζ に影響はなかった。MKK6, MKK7 は C/EBP ζ をそれぞれ 36% と 40% と著明に増加させた。

以上、本研究では脂肪細胞の分化やインスリン抵抗性に関与する転写因子 C/EBP α , PPAR γ は、レジスチンの発現における主な調節因子でもある。そして、脂肪細胞では、PI 3-キナーゼ、Akt、MAPK カスケードが活性化により、レジスチンの発現は抑制されることが明らかになったことが判明した。本研究は、生活習慣の変化により増加傾向にある糖尿病の病因であるインスリン抵抗性に関して新しい知見を加えるものと考えられ、学位の授与に値するものとかんがえられる。