The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | Human aquaporin adipose (AQPap) gene : Genomic structure, promoter analysis and functional mutation |
| Author(s) | 近藤, 秀彦 |
| Citation | 大阪大学, 2003, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/44626 |
| 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、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>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　近藤秀彦（こんどうひでひこ）

博士の専攻分野の名称　博　士（医　学）

学位記番号　第　18144　号

学位授与年月日　平成15年9月30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　Human aquaporin adipose (AQPap) gene : Genomic structure, promoter analysis and functional mutation
（ヒトアクアポリンアディポーズ（AQPap）遺伝子：ゲノム構造、プロモーター解析、及び、機能的欠損に関わる遺伝的変異）

論文審査委員　（主査）
教　授　金倉　譲

（副査）
教　授　荻原　俊男　　教　授　倉智　嘉久

## 論文内容の要旨

【目的】

脂肪組織に蓄積された中性脂肪、すなわちトリアシルグリセロール（TG）は、空腹時や運動時のエネルギー需要に際し、リパーゼの働きにより、脂肪酸とグリセロールに分解され、血液中に放出される。これまで、アクアポリンアディポーズ（AQPap）が、脂肪細胞におけるグリセロール放出のチャネル分子として働く可能性が、マウスの系において示されてきた。本研究は、ヒトAQPap遺伝子の構造、promoter解析、および、遺伝的変異の解析により、ヒトにおけるAQPapの機能を明らかにしようとするものである。

【方法ならびに成績】

ヒトAQPap cDNAをプローブとして用いて、ヒトBACライブラリーより、AQPap遺伝子をクローニングし、primer walkingおよびdirect sequenceにより、promoter領域配列を含むAQPap遺伝子の一次構造を決定した。ヒトAQPapは、8つのエクソンから構成される全長約18 kbの遺伝子で、全てのエクソン・イントロン境界域に、コンセンサス配列GT/AGが存在していた。

また、ゲノムクローン解析およびデータベース検索により、ヒトゲノム上には、AQPapと約95%のホモロジーを有した3つのAQPap様遺伝子が存在することが明らかとなった。これらAQPap様遺伝子の構成は、AQPap遺伝子と同様の遺伝子構成と類似していた。特異的プライマーを使用したRT-PCR解析の結果、これらAQPap様遺伝子は、ヒト組織における発現レベルが極めて低いことが明らかとなり、本研究で見出された全てのAQPap様遺伝子は、pseudogeneであると考えられた。

ヒトAQPapのpromoter領域には、peroxisome proliferator response element（PPRE）およびinsulin response element（IRE）のコンセンサス配列が見出された。AQPap promoter領域（−681/+11）のPPARγリガンド（pioglitazone）によるpromoter活性の増強は、PPREの除去により完全に消失し、PPREが実際にAQPapの脂肪細胞特異的発現に関与していることが示唆された。また、AQPapのpromoter活性は、insulinにより抑制されたが、その作用は、promoter上のIREの除去あるいはIREへの点変異導入により消失した。このことは、IREがインスリンによる発現抑制に関与していることが明らかとなった。

さらに、160 人の被験者を対象とした AQPap 遺伝子塩基配列の解析により、3 つのミスセンス変異（R12C、V59L、G264V）及び 2 つのサイレント変異（A103A、G250G）が見出された。cRNA 導入によりアフリカツメガエル卵細胞に変異 AQPap 分子を強制発現させた結果、G264V 変異 AQPap は、グリセロール透過能および水透過能を全く示さない事が判明した。一方、R12C 変異および V59L 変異 AQPap は、野生型 AQPap 同様、グリセロール透過能と水透過能を示した。G264V 変異をホモ接合体の形で有する被験者は、自転車エルゴメーターを用いた運動負荷後、血中ノルアドレナリン濃度の上昇にも拘わらず、血中グリセロール濃度の増加が認められなかった。この結果より、ヒト AQPap が、運動後のエネルギー需要に際して TG の加水分解により生じたグリセロールの脂肪組織からの放出に関与していることが示唆された。

【総括】

本研究により、ヒト AQPap 遺伝子構造が明らかとなった。また、ヒト AQPap は、promoter 領域に存在する PPRE を介して、脂肪組織特異的に発現し、IRE を介して、インスリンにより負に転写制御されるものであることが示された。後者は、ヒト AQPap 遺伝子の発現が、栄養状態により制御されることを示唆するものである。さらに、遺伝子解析により見出された G264V 変異が、AQPap の機能的欠損を引き起こすことを明らかとした。G264V 変異のホモ接合である被験者は、運動負荷時の血中グリセロール濃度の上昇が起こらず、ヒト AQPap が脂肪組織におけるグリセロールチャネル分子として機能することが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

空腹時や運動時のエネルギー需要に際し、脂肪組織に蓄積されたトリアシルグリセロールは、リパーゼの働きにより、遊離脂肪酸とグリセロールに分解される。グリセロールは、血中に放出された後、肝臓でグルコースに変換され、エネルギーとして利用されるが、脂肪組織のグリセロール放出の分子機構は、これまで明らかでなかった。学位申請者である近藤秀彦らは、本論文において、AQPap のゲノム構造決定、プロモーター解析、及び、遺伝子変異解析を行った。結果、脂肪組織特異的発現に必要なプロモーター配列とインスリンによる発現抑制に必要なプロモーター配列を同定した。さらに、AQPap の機能的欠損を引き起こすミスセンス変異を見出し、本変異のホモ接合である被験者において、運動負荷時の血中グリセロール濃度の上昇が起こらないことを示した。これらの研究結果は、AQPap が脂肪組織におけるグリセロールチャネル分子として機能することを強く示唆するものである。近年、内臓脂肪の蓄積は、生活習慣病の発症に深く関与することが示されている。本研究の結果は、脂肪分解/脂肪蓄積調節に関わる機能分子の分子生物学的理解を深め、今後の医学の発展に大きく貢献するものである。

よって、学位の授与に値すると考えられる。