

## 【別紙 2】

### 審査の結果の要旨

氏名 高澤 健

本研究では、very low density lipoprotein 受容体 (VLDLR) を介した脂肪細胞への脂質蓄積における Peroxisome Proliferator-activated Receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ )の役割を明らかにするため、肥満糖尿病モデルマウスの脂肪組織及びマウス培養脂肪細胞における VLDLR の発現量に対する PPAR $\gamma$  作動薬である Rosiglitazone の効果を検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. 肥満糖尿病モデルマウスである ob/ob マウスに 4 日間 Rosiglitazone を投与することにより脂肪組織中の VLDLR の mRNA 量は有意に増加した。Rosiglitazone による VLDLR の mRNA 量の増加作用が脂肪細胞における直接作用であるかを検討するため、*in vitro*において 3T3-L1 脂肪細胞に Rosiglitazone を添加した。その結果、3T3-L1 脂肪細胞において VLDLR の mRNA 量及びタンパク量が Rosiglitazone の添加により有意に増加し、直接作用であることが示唆された。
2. Rosiglitazone が直接 VLDLR 遺伝子の転写を制御していることが考えられたため、次に、VLDLR のプロモーター領域を用いてレポータージーンアッセイを行った。その結果、Rosiglitazone は VLDLR のプロモーターの転写活性を濃度依存的に増加させ、さらにプロモーター領域中の PPAR response element (PPRE)と推定される配列に変異をいれることにより、Rosiglitazone による転写活性の亢進が消失した。
3. 上記の配列に PPAR $\gamma$  が直接結合していることを明らかにするため、ゲルシフトアッセイ及び 3T3-L1 脂肪細胞におけるクロマチン免疫沈降を行った。その結果、VLDLR のプロモーター領域の PPRE と推定される配列に直接 PPAR $\gamma$  が結合していることが明らかとなり、VLDLR が PPAR $\gamma$  のターゲット遺伝子であることが明らかとなった。
4. apoE-VLDLR 経路を介した VLDL の脂肪細胞への取り込みが、Rosiglitazone による体重増加に関与するかを確認するため、apoE 欠損 ob/ob マウスにおける体重及び脂肪組織重量への Rosiglitazone の効果を検討した。Rosiglitazone の投与により ob/ob マウスの体重及び脂肪組織重量は有意に増加したが、apoE 欠損 ob/ob マウスでは、Vehicle 投与群と Rosiglitazone 投与群間において体重及び脂肪組織重量の有意な変化は認められなかった。したがって、脂肪細胞への apoE 依存的な脂質の取り込みが Rosiglitazone による体重増加に少なくとも一部寄与している可能性が示唆された。
5. Rosiglitazone による体重増加作用における VLDLR の役割を明らかにする目的で、

VLDLR 欠損マウスにおける体重および脂肪重量に対する Rosiglitazone の効果を検討した。その結果、野生型マウスにおいて認められた Rosiglitazone による体重及び脂肪重量増加が、VLDLR 欠損マウスでは認められなかった。これらの結果から、VLDLR を介した脂肪細胞への脂質の取り込みが Rosiglitazone によって誘導される脂質蓄積に重要な役割を果たしていることが示唆された。

以上、本論文は、PPAR $\gamma$  が VLDLR のプロモーター上の機能的な PPRE に直接結合し、VLDLR の発現量を制御していること、さらに apoE-VLDLR 経路を介した脂質の取り込みが、Rosiglitazone によって引き起こされる体重増加に重要な役割を果たすことを明らかにした。本研究は、臨床において Rosiglitazone の副作用の1つとして懸念されている体重増加に関するメカニズムの解明に重要な貢献を果たすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。