

## 【課程-2】

# 審査の結果の要旨

氏名 石田 純一

本研究は高等動物の脂肪分化、肥満形成、耐糖能異常や糖尿病といった病態形成において重要な役割を演じていると考えられる転写因子 KLF6 の機能を明らかにするため、KLF6 ヘテロノックアウトマウス（以下 **KLF6<sup>+/-</sup> mouse**）の解析と前駆脂肪細胞を用いた培養細胞実験を行い、下記の結果を得ている。

1. 通常食投与下において、**KLF6<sup>+/-</sup> mouse** は野生型と比較して体重や各臓器の重量、組織所見、血液検査値に有意な差は認められなかった。一方で高脂肪食を投与したところ、**KLF6<sup>+/-</sup> mouse** は野生型と比較して摂餌量は有意な差が認められないにもかかわらず、体重増加が有意に抑制されていた。

2. 高脂肪食負荷条件における白色脂肪組織重量は両群で有意差を認めなかったが、共焦点顕微鏡を用いて観察したところ、**KLF6<sup>+/-</sup> mouse** では、野生型と比較して血管の集簇を伴う小型脂肪細胞が数多く認められ、新たな脂肪細胞の産生が亢進している可能性が考えられた。後述する血中アディポネクチン濃度が高値であったことや耐糖能が保持されていたこともこの仮説を示唆する。また **KLF6<sup>+/-</sup> mouse** の白色脂肪組織では aP2 や LPL などの脂肪マーカーの発現が有意に低減されていた。

3. 高脂肪食を投与した **KLF6<sup>+/-</sup> mouse** の褐色脂肪組織や肝臓は野生型と比較して脂肪変性がより軽度であり、また肝臓の重量も **KLF6<sup>+/-</sup> mouse** では有意に軽かった。**KLF6<sup>+/-</sup> mouse** の褐色脂肪組織において熱産生が亢進している可能性、さらにはこれにより **KLF6<sup>+/-</sup> mouse** の体重増加が抑制された可能性も示唆された。また **KLF6<sup>+/-</sup> mouse** の肝臓の脂肪変性が抑制されていた原因として **KLF6** の肝臓における未知の機能、もしくは熱産生が亢進した褐色脂肪組織の間接的な作用が想定された。

4. 高脂肪食負荷条件下では空腹時の血糖、インスリン値に関して **KLF6<sup>+/-</sup> mouse** は野生型と有意差を認めなかったが、ブドウ糖負荷試験では **KLF6<sup>+/-</sup> mouse** は野生型と比較して血糖値の上昇が有意に抑制されていた。さらにブドウ糖負荷後のインスリン値に関して、野生型では負荷 30 分後に有意なインスリン値の上昇を認める一方、**KLF6<sup>+/-</sup> mouse** ではインスリン値は負荷前と同じレベルに保たれており、**KLF6<sup>+/-</sup> mouse** がインスリン抵抗性を示しにくいことが判明した。また **KLF6<sup>+/-</sup> mouse** においてアディポネクチンの血中濃度は有意に高値であった。

5. **KLF6<sup>+/-</sup> mouse** と野生型の **MEF** を用いて脂肪分化誘導実験を行った。分化誘導開始後 8 日時点でオイルレッド O 染色にて細胞内脂質を定量化したところ、**KLF6<sup>+/-</sup> MEF** では野生型と比較して中性脂肪量が 70%低減されており、**KLF6** の脂肪分化における重要性が再認識された。

6. **3T3-L1** 細胞を用いた研究により、**KLF6 mRNA** は早期と晩期の二峰性の発現パターンを示すこと、**KLF6** が分化早期において **DLK1** の発現を抑制することによって、脂肪分化を正に制御することが報告されている。分化晩期における役割を検討するために晩期における **KLF6 knockdown** の効果を検討した。RT-PCR による mRNA 発現レベルの解析を行ったところ、**PPAR $\gamma$  2 mRNA** の発現レベルは軽度低下していたが、コントロール群と比較して有意な差を認めなかった。またオイルレッド O 染色にて脂肪分化の程度を定量的に評価したが有意な差は認められなかった。

7. 心血管系の病態形成における **KLF6** の関与も検討した。**KLF6<sup>+/-</sup> mice** を用いた頸動脈結紮モデルの検討では、**KLF6<sup>+/-</sup> mice** は野生型と比較して内膜増殖や血管径の増大が著明であり、血管リモデリングの亢進を認めた。アンジオテンシン II 持続投与による心負荷モデルの検討では、**KLF6<sup>+/-</sup> mice** において野生型と比較して心臓の線維化及び肥大化が有意に抑制されていた。上記と併せて **KLF6** は代謝疾患や心疾患のモデルにおいては病態の形成、進展に対して生体に保護的に働く一方で、血管障害モデルにおいては病態の進展に寄与していると考えられ、**KLF6** の機能の複雑性が示唆された。

以上、本論文は**KLF6**ヘテロノックアウトマウスの解析と培養細胞実験を通じて、**KLF6**が生体レベルでは高脂肪食による負荷がかかった際に肥満形成、さらには耐糖能異常、糖尿病の発症や増悪に関与することが示され、また脂肪分化における**KLF6**の重要性が再認識された。本研究はこれまで未知に等しかった、糖代謝系における**KLF6**の機能解明、さらには心血管疾患の病態形成における**KLF6**の関与に重要な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。