

( 続紙 1 )

京都大学	博士 (薬学)	氏名	太田 紘也
論文題目	新規分泌性因子Brorin、Brorin-likeおよびNeudesinの生理的意義の解明		
(論文内容の要旨)			
<p>個体の恒常性維持においては細胞間あるいは組織間において的確な情報伝達がなされることが不可欠である。こうした情報伝達においては分泌性因子が重要な役割を果たす。従って、新規分泌性因子を発見して解析することで生命現象のさらなる理解に貢献することが期待できる。分泌性因子はアミノ末端に分泌性シグナル配列を持つため、そのシグナル配列の有無は新規分泌性因子同定の指標となる。申請者の所属する研究室では機能未知の遺伝子の中から分泌性シグナル配列の有無を指標として新規分泌性因子候補を探索した。その結果、これまでに約30種類の新規分泌性因子候補を発見した。</p>			
第一章 新規分泌性因子BrorinおよびBrorin-likeの生理的意義の解明			
<p>BrorinおよびBrorin-likeは申請者の所属する研究室で発見した新規分泌性因子である。両者はBMP(骨形成因子)アンタゴニストであるChordinファミリーに属し、BMP阻害活性を示した。BrorinおよびBrorin-likeはマウスの脳神経系特異的に発現が認められ、初代培養神経前駆細胞の神経細胞への分化を促進した。申請者はBrorinおよびBrorin-likeの生理的意義を解明するために、<i>Brorin</i> 遺伝子欠損マウスおよび<i>Brorin-like</i> 遺伝子欠損マウス(以下遺伝子欠損マウスをKOマウスと略する)を作製して解析を行った。</p> <p><i>Brorin</i> KOマウスおよび<i>Brorin-like</i> KOマウスは共にメンデル則に従って得られ、外見や行動上も顕著な異常は認められなかった。主要な組織の重量や外見に関しても差は認められなかった。すなわち、BrorinおよびBrorin-like単独では脳の形成や機能維持に大きな影響を与えないことが明らかとなった。そこで<i>Brorin/Brorin-like</i>二重欠損マウス(以下DKOマウス)を作製した。DKOマウスはメンデル則に従って得られ、外観上にも顕著な異常は認められなかった。しかし、脳組織切片の解析を行ったところDKOマウスでは中脳および線条体領域に異常が認められる可能性があることが判明した。</p>			
第二章 新規分泌性因子Neudesinの生理的意義の解明			
<p>Neudesinは申請者の所属する研究室で発見した新規分泌性因子である。Neudesinは胎生期マウスの脳神経系で強い発現が認められた。また、初代培養神経前駆細胞に対するNeudesin添加実験よりNeudesinが細胞生存維持活性を示すことが明らかとなった。一方、成体マウスではNeudesinは脳神経系のみならず、白色脂肪組織(WAT)や心臓をはじめとする様々な組織で発現が認められた。申請者はNeudesinの生理的意義を解</p>			

明するために*Neudesin* KOマウスを作製して、その解析を行った。

*Neudesin* KOマウスはメンデル則に従って得られ、外見上も顕著な異常は認められなかった。しかし、少なくとも生後4週齢以降16週齢に至るまで*Neudesin* KOマウスでは野生型マウスと比較して体重減少が認められた。さらに、4週齢から12週間高脂肪食(HFD)飼育を行ったところ、*Neudesin* KOマウスではHFDにより誘導される肥満の発症が顕著に抑制された。*Neudesin* KOマウスでは肥満に伴う脂肪肝の発症や血中脂質濃度の上昇といった血中パラメータの異常も抑制された。

そこで、申請者は*Neudesin* KOマウスがHFD誘導性肥満に耐性を示す原因の解明を試みた。*Neudesin* KOマウスのWATにおいて、脂肪細胞分化マーカーである*Ppar $\gamma$* の発現や脂肪細胞の細胞内リパーゼ活性に変化は認められなかった。さらに、摂食量にも変化は認められなかった。しかし、酸素消費量やエネルギー消費量は*Neudesin* KOマウスで上昇傾向が認められた。

従って、*Neudesin* KOマウスではエネルギー消費の亢進が認められたことが、HFD誘導性肥満に耐性を示した一因と判断した。以上の結果より*Neudesin*がエネルギー消費の調節因子であることが示唆された。

以上、申請者は脳神経系特異的に発現する新規分泌性因子BrorinおよびBrorin-likeは単独では脳の形成あるいは機能維持に必須ではないが両者が協調して脳の形成に寄与する可能性があることを明らかにした。さらに、新規分泌性因子*Neudesin*はエネルギー消費の調節因子として、エネルギー消費を抑制する方向に働く可能性があることを明らかにした。本研究は分泌性因子による脳神経系の形成制御メカニズムおよび生体のエネルギー代謝調節メカニズムの解明において有益な知見となるのが期待される。

(論文審査の結果の要旨)

生体の情報伝達においては分泌性因子が重要な役割を果たしている。分泌性因子はアミノ末端に分泌性シグナル配列を持つため、そのシグナル配列の有無は新規分泌性因子同定の指標となる。申請者の所属する研究室では機能未知の遺伝子の中から分泌性シグナル配列の有無を指標として新規分泌性因子候補を探索した。その結果、これまでに、Brorin、Brorin-like、Neudesinを含む数多くの新規分泌性因子候補を発見した。申請者は個体の恒常性維持においては細胞間あるいは組織間において的確な情報伝達がなされることが不可欠であると考え、新規分泌性因子を発見して解析することで生命現象のさらなる理解に貢献することが期待し、Brorin、Brorin-like、Neudesinの機能解析をその遺伝子欠損の作成と表現解析を試みた。

BrorinおよびBrorin-likeは共にBMP(骨形成因子)アンタゴニストであるChordinファミリーに属する。いずれもBMP阻害活性を示すことが明らかになっていた。さらに、BrorinおよびBrorin-likeはマウスの脳神経系特異的に発現が認められ、初代培養神経前駆細胞の神経細胞への分化を促進した。しかし、その生理的役割は不明であった。申請者はBrorinおよびBrorin-likeの生理的役割を解明するために、Brorin 遺伝子欠損マウスおよびBrorin-like 遺伝子欠損マウスを作製して解析を行った。

Brorin KOマウスおよびBrorin-like遺伝子欠損マウスは共にほぼ正常に生まれ、順調に生育し、外見や行動上も顕著な異常は認められなかった。Brorin、Brorin-likeの発現様式から、脳形成に重要な役割を果たしている期待されたが、これらの表現形質は意外な結果であった。さらに、申請者はBrorinおよびBrorin-like単独では脳の形成や機能維持に大きな影響を与えないと推定し、Brorin/Brorin-like二重欠損マウスを作製し、その表現形質を解析した。Brorin/Brorin-like二重欠損マウスも正常に生まれ、外観上にも顕著な異常は認められなかった。しかし、申請者はBrorin/Brorin-likeが脳の形成や機能に何らかの役割を果たしていることを期待し、脳の詳細な解析を試みた。その結果、Brorin/Brorin-like二重欠損マウスでは中脳および線条体領域に異常が認められることを明らかにした。申請者のこの発見は今後のBrorin/Brorin-likeの機能解析に重要な手がかりを与えるものと期待され、申請者のこれらに関する研究業績はBMPシグナルの脳形成における役割解明に大きく貢献するものと高く評価される。

一方、NeudesinもBrorinおよびBrorin-likeと同様に新規分泌性因子である。Neudesinは胎生期マウスの脳神経系で強い発現が認められ、脳神経系の形成に役割を果たしていることを期待されていた。一方、成体マウスではNeudesinは脳神経系のみならず、白色脂肪組織や心臓をはじめとする様々な組織で発現していることが明らかになっていた。さらに、初代培養神経前駆細胞に対するNeudesin添加実験よりNeudesinが細胞生存維持活性を示すことが明らかとなっていた。しかし、Neudesinの生理的役割は不明であった。申請者は未だ不明であったNeudesinの生理的意義を解明するためにNeudesin 遺伝子欠損マウスを作製し、その解析を試みた。

Neudesin遺伝子欠損マウスは正常に生まれ、外見上も顕著な異常は認められなかった。しかし、少なくとも生後4週齢以降16週齢に至るまでNeudesin遺伝子欠損マウスでは野生型マウスと比較して体重減少が認められた。申請者はこの体重差に着目し、エネルギー負荷を掛けるため、4週齢から12週間高脂肪食飼育を行った。その結果、申請者の期待した通り、Neudesin遺伝子欠損マウスは高脂肪食負荷により誘導される肥満の発症が顕著に抑制された。さらに、申請者はNeudesin遺伝子欠損マウスでは肥満に伴う脂肪肝の発症や血中脂質濃度の上昇といった血中パラメータの異常も抑制されることを明らかにした。さらに、申請者はNeudesin遺伝子欠損マウスが高脂肪食誘導性肥満に対する耐性の作用メカニズムを明らかにすることは、Neudesinの生理的役割の解明に重要な手がかりが得られるものと期待し、さらに、その解析を精力的に進めた。Neudesin遺伝子欠損マウスのWATにおいて、脂肪細胞分化マーカー等の解析を進め、Neudesinは脂肪細胞の増殖や分化には影響を及ぼさないことを明らかにした。さらに、Neudesinの脂肪細胞における糖質代謝、脂質代謝に及ぼす影響を詳細に調べ、Neudesinは脂肪細胞の糖質代謝、脂質代謝には影響を及ぼさないこと明らかにした。しかし、Neudesin遺伝子欠損マウスの摂食量に変化は認められなかったが、Neudesin遺伝子欠損マウスの酸素消費量やエネルギー消費量が上昇していること申請者は明らかにした。従って、申請者はNeudesin遺伝子欠損マウスではエネルギー消費の亢進が認められたことが、高脂肪食誘導性肥満に耐性を示したことの原因であることを明らかにした。これらの結果はNeudesinがエネルギー消費の調節因子であることが示している。申請者の発見は、今後のNeudesinの機能解析に重要な手がかりを与えるものとして、その成果は高く評価される。

以上、申請者は脳神経系特異的に発現する新規分泌性因子BrorinおよびBrorin-likeは単独では脳の形成あるいは機能維持に必須ではないが、Brorin/Brorin-like二重欠損マウスの機能解析により、Brorin/Brorinが協調して中脳及び線条体の形成に寄与していることを明らかにした。さらに、申請者はNeudesin遺伝子欠損マウスの解析により、新規分泌性因子Neudesinはエネルギー消費の調節因子として、エネルギー消費を抑制する興味深い代謝調節因子であることを明らかにした。これらの申請者の研究成果は分泌性因子による脳神経系の形成制御メカニズムおよび生体のエネルギー代謝調節メカニズムの解明において有益な知見となると高く評価される。

よって本論文は博士（薬学）の学位論文として価値あるものと認める。さらに、平成24年2月22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。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、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： 平成 25 年 3 月 31 日以降