

審査の結果の要旨

氏名 岩崎 聡

本論文は、「3T3-L1 細胞を用いた脂肪細胞分化における Jhdm1b の影響」と題し、5つの章から構成されている。脂肪細胞研究に多く用いられるマウス線維芽細胞由来株 3T3-L1 細胞の脂肪細胞分化誘導の初期において、clonal expansion と称する一過的な細胞増殖が誘導され、この時期以降に、脂肪細胞の特異性を規定する転写因子群の発現が認められる。しかし、この clonal expansion が誘導されるメカニズムおよびその意義はまだ明らかとなっていない。本論文では、clonal expansion と同時期に一過的に遺伝子発現が増加する分子として、JmjC-domain-containing histone demethylase 1b (Jhdm1b) に着目し、その過剰発現により、3T3-L1 細胞における脂肪細胞分化誘導後の脂肪滴蓄積が抑制されること、およびその機序として F-box ドメインを介した Skp1a との複合体形成が、clonal expansion を阻害することを明らかにした。

第一章「序論」では、本研究の背景としてエピゲノムにおけるヒストンメチル化の意義、脂肪細胞の分化過程と clonal expansion、細胞周期および本論文で着目した Jhdm1b について概説した。また、本研究の目的が、3T3-L1 細胞の脂肪細胞分化に対する Jhdm1b の影響およびその機能ドメインの解明であることを提示した。

第二章「脂肪細胞分化時におけるヒストンメチル化および脱メチル化酵素の遺伝子発現」では脂肪細胞分化過程において発現変動するヒストン修飾酵素遺伝子の抽出を行った。その結果、clonal expansion と同期して遺伝子発現が変動する分子として Jhdm1b を同定した。また、Jhdm1b の転写バリエーションのうち、ヒストン脱メチル化触媒活性を有する JmjC ドメインを持たない Jhdm1b2 の遺伝子発現が優位であり、脂肪細胞分化誘導時や肥満モデルマウスの白色脂肪組織において遺伝子発現を亢進することを明らかにした。これらより、Jhdm1b が脂肪細胞の分化に関与することを想定した。

第三章「Jhdm1b による脂肪細胞分化および細胞増殖への影響」では、マウス Jhdm1b1, 2 をそれぞれ強制発現した 3T3-L1 細胞を作製し、Jhdm1b の過剰発現による脂肪細胞分化への影響およびこれに関与する機能ドメインを検討した。Jhdm1b1 を強制発現した 3T3-L1 細胞では、脂肪滴の蓄積が顕著に抑制された。この際、脂肪細胞分化誘導後 2 日以降の PPAR γ や C/EBP α といった転写因子や各細胞周期関連タンパク質の遺伝子発現に乱れが生じた。興味深いこ

とに, **Jhdm1b1** の強制発現により, 対数増殖に対する影響は認められず, **clonal expansion** 時の細胞増殖のみが抑制された. さらに, 脂肪細胞分化時の細胞周期への影響を検討したところ, 脂肪細胞分化誘導後 2 日時点での **S** 期移行が特異的に障害されることが明らかとなった. 以上より, **3T3-L1** 細胞における脂肪細胞分化において, **Jhdm1b1** は **clonal expansion** 時の細胞周期移行および脂肪細胞分化関連遺伝子の発現を介した脂肪滴の蓄積を抑制することを見出した.

続いて, **Jhdm1b** による脂肪細胞分化の抑制に関与する機能ドメインの同定を目的として, 各ドメイン欠失体を用いた検討を実施した. **JmjC** ドメインを含まない **Jhdm1b2** を強制発現した **3T3-L1** 細胞では, **Jhdm1b1** 発現時と同様に, 脂肪滴の蓄積および **clonal expansion** が抑制された. その一方, **F-box** ドメインを欠失した **Jhdm1b1** を強制発現した **3T3-L1** 細胞ではこの抑制が認められないことから, **Jhdm1b** による脂肪細胞分化抑制において, **JmjC** ドメインでなく, タンパク質間相互作用部位として知られる **F-box** ドメインが重要であることを明らかとした.

第四章「**Jhdm1b** による脂肪細胞分化抑制のメカニズム解析」では, **Jhdm1b1** の **F-box** ドメインを介して複合体を形成するタンパク質の同定を試みた. プロテオミクス解析により得られた複数の候補分子について, **RNA** 干渉法を用いた検討を実施した. その結果より, **S-phase kinase-associated protein 1a** (**Skp1a**) に着目した. 免疫沈降法をもちいた検討により, **Jhdm1b1** と **Skp1a** との複合体形成に **F-box** ドメインが重要であることが明らかとなった. **Skp1a** に対する **RNA** 干渉により, **Jhdm1b1** 発現 **3T3-L1** 細胞における脂肪細胞分化誘導時の脂肪滴蓄積および **clonal expansion** 時における **S** 期移行の抑制は一部解除された.

最後に, 第五章「結論」にて, 本研究で得られた知見をまとめ, 結論を述べた.

以上を要するに, 本論文は脂肪細胞の分化において **Jhdm1b1** と **Skp1a** の複合体形成が **3T3-L1** 前駆細胞の分化過程における **clonal expansion** の阻害因子として作用することを明らかにした. 本研究内容は, 肥満・生活習慣病と脂肪細胞分化の解明に貢献する成果と考えられる.

よって本論文は博士 (工学) の学位請求論文として合格と認められた.