

( 続紙 1 )

京都大学	博士 ( 農 学 )	氏名	DIAO ZHICHENG
論文題目	Studies on the regulatory expression of uncoupling protein 1 in bovine skeletal muscle (ウシ骨格筋における脱共役タンパク質1発現調節に関する研究)		
(論文内容の要旨)			
<p>効率的な牛肉生産を考える上でエネルギーの無駄遣いを避ける必要がある。褐色・ベージュ脂肪細胞はエネルギーを熱として散逸する細胞であることからエネルギー浪費細胞といえる。褐色・ベージュ脂肪細胞における熱産生の責任分子は脱共役タンパク質(UCP)1である。ヒトやマウスを含む多くの哺乳動物において、UCP1は褐色・ベージュ脂肪細胞でのみ発現する。一方、ウシUCP1は褐色・ベージュ脂肪細胞に加えて骨格筋でも発現し、特徴的な発現パターンを示す。しかしながら、ウシ骨格筋におけるUCP1発現に関する詳細の多くは不明であった。本研究において、ウシUCP1遺伝子の塩基配列、骨格筋および培養筋系細胞でのUCP1発現に影響を及ぼす因子、培養筋系細胞における筋分化亢進条件の解明を試みた。</p> <p>第1章は、本研究の学術的背景および目的を提示している。まず、哺乳動物におけるエネルギー代謝調節機構を概説した後、ヒトやマウスの褐色・ベージュ脂肪細胞で明らかにされているUCP1依存的熱産生機構を詳述している。また、ウシUCP1の組織分布の特徴を示すとともに、未解決研究課題を提示し、本研究の意義と目的を明記している。</p> <p>第2章では、ウシUCP1遺伝子構造の解明に取り組んでいる。従来、ウシUCP1遺伝子配列は、ゲノム配列から推定されていたに過ぎなかった。本章において、新生子牛の褐色脂肪組織からウシUCP1遺伝子を単離し、塩基配列を決定した。その結果、ウシUCP1遺伝子は6つのエクソンから成ることを明らかにした。また、これまで明らかにされてきた様々な動物のUCP1遺伝子とは異なり、ウシUCP1にはエクソン3とエクソン5の構造が異なる合計4種類のバリエーションの存在が証明された。ウシ褐色脂肪細胞で発現するUCP1遺伝子は、他の動物種と同等のバリエーション1、および、エクソン3を欠くバリエーション3が主なものであった。また、バリエーション2-4はプロテアソーム系を介して速やかに分解されることを明らかにした。さらに、バリエーション1と3に比べてバリエーション2と4のmRNAの安定性は低い可能性を示唆した。</p> <p>第3章では、月齢の異なる黒毛和種肥育牛における頸部最長筋の筋線維型とUCP1発現の関係を検討している。骨格筋は代謝の異なる速筋と遅筋から成り、それぞれ特有のミオシン重鎖遺伝子を発現する。肥育後期の26ヶ月齢から30ヶ月齢にかけて速筋型ミオシン重鎖遺伝子発現は増加し、これはUCP1発現量と連動した。この結果は、速筋型筋線維がUCP1を発現している可能性を示唆している。</p> <p>第3章で提起された可能性を培養細胞レベルで検証する手始めとして、第4章では、マウス筋芽細胞株C2C12において速筋型ミオシン重鎖発現が増加する培養条件を探索した。筋分化前に一時的に高濃度のカプサイシン処理を行うと軽微な小胞体ストレスが誘発された。この処理に加えて、筋分化過程においてビタミンC処理を行うと筋分化は亢進し、速筋型ミオシン重鎖発現は著増した。</p> <p>第5章では、ウシ由来培養筋系細胞におけるUCP1発現と速筋型ミオシン重鎖発</p>			

現の関係を探った。ウシ頸部最長筋より筋衛星細胞を調製した。この細胞を第4章で見出した培養条件で分化させたが、筋分化促進は起こらず、速筋型ミオシン重鎖の発現も増加しなかった。むしろ、ビタミンCはウシUCP1発現を負に制御した。そこで、ウシ筋衛星細胞が速筋型ミオシン重鎖を高発現する筋管に分化する培養条件を探索した。その結果、小胞体ストレスの緩和活性およびヒストン脱アセチル化酵素の阻害活性を有する4-フェニル酪酸で処理すると速筋型ミオシン重鎖を高発現する筋管分化が起きることが明らかになった。また、この条件ではUCP1発現も誘導された。

本研究の総括が第6章に記述されている。ウシUCP1遺伝子には他の動物種では知られてこなかったバリエーションがあること、UCP1発現と速筋型筋線維形成は連動すること、ならびに、筋分化促進条件が明示され、その生物学的意義が論じられている。これらの結果は、ヒトやマウスで明らかにされているUCP1発現調節とは明確に異なる。したがって、ウシUCP1発現および発現調節は特徴的であると結論付けられる。また、ウシ骨格筋におけるUCP1発現は筋肉における非ふるえ熱産生に関与している可能性を推測している。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせ

て、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し  
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(論文審査の結果の要旨)

肥育牛におけるエネルギーの無駄遣いは生産効率の低下に直結するので、エネルギー代謝調節機構の解明は重要な研究課題である。脱共役タンパク質(UCP)1は、褐色・ベージュ脂肪細胞における非ふるえ熱産生の主要な責任分子である。UCP1を介した熱産生活性は、UCP1発現レベルと連動することが知られている。したがって、肥育牛におけるUCP1発現増はエネルギー浪費を引き起こし、肥育効率の低下につながる可能性があり、UCP1発現制御の解明が求められている。多くの哺乳動物において、UCP1発現は褐色・ベージュ脂肪細胞に限局しているが、ウシでは骨格筋においても発現する。しかしながら、ウシUCP1遺伝子配列を含め、骨格筋で発現するUCP1の発現調節に関して多くが不明であった。以上の学術的背景のもと、本研究は、ウシUCP1遺伝子の塩基配列、骨格筋におけるウシUCP1遺伝子の発現制御、ならびに筋形成に影響を及ぼす因子を解析している。評価すべき点は以下の通りである。

1. これまで、ゲノム配列から推定されていたに過ぎなかったウシUCP1遺伝子を褐色脂肪組織から単離し、塩基配列を決定した。その結果、これまで明らかにされてきた動物種のUCP1遺伝子とは異なり、ウシUCP1遺伝子にはエクソン3とエクソン5の構造が異なる4種類のバリエーションの存在が証明された。また、多くの動物種と同等の遺伝子配列を示すバリエーションに比べて、他のUCP1バリエーションはプロテアソーム系を介して速やかに分解されるなどウシ特有のUCP1遺伝子発現および発現制御が明らかにされた。
2. 肥育牛の骨格筋における速筋型ミオシン重鎖の発現は肥育後期に増加することを見出した。また、UCP1発現量は速筋型ミオシン重鎖発現量と正の関係を有すること、同様の結果はウシ骨格筋より単離した培養筋系細胞の分化過程でも再現されることを確認した。これらの結果は、UCP1発現は速筋形成と関連していることを示唆しており、ウシ骨格筋におけるUCP1発現調節に関する新知見を提供している。
3. マウス由来細胞における速筋型ミオシン重鎖発現は、筋分化刺激前の軽微な小胞体ストレスと筋分化中のビタミンC処理により著しく増加することを見出した。一方、ウシ筋衛星細胞の筋分化は、上記の方法では促進されず、筋分化期間中のヒストン脱アセチル化酵素阻害によって促進されることを見出した。つまり、筋分化制御における動物種差が明示された。このことは、肥育牛の筋形成の解析にはウシ由来細胞を使う必要性を示唆しており、当該研究分野の今後の方向性を示した点で評価できる。

以上のように、本論文は、ウシ骨格筋で発現するUCP1遺伝子の塩基配列と発現制御のみならず、筋形成を促進する因子を明らかにしたものであり、動物栄養学、分子栄養学、動物生理学、細胞生物学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、令和5年8月1日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士(農学)の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

また、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降 (学位授与日から3ヶ月以内)