

氏 名	のり 則 貞 伸 嘉
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	論医博第1933号
学位授与の日付	平成19年7月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Antidiabetic and adipogenic properties in a newly-synthesized thiazolidine derivative, FPFS-410. (新規に合成したチアゾリジン誘導体, FPFS-410の抗糖尿病作用および脂肪細胞分化促進作用に関する分子医学的研究)
論文調査委員	(主 査) 教授 稲垣 暢也 教授 瀬原 淳子 教授 武藤 誠

### 論 文 内 容 の 要 旨

ペルオキシソーム増殖活性化受容体  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) は脂肪細胞の分化に必須の転写因子であり、PPAR $\gamma$  に対する合成リガンドであるチアゾリジン誘導体は糖尿病治療薬として既に臨床応用されている。最近、脂肪細胞の機能調節を標的とする新規化合物の研究からPPAR $\gamma$  を介さない新しい作用機構も注目されている。本研究では、2-(N-シアノイミノ)-4-オキソチアゾリジン骨格を有する新規チアゾリジン誘導体化合物であるFPFS-410がチアゾリジン誘導体と極めて類似した構造でありながらPPAR $\gamma$  活性化作用を持たないことを明らかにし、この化合物を用いて、(1) 脂肪細胞の分化過程における転写因子群の発現制御、(2) 脂肪細胞の糖取り込み促進効果、(3) 遺伝性糖尿病・肥満モデルマウスに対する糖尿病改善効果を解析し、脂肪細胞分化や糖尿病制御におけるPPAR $\gamma$  非依存性経路の意義を検討した。

FPFS-410はオキソチアゾリジン骨格を有し、チアゾリジン誘導体と極めて類似した構造であるため、ルシフェラーゼアッセイによりPPAR $\gamma$  に対する活性化能を検討した。FPFS-410のPPAR $\gamma$  活性化能はチアゾリジン誘導体であるピオグリタゾンの300分の1以下であった。FPFS-410を遺伝性肥満・糖尿病 *db/db* マウスに投与 (75 mg/kg) したところ、対照群に比べて顕著な血糖、並びに血清中性脂肪値の減少が認められた (血糖: 対照:  $463 \pm 25$  (平均 $\pm$ 標準誤差) mg/dl, FPFS-410:  $255 \pm 16$  mg/dl ( $P < 0.001$ ); 中性脂肪値: 対照:  $95 \pm 8$  mg/dl, FPFS-410:  $35 \pm 4$  mg/dl ( $P < 0.01$ ))。一方、ピオグリタゾンの投与 (10 mg/kg) では、血糖値は  $298 \pm 32$  mg/dl まで低下したが ( $P < 0.01$ )、中性脂肪値はまったく低下しなかった ( $95 \pm 8$  mg/dl)。対照群に比べてピオグリタゾン投与群では有意な体重増加が観察されたがFPFS-410投与群体重増加は対照群と同程度であった。

マウス培養細胞株である3T3-L1細胞に対するFPFS-410の脂肪細胞分化への影響を検討した。ピオグリタゾンと同様に、FPFS-410はコンフルエント直後から4日目までの分化初期段階での添加により10日目における中性脂肪蓄積量を明らかに増加させた。脂肪細胞分化を制御する転写因子群の発現をウエスタンブロットで検討したところ、ピオグリタゾンとは異なり、FPFS-410の添加ではCCAATエンハンサー結合蛋白  $\beta$  (C/EBP $\beta$ ) およびC/EBP $\delta$  蛋白の明らかな増加が観察された。以上からFPFS-410による脂肪細胞分化の促進効果にはC/EBP $\beta$  およびC/EBP $\delta$  蛋白の発現増強が関与することが示唆された。次に、脂肪細胞に対するFPFS-410の糖取り込みへの影響を検討した。1  $\mu$ Mのインスリン存在下あるいはインスリン非存在下での標識グルコースの取り込みを測定したところ、FPFS-410による明らかな糖取り込み増強効果が認められた (対照に比べ、FPFS-410 (10  $\mu$ M) ではインスリン存在下1.6倍、インスリン非存在下2.5倍。ピオグリタゾン (10  $\mu$ M) では対照に比べ、インスリン存在下2.4倍、インスリン非存在下8.0倍、いずれも  $P < 0.05$ )。以上の結果より、FPFS-410が脂肪細胞における糖取り込みを亢進させることが明らかとなった。

本研究により、FPFS-410がチアゾリジン誘導体とは異なる作用機構によって脂肪細胞機能調節や糖脂質代謝改善効果を発揮することが明らかとなり、脂肪細胞分化や糖尿病制御におけるPPAR $\gamma$  非依存性経路の病態的意義が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

ペルオキシソーム増殖活性化受容体  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) に対する合成リガンドであるチアゾリジン誘導体は糖尿病治療薬として既に臨床応用されている。

本研究で申請者はオキソチアゾリジン骨格を有し、チアゾリジン誘導体と極めて類似した構造を有する新規化合物 FPFS-410 の作用と作用機序について検討した。FPFS-410 の PPAR $\gamma$  活性化能はチアゾリジン誘導体であるピオグリタゾンの300分の1以下であった。遺伝性肥満・糖尿病マウス (*db/db*) に投与 (75mg/kg) したところ、対照群に比べて顕著な血糖値と血清中性脂肪値の減少が認められた。

マウス培養細胞株である3T3-L1細胞を用いた脂肪細胞への影響の検討では、FPFS-410による脂肪細胞への分化促進作用が認められた。この脂肪細胞分化促進作用はピオグリタゾンとは異なりCCAATエンハンサー結合蛋白  $\beta$  (C/EBP $\beta$ ) およびC/EBP $\delta$  蛋白の発現増強が関与することが示唆された。また、脂肪細胞におけるインスリン存在下またはインスリン非存在下での標識グルコースの取り込みを測定したところ、FPFS-410による明らかな糖取り込み増強効果が認められた。

以上、FPFS-410がチアゾリジン誘導体とは異なる作用機構によって脂肪細胞機能調節や糖脂質代謝改善効果を発揮することが明らかとなった。

以上の研究はPPAR $\gamma$  非依存性経路の糖脂質代謝における病態生理的意義の解明に貢献し、新規糖尿病治療薬開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成19年7月5日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。