Osaka University Knowledge Archive

Title	Identification of a new secretory factor, CCDC3/Favine, in adipocytes and endothelial cells
Author(s)	小林, 祥子
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54221
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【60】

氏　　名	小　林　祥　子（こ　ばやし　さち　こ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　２３６２９　号
学位授与年月日	平成22年３月23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	Identification of a new secretory factor, CCDC3/Favine, in adipocytes and endothelial cells （脂肪細胞および血管内皮細胞由来新規分泌因子CCDC3/Favineの同定）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　下村伊一郎 （副査） 教　授　大薗　恵一　　教　授　楽木　宏実

論　文　内　容　の　要　旨

[目的]

肥満はメタボリックシンドロームや動脈硬化症と関連することがよく知られている。これまでに、脂肪細胞からはTNF-αやIL-6, PAI-1, アディポネクチンなどの生理活性物質が分泌されることが報告されてきた。これらの因子は、肥満に伴う糖尿病、高血圧発症に関与しており、肥満病態の解明に重要である。一方、肥満や糖尿病状態では血管内皮機能の障害および動脈硬化症の発症と進展が報告されており、何らかの分泌因子が関与している可能性が考えられている。そこで我々は、肥満や糖尿病症例での動脈硬化発症、進展の病態を解明し、よりよい治療法を開発するために、糖代謝異常と血管機能を結ぶ新規分泌因子の探索を目的として実験を行った。

[方法ならびに成績]

Gene Chip Databaseを用いて、血管に特異的に発現があり、シグナル配列を有し、肥満、糖尿病状態において発現が変化する遺伝子を抽出し、そのうちのcoiled-coil domain containing-3（*CCDC3*）遺伝子に注目した。遺伝子配列から予測されるCCDC3タンパクは、生物種間でアミノ酸配列が高く保存されているが、機能は不明である。マウスの各種組織におけるmRNA発現の検討では*CCDC3*遺伝子は大動脈に加え脂肪組織に高発現していた。

まず、脂肪組織における解析を行った。マウス精巣上体周囲白色脂肪組織をコラゲナーゼ処理して分画したところ、*CCDC3*遺伝子は成熟脂肪細胞分画に高発現していた。肥満モデルマウスの脂肪組織では野生型マウスと比較して、*CCDC3*遺伝子はより高発現であった。ラット初代脂肪細胞を用いたin vitroの実験では脂肪細胞への分化とともに*CCDC3*遺伝子発現は上昇した。また本脂肪細胞においてインスリンとPPARγアゴニストは*CCDC3*遺伝子発現を上昇させ、TNF－α、イソプロテレノール、ノルエピネフリン（またはアドレナリン作動性物質）は*CCDC3*遺伝子発現を抑制した。

次に、血管系での解析を行った。ヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)とヒト大動脈血管平滑筋細胞を比較したところ、*CCDC3*遺伝子はHUVECに高発現していた。またHUVECにおいて脂肪細胞と同様にPPARγアゴニストは*CCDC3*遺伝子発現を上昇させ、TNF-αは*CCDC3*遺伝子発現を抑制した。肥満および動脈硬化症モデルマウスの血管では野生型マウスと比較して*CCDC3*遺伝子の発現変化は見られなかった。

CCDC3蛋白の機能解析のためにサル腎臓由来培養細胞へCCDC3蛋白発現ベクターを用いた過剰発現実験を行った。アミノ酸配列から予測された通り、CCDC3蛋白は細胞内および、培養上清中に検出された。培養上清中のCCDC3蛋白のN末端アミノ酸解析を行ったところ、予測されるシグナル配列が切断されていた。また、CCDC3蛋白の分泌はER-Golgi経路輸送遮断薬(Brefeldin A)によって阻害された。以上のことから、CCDC3蛋白は分泌因子であると考えられた。

細胞内および、培養上清中のCCDC3蛋白はアミノ酸配列から予測される分子量よりも大きな分子量であったが、PNGaseF処理を行うと、分子量が減少したことから、N型糖鎖修飾を受けると考えられた。また、CCDC3蛋白はWheat Germ Agglutinin(WGA)に結合しWGAのリガンドと競合的な挙動を示すことから、CCDC3蛋白はレクチンに結合する性質を有することが明らかになった。さらにCCDC3蛋白は、非還元非加熱処理の状態では、還元加熱処理をした状態の約二倍の分子量を示した。このことから、ジスルフィド結合およびC末端のcoiled－coil domainが関与した二量体を形成することが示唆された。

[総括]

*CCDC3*遺伝子は血管および脂肪組織に高発現する遺伝子であることを明らかにし、その遺伝子発現制御およびタンパクの性状解析を行った。脂肪組織での遺伝子発現は、肥満状態で亢進を認めた。また脂肪細胞および血管内皮細胞において肥満や糖尿病に関係する各種因子添加によっても発現変化することを明らかにした。以上より、CCDC3蛋白は、肥満や糖尿病、動脈硬化の発症・進展に関わる新規分泌因子である可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

血管内皮からは様々な生理活性物質が分泌されている。肥満症例や糖尿病患者ではこれら生理活性物質の分泌量が変化しており、動脈硬化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、ヒトのGene Chip Databaseを用いた探索を行い、血管から分泌される新規因子CCDC3を同定した。本遺伝子は生物種間で高く保存されており、血管および脂肪組織に高発現を認めた。遺伝子発現量の解析から、本因子は肥満マウスの脂肪組織で上昇していること、脂肪細胞の分化過程において経時的に増加することを明らかにした。また、脂肪細胞および血管内皮細胞においてPPARγアゴニストなどにより発現調節を受けることを示した。さらに、組換えタンパク質を用いた解析から、本因子がER-Golgi経路を介して分泌され、2量体を形成する糖タンパク質であることを明らかにした。

本研究は新規分泌因子の解析を行っており、今後の発展性と医学への貢献が期待される。したがって、学位授与に値すると考える。