

氏名	やま さき まさ ひろ 山 崎 正 博
学位(専攻分野)	博 士 (薬 学)
学位記番号	薬 博 第 439 号
学位授与の日付	平成 12 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	薬学研究科生命薬科学専攻
学位論文題目	新規 FGF (FGF-10) の同定と生理的意義の解明

論文調査委員 (主査) 教授 伊藤信行 教授 川崎敏祐 教授 市川 厚

論 文 内 容 の 要 旨

Fibroblast Growth Factor (以下 FGF) は線維芽細胞を初めとする様々な細胞に活性を持つ増殖因子である。また、現在二十数種類に及ぶメンバーからなるファミリーを形成し、メンバーの各々が独自の作用を持つことが知られている。FGFには主な生理作用として神経栄養作用、創傷治癒作用、血管新生作用、各種器官の発生と発達制御作用等がある。FGFはこれらの作用を通じて個体の生命活動に極めて重要な役割を担うと考えられている。

申請者は FGF ファミリーに属する新規因子を見つけ出すことは、これまでの FGF 研究に新展開を与えるだけでなく、新たな生体代謝経路の解明の一助になる有益な研究であると考え、以下に示す方法で新規 FGF の探索を行った。その結果、申請者は新たな FGF (FGF-10) の単離に成功し、これが脂肪組織特異的なユニークな因子であることを明らかにした。以下、これらの新たな知見について二章に亘って論述する。

第一章新規 FGF の同定と生体内分布

新規 FGF を探索するにあたり、様々な FGF が高発現していることが知られている胎児期を元に遺伝子レベルでの探索を行うこととした。申請者は、FGF の構造中にはファミリー間で相同性の特に高い領域が存在することに着目し、この領域を標的とした homology-based PCR を行った。

その結果、申請者は新規 FGF の遺伝子を単離、この FGF を 10 番目に発見された FGF として“FGF-10”と名付けた。FGF-10 は現在までに報告されている FGF の中では FGF-7 に最も類似していた。また、FGF-10 は Von Heijne 法に基づく計算式より N 末端側にシグナル配列を持つ分泌蛋白であることが予想された。実際、昆虫細胞系において FGF-10 蛋白を発現させたところ、蛋白は細胞外に分泌されることが確認された。更に FGF-10 蛋白を含む培養上清の活性を調べたところ、FGF-7 と同様に線維芽細胞には活性を示さず、上皮細胞にのみ増殖活性を示した。従って、FGF-10 は FGF-7 サブファミリーに属すると考えられる。

更に FGF-10 遺伝子がラットの生体内のどこに発現しているかを調べるため、in situ hybridization 法 (胎児期) や northern blot analysis (成体期) を用いて解析を行った。その結果、胎児期には下垂体、肺、脊髄尾端部などに強い発現が見られ、その他では脳後部など複数の組織にも発現が見られた。一方、成体では肺と脂肪組織にのみ発現が見られ、なかでも特に白色脂肪組織で高発現していた。これらのことから、FGF-10 は成体で白色脂肪組織に特異的に発現するという既知の FGF がない発現パターンを示すユニークな因子であることが明らかとなった。

第二章脂肪組織特異的因子としての FGF-10

脂肪組織は近年肥満などに伴う各種成人病の病因に関係する因子を産生する新たな内分泌器官として注目されている。申請者は脂肪組織に特異的に発現する FGF-10 の研究がこれらの疾患の研究において有意義なものになると考え、実験を進めた。

まず、FGF-10 の脂肪組織内での発現局在を調べたところ、成熟した脂肪細胞ではほとんど発現せず、未成熟な脂肪細胞である前駆脂肪細胞に高発現していることが明らかとなった。更に、脂肪細胞の初代培養系を用いた分化誘導実験から、

FGF-10 の発現は脂肪細胞分化の極めて初期に一過性に亢進し、その後減少することも明らかとなった。また、FGF-10 蛋白を用いた実験から、FGF-10 は前駆脂肪細胞に対して増殖活性を持つことが明らかとなった。また、FGF-10 のノックアウトマウスの解析から、FGF-10 の欠損が脂肪組織の形成不全を引き起こすことが分かった。これらのことから、FGF-10 は分化の初期段階に前駆脂肪細胞の増殖因子として働き、その後の脂肪組織の形成に重要な役割を示す因子であると考えられる。

以上、本研究は、新規 FGF である FGF-10 の同定とその発現特異性の検討を行った結果、FGF-10 が脂肪組織特異的因子であり脂肪組織の形成に重要な役割を示すことを明らかにしたもので、今後の脂肪組織研究における重要な知見を得たものである。

論文審査の結果の要旨

Fibroblast Growth Factor (以下 FGF) は線維芽細胞を初めとする様々な細胞に活性を持つ増殖因子である。また、現在二十数種類に及ぶメンバーからなるファミリーを形成し、各々が独自の作用を持つことが知られている。申請者は FGF ファミリーに属する新規因子を見つけ出すことは、これまでの FGF 研究に新たな展開を与えるだけでなく、新たな生体代謝経路の解明の一助になる有益な研究であると考え、homology-based PCR 法で新規 FGF の探索を行った。

その結果、申請者は新規 FGF の遺伝子を同定し、この FGF を 10 番目に発見された FGF として“FGF-10”と名付けた。FGF-10 は現在までに報告されている FGF の中では FGF-7 に最も類似していた。また、FGF-10 は N 末端側にシグナルペプチドを持つ分泌蛋白であり、動物細胞や大腸菌において発現させた FGF-10 蛋白の活性を調べたところ、FGF-7 と同様に線維芽細胞には活性を示さず上皮細胞にのみ増殖活性を示した。従って、FGF-10 は FGF-7 サブファミリーに属すると考えられた。

更に FGF-10 遺伝子がラットの生体内のどこに発現しているかを調べた。その結果、胎児期には下垂体、肺、脊髄尾端部など複数の組織に特異的な発現が見られた。一方、成体では肺と脂肪組織にのみ発現が見られ、なかでも特に白色脂肪組織で高発現していた。

これらのことから、FGF-10 は成体で白色脂肪組織に特異的に発現するという既知の増殖因子にない発現パターンを示すユニークな因子であることが明らかとなった。脂肪組織は肥満などに伴う各種成人病の病因に関係する因子を産生する内分泌器官として注目されていることから、申請者は脂肪組織に特異的に発現する FGF-10 の研究がこれらの疾患の研究において有意義なものになると考え、脂肪組織を中心に実験を進めた。

まず、FGF-10 の脂肪組織内での発現局在を調べたところ、成熟した脂肪細胞ではほとんど発現せず、未成熟な脂肪細胞である前駆脂肪細胞に高発現していることが明らかとなった。更に、前駆脂肪細胞の初代培養系を用いた分化誘導実験から、FGF-10 は脂肪細胞分化の初期に一過性に発現が亢進し、その後減少することが明らかとなった。また、FGF-10 が特異的に結合するレセプターである FGFR-2b が脂肪組織内では前駆脂肪細胞にのみ発現しており、実際に FGF-10 蛋白が前駆脂肪細胞に対して増殖活性を持つことが明らかとなった。これらのことから、FGF-10 は脂肪細胞の分化初期に前駆脂肪細胞で発現し、autocrine、もしくは paracrine 的に働く細胞増殖因子であると考えられた。

また、FGF-10 が脂肪組織発達の活発な時期である離乳直後から発現が上昇することや、FGF-10 ノックアウトマウスで脂肪組織の形成不全が起きていることが分かった。これらのことから、FGF-10 は実際の生体で脂肪組織の形成や発達に重要な役割を示す因子であると考えられた。

以上、本論文は新規 FGF である FGF-10 の同定とその発現特異性の検討を行った結果、FGF-10 が今までに報告にない脂肪組織特異的な増殖因子であり、脂肪組織の形成や発達に関わる因子であることを明らかにしたもので、今後の脂肪組織研究および肥満や成人病の研究の点からも有用な知見を示したものである。

よって、本論文は博士(薬学)の論文として価値あるものと認める。更に、平成 12 年 2 月 17 日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。