

氏名(本籍)	いとう ゆう (山口県)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	博甲第5013号
学位授与年月日	平成21年3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	生命環境科学研究科
学位論文題目	<b>Function of Forkhead Transcription Factor Foxo1 on Inflammation in Adipose Tissue</b> (脂肪組織の炎症反応におけるフォークヘッド型転写因子 Foxo1 の機能解析)
主査	筑波大学教授 農学博士 深水昭吉
副査	筑波大学教授 農学博士 馬場忠
副査	筑波大学教授 博士(薬学) 柳澤純
副査	筑波大学准教授 博士(薬学) 木村圭志

### 論文の内容の要旨

運動不足や栄養過多による肥満は世界規模で拡大しており、それに伴う糖尿病、高血圧や心疾患は深刻な問題となっている。近年脂肪組織における炎症反応は、肥満によるインスリン抵抗性の一因となっていることが明らかとなってきた。炎症性サイトカインのひとつである TNF $\alpha$  は肥満により増加し、インスリンシグナル伝達経路を阻害することにより、インスリン抵抗性の発症に寄与している。さらに IL-6 や MCP-1 など、様々な炎症性サイトカインが肥満により増加し、脂肪組織の炎症とインスリン抵抗性の惹起に関わっている。しかし、肥満やインスリン抵抗性における、炎症性サイトカインの発現制御メカニズムは完全には明らかとなっていない。

Foxo1 は、インスリンシグナル伝達経路の最下流で機能する転写因子であり、糖代謝、脂質代謝やアポトーシスなど様々な機能を有している。近年、当研究室で作製された脂肪組織特異的な Foxo1 過剰発現マウスはインスリン抵抗性をきたし、Foxo1 が脂肪組織にてインスリン抵抗性の発症に寄与することが明らかとなった。しかしながら、脂肪組織における Foxo1 の機能はほとんど明らかとなっていない。

本研究で著者は、脂肪細胞において Foxo1 が炎症性サイトカインの発現調節に重要な役割を果たすことを明らかにした。TNF $\alpha$  刺激による Foxo1 の活性の変化を検証した結果、TNF $\alpha$  は Akt 依存的な Foxo1 のリン酸化を減弱させ、TNF $\alpha$  はインスリンシグナルの阻害を介して Foxo1 の転写活性を促進することが示唆された。次に 3T3-L1 脂肪細胞における RNAi ノックダウンをエレクトロポレーション法により行った結果、Foxo1 のノックダウンは TNF $\alpha$  依存的な MCP-1 や IL-6 の発現上昇が抑制されることが明らかとなった。さらに脂肪組織特異的な Foxo1 過剰発現マウスの発現解析を行った結果、過剰発現マウスは炎症性サイトカインである MCP-1, TNF $\alpha$ , IL-6 や IL1 $\beta$  の発現が脂肪組織にて増加していることが明らかとなった。これらの結果より、脂肪細胞や脂肪組織にて Foxo1 が炎症性サイトカインの発現を正に制御することが明らかとなった。

そこで著者は、Foxo1 が炎症における重要な遺伝子の発現を制御していると仮説立て、転写因子 C/EBP $\beta$

に着目した。C/EBP $\beta$ は、肝臓やマクロファージにおいて炎症性サイトカインの発現増加に寄与する転写因子である。C/EBP $\beta$ のプロモーター配列を調べた結果、Foxolの結合配列を有しており、3T3-L1脂肪細胞におけるFoxolのRNAiノックダウンを行った結果、C/EBP $\beta$ の発現を抑制した。また、C/EBP $\beta$ プロモーターの活性をルシフェラーゼアッセイにて検証した結果、FoxolはC/EBP $\beta$ プロモーターを活性化することが明らかとなった。次に、ChIPアッセイによりC/EBP $\beta$ プロモーターへのFoxolのリクルートを調べたところ、TNF $\alpha$ 刺激に応じてプロモーターへのFoxolの結合が強まることが明らかとなった。以上のことから、脂肪細胞においてFoxolは、TNF $\alpha$ 刺激に応じたC/EBP $\beta$ の転写誘導に寄与することで、炎症性サイトカインの発現を正に制御することが強く示唆された。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、Foxolが脂肪組織や脂肪細胞において、C/EBP $\beta$ を介して炎症性サイトカインの発現を制御するという事実を初めて示し、Foxolの新たな生物学的機能を見出した。FOXOファミリーは糖代謝、ストレス抵抗、アポトーシスなど様々な役割を持つことが知られているが、炎症反応における機能は報告されていなかった。将来的に本研究で得られたメカニズムが生体内でどう寄与しているか評価していくことで、Foxolを含むFOXOファミリーの炎症や免疫応答における役割が解明されると期待される。

さらに本研究は肥満によるメタボリックシンドロームの発症における新たな作用機序の可能性もあり、研究の更なる発展が期待される。肥満による炎症やインスリン抵抗性は、メタボリックシンドロームの最上流に位置しており、その細胞内でのメカニズム解明が強く望まれている。本研究は、FoxolやC/EBP $\beta$ が肥満による炎症やインスリン抵抗性に寄与している可能性を初めて示している。本研究の知見を発展させると、Foxolやその下流遺伝子であるC/EBP $\beta$ を標的とすることで肥満による炎症を抑制し、新たな生活習慣病の治療薬の開発が期待される。

以上のように、著者は転写因子Foxol、C/EBP $\beta$ を介した炎症性サイトカインの新規発現制御機構を明らかにした独創的な研究を行い、基礎分野のみならず製薬・食品分野に応用可能な知見を開拓したと判断される。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。