

京都大学	博士（医学）	氏 名	南部 拓央
論文題目	Expression of the adrenomedullin gene in adipose tissue (脂肪組織におけるアドレノメデュリン遺伝子発現)		
(論文内容の要旨)			
脂肪細胞は単なる脂質貯蔵細胞でなく、生理活性物質（アディポサイトカイン）を産生・分泌する内分泌細胞でもあり、現在、脂肪組織は生体内最大の内分泌臓器として知られている。アドレノメデュリン（AM）は、ヒト褐色細胞腫から細胞内 cyclic AMP を増加させる内因性ペプチドとして単離・同定され、副腎髄質のみならず、血管、腎臓、肺など生体内の広範な組織で生合成・分泌される。AM は血管拡張、降圧作用以外に、細胞の遊走、分化制御、内皮細胞再生、抗炎症作用、体液量調節作用など、多彩な生物作用を有することが報告されている。本研究では、内分泌臓器である脂肪組織における AM 産生を明らかにすることを目的とした。14 週齢の C57BL6/J 雄性マウスの皮下、精巣周囲、腸間膜、後腹膜等の脂肪組織を用いて AM 遺伝子発現をノザンブロット法で検討すると、全ての脂肪組織において AM 遺伝子の発現が認められた。また、皮下脂肪組織をコラゲナーゼ処理により成熟脂肪細胞分画（MAF）と血管間質分画（SVF）に分離し、それぞれの分画における AM 遺伝子発現を検討すると、MAF における AM 遺伝子発現量は、SVF の約 7 倍であった。更に、MAF から分泌される AM 蛋白量を radioimmunoassay 法で測定すると、培養液中への AM 分泌の経時的な増加が認められた。また、脂肪組織での AM 系構成分子の発現を確認するため、AM 受容体構成蛋白である calcitonin receptor-like receptor (CRLR)、receptor activity-modifying proteins (RAMP)-2、RAMP-3 各遺伝子発現についてノザンブロット法および RT-PCR 法で検討すると、全ての脂肪組織において CRLR、RAMP-2、RAMP-3 遺伝子の発現が認められた。更に、肥満モデルマウスの脂肪組織における AM 遺伝子発現量および血中 AM 濃度について検討した。10 週齢雄性 C57BL6/J マウスに 60% 高脂肪食負荷を 11 週間行い、体重増加 ($31.3 \pm 1.2 \text{ g}$ vs $48.6 \pm 2.1 \text{ g}$, $P < 0.01$) に伴った AM 遺伝子発現量を定量 RT-PCR 法で検討すると、脂肪組織のみで AM 遺伝子発現量の著しい増加 (10～30 倍) が認められた。このとき、高脂肪食負荷肥満マウスにおける血中 AM 濃度は対照群の約 1.5 倍で有意な上昇を示した ($52.0 \pm 3.0 \text{ pg/ml}$ vs $85.8 \pm 3.0 \text{ pg/ml}$, $P < 0.05$)。また、遺伝的にレプチンを欠損する遺伝性肥満マウス (<i>ob/ob</i> マウス) における AM 遺伝子発現量を定量 RT-PCR 法で検討すると、脂肪組織のみで AM 遺伝子発現量の増加 (5～10 倍) が認められた。 以上、AM および AM 受容体構成蛋白の全成分が脂肪組織で発現し、脂肪組織局所に AM 系が存在することが証明された。更に、肥満モデルマウスの脂肪組織において AM 遺伝子発現が著増すること並びに血中 AM 濃度が増加することより、AM 系は内分泌系、及び自己分泌・傍分泌系としてエネルギー代謝調節に生理的、病態生理的意義を有する可能性が示唆された。			

（論文審査の結果の要旨） 本研究で申請者らは脂肪組織におけるアドレノメデュリン(AM)の産生と生理的意義の解明を目的とし、マウス脂肪組織におけるAM遺伝子発現並びにAM受容体構成蛋白質であるcalcitonin receptor-like receptor(CRLR)、receptor activity-modifying proteins(RAMP)-2、RAMP-3遺伝子の発現の検討、および肥満モデルマウスの脂肪組織におけるAM遺伝子発現並びに血中AM濃度の変化について解析した。 14週齢雄性C57BL6/Jマウスの皮下、精巣周囲、腸間膜、後腹膜等全ての脂肪組織においてAM遺伝子およびCRLR、RAMP-2、RAMP-3の遺伝子発現が認められた。脂肪組織における局在を検討する目的で脂肪組織をコラゲナーゼ処理などにより成熟脂肪細胞分画(MAF)と血管構成細胞や前駆脂肪細胞などが含まれる血管間質成分分画(SVF)に分離し、それぞれの分画におけるAM遺伝子発現を比較すると、MAFにおけるAM遺伝子発現はSVFの約7倍であった。更にMAF中の脂肪細胞を培養すると、培養液中AM濃度の経時的な増加が認められた。また60%高脂肪食負荷を11週間行い体重が対照群と比較して55%増加した肥満モデルマウスにおいて、脂肪組織のAM遺伝子発現は著しく増加したが(5～30倍)、他の組織では変化は認められなかった。この肥満マウスでは血中AM濃度は対照群の約1.5倍に有意な上昇を示した($P<0.05$)。またレプチンを欠損する遺伝性肥満マウス(ob/obマウス)においても、脂肪組織のみでAM遺伝子発現の増加(2～5倍)が認められた。 以上の研究は、脂肪組織由来のAMとその受容体の内分泌系、及び自己分泌／傍分泌系としての生理学的、病態生理学的意義を示唆しており、脂肪細胞機能の理解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みとめる。 なお、本学位授与申請者は、平成21年4月30日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			