The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Increased Dynamics of Tricarboxylic Acid Cycle and Glutamate Synthesis in Obese Adipose Tissue : In vivo Metabolic Turnover Analysis
Author(s)	長尾, 博文
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/67032
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）長尾　博文

		（職）	氏　　名
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	下村伊一郎
	副　査	大阪大学教授	高島成二
	副　査	大阪大学教授	原田彰宏

論文審査の結果の要旨

本研究は、静的（スナップショット解析）及び動的（代謝動態解析）メタボロミクス技術を応用し、肥満脂肪組織における代謝物量および代謝動態の変化を詳細に検討した研究である。TCA回路の多くの代謝物量やグルタミン酸量が、肥満マウスにおいて脂肪組織特異的に増加しているという代謝異常が存在することが示された。そして、それらの代謝物量増加のメカニズムとして、グルコース由来のTCA回路の代謝回転亢進に伴うグルタミン酸生合成の増加が関与していることが、*in vivo*で動態学的にはじめて示された。また培養脂肪細胞を用いた検討より、脂肪細胞内のグルタミン酸増加が、アディポネクチン分泌低下及びインスリン感受性低下といった脂肪細胞機能異常に繋がることが示された。本研究は、肥満病態において安定同位体標識による*in vivo*代謝動態解析を包括的に行ったはじめての報告であり、肥満脂肪組織の病態を新たな観点から明らかにした非常に意義深い研究内容と考えられる。従って、本研究論文は学位論文に値するものと考える。

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	長尾　博文
論文題名 Title	Increased Dynamics of Tricarboxylic Acid Cycle and Glutamate Synthesis in Obese Adipose Tissue: *In vivo* Metabolic Turnover Analysis （肥満脂肪組織においてTCA回路の代謝動態及びグルタミン酸生合成が亢進している：*in vivo*代謝動態解析を用いて）

論文内容の要旨(Abstract of Thesis)

〔目　的(Purpose)〕

肥満脂肪組織における各代謝経路の連関や代謝動態については明らかとなっていない。本研究では、肥満脂肪組織における代謝物量・代謝動態の変化を明らかにし、そしてそれらの代謝変化と脂肪細胞機能との関連を検討する。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

遺伝性肥満モデルであるob/obマウス（対照C57BL/6Jマウス）、及び高脂肪高ショ糖食負荷食餌性肥満マウス（対照　通常食マウス）を4時間絶食後に脂肪組織（精巣上体脂肪組織）、肝臓、骨格筋を採取し、GC/MS及びLC/MSを用いて代謝物量を比較した。肥満により、脂肪組織特異的にグルタミン酸及び2-オキソグルタル酸やコハク酸、フマル酸、リンゴ酸等のTCA回路の代謝物量の上昇を認めた。この代謝物量変化のメカニズムを動態学的に明らかにするため、安定同位体である$^{13}C_6$グルコースを腹腔内投与し、経時的に組織を回収しin vivoで代謝動態変化の解析を行った。肥満マウスの脂肪組織で、グルタミン酸やTCA回路の各種代謝物の^{13}C標識量が著明に増加していた。一方、肝臓や骨格筋では、^{13}C標識量の増加はみられなかった。以上より、肥満で脂肪組織特異的に、グルコース由来のTCA回路の代謝回転亢進・グルタミン酸生合成が亢進していることが明らかとなった。

次に、脂肪組織内外でのグルタミン酸輸送を検討する目的で、グルタミン酸トランスポーターの発現について検討を行った。プロテオーム解析にて、肥満脂肪組織においてグルタミン酸取り込みに関わるGLASTの蛋白発現が著減していた。脂肪組織をex vivo培養すると、肥満により組織内へのグルタミン酸取り込みは有意に低下していた。また3T3-L1脂肪細胞にグルタミン酸を添加し細胞内グルタミン酸を増加させておくと、GLASTの蛋白発現は有意に低下した。以上より肥満では脂肪細胞内のグルタミン酸上昇に対し、代償的にGLASTの発現が低下し、グルタミン酸取り込みが低下しているものと考えられた。

最後に、肥満脂肪組織内で増加したグルタミン酸が脂肪細胞機能に及ぼす影響を明らかにする目的で検討を行った。3T3-L1脂肪細胞にグルタミン酸を添加し、グルタミン酸を細胞内で増加させておくことで、アディポネクチン蛋白の培養上清中への分泌が有意に低下した。この時、細胞内アディポネクチン蛋白量は増加し、アディポネクチンの分泌レベルでの障害が示唆された。またグルタミン酸添加により、インスリン刺激下でのグルコース取り込み及びAktリン酸化が有意に低下した。

〔総　括(Conclusion)〕

本検討では、静的及び動的メタボロミクス技術を駆使し、肥満マウスにおいて脂肪組織特異的にグルタミン酸やTCA回路の多くの代謝物量の上昇といった代謝異常が存在すること、そしてそれらにはグルコース由来のTCA回路の代謝回転亢進に伴うグルタミン酸生合成の増加が関与していることを、in vivoで動態学的に初めて明らかにした。そして培養脂肪細胞を用いた検討より、脂肪細胞内のグルタミン酸上昇が、アディポネクチン分泌低下及びインスリン抵抗性といった脂肪細胞機能異常に繋がることを示した。