

論文審査の結果の要旨

氏名 吉田 義

本論文は2章からなり、第1章では Ghitm (Growth hormone-inducible transmembrane protein) の発現と細胞内局在部位の解析結果が、第2章では Ghitm 遺伝子改変マウスの作製と表現型の解析結果が述べられている。

まず、緒言で本研究の背景となる様々な先行研究を紹介し、それらをもとに、本研究の意義および目的が述べられている。

第1章では、まず、Ghitm の発現量と脂肪細胞への脂肪蓄積量変化との関連に着目して解析を行い、培養脂肪前駆細胞 3T3-L1 を成熟脂肪細胞へと分化誘導すると、分化に伴って Ghitm の発現は上昇すること、培養を継続することによって脂肪をさらに蓄積させたところ、Ghitm の発現は再び低下することを示した。次に、GH の過剰発現によってラット脂肪組織に脂肪分解を引き起こしたところ、Ghitm の発現は低下した。また、レプチン遺伝子の欠損、もしくは高脂肪食飼料を投与することによって脂肪を過剰に蓄積したマウス脂肪組織においても共に Ghitm の発現が低下していることを見出した。これらの結果から、*in vitro* および *in vivo* において共に Ghitm は成熟脂肪細胞において高発現しているが、脂肪細胞が矮小化、もしくは肥大した際にはその発現が抑制されることを示した。

次に、Ghitm の機能部位を同定する目的で培養細胞および脂肪細胞内での Ghitm 局在部位を解析し、いずれの場合も Ghitm はペルオキシソームに特異的に局在することを示した。ペルオキシソームは脂肪酸の β 酸化やプラズマローゲンなどのエーテルリン脂質の合成、胆汁酸の生合成など、多くの脂質代謝系に関与する細胞内小器官であり、ペルオキシソームと肥満、糖尿病とは密接に関連していると考えられる。

第2章では、Ghitm の機能を個体レベルで解析するため、Ghitm ノックアウトマウス (GhitmKO) を作製した。Ghitm 遺伝子上において開始メチオニン及び第1~第3膜貫通領域を含むエクソン2~5を欠失するようにターゲティングベクターを作製し、ES細胞に導入することで相同組み換えを行い、定法に従ってキメラマウス、ヘテロ組み換えマウスを得た後、生殖細胞系列で Cre リコンビナーゼを発現するトランスジェニックマウスと交配することで、GhitmKO を作製した。GhitmKO はメンデル則に従って生まれ、剖検による組織異常は認められなかった。次に、野生型マウス(WT)と GhitmKO の脂肪組織間で脂肪細胞機能に関わる遺伝子群の発現比較を行ったところ、脂肪組織の種類によって異なる遺伝子群に発現変動の差を見出した。この結果は、Ghitm が血糖値や遊離脂肪酸を初めとした代謝内分泌経路に関与しており、その機能は脂肪組織間で異なることを示唆していた。そこで、Ghitm 遺伝子欠失による脂質代謝内分泌系への影響を解析す

るため、野生型及び *Ghitm*KO に高脂肪飼料を投与し、体重変化、血糖値、血中遊離脂肪酸およびトリグリセリド量の測定を行った。その結果、高脂肪飼料を与えた際には *Ghitm*KO は WT と比べて有意に体重増加が認められたのに対し、通常飼料下では体重は逆に減少した。また、高脂肪食下では *Ghitm*KO は高血糖、低遊離脂肪酸となった。*Ghitm*KO が WT に比べて高脂肪食下で高血糖となったことから、*Ghitm* 遺伝子が血糖値の調節に関わっていることが示唆された。そこで、血糖値上昇を引き起こした原因をさらに解析するため、グルコース投与後の血糖値の測定（グルコース耐性試験）およびインスリン投与後の血糖値の測定（インスリン耐性試験）を行った。その結果、*Ghitm*KO はインスリン投与によって血糖値が正常に低下したのに対し、WT に比べてグルコース投与後の血糖値が有意に上昇した。一方、WT および *Ghitm*KO の初代培養脂肪細胞においてインスリンシグナル伝達経路を解析したところ、インスリン刺激によるインスリン受容体（IR）、インスリン受容体基質（IRS）、Akt のリン酸化に差違は認められなかった。これらのインスリン耐性試験およびインスリンシグナル伝達経路の解析から、*Ghitm*KO が示す高血糖はインスリンシグナル伝達の不全によるものではなく、インスリン分泌の不全によるものであることが示唆された。そこで、グルコース耐性試験時のインスリン分泌量を測定したところ、*Ghitm*KO は WT に比べてグルコース投与後のインスリン分泌が低下していることが明らかにした。

得られた結果をもとに本研究の総括を行ったのち、材料と方法、参考文献、謝辞が書かれている。

以上、本論文は、エネルギー代謝制御における *Ghitm* の機能を初めて明らかにしたもので、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。