

氏名(本籍)	きむ	ひよ	じょん	孝貞(韓国)
学位の種類	博	士	(理	学)
学位記番号	博	乙	第	2530号
学位授与年月日	平成	23年	1月	31日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当			
審査研究科	生命環境科学研究科			
学位論文題目	<b>Studies on Physiological Effects and Molecular Mechanisms of Adipocyte Differentiation by Catechin</b> (脂肪細胞の分化に対するカテキンの生理作用と作用メカニズムに関する研究)			
主査	筑波大学准教授	理学博士	坂本和一	
副査	筑波大学教授	理学博士	漆原秀子	
副査	筑波大学教授	博士(農学)	磯田博子	
副査	筑波大学教授	博士(医学)	千葉智樹	

### 論文の内容の要旨

近年、先進各国では、食生活の変化に伴う肥満やメタボリックシンドロームによる高血圧、高脂血症、癌、心臓病、糖尿病など生活習慣病の患者数の増加が問題となっている。一般に、肥満には脂肪細胞の数や脂肪蓄積能、肥大化が深く関与するが、この脂肪細胞の分化や機能性は様々な転写因子によりコントロールされている。例えば FoxO1 はインシュリンシグナル経路を介して脂肪細胞の分化の促進または抑制に深く作用する。また、SREBP1c は、脂肪酸やコレステロールの生合成に関わり、脂肪細胞への脂肪蓄積を誘導する。一般に、脂肪細胞の過剰形成や肥大化には活性酸素が深く関与するが、活性酸素は SREBP1c や FoxO1 などの転写因子活性を調節する。

一方、カテキンは緑茶等に含まれるポリフェノールで強い抗酸化力をもつ。中でも Epigallocatechin gallate (EGCG) は、最も強い抗酸化能を持ち、神経病や糖尿病、発癌、関節炎などの抑制を始め、血中の糖やインシュリンのレベルの低下にも働く。これまでに、EGCG が体脂肪の減少に関わる事実はよく知られていたが、その詳しい作用の分子メカニズムは不明のままであった。

そこで本研究は、脂肪細胞の分化に及ぼす EGCG の生理作用と作用の分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。特に、脂肪細胞の分化や脂肪代謝に関与する転写因子 FoxO と SREBP1c に着目し、酸化ストレスやインシュリンシグナル経路を介したカテキンの作用メカニズムを明らかにすることを目的にした。

まず、マウス前駆脂肪細胞 3T3-L1 を DMI 法で刺激して脂肪細胞への分化を誘導し、様々な種類のカテキンを添加したところ、EGCG と ECG により濃度に依存して脂肪蓄積が顕著に抑制された。分化誘導後の異なる時期にカテキンを作用させたところ、初期 (0 - 2 日間) に添加した場合には、後期 (4 - 8 日間) よりも脂肪蓄積が強く抑制された。また、EGCG および ECG により糖や脂肪酸の取り込み量が減少した。抗酸化剤 NAC や resveratrol で処理した場合もカテキン同様に脂肪蓄積が減少したことから、これらの生理作用はカテキンの抗酸化力による可能性が考えられた。また、EGCG によりグリセロール 3 リン酸脱水素酵素

(GPDH) 活性が著しく減少した。そこで FoxO1 や SREBP1c の転写因子活性を調べたところ、EGCG、resveratrol および NAC により FoxO1 と SREBP1c の転写因子活性が減少した。また、カテキンは転写因子 FoxO1 や SREBP1c 自身の発現には影響しなかったが、Akt 依存的な FoxO1 のリン酸化 (Thr32 と Ser256) を誘導した。そこで、細胞内の活性酸素 (ROS) レベルを調べたところ、脂肪細胞の分化に伴い細胞内 ROS レベルが増加し、EGCG および NAC の添加により減少した。従って、EGCG はその抗酸化作用によりインシュリンシグナル経路を活性化する可能性が考えられた。さらに、EGCG は、脂肪細胞の細胞周期を乱し、分化初期の細胞増殖を特異的に抑制した。リアルタイム PCR の結果、脂肪細胞の分化に関わる C/EBP $\alpha$ 、PPAR $\gamma$  や FoxO1 の mRNA 発現量が EGCG により著しく減少した。特異的 inhibitor を使った実験により、EGCG は PI3K/AKT および MEK/ERK の活性化を介して FoxO1 の転写因子活性を抑制し、同時に SREBP1c の転写因子活性を抑制することが明らかになった。

本研究により、カテキンの一つ EGCG はインシュリンシグナル経路や MAPK 経路を通じて FoxO1 の転写因子活性を抑制し、分化初期の細胞増殖を阻害することにより脂肪細胞の分化を抑制することが明らかになった。今後、脂肪細胞の分化に対するカテキンの作用機序を詳しく知ることにより、糖尿病や肥満の予防に対するカテキンの応用研究を進展させることが可能になる。

## 審査の結果の要旨

近年、食生活や社会環境の変化と共に、肥満症に関連した生活習慣病の増加が極めて大きな社会問題となりつつあり、肥満解消の基本的な分子メカニズムの解明が急がれている。これまで、茶カテキンが肥満の抑制に関わることは知られていたが、脂肪細胞の分化や脂質代謝に対する作用機序はほとんど知られていなかった。本研究は、EGCG が脂肪細胞の初期分化における細胞増殖を抑制することにより脂肪細胞の分化を抑制する事実を明らかにし、さらに、EGCG がインシュリンシグナル経路や MAPK 経路を通じて転写因子活性を抑制する事実を分子レベルで明らかにしたものである。これにより、これまで未知であった脂肪細胞の分化に対する EGCG の生理作用と作用機序の一端を明らかにすることができた。

これらの発見は、脂肪細胞の分化や機能性の維持に関わる基本的分子機構の解明という学術的な意義があるばかりでなく、肥満症とそれに関連した様々な生活習慣病の治療や予防に向けたカテキンの応用研究を推進するもので、社会的にも極めて重要な意義をもつ研究であると言える。

よって、著者は博士 (理学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。