

氏 名	たなか とくじ 田 中 督 司
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2296 号
学位授与の日付	平 成 13 年 1 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学位論文題目	Down regulation of peroxisome proliferator-activated receptor expression by inflammatory cytokines and its reversal by thiazolidinediones (炎症性サイトカインによる peroxisome proliferator-activated receptor 発現抑制とチアゾリジン誘導体によるその阻害)
論文調査委員	(主 査) 教 授 清 野 裕 教 授 成 宮 周 教 授 中 尾 一 和

論 文 内 容 の 要 旨

インスリン抵抗性は、糖尿病のみならず高血圧症、高脂血症などの生活習慣病の原因として脚光を浴びている。また、最近インスリン抵抗性の発症進展において種々の炎症性サイトカインの関与が報告されている。インスリン抵抗性改善薬として開発されたチアゾリジン誘導体は、核内転写因子 peroxisome proliferator activated receptor (PPAR γ) と結合すること、その結合親和性は、インスリン抵抗性改善作用と相関することが示され、PPAR γ とインスリン抵抗性との関連が注目されている。本研究では、インスリン抵抗性における PPAR γ の意義を解明するため、ラット PPAR γ 1, γ 2cDNA をクローニングし、ラット成熟脂肪細胞初代培養系を用い種々のサイトカイン及びチアゾリジン誘導体による PPAR γ 遺伝子発現の制御とその意義を検討した。

I. ラット PPAR γ 1, γ 2cDNA のクローニング

マウス PPAR γ 1, γ 2cDNA non coding region 塩基配列に基づいてプライマーを作成し、ラット副精巣周囲脂肪組織より抽出した total RNA を鋳型とし、RT-PCR 法にてラット PPAR γ 1, γ 2cDNA をそれぞれ単離しクローニングした。得られたラット PPAR γ 2 は、505 アミノ酸よりなり、PPAR γ 1 の N 端側に 30 アミノ酸が付加された構造であった。ラット PPAR γ 2 は、塩基配列においてマウス及びヒトとはそれぞれ 97%, 90% の相同性を有し、特に DNA 結合ドメイン及びリガンド結合ドメインで高い相同性を示した。

II. 脂肪細胞におけるサイトカインおよびチアゾリジン誘導体による PPAR γ mRNA 発現調節

7 週齢雄性 SD ラットより単離した脂肪細胞を用い、種々の炎症性サイトカインおよびチアゾリジン誘導体で刺激後の PPAR γ の mRNA 発現量をノザンプロット法にて解析した。PPAR γ プローブはクローニングしたラット PPAR γ 1, γ 2cDNA に基づき γ 1, γ 2 共通部位認識プローブを作製し解析した。炎症性サイトカインである腫瘍壊死因子 TNF- α (10nM), インターロイキン 1- α (IL1- α) (10nM), IL1- β (10nM), IL-6 (10nM), 白血球抑制因子 LIF (10nM) 投与後 24 時間培養において、PPAR γ mRNA 発現量は 60-40% に有意に低下した。一方、チアゾリジン誘導体であるトログリタゾン及びピオグリタゾンは TNF- α による PPAR γ mRNA の発現抑制を用量依存性 (10^{-6} M $\sim$ 10^{-4} M) に阻害した。

III. インスリン抵抗性におけるサイトカインおよびチアゾリジン誘導体による PPAR γ 発現調節の意義

PPAR γ mRNA 発現調節のインスリン抵抗性における意義を明らかにするために、TNF- α , トログリタゾン存在下で脂肪細胞を 24 時間培養後インスリン (10^{-7} M) による糖取り込みを検討した。TNF- α はインスリンによる糖取り込みの増加を抑制した。一方トログリタゾンは、TNF- α による糖取り込み抑制を有意に改善した。すなわち、トログリタゾンは、PPAR γ mRNA 発現量を増加させるとともに、TNF- α によるインスリン抵抗性を改善した。

以上、本研究によりラット PPAR γ 1, γ 2cDNA の構造が決定され、TNF- α 等の炎症性サイトカインが PPAR γ の発現を低下させ、チアゾリジン誘導体は炎症性サイトカインによる PPAR γ の発現低下を抑制することが明らかとなった。また、

サイトカイン，チアゾリジン誘導体による PPAR γ 発現調節がインスリン抵抗性の制御に関与している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

インスリン抵抗性改善薬として開発されたチアゾリジン誘導体は，核内転写因子 peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR γ) と結合すること，その結合親和性はインスリン抵抗性改善作用と相関することが示され，PPAR γ とインスリン抵抗性との関連が注目されている。本研究では，インスリン抵抗性における PPAR γ の意義を解明するため，ラット PPAR γ 1, γ 2cDNA をクローニングし，ラット成熟脂肪細胞初代培養系を用い種々のサイトカイン及びチアゾリジン誘導体による PPAR γ 遺伝子発現の制御とその意義を検討した。

本研究によりラット PPAR γ 1, γ 2cDNA の構造が決定され，TNF α 等の炎症性サイトカインが，PPAR γ mRNA の発現を低下させ，一方チアゾリジン誘導体は炎症性サイトカインによる PPAR γ の発現低下を抑制することが明らかとなった。また，脂肪細胞におけるインスリンによる糖取り込みを検討したところ，TNF α はインスリンによる糖取り込みの増加を抑制し，チアゾリジン誘導体は，TNF α による糖取り込み抑制を有意に改善した。この結果，サイトカイン，チアゾリジン誘導体による PPAR γ 発現調節がインスリン抵抗性の制御に関与している可能性が示唆された。

以上の研究はインスリン抵抗性における PPAR γ の意義の解明に貢献し糖尿病の成因の研究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12年11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。