

【32】

氏 名 (本籍)	岩崎 仁 (奈良 県)		
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)		
学 位 記 番 号	博 甲 第 5183 号		
学位授与年月日	平成 21 年 7 月 24 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審 査 研 究 科	人間総合科学研究科		
学 位 論 文 題 目	骨格筋における TFE3 の機能解析		
主 査	筑波大学教授	医学博士	川 上 康
副 査	筑波大学講師	博士 (医学)	長谷川 雄 一
副 査	筑波大学講師	博士 (医学)	石 井 亜紀子
副 査	筑波大学講師	博士 (医学)	酒 井 俊

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

### (目的)

transcription factor E3 (TFE3) は、所属研究室におけるエネルギー代謝関連転写因子のスクリーニングで見いだされた従来免疫系担当細胞で機能するものと考えられていた転写因子である。肝臓で TFE3 を過剰発現した際に、インスリン感受性の増大、脂肪酸合成系遺伝子群の抑制、肝細胞に肥大が出現した。本研究では、骨格筋特異的に TFE3 を過剰発現させたトランスジェニックマウスを作製し、その表現型を解析することで筋肉における TFE3 の機能解析を行い、そこから得られる知見より生活習慣病の治療の手がかりを見つけることを目的とした。

### (対象と方法)

骨格筋特異的に発現するプロモーターとして human  $\alpha$ -skeletal actin promoter を用いて骨格筋特異的 TFE3 トランスジェニックマウスの作製を行なった。各種血中代謝パラメーターの測定、体重測定、体組成の測定、酸素消費量の測定、筋肉の組織学的検討、筋肉中グリコーゲン含有量の測定、遺伝子発現について検討した。またトランスジェニックマウスに対して運動負荷を 1 ヶ月間行い、腹腔内ブドウ糖負荷試験、腹腔内インスリン負荷試験、筋肉量測定、グリコーゲン含有量測定、エネルギー代謝遺伝子発現の変化を検討した。

### (結果)

作製したトランスジェニックマウスの筋肉を採取し、ノーザンブロッティング、ウェスタンブロッティングにて transgene の発現を確認した。体重は、生後 4 週齢から 10 週齢にかけて Tg マウスが重い傾向であり、6 週齢では統計学的に有意であり成長が早いことが示唆された。体組成の測定では、Tg マウスにおいて除脂肪重量が有意に大きかった。酸素消費量の測定では、Tg 群が WT 群と比較して明期で 8.3%、暗期で 7.4% 多かった。組織学的検討については、HE 染色では筋組織そのものに差異は認められなかったが、PAS 染色では Tg マウスにおいて染色性の亢進が認められ、筋肉中のグリコーゲン含有量を測定すると 2 倍程度増加していた。血清パラメーターは、血糖値、血中インスリン値、HbA1c、総コレステロール、中性脂肪、遊離脂肪酸に両群間で有意差を認めなかった。骨格筋を採取しノーザンブロッティングにより遺伝子発現について評価したところ、Glycogen synthase、GLUT4、Hexokinase2 が Tg 群において上昇していた。運動負荷による検討では、運動群において Tg マウスで有意に体重が増加した。前脛骨筋重量は、Tg マウスで非運動群

も運動群も多かったが、運動群においてより顕著であった。筋肉におけるグリコーゲン含有量は運動群において更に増加を示す結果であった。非運動群、運動群において、腹腔内インスリン負荷試験ならびに腹腔内ブドウ糖負荷試験を施行したところ、非運動群では差は認めなかったが、運動群では、Tg マウスはインスリン感受性の改善を示した。運動負荷をした際の遺伝子発現について検討したところ、GLUT4、Hexokinase2、Glycogen synthase といった糖代謝、グリコーゲン合成に関わる遺伝子群の発現が、運動群において増強されており、さらに WT マウスと比較して Tg マウスがより増強されていた。また PGC1 $\alpha$  は Tg マウスにおいて非運動群でも、運動群でも上昇しており、その傾向は運動群で更に強かった。

#### (考察)

筋肉でのグリコーゲン合成は、GLUT4 により筋肉内に糖が取り込まれ、hexokinase2 によりリン酸化されてグルコース 6 リン酸となり最終的に glycogen synthase によりグリコーゲン合成へと導かれるが、本研究ではグリコーゲン合成に関わる遺伝子が上昇した結果、筋肉においてグリコーゲンが蓄積していると推察された。糖代謝に関しては、通常の飼育状態である非運動群では変化は認めなかったが、運動負荷したマウスにおいて Tg マウスの筋肉量の増大が観察され耐糖能の改善が認められている。その原因として糖質としてのグリコーゲンが筋肉に蓄積する際に、マウスの全身に対する筋肉の占める割合がヒトなどと比較して少ないために全身での糖代謝改善にまでは結びつかなかった可能性や、肝臓などのエネルギー代謝の活発な臓器との相互作用により糖代謝に変化が見られなかった可能性が推察された。遺伝子発現の検討より、筋の fiber-type のスイッチなどに関わりエネルギー代謝の key regulator と考えられている PGC1 $\alpha$  が上昇する結果を得たが、過去の報告とあわせて考えると Type I fiber が優位に変化している可能性が考えられた。既に酸素消費量の検討から Tg マウスにおいて酸素消費量が亢進している結果を得ており muscle fibertype の変化により好氣的代謝が促進される結果、酸素消費量が亢進していると推察された。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

TFE3 を骨格筋特異的に過剰発現させる Tg マウスを作製し解析した結果、glycogen synthase、hexokinase2、GLUT4 といったグリコーゲン合成に関連する遺伝子群の発現上昇に伴い、骨格筋グリコーゲン含有量が増加していることが判明し、インスリン感受性も改善した。これらの結果は TFE3 の機能を考察する上で重要な所見で代謝学領域の研究として高く評価できる。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。