

審査の結果の要旨

氏名 笹子 敬洋

本研究は、肥満・糖尿病の病態形成に重要な役割を果たしていると考えられる、摂食状態の応じた肝臓での代謝制御機構について、より詳細な機序を解明することを目的としている。絶食状態と再摂食状態でのマウスの肝臓での検討から、下記の結果を得ている。

1. 野生型マウスの肝臓で、24時間絶食後と6時間再摂食時の mRNA 発現を、マイクロアレイで網羅的に解析した。その結果、再摂食時に発現が上昇する遺伝子の中に、小胞体ストレス関連遺伝子を複数認め、また上昇幅が2番目に大きい Sdf211 (stromal cell-derived factor 2 like 1) も、摂食と小胞体ストレスを結びつける鍵分子の候補として、併せてこれに注目した。
2. 野生型マウスの肝臓で、24時間絶食後と6時間再摂食時の mRNA 発現を RT-PCR で解析したところ、マイクロアレイ解析で発現が上昇していた小胞体ストレス関連遺伝子の mRNA 発現が、実際に上昇ないし上昇の傾向を示しており、その他の代表的な小胞体ストレス関連遺伝子についても同様であった。その経時変化をより詳細に解析すると、代表的な小胞体ストレスマーカーはいずれも、再摂食 1-4 時間で大幅に上昇しており、Sdf211 も同様の経過を示すことが分かった。このことから肝臓に於ける小胞体ストレスは、摂食の度に生理的な反応として惹起されている可能性が示唆された。
3. アデノウイルスを用い、肝臓で Sdf211 を過剰発現させた野生型マウスを作製した。このマウスの肝臓では、再摂食時の小胞体ストレスマーカーの mRNA 発現が低下していた。このことから Sdf211 を肝臓で過剰発現させることで、摂食時の小胞体ストレスが軽減される可能性が示された。
4. この Sdf211 過剰発現マウスでは、経口グルコース負荷試験とインスリン負荷試験は、いずれも改善を示した。更に肝臓でのインスリンシグナルを評価すると、再摂食時にインスリン受容体基質、及びその下流の Akt のレベルで賦活化されている一方、再摂食時の JNK のリン酸化は抑制されていた。このことから Sdf211 を肝臓で過剰発現させることで、JNK 経路の抑制を介して、インスリンシグナルが賦活化され、全身のインスリン感受性と耐糖能も改善しているものと考えられた。
5. Sdf211 が実際の病態形成に果たす役割を明らかにするため、肥満・糖尿病モデルマウスである *db/db* マウスで、Sdf211 の発現を検討した。まず週齢に伴う変化を見ると、Sdf211 は6週齢の時点で既に対照マウスよりも mRNA 発現が低下しており、14週齢では更に低下幅拡大することが分かった。10週齢のマウスで絶食・再摂食時の発現変化を解析したが、随時摂食、絶食、再摂食のいずれの時点でも発現は低下したままであり、いずれも既知の小胞体ストレスマーカー遺伝子の変化とは異なる挙動であった。このことから Sdf211 の低下が、病態形成を考える上で重要な役割を果たしていることが考えられた。
6. アデノウイルスを用い、肝臓で Sdf211 を過剰発現させた *db/db* マウスを作製した。このマウスでは耐糖能が有意に改善しており、肝臓でのインスリンシグナルは賦活化されていた。更に肝臓での中性脂肪含量は低下傾向を認め、実際に脂肪酸合成に重要な転写因子である PPAR γ の mRNA 発現が低下を示した。このことから病態モデルで Sdf211 の発現を回復させることで、肝臓でのインスリンシグナルが賦活化され、脂肪肝についても改善している可能性が示唆された。

以上、本論文は絶食時と再摂食時のマウスの肝臓の解析を基に、摂食によって肝臓にて小胞体ストレスが、生理的な反応として惹起されること、新規小胞体ストレス調節因子である Sdf2l1 は小胞体ストレス調節を介して摂食時のインスリン感受性が過剰とならないよう調節を行っていること、肥満・糖尿病モデルでは Sdf2l1 の発現が低下しているが、それを補うことでインスリン感受性が改善することを明らかにした。本研究は、摂食状態に応じた代謝制御機構の破綻と肥満・糖尿病の関連を、小胞体ストレスの面から初めて明らかとし、また新規小胞体ストレス調節因子 Sdf2l1 の機能解明は、糖尿病の病態形成や治療戦略を考える上でも大きな貢献をなすと期待され、学位の授与に値するものと考えられる。