

氏名(本籍)	おお がき さと こ 子 (栃木県)		
学位の種類	博 士 (医 学)		
学位記番号	博 甲 第 4483 号		
学位授与年月日	平成 19 年 7 月 25 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	Indentification of ISG12b as a putative interferon inducible adipocytokine which is highly expressed in white adipose tissue. (ISG12b は白色脂肪組織に高発現しインターフェロンで誘導されるアディポサイトカインである)		
主 査	筑波大学教授	医学博士	住 田 孝 之
副 査	筑波大学教授	医学博士	浦 山 修
副 査	筑波大学教授	医学博士	須磨崎 亮
副 査	筑波大学准教授	博士 (医学)	竹 越 一 博
副 査	筑波大学講師	博士 (医学)	武 安 法 之

論 文 の 内 容 の 要 旨

(目的) 近年, 日本では食生活や生活環境の変化に伴い, 肥満, 糖尿病, 動脈硬化症などのメタボリックシンドロームが大きな社会問題となっている。脂肪組織は内分泌臓器として糖代謝や動脈硬化症との関連が注目されているが, 未知の部分が多く, 脂肪組織に着目し研究を行うこととした。

(対象と方法) マウス脂肪組織を材料として, 当研究室で開発した oligo-cap signal sequence trap 法により, 脂肪細胞由来の分泌蛋白遺伝子を探索した結果, Interferon-stimulated gene12 (ISG12) 遺伝子をクローニングした。そのうちの ISG12b 遺伝子はヒト乳癌から同定された interferon (IFN) で発現が増加する機能未知の遺伝子であり解析を進めることとした。

1) BL6 マウスで ISG12b 遺伝子の各種臓器別発現をノーザンプロットで検討した。2) 脂肪細胞由来である 3T3L1 細胞に IFN α を投与し ISG12b 遺伝子の発現をノーザンプロットで検討した。3) BL6 マウスに IFN α (1×10^4 U/ 個体) を毎日 1 週間腹腔内投与し, 白色脂肪組織での ISG12b 遺伝子の発現をノーザンプロットで検討した。

4) ISG12b 遺伝子のプロモーター領域を解析するため 3T3L1 細胞を用いて luciferase assay (LUC) を行った。マウスゲノムから PCR 法で ISG12b 遺伝子の転写開始部位の上流 2170bp を増幅し, LUC vector である pGL3 basic vector に挿入し, 5' 側から段階的に欠失させた deletion vector1 を作成した。5) Interferon stimulated response elements region (ISRE) を特定するため ISG12b 遺伝子の TATA box の上流 5593bp をマウスゲノムからいくつかの部位に分割し PCR 法で増幅し pGL3 promoter vector に挿入し, LUC で検討した。

6) ISG12b 遺伝子の機能解析を行うため, まず, BL6 マウスの脂肪組織を未成熟な脂肪細胞と成熟した脂肪細胞に分離しノーザンプロットで ISG12b 遺伝子の発現を検討した。7) 3T3L1 細胞を分化させ ISG12b 遺伝子の発現をノーザンプロットで検討した。8) STZ 糖尿病マウス, ob/ob マウスの脂肪組織でも ISG12b 遺

伝子の発現をノーザンブロットで検討した。

(結果) 1) ISG12b 遺伝子の BL6 マウスにおける臓器別発現の検討では、白色脂肪細胞に特異的に強く発現が認められた。2) 3T3L1 細胞では IFN α を培地 1ml あたり 100U/ml 添加することにより十分な ISG12b 遺伝子の発現増加が認められた。3) IFN α を投与した BL6 マウスの白色脂肪組織でも ISG12b 遺伝子の発現増加を認めた。

4) ISG12b 遺伝子のプロモーター領域を LUC 解析した結果では、deletion により活性の上昇が認められた。即ち、ISG12b 遺伝子の転写開始部位の上流 2170bp から 617bp の領域は ISG12b プロモーター活性に対し抑制的に働くと考えられた。5) IFN による転写活性化の責任領域については転写開始部位の上流 5593bp まで検索したが、IFN 投与により LUC 活性の上昇を認める領域は明らかとはならなかった。

6) BL6 マウスの白色脂肪組織では、未成熟な脂肪細胞に比べ、成熟した脂肪細胞で ISG12b の発現が強く認められた。7) 3T3L1 細胞では、分化誘導初期には ISG12b 遺伝子の発現が減少したが、分化の進行により ISG12b の発現の増加が認められた。8) STZ 糖尿病マウスでは BL6 マウスと比較し、白色脂肪組織の ISG12b 遺伝子の発現に差は認められなかったが、leptin 遺伝子に異常をもつ ob/ob マウスでは発現が低下していた。

(考察) 今回、ISG12b 遺伝子は白色脂肪組織で特異的に発現していることが明らかとなり、脂肪細胞の機能に深く関わっている可能性が示唆された。また、IFN 投与により 3T3L1 細胞、BL6 マウスの白色脂肪組織ともに ISG12b 遺伝子の発現が増加し、動脈硬化症など炎症と関連がある可能性も考えられた。

ISG12b 遺伝子のプロモーターの解析では、転写開始部位の上流 391bp に十分なプロモーター活性があることが明らかとなった。ISRE については上流 5593bp まで検索を行ったが明らかとはならなかった。

ISG12b 遺伝子は BL6 マウスの脂肪組織では成熟した脂肪で発現が増加しており、3T3L1 細胞では分化誘導により一時的に ISG12b の発現が低下するものの、分化の進行とともに発現の増加が認められたことから、ISG12b 遺伝子は脂肪細胞の分化との関連もあると考えられた。

モデルマウスでの検討では ob/ob マウスの白色脂肪組織で ISG12b 遺伝子の発現が低下しており、leptin またはそれに関連する遺伝子との関与もあるのではないかと考えられた。

(結論) ISG12b 遺伝子は脂肪組織において、重要な機能をもつ可能性があると考えられた。In vitro, in vivo の両方において、IFN により ISG12b 遺伝子の発現が増強されることから、今後はインスリン抵抗性や動脈硬化症との関連について機能解析をすすめる必要があると考えられた。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、脂肪細胞由来の分泌蛋白遺伝子である ISG12 について、発現と機能解析を目的として、ノーザンブロット解析、ルシフェラーゼ解析などを行った。結果として、ISG12 は成熟した白色脂肪組織に高発現し、インターフェロン α 刺激により誘導され、レプチンと共発現するアディポサイトカインであることを明らかにした。本研究成果はユニークであり、国際的にも高く評価されている。

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。