

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	木 下 美 菜 子
論文題目	Regulation of adipocyte differentiation by activation of serotonin (5-HT) receptors 5-HT _{2A} R and 5-HT _{2C} R and involvement of microRNA-448-mediated repression of KLF5 (セロトニン受容体 2A、2C 活性化による脂肪細胞分化の制御 ～microRNA-448 による KLF5 の抑制との関連～)		
(論文内容の要旨)			
肥満は個々の脂肪細胞の数の増加と肥大の両者が原因とされる。その為、脂肪細胞の分化のメカニズムを同定することは肥満およびその関連する疾患の病態解明および治療法の開発につながる可能性がある。 3T3-L1 脂肪前駆細胞は脂肪細胞の分化を研究する上で広く用いられており、分化誘導物質を投与することで、脂肪細胞分化を誘導することが可能である。今回レトロウイルスベクターを用いて 3T3-L1 細胞にランダムに挿入変異をおこしたクローンを得た後に、分化誘導物質を投与しても分化が抑制される細胞株を選別した。 挿入変異をうけた遺伝子の一つとして、Tryptophan hydroxylase-1 (TPH1) を同定した。TPH-1 はセロトニン合成における律速段階の酵素である。変異の導入により TPH-1 蛋白が減少した細胞系では分化が抑制されるが、Cre-loxP システムを用い TPH-1 を再構築した系では分化の抑制は認めなかった。また、TPH-1 の抑制により、脂肪細胞分化マーカー (C/EBP β、PPAR γ、aP2、LPL) の減少を認めた。 次に、TPH-1 によって合成されるセロトニン (5-HT) の脂肪細胞分化に及ぼす影響を調べたところ、5-HT を投与した細胞では脂肪細胞分化の亢進を認めた。また、3T3-L1 細胞においては種々のセロトニン受容体が発現しており、セロトニン受容体 2A(5HT_{2A}R) および 2C(5-HT_{2C}R) のアンタゴニスト投与にて脂肪細胞分化が抑制されることを確認した。さらに 5-HT_{2C}R mRNA は脂肪細胞分化と共に増加しており、microRNA-448 は 5-HT_{2C}R の 4 番目のイントロンにコードされていることから、3T3-L1 細胞における micro RNA-448 (miR-448) の役割を検討した。 Micro RNA は 22 塩基前後からなる一本鎖 RNA で、転写後の翻訳段階で標的遺伝子の蛋白発現を制御している。脂肪細胞分化に伴い 5-HT_{2C}R と同様に miR-448 の発現が増加することを確認した。レンチウイルスベクターを用い miR-448 を過剰発現したところ、KLF5 の蛋白減少を伴い分化が著明に抑制され、トリグリセライドの貯留も減少した。また、脂肪細胞分化マーカー (C/EBP α、PPAR γ、aP2) の減少を認めた。さらに内因性の miR-448 を抑制する為レンチウイルスベクターにて Decoy-miR-448 を感染したところ、KLF5 の蛋白増加を伴い脂肪細胞分化が促進された。そこで miR-448 は KLF5 をターゲットとし、脂肪細胞分化に重要な役割を果たすと考えられた。 これらの結果から、脂肪細胞分化はセロトニン、セロトニン受容体 2A、2C によって制御されており、microRNA-448 は KLF5 をターゲットとして脂肪細胞分化を抑制することが示された。			

(論文審査の結果の要旨)

脂肪組織は単なるエネルギーの貯蔵庫ではなく、アディポサイトカインを分泌し代謝を司る内分泌臓器として認識されてきている。

脂肪細胞分化を制御する遺伝子を、脂肪前駆細胞である 3T3-L1 細胞においてレトロウイルスを用いた遺伝子トラップの手法により解析及び同定した。

1) セロトニン合成酵素である Tryptophan hydroxylase-1 (TPH1) は脂肪細胞に発現し、脂肪細胞分化に必要であった。2) セロトニン (5-HT) シグナルは、セロトニン受容体 2A(5HT_{2A}R) および 2C(5-HT_{2C}R) を介して脂肪細胞分化に促進的に働くことを確認した。3) 5-HT_{2C}R の 4 番目のイントロンにコードされている microRNA-448 (miR-448) は KLF5 をターゲットとして脂肪細胞分化を抑制することを示した。

セロトニンは、以前から報告されている中枢神経系の 5-HT_{2C}R を介した食欲抑制の働きとは別に、末梢組織においても脂肪細胞分化を制御しインスリン感受性に関わる可能性がある。

以上の研究は、脂肪細胞分化の機序の解明に貢献し、肥満およびその関連疾患に対するセロトニンをターゲットとした治療法の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 22 年 11 月 8 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。