

[別紙1]

審査の結果の要旨

氏名 三木啓司

インスリン抵抗性のメカニズムの解明という観点から、インスリンや IGF-1 などの主要な細胞内情報伝達分子である IRS-1 および IRS-2 の脂肪細胞の分化に果たす役割について、両者の各種欠損マウスから得られた胎児線維芽細胞を用いて検討を行ったものである。IRS-1 欠損マウスおよび IRS-2 欠損マウスからのホモ欠損細胞に加え、両者のダブルホモ欠損細胞を作成し、野生型も含め比較検討している。結果、IRS-1 と IRS-2 の両者が脂肪細胞分化過程において必要であり、かつ両者間に完全な相補性はないこと、両者は PI-3 K 活性化を介して PPAR γ や C/EBP α の発現調節に重要な役割を果たすことが示された。最後にダブル欠損マウスの個体レベルでの脂肪組織の解析も行っている。欠損マウスの細胞を用いたことにより、IRS-1 と IRS-2 の意義を、特異的かつ **straight-forward** に明らかにしたものであり、示されたデータも明確で、優れた研究といえる。

本研究では得られた結果および考察は以下の通りである。

- 1、4種(野生型、IRS-1 欠損型、IRS-2 欠損型、IRS-1/IRS-2 ダブル欠損型)の胎児線維芽細胞を調製し脂肪細胞へ分化させることで分化の程度を評価したところ、IRS-1、IRS-2 は互いに、脂肪細胞分化過程において完全にはその機能を代償することができないことが分かった。IRS-1 および IRS-2 は脂肪細胞分化に必須の分子であることが判明した。
- 2、脂肪細胞分化過程の PI-3Kinase 活性の上昇を測定したところ、脂肪細胞分化過程に上昇する PI-3Kinase 活性と脂肪細胞分化には相関があった。一方、脂肪細胞分化過程の MAPK 活性化は4種の細胞間で差は認められず、脂肪細胞分化が障害されている原因として MAPK の活性化は関与していないことが分かった。
- 3、脂肪細胞分化に関わる転写因子 mRNA の発現を調べたところ、脂肪細胞分化初期に発現する転写因子 C/EBP β の発現は4種の細胞間で変わらず、C/EBP δ の mRNA の発現は IRS-1 欠損型細胞および IRS-1/IRS-2 ダブル欠損型細胞で上昇していた。一方、脂肪細胞分化中期に発現してくる転写因子 C/EBP α 、PPAR γ の mRNA 発現は IRS-1/IRS-2 ダブル欠損型細胞で著明に

低下しており、タンパクレベルでも低下していることを確認した。PI-3Kinase 阻害剤 LY294002 の添加で C/EBP α 、PPAR γ の発現が認められなかったことから、IRS-1 および IRS-2 を介する PI-3Kinase 活性が PPAR γ 、C/EBP α の発現を調節していることが明らかとなった。

- 4、IRS-1/IRS-2 ダブル欠損型細胞へのレトロウィルスを用いた PPAR γ 遺伝子の導入実験の結果、IRS-1 および IRS-2 は PPAR γ の発現上昇のみに関与しているわけではなく、他の下流シグナル伝達経路も含めて脂肪細胞分化を調節していると考えられた。
- 5、IRS-1/IRS-2 のダブル欠損型マウスの新生児の脂肪組織を解析したところ、白色脂肪組織量は著明に低下していたが認められた。in vitro 実験は分化誘導剤として IBMX・DEX・インスリンおよび 10%FCS を用いた実験系であるのに対し、胎盤中ではインスリン・IGF-1・IGF-II・Growth Hormone などの増殖因子・ホルモン・生理活性物質が関与した種々の経路のシグナルが IRS-1/IRS-2 シグナルを部分的に代償することで、ダブル欠損マウス新生児の白色脂肪組織は部分的に分化したのではないかと推察された。一方、ダブル欠損マウス新生児の褐色脂肪組織量は低下していなかった。ダブル欠損マウス新生児の褐色脂肪組織量が低下していなかった理由として、褐色脂肪組織においては、IRS-3 が IRS-1/IRS2 シグナルをほぼ完全に代償できた可能性が考えられた。

以上、本論文は、遺伝子欠損マウス胎児由来線維芽細胞を用いた脂肪細胞への分化誘導実験系を研究手法として、脂肪細胞分化過程における IRS-1、IRS-2 の役割を特異的かつ **straight-forward** に解明した研究である。

本研究は、肥満症とインスリン抵抗性の発症メカニズムの観点から重要であり、インスリンと IGF-1 を起点とする細胞内情報伝達シグナルが脂肪細胞分化に関わる役割を考える上で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。