

審査の結果の要旨

氏名 羽田 裕亮

本研究は脂肪細胞から分泌されるアディポネクチンについてそのヒト血清中の多量体の分離精製方法を見出し、その精製画分を用いて多量体ごとの活性の違いについての検討を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. ヒト血清中のアディポネクチンは何種類かの多量体構造をとることが知られていたがその詳細は未知のままであった。抗アディポネクチン抗体カラムを用いてアディポネクチンを分離し、4種類の多量体の存在を確認した。これを抗アルブミン抗体カラムへの結合の有無、ゼラチン結合カラムへの塩濃度勾配の違いによる結合度の程度、ゲル濾過カラムによる分子量の違いを用いた分離により 4 種類をそれぞれに分離精製できる事を示した。
2. このうちアルブミン結合カラムへの結合画分に存在した画分はさらに還元を行うことによりアディポネクチンと不明なタンパク質に分離され、N末端アミノ酸解析によりこの不明なタンパク質がアルブミンである事を見出し、さらにこれがアディポネクチン 3 量体とジスルフィド結合していることを示した。
3. BS3 による架橋を用いて分子量を求め、分離された 4 種類が、高分子多量体(HMW)、6 量体(MMW)、3 量体(LMW)、アルブミン結合 3 量体(Alb-LMW)である事を示した。
4. C2C12 細胞の細胞膜への binding-affinity を計測して、HMW の結合度が他の多量体に比べて高い事を示した。また、アディポネクチンにより

刺激したときに HMW の AMPK 活性化能が最も高い事を示し、臨床上も測定がインスリン抵抗性の評価などに有用となりうる事を示唆した。

以上、本論文はヒト血清中のアディポネクチンを分離精製する方法を初めて見出し、またその生理活性が異なることを示して、多量体ごとの測定の臨床的意義を示した論文であり、学位の授与に値するものと考えられる。