

[過程-2]

## 審査の結果の要旨

氏名 小栗 淳

本研究は培養マウス脂肪前駆細胞における電位依存性カルシウムチャネル (Cav) の電気生理学および分子生物学的特徴を明らかにすることを目的として行われ、下記の結果を得ている。

1. パッチクランプを用いた検討で、マウス脂肪前駆細胞セルライン 3T3-L1 細胞において、細胞を-100mV に保持し種々の脱分極パルスを与えると、速い内向き電流が観察された。この電流の電気生理学的特徴や、各種カルシウムブロッカーに対する反応から、T 型 Cav が発現していることが示唆された。
2. RT-PCR 法により Cav チャネル遺伝子の発現について検討を行い、T 型 Cav の中でも、 $\alpha_{1G}$  でコードされる T 型 Cav (Cav3.1) が優位に発現していることを示した。免疫組織化学法でも同様の結果を示した。
3. マウス組織から単離した脂肪前駆細胞においても、Cav3.1 が優位に発現していることを示した。
4. 脂肪前駆細胞から脂肪細胞に分化すると、Cav3.1 発現レベルは低下し、同様にマウス肥満モデルから単離した脂肪細胞においても、Cav3.1 発現レベルが低いことを示した。
5. 細胞増殖の検討から、T 型 Cav ブロッカーであるミベフラジル、NNC55-0396 は、脂肪前駆細胞の増殖を抑制し、 $\alpha_{1G}$  に対する siRNA の導入によっても同様に細胞増殖の抑制がみられたことが示された。
6. セルサイクルの検討から、T 型 Cav ブロッカーや  $\alpha_{1G}$  に対する siRNA で処理された細胞は、細胞周期 G0/G1 期に留まっており、細胞増殖が抑制されていることが判明した。

以上、本論文は、マウス脂肪前駆細胞には、 $\alpha_{1G}$  でコードされる T 型 Cav3.1 が存在することを RT-PCR 法および定量 RT-PCR 法、免疫染色法によって明らかにし、培養マウス脂肪前駆細胞に存在する  $I_{Ca}$  は、これら Cav 3.1 によって構成されていることを電気生理学的・薬理学的分析によって明らかにしたものである。さらに、この Cav の生理学的役割は、脂肪前駆細胞の増殖に重要な役割を果たしていることが判明した。これまで脂肪前駆細胞における Cav に関しては、これまでに詳細な報告がなされておらず、本研究は、マ

ウス脂肪前駆細胞における Cav3.1 の存在と細胞増殖に対する関与を始めて直接的に証明したものであるといえる。本研究から、さまざまな生活習慣病の原因となる肥満形成の抑制に、T 型 Cav ブロッカーが治療の新しい標的になりうることも示唆される。肥満の病態の解明に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。