

Title	Nitric oxide dysregulates adipocytokine expression in 3T3-L1 adipocytes
Author(s)	野崎, 真衣子
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49955
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	野崎真衣子
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 2 2 7 5 3 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 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学位論文名	Nitric oxide dysregulates adipocytokine expression in 3T3-L1 adipocytes (一酸化窒素によるアディポサイトカインの発現異常)
論文審査委員	(主査) 教授 下村伊一郎 (副査) 教授 森下 竜一 教授 澤 芳樹

論文内容の要旨

〔 目 的 〕

脂肪組織は種々の内分泌因子(アディポサイトカイン)を産生する内分泌組織である。肥満に伴い脂肪組織からの炎症性サイトカインの産生が増加し、インスリン抵抗性改善作用を持つアディポネクチンの産生が低下することにより、糖尿病や動脈硬化症といった生活習慣病を引き起こす要因となることが知られている。しかし、肥満によってアディポサイトカインの産生異常が生じる原因については十分に解明されていない。私は、肥満者の生体内で変化がみられる因子の中にアディポサイトカイン産生異常に関連するものがあると考えた。そして、肥満者で血中濃度が増加するとの報告がある一酸化窒素(NO)に着目し、肥満モデルマウスならびに培養脂肪細胞を用いて解析を行った。

〔 方法ならびに成績 〕

4ヶ月間、通常食を摂取したマウス(control)と高脂肪高シヨ糖食負荷を行ったマウス(D10)を用いて、血中NO濃度および、脂肪組織での遺伝子発現とニトロソ化タンパク質を測定した。D10はcontrolと比較して有意な体重増加が認められた(31±0.8g vs 46.5±2.9g, p<0.001)。D10では血中NO濃度が有意に上昇しており(18±5.4μM vs 33.7±14.4 μM, p<0.05)、脂肪組織におけるNO産生酵素(NOS)の発現量、ニトロソ化タンパク質ともに増加していた。次に、脂肪組織の分画を行った。脂肪組織をコラゲナーゼ処理し、成熟脂肪細胞を含む脂肪細胞画分(Adipocyte fraction; AF)

と、前駆脂肪細胞、血管構成細胞、マクロファージ等を含む画分(stromal vascular fraction: SVF)に分離した。D10において、NOSの遺伝子発現量はSVFにおいて顕著に増加していた。ヒト、マウス脂肪組織にはマクロファージが存在し、その数が肥満と共に増加することが報告されているが、NO産生能をもつマクロファージが脂肪組織に浸潤した結果、脂肪組織全体でNO産生やニトロソ化修飾が増加すると考えられた。

次に、NOが脂肪細胞に与える影響を検討した。3T3-L1培養脂肪細胞へNO産生試薬(NOR5)を添加し、アディポサイトカインの発現量を解析した。NOR5によって炎症性因子(IL-6、PAI-1、TNF-α)の遺伝子発現量は増加し、アディポネクチンの遺伝子発現量は減少した。培養上清での分泌量の測定結果も同様であった。アディポネクチンは、転写因子であるPPARγによって発現量が制御されることが知られているが、NOR5の添加によってPPARγの遺伝子発現量およびタンパク質量が減少した。アディポネクチンプロモーターを構築してルシフェラーゼアッセイを行うと、NOR5によって転写活性が低下した。この時、PPARγの遺伝子結合領域に変異を入れると、NOR5によるアディポネクチンプロモーターの転写活性低下は解除された。すなわち、NOによるPPARγの減少が、アディポネクチンの遺伝子発現低下を引き起こすと考えられた。次に、NOによる炎症シグナルを解析した。NOR5で処理した3T3-L1細胞では、JNKとNF-κB経路が選択的に活性化されており、これらの経路を阻害すると炎症性因子の発現上昇は解除された。

〔 総 括 〕

肥満マウスの脂肪組織ではNO濃度、NO産生酵素、ニトロソ化タンパク質が増加することを明らかにした。また、脂肪組織分画によって、浸潤したマクロファージがNO産生増加に関与する可能性を示した。脂肪細胞への作用として、JNK、NF-κB経路の活性化を介して炎症性サイトカイン産生を誘導すること、PPARγの発現低下を介してアディポネクチンの産生を遺伝子発現レベルで低下させることを明らかにした。これらの結果から、肥満に伴う生活習慣病の発症要因として、肥満脂肪組織から産生されるNOが重要な役割を果たしている可能性を示した。

論文審査の結果の要旨

肥満は、糖尿病や高脂血症といった生活習慣病を引き起こす。肥満状態では、脂肪細胞からの炎症性サイトカインやアディポネクチンの発現が変化しており、生活習慣病の発症や進展に重要な役割を果たすと考えられている。

本申請者は、高脂肪食負荷による肥満マウスを用いた検討を行い、肥満マウスの脂肪組織においてNO産生酵素、NO修飾タンパク質が増加していることを見出した。また、NOが脂肪細胞へ作用し、JNK、NF-κBの経路を活性化して炎症性サイトカインの産生を増加させること、PPARγの発現を低下させてアディポネクチンの産生を遺伝子発現レベルで低下させることを明らかにした。以上の結果から、肥満状態ではNOの増加によって脂肪細胞からの炎症性サイトカイン産生やアディポネクチン分泌量が増加し、生活習慣病の発症につながる可能性を示した。

本研究は、実験結果自体の意義もさることながら、今後の発展性にも期待できるものがあり、医学への貢献度が極めて高い研究であると言える。したがって、学位授与に値すると考える。