The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	成熟脂肪細胞においてRhoAが炎症性サイトカインの発現を上昇させる
Author(s)	中山, 雄記
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49325
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

【106】

氏　　名	中　山　雄　記（なかやまゆうき）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学　位　記　番　号	第　２３１０１　号
学位授与年月日	平成21年３月24日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 生命機能研究科生命機能専攻
学　位　論　文　名	**成熟脂肪細胞においてRhoAが炎症性サイトカインの発現を上昇させる**
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　下村伊一郎 （副査） 教　授　米田　悦啓　　教　授　八木　　健　　教　授　山本　亘彦

論　文　内　容　の　要　旨

肥満が原因と考えられているメタボリックシンドリームは大きな社会問題となっている。その病態形成に重要な役割を果たしている脂肪組織及び脂肪細胞の特徴の1つとして肥大化が挙げられる。細胞の肥大化には細胞骨格の変化を伴うため、我々はアクチン細胞骨格に深く関与している低分子量Gタンパク質Rhoファミリーに着目し、脂肪組織・成熟脂肪細胞におけるRhoファミリーの役割を検討した。

脂肪細胞分化過程におけるRhoファミリー活性調節の重要性は報告されているが、生体脂肪組織や成熟脂肪細胞における活性、生理的意義は知られていない。我々はC57BL/6Jにおける代表的なRhoファミリー（RhoA、Rac1、Cdc42）の活性を種々の臓器（脳・肺・肝臓・腎臓・脾臓・白色脂肪細胞・筋肉）において比較した。すると、3つのRhoファミリーが白色脂肪組織で高い活性を示すことを見出した。さらに、絶食/再摂食で活性が変化するのはRhoAのみであることを見出した。

培養脂肪細胞である3T3-L1は分化と共にRhoA活性が低下する。そこで、成熟脂肪細胞においてRhoA活性を誘導した。分化誘導を行った後の3T3-L1へは発現プラスミドの導入が困難であるため、Destabilizing domain（DD）とRhoAの恒常的活性体G14VRhoAを融合させたタンパク質をShield1依存的に強制発現できる3T3-L1を作成した。アクチン繊維の観察を行いG14VRhoAの機能確認を行った上で性質を検討した。G14VRhoAを強制発現させると、PAI-1、MCP-1といった炎症性サイトカインの発現が有意に上昇し、それがRhoAの下流因子ROCKの阻害剤で抑制されることを認めた。

次に栄養変化と肥満で変化するInsulin、グルコース、H_2O_2、TNF-α、デキサメタゾン、LPAを3T3-L1成熟脂肪細胞に添加し、RhoA活性の変化を検討した。結果、TNF-α、デキサメタゾン、LPAが3T3-L1成熟脂肪細胞のRhoA活性を上昇させることを見出した。肥満病態を呈する段階で、脂肪組織へのマクロファージの浸潤とマクロファージから分泌されるTNF-αを初めとする因子が脂肪細胞の形質変化を促すことが近年報告されているため、TNF-αに着目して研究を進めた。すると、ROCK阻害剤がTNF-αによって抑制される糖取り込み能を改善、TNF-α誘導性炎症反応を抑制することを見出した。

さらに、ROCK阻害剤をC57BL/6Jに投与すると（5mg/kg）、Insulin負荷試験においてInsulin感受性が増強され、血糖値の有意な低下を認めた。

以上から成熟脂肪細胞のRhoA/ROCK経路は炎症反応に重要であり、生体脂肪組織のInsulin抵抗性発症への関与が推測された。さらに、成熟脂肪細胞におけるRhoA/ROCK経路がInsulin抵抗性改善薬の治療標的となりえる可能性を示唆した。

論文審査の結果の要旨

申請者は、白色脂肪組織および成熟脂肪細胞における低分子量GタンパクRhoAの生理的意義を明らかにすべく本実験を行った。

RhoAの活性状態をPull down assayという複雑な手法で解析し、これまで脂肪組織では当然低いと思われていたRhoA活性が他の臓器と比較しても高いレベルであることを見出し、その責任細胞が成熟脂肪細胞であることを明らかにした。本研究では、*in vivo*臓器、組織ごとの活性を比較したという点で、独創的であり評価に値する。

培養脂肪細胞においては、プロテアソームを利用した新しいタンパク質強制発現システムを用い、これまで困難であった成熟培養脂肪細胞におけるタンパク質強制発現に成功、それを用いてRhoA

活性体を導入すると、PAI-1、MCP-1の発現が上昇、その作用がRhoAの下流因子ROCKの阻害剤で抑えられることも見出した。また、培養成熟脂肪細胞のRhoA活性を上昇させる因子として、TNF-αを見出し、TNF-αが誘導する炎症作用がROCK阻害剤で抑制されることも見出した。さらにROCK阻害剤をマウスに投与することで、インスリン感受性が増強することも示した。

成熟脂肪細胞におけるRhoA/ROCK経路がインスリン感受性に深く関与し、その経路がインスリン感受性改善の新たな治療標的となる可能性、ROCK阻害剤がインスリン改善薬としての能力を秘めていることを示唆した本研究は博士(理学)の学位に値するものである。