

[課程—2]

審査の結果の要旨

氏名 山田 容子

本研究では肥満を基礎的背景に持つメタボリックシンドロームに対して、脂肪細胞に異所性に発現するeNOSが果たす役割についてin vitroとin vivoの両方の観点から検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. 3T3L1細胞において分化とともにeNOSの発現が認められ、NOが分泌されることを示した。このeNOSの発現は、ciglitazone やtroglitazone (PPAR γ アゴニスト)の添加や、siRNAによるKLF2 (Krüppel-like factor2)のノックダウンで抑制されることから、脂肪細胞内eNOSの発現制御にPPAR γ /KLF2が関与していることが示された。
2. 成熟脂肪細胞へのイソプロテレノールの刺激で、hormone sensitive lipase (HSL)のリン酸化と培養上清中のglycerol濃度が有意に増加した。同時にAktやeNOSのリン酸化が増大した。L-NIOやeNOS siRNAの前処理でイソプロテレノールによるglycerol分泌は有意に増強したため、脂肪細胞内eNOSは脂肪分解を抑制的に作用することが示された。N-ethylmaleimideやauranofinの前処理は脂肪分解を有意に抑制し、脂肪分解におけるNOの作用メカニズムはS-ニトロシル化経路を介していることが示された。
3. c57Bl6Jマウスを4-16週までNC (Normal Chow)を投与した群と、HFD (High Fat Diet)を投与した群、4-12週までHFDを投与し12-16週までNCを投与した群の3群に分けた。HFD群ではNC群に比較して有意な体重増加、総脂肪量の増加、高TCH症、高血糖を認めた。また、HFD群では内臓脂肪におけるeNOS発現量の有意な低下を認めた。4週間HFDをNCに戻すことで、HFDによるeNOSの発現量の低下を回復させた。また、HFD群ではNC群に比較して肝臓のTG貯蓄量が増加しており、食事療法群ではHFD群に比較して肝臓の貯蓄TG量の改善を認めた。これは、内臓脂肪におけるeNOSの発現量と逆の関係を示しており、eNOSの低下による脂肪分解の亢進とNAFLD (Non Alcohol Fatty Liver Disease)の程度との関連の可能性が示された。
4. c57Bl6Jマウス(WT)とeNOS KOマウスを4-16週までNCを投与した群と、HFDを投与した群の2群に分けた。HFDの投与で、eNOS KOマウスではWTに比較して脂肪細胞のサイズ、体重、皮下脂肪量において著明に増加した状態が認められた。内臓脂肪量についてはeNOS KOマウスではWTより有意に減少していた。また、eNOS KOマウスではWTに比較して有意な高血糖、高トリグリセライド血症、高コレステロール血症を認めた。

5. HFDを投与したWTとeNOS KOマウスの腹腔内にイソプロテレノールを注入し脂肪分解を促進させたところ、投与後6時間の血清FFA値がeNOS KOマウスでは有意に増加した。また、投与前と6時間後の血清FFAの値の変化量、すなわち、脂肪分解によって放出されたFFAの絶対値がeNOS KOマウスでは有意に大きかった。以上から、*in vitro*で確認されたeNOSの脂肪分解抑制作用が*in vivo*においても示された。

6. eNOS KOマウスはHFDの投与により、WTに比較して肝臓内脂肪組織の増加や約1.5倍の肝重量の増加など、著明なNAFLDへの変化を認めた。また、eNOS KOマウスでは血中のASTの上昇と肝臓内貯蓄TGの約2倍もの増加が認められた。さらに、eNOS KOマウスでは著明な高インスリン血症も認めた。

以上、本論文は脂肪細胞に異所性に発現するeNOSはS-ニトロシル化を介して脂肪分解を負に制御していることを明らかにした。また、肥満による脂肪細胞におけるeNOSの発現低下が脂肪分解を亢進させる結果、NAFLDを引き起こしてインスリン抵抗性を増悪させることが推察され、脂肪内eNOSの発現増強または活性化がメタボリックシンドロームや心血管疾患の新たな治療戦略となりうると考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。