The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ロイコトリエンB4はヒト脂肪細胞分化を制御する
Author(s)	平田, 佳永
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58450
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

【47】

氏　　名	平　田　佳　永（ひら　た　か　え）
博士の専攻分野の名称	博　士（歯　学）
学　位　記　番　号	第　２４５０４　号
学位授与年月日	平成23年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 歯学研究科分子病態口腔科学専攻
学　位　論　文　名	ロイコトリエンB_4はヒト脂肪細胞分化を制御する
論文審査委員	（主査） 教　授　髙田　健治 （副査） 教　授　上﨑　善規　　准教授　大倉　正也　　講　師　山田　　聡

論文内容の要旨

【目的】

ロイコトリエン（LT）は，リポキシゲナーゼ（LOX）経路でアラキドン酸から合成される脂溶性メディエーターで，局所の情報伝達をつかさどる生理活性物質として広く知られている．近年，メタボリックシンドロームに対する社会的関心が高まっており，肥満とインスリン抵抗性との間にはさまざまな炎症性メディエーターの関与が報告されているが，LT と脂肪細胞の分化・成熟に関する報告はきわめて少ない．

そこで，本研究では LT 経路と脂肪細胞の分化・成熟との関連に着目し，前駆脂肪細胞から成熟脂肪細胞へ分化する系を用いてその役割を検討した．

【方法】

1. 成熟脂肪細胞への分化誘導

ヒト前駆脂肪細胞として，初代培養細胞である皮下脂肪由来ヒト前駆脂肪細胞および内臓脂肪由来ヒト前駆脂肪細胞を用いた．またマウス由来細胞として，脂肪細胞分化系のモデルとして一般的に汎用されているマウス 3T3-L1 細胞，および初代培養細胞の精巣上体周囲マウス前駆脂肪細胞を用いた．これらの前駆脂肪細胞に insulin, dexamethasone, rosiglitazone, 3-isobutyl-1-methylxanthine を含むメディウム刺激により成熟脂肪細胞への分化誘導を行った．4 日目にメディウムを交換して 6 日目まで培養し，Oil Red O 染色と細胞内 triacylglycerol（TG）量を測定した．

2. LOX 阻害薬，LTB_4 受容体拮抗薬処置による脂肪細胞分化への影響

LOX 阻害薬 nordihydroguaiaretic acid（NDGA），特異的 5-LOX 阻害薬 AA-861，LTB_4 受容体拮抗薬 ONO-4057 をそれぞれ分化誘導メディウムに添加し，脂肪細胞分化における LT 経路の影響を検討した．

3. BLT1, BLT2 発現抑制による脂肪細胞分化への影響

LTB_4 受容体の BLT1 および BLT2 を介したシグナル伝達系の影響を検討するため，これらの受容体の発現を特異的な small interfereing RNA（siRNA）を用いて抑制した．ウエスタンブロッティングを行って BLT1，BLT2 の発現抑制を確認した後，脂肪細胞分化への影響を評価した．

4. Transforming growth factor beta-induced, 68kDa（TGFBI）発現抑制の影響

ヒト脂肪細胞の分化において LT 経路によって変化する遺伝子群を網羅的に解析するため，AA-861 および BLT1-siRNA 処置を行った細胞から RNA を抽出し，human DNA microarray を行った．その結果，変化した遺伝子の中から TGFBI に着目し，TGFBI の特異的 siRNA を作製して脂肪細胞分化への影響を

評価した.

【結果と考察】

1. LOX 阻害薬および LTB_4 受容体拮抗薬処置により，皮下脂肪由来ヒト前駆脂肪細胞から成熟脂肪細胞への分化が促進された.

2. 特異的 siRNA による BLT1 および BLT2 の発現抑制により，皮下脂肪由来ヒト前駆脂肪細胞から成熟脂肪細胞への分化が促進された.

3. 内臓脂肪由来ヒト前駆脂肪細胞を用いた場合でも同様に，LOX 阻害薬処置，BLT1, BLT2 の発現抑制により成熟脂肪細胞への分化が促進された.

4. LTB_4 によって発現が制御されている分子として TGFBI を見出した．特異的 siRNA による TGFBI の発現抑制により皮下脂肪由来ヒト前駆脂肪細胞から成熟脂肪細胞への分化が促進された.

5. マウス 3T3-L1 細胞を用いた検討を行ったところ，ヒト前駆脂肪細胞を用いた場合とは逆に，LOX 阻害薬，LTB_4 受容体拮抗薬処置，および BLT1，BLT2 の発現抑制により成熟脂肪細胞への分化が抑制された.

6. 精巣上体周囲マウス前駆脂肪細胞を用いた場合，ヒト前駆脂肪細胞を用いた場合と同様に，LOX 阻害薬処置，BLT1, BLT2 の発現抑制により成熟脂肪細胞への分化が促進された.

7. これらの結果から，BLT を介したシグナル伝達経路の下流には TGFBI の存在が示唆され，TGFBI がヒト脂肪細胞の分化に抑制的に作用していることが明らかになった．また，マウス 3T3-L1 細胞と初代培養のヒトおよびマウス前駆脂肪細胞では，脂肪細胞分化における LT 経路の関与が異なっていることも示唆された.

【結語】

本研究において，LTB_4 とその受容体 BLT1 および BLT2 を介したシグナル伝達経路がヒト脂肪細胞分化に関与することが明らかになった．また，BLT 受容体シグナルを介した脂肪細胞分化のメカニズムに TGFBI が関与し，TGFBI がヒト脂肪細胞分化に抑制的に作用していることが明らかになった．これらの結果から，LTB_4 はヒト脂肪細胞の分化を制御する脂溶性メディエーターの一つであることが示唆された.

論文審査の結果の要旨

本研究により，ヒト前駆脂肪細胞において leukotriene B_4 (LTB_4) 受容体 BLT1・BLT2 を介して transforming growth factor, beta-induced, 68kDa (TGFBI) の発現が制御されていること，およびこの TGFBI が脂肪細胞の分化に抑制的に作用していることを明らかにした．このことから，LTB_4 はヒト脂肪細胞分化を制御する脂溶性メディエータの一つであることが示唆された.

本研究は，顎顔面口腔領域における脂肪細胞の分化・成熟制御機構に介入する基礎的研究に対しても，有用な情報を提供しうるものである．よって，博士（歯学）の学位に価するものと認める.