



Title	Molecular Cloning and Expression of a Novel Human Aquaporin from Adipose Tissue with Glycerol Permeability
Author(s)	栗山, 洋
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42801
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	栗山洋
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第15759号
学位授与年月日	平成12年10月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	Molecular Cloning and Expression of a Novel Human Aquaporin from Adipose Tissue with Glycerol Permeability (グリセロール透過能を持つ新たなヒト脂肪組織Aquaporinのクローニングとその発現)
論文審査委員	(主査) 教授 松澤佑次
	(副査) 教授 倉智嘉久 教授 谷口直之

論文内容の要旨

[背景と目的]

肥満は糖尿病、高脂血症、高血圧さらにはこれらの危険因子の集簇による動脈硬化性疾患の発症基盤である。私達は肥満に伴うこれらの病態の発症メカニズムを解明する目的で、脂肪組織に注目し組織の mRNA 構成を忠実に反映できる3'-directed cDNA library を作成した。このヒト脂肪組織 library に発現する約1500の遺伝子をシーケンス解析し、ヒト脂肪組織発現遺伝子プロファイルを作成し脂肪組織の characterization を行った。さらにこのプロファイルと脂肪組織以外の30種類以上に及ぶヒト組織あるいは細胞での発現遺伝子プロファイルとを比較することにより、脂肪組織に特異的に発現する未知の遺伝子群をリストアップした。

本研究では、脂肪組織発現遺伝子プロファイルに基づき脂肪組織特異的に発現する新規遺伝子のクローニングを行い、世界ではじめて脂肪細胞のグリセロールチャネルと推定される分子を発見し、その機能の解明ならびに脂肪細胞における生理的意義を検討した。

[方法ならびに成績]

1) Aquaporin adipose (AQPap) のクローニング

リストアップした未知の脂肪組織特異的遺伝子候補群の中から、水チャネル分子である Aquaporin の新規メンバーをヒト脂肪組織全長 cDNA library を用いてクローニングし、Aquaporin adipose (AQPap) と名付けた。AQPap 蛋白は推定342アミノ酸からなり、Aquaporin family の中で水以外にグリセロール透過能を併せ持つ AQP3 と約50%の最も高い相同性を示した。AQPap アミノ末端に cAMP 依存性 Protein kinase A コンセンサス site が認められた。Hydropathy analysis による検討により、AQPap は他の Aquaporin と同様に膜6回貫通型を示した。

2) AQPap の組織分布

AQPap の組織分布を Northern blot 法で検討した。AQPap mRNA は脂肪組織において非常に特異性の高い発現を示した。

3) AQPap の機能解析

AQPap 全長を含む cRNA をアフリカツメガエル卵細胞にマイクロインジェクションし、浸透圧性水透過能を検討した。AQPap 発現卵細胞はコントロールに比べ約7倍の浸透圧性水透過能を呈した。この増加は、他のほとんどの Aquaporin と同様に水銀投与によりブロックされメルカプトエタノールで回復した。AQPap はグリセロールの透過

能を併せ持つ AQP3との配列相同性が高いことより、グリセロール透過能を検討した。AQPPap 発現卵細胞のグリセロール透過能はコントロールに比べ約 5 倍の増加を示した。

4) AQPPap 発現とグリセロール放出量との関連

脂肪細胞においてエピネフリン刺激などの脂肪分解時には細胞内の中性脂肪が分解され遊離脂肪酸およびグリセロールとして細胞外に放出される。3T3-L1細胞を用い、エピネフリン刺激時のグリセロール放出を検討した。グリセロール放出は、AQPPap 発現卵細胞の場合と同様に水銀投与によりブロックされ、メルカプトエタノールにより回復した。さらに脂肪蓄積過程における AQPPap の発現変化とエピネフリン刺激時のグリセロール放出量との関連を3T3-L1細胞を用いて検討した。分化前には AQPPap mRNA 発現は認められなかったが、脂肪蓄積がみられる分化後 3 日目頃より AQPPap mRNA 発現が認められ、その後分化とともに増加し13日目にプラトーに達した。さらにエピネフリン刺激時のグリセロール放出量はこの AQPPap mRNA 発現量と平行して変動した。

[総括]

脂肪細胞は脂肪分解時にグリセロールを放出するが、グリセロールのトランスポートに関与する分子は同定されていない。私達はヒト脂肪組織から新たな Aquaporin として AQPPap をクローニングした。AQPPap はグリセロール透過能を持ち、脂肪細胞における AQPPap の機能およびその発現は、グリセロール放出と密接に関連することより、AQPPap は脂肪細胞においてグリセロールチャネルとしてはたらき、脂肪分解時のグリセロール放出に重要な役割を果たしていると考えられる。

論文審査の結果の要旨

本論文は脂肪細胞におけるグリセロールチャネルと考えられる分子を世界で初めて発見し、報告したものである。脂肪細胞はエネルギー需要時、細胞内の中性脂肪を遊離脂肪酸とグリセロールに水解し細胞外に放出することが知られている。脂肪酸のトランスポートに関わる分子はいくつか報告されているが、グリセロールのトランスポートに関与する分子は今まで同定されていなかった。カテコラミン刺激などの脂肪分解誘発時において、速やかにグリセロールが細胞外に放出されるため、以前よりチャネルなどを介したグリセロール放出機構が推定されていたが不明であった。今回、ヒト脂肪組織から新たな Aquaporin をクローニングし、Aquaporin adipose (AQPPap) と名付けた。AQPPap は推定342アミノ酸を示し、Aquaporin family の中でグリセロール透過能を持つ AQP3と最も相同性が高くアミノ酸レベルで約50%を示し、その構造は、他の Aquaporin と同様に膜を 6 回貫通すると考えられた。Northern blot による組織分布で AQPPap は脂肪組織に非常に特異性の高い発現を示した。AQPPap を発現したアフリカツメガエルの卵細胞は水だけでなくグリセロール透過能を示した。さらに脂肪細胞における AQPPap の機能およびその発現は、グリセロール放出と密接に関連することより、AQPPap は脂肪細胞においてグリセロールチャネルとして機能し、脂肪分解時のグリセロール放出に重要な役割を果たしていると考えられた。本研究は脂肪細胞におけるグリセロールチャネルと考えられる分子を世界で初めて発見したものであり、極めて意義深く学位に十分値するものである。