

審査の結果の要旨

氏名 藤尾純子

本研究はインスリン抵抗性との関連性および免疫/炎症との関連性が示唆されている腸管分泌蛋白である RELM β (レジスチン様関連蛋白ベータ)の発現調節機構を食餌の栄養組成による変化の観点から検討したものであり、下記のような結果を得ている。

1. マウスに3種類の栄養組成の異なる(それぞれ炭水化物・蛋白・脂肪が総カロリーの80%を占める)食餌を2週間及び6週間負荷した結果、高脂肪食群に体重増加傾向を認め、2週6週の両方の時点で糖負荷試験によりインスリン抵抗性を認めた。空腹時血糖・血清インスリン値には負荷食群間で有意差を認めず、コレステロール値は高蛋白食群で6週間を通して有意な低下を認めた。
2. 体内の RELM β 及びファミリー蛋白である RELM γ 、RELM α 、レジスチンの発現変化について mRNA 発現をリアルタイム PCR 法で、蛋白発現をウェスタンブロッティング法で検討した結果、RELM β だけに栄養素による有意な発現変化が認められた。RELM β の発現分析では mRNA・蛋白ともに、2週・6週双方で高蛋白食・高炭水化物食負荷群の腸管における発現が著明に低下していた。大腸組織標本(HE染色)での検討の結果、蛋白発現低下は RELM β 産生細胞である杯細胞の形態的・量的変化を伴わないことが確認された。
3. RELM β を産生するヒト大腸癌細胞株 LS174T 細胞を用いてブドウ糖・アミノ酸・遊離脂肪酸などの栄養素、また腸管の微小環境に存在しう

るホルモンとしてのインスリン、炎症性サイトカイン $\text{TNF}\alpha$ による刺激での $\text{RELM}\beta$ mRNA の発現変化を検討し、インスリン刺激 (100 nM) ・ $\text{TNF}\alpha$ 刺激 (100 ng/ml) で有意な発現亢進を認めた。3種の遊離脂肪酸による刺激 (0.5 mM, 2.0 mM) では、遊離飽和脂肪酸であるステアリン酸 (SA) でのみ、 $\text{RELM}\beta$ mRNA 発現の有意な上昇を認めた。ブドウ糖・アミノ酸刺激による有意な変化がなかったことから栄養素が直接発現調節に拘っている可能性は低いと考えられた。また脂肪組織で産生される遊離飽和脂肪酸は炎症シグナル伝達因子としての役割を持つことが示されていることから $\text{TNF}\alpha$ と併せ、炎症関連因子による刺激が強く発現調整に関与すると考えられた。

以上、本論文は食餌の栄養組成が $\text{RELM}\beta$ の発現を著名に変化させることを明らかにし、その機序として腸管内の細菌叢の変化に伴う炎症反応が強く拘っている可能性を示した。肝臓においてインスリン抵抗性の成立に関係することが示されている $\text{RELM}\beta$ は、生体内の炎症反応とインスリン抵抗性の病態に介在するメディエータとしてメタボリック症候群の病態形成に関わっている可能性を示した。 $\text{RELM}\beta$ の機能解明に一定の貢献をしたと考えられ、学位授与に値するものと考えられる。