

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 長谷川 高士

生体内でのエネルギー代謝に重要な役割を果たす脂肪細胞は、インスリン様成長因子 (IGF)・cAMP・グルココルチコイドの共存下で、前駆脂肪細胞から分化することが知られている。このインスリン様成長因子(IGFs)は、脂肪前駆細胞の増殖、分化に重要な役割を果たしていることが *in vivo*、*in vitro* 両面からよく知られているが、脂肪細胞への分化における IGF シグナルがどのように制御されているかは明らかではない。

そこで、本論文は、分化誘導に高濃度インスリン・cAMP・グルココルチコイドを用いるマウス脂肪前駆細胞 3T3-L1 を用いて、脂肪細胞への分化・成熟誘導における IGF/インスリンの役割を、細胞内シグナル伝達の観点から明らかにしたもので、序章、本論が四章、そして終章からなる。

まず序章では、本研究の背景及び意義を概説し、本研究の目的と本論文の構成について述べている。

第一章では、分化誘導に応答して分化に必須な転写因子 C/EBP $\beta$ 、C/EBP $\alpha$ 、PPAR $\gamma$ とそれらの標的遺伝子が発現することを確認し、分化誘導に応答した IGF シグナル分子の量やリン酸化量の変動を解析している。その結果、IGF-I 受容体は分化誘導に応答して減少するのに対して、インスリン受容体は増加すること、IRS-1 量・チロシンリン酸化が分化誘導開始4日間 (分化誘導期)まで著減し、分化誘導開始4日目以降 (成熟誘導期)に増加する一方、IRS-2 量・チロシンリン酸化は分化誘導期に著増し、成熟誘導期以降にやや減少すること、下流のシグナル分子 Akt と GSK3 $\beta$ のリン酸化が IRS-1 の量変動を反映していることを見出した。

第二章ではこの IRS-1 量の減少が脂肪細胞への分化・成熟に果たす役割について、IRS-1 を過剰発現することで解析している。まず、IRS-1 を過剰発現した結果、Akt と GSK3 $\beta$ のリン酸化の増加が起き、このときに C/EBP $\alpha$ 、PPAR $\gamma$ の発現が抑制され、これらの標的遺伝子のうち 11 $\beta$ HSD1、GLUT4 の発現が抑制されることを発見した。また IRS-1 過剰発現細胞では、脂肪蓄積の抑制された細胞と一部に強く脂肪を蓄積した細胞が認められた。続いて、活性化型 Akt を導入によっても GSK3 $\beta$ のリン酸化の増加と、C/EBP $\alpha$ 、PPAR $\gamma$ の発現の抑制がみられた。また、GSK3 阻害剤によって分化誘導期に GSK3 を阻害すると C/EBP $\alpha$ 、PPAR $\gamma$ の発現が抑制され、脂肪蓄積が認められないことをあわせ、分化誘導期の IRS-1 の減少が Akt を不活性化し、Akt によって抑制されていた GSK3 $\beta$ が活性化、脂肪細胞への分化に必須な遺伝子発現を行うことで、脂肪細胞への分化・成熟がおこるといふ分

子機構が明らかとなった。

第三章では IRS-2 量の増加が脂肪細胞への分化・成熟に果たす役割について IRS-2 の発現抑制を行うことで解析している。IRS-2 をノックダウンした細胞では、C/EBP $\alpha$ や PPAR $\gamma$  やその標的遺伝子の発現に差は認められない。しかし、IRS-2 ノックダウンによって脂肪蓄積が抑制される傾向にあったため、成熟誘導期の脂肪蓄積に重要な役割を果たす可能性が考えられた。

第四章では分化誘導に応答した IRS 量の調節機構を検討している。その結果、IRS-1 はインスリン・グルココルチコイド・cAMP 同時処理により、プロテアソーム経路と転写調節を介して減少すること、一方 IRS-2 は cAMP 処理により、転写調節を介して増加することが明らかとなった。

総合討論では、分化誘導因子による、IRS 量調節を介した新たな IGF シグナルの調節機構と脂肪細胞への分化機構の調節をまとめ、脂肪細胞の分化・成熟における IRS-1 と IRS-2 の生理的意義の差異について考察している。

このように、本研究では脂肪前駆細胞から脂肪細胞への分化過程において、他の因子が IRS の量変動を介して IGF シグナルを調節し、特に IRS-1 を介したシグナルを遮断することが新たなシグナル経路を活性化させ、脂肪細胞への分化を促進するという新しいシグナル機構を明らかにしたもので、学術上、臨床上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位として価値あるものと認めた。