The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Impact of glycosylphosphatidylinositol-specific phospholipase D on hepatic diacylglycerol accumulation, steatosis, and insulin resistance in diet-induced obesity
Author(s)	増田, 重樹
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/72498
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

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）増田　重樹

論文審査担当者		（職）	氏　　名
	主　査	大阪大学教授	下村伊一郎
	副　査	大阪大学教授（寄附研究部門）	木下知己
	副　査	大阪大学教授	熊ノ郷淳

論文審査の結果の要旨

GPI-PLDはGPIアンカーを特異的な基質として加水分解する唯一の酵素である。NAFLDや糖尿病患者で血中GPI-PLD濃度が上昇していることが報告されているが生体内での役割は明らかではない。本研究は代謝に及ぼすGPI-PLDの関与を主にGPI-PLD欠損マウス（GP-KO）を用いて検討した。GP-KOでは食餌誘導性の耐糖能障害に抵抗性を示し脂肪肝も軽度であった。そこでGPI-PLDのGPIアンカー切断に伴うジアシルグリセロール（DAG）産生に注目した。GP-KOでは高脂肪高蔗糖食負荷後の肝DAG蓄積とPKCε活性化の抑制とインスリンシグナルの改善を認めた。In vitroの検討では細胞内DAG含量はGPI-PLDのノックダウンにより減少し過剰発現で増加した。ヒト検体で血中GPI-PLD濃度を測定したところTG、ALT値が独立した規定因子として挙げられた。高血糖に伴うGPI-PLDの発現上昇は肝臓におけるDAG蓄積を介して耐糖能異常や脂肪肝進展に関与することを明らかにした論文であり学位の授与に値すると考えられる。

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	増田　重樹
論文題名 Title	Impact of glycosylphosphatidylinositol-specific phospholipase D on hepatic diacylglycerol accumulation, steatosis, and insulin resistance in diet-induced obesity (GPIアンカー切断酵素；GPI-PLDは食餌誘導性肥満において肝ジアシルグリセロール蓄積、肝脂肪変性およびインスリン抵抗性に関与する)

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

GPI-PLDはGPIアンカー型タンパク質のイノシトールリン酸結合を加水分解し、細胞膜から遊離させる作用を持つ酵素である。非アルコール性脂肪肝炎（NASH）患者や耐糖能障害患者では、血中GPI-PLD濃度が有意に上昇していることが報告されている。GPI-PLDは、ERやゴルジ体といった細胞内の分泌経路でGPIアンカーを切断しジアシルグリセロール（DAG）産生を亢進させることが報告されている。また肝臓における過剰なDAG蓄積は中性脂肪（TG）合成の基質となるとともにPKCε活性化を介してインスリン抵抗性を惹起することが知られている。これらのことから、GPI-PLDは糖・脂質代謝に関与している可能性があるが、その生体内での役割については明らかではない。生体内でGPI-PLDが代謝に及ぼす影響を基礎及び臨床研究により明らかにすることを目的に検討を行った。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

まず野生型マウスの各組織におけるGPI-PLD遺伝子発現分布を調べた結果、特に肝臓において極めて高発現していたことからGPI-PLDは主に肝臓で産生され、循環血中に分泌されると考えられた。またdb/dbマウスおよびSTZ（streptozotocin）投与マウスといった糖尿病モデルマウスでは、肝臓でのGPI-PLD遺伝子発現レベルならびに、血中GPI-PLD濃度の有意な上昇を認め、高血糖によりその発現が誘導されると考えられた。続いてGPI-PLD欠損マウス(GP-KO)を樹立し検討を行った。野生型マウスおよびGPI-PLD欠損マウスに高脂肪・高蔗糖食(HF/HS)負荷を行った。その結果、体重の増加には両群で差を認めない一方で、GP-KOでは血中TG値および血糖値が有意に低く、HF/HS負荷4週における脂肪肝の改善を認めた。さらに、GPI-PLD欠損マウスでは野生型マウスと比較して、通常食の状態でも経口ブドウ糖負荷試験による血糖上昇が抑制されたが、HF/HS負荷4週ではその差がより顕著となった。そこで、GPI-PLDのGPIアンカー切断に伴うジアシルグリセロール（DAG）産生に注目した。その結果、GP-KOではHF/HS負荷後の肝DAGの蓄積が顕著に抑制されており、PKCε活性化の抑制とインスリンシグナルの改善を認めた。次に、ラット初代培養肝細胞にSiRNAによりGPI-PLDをノックダウンしたところ細胞内DAG量は有意に減少した。アデノウイルスによる過剰発現によりGPI-PLD活性の上昇を確認した。また GPI-PLDの過剰発現では、特にGPIアンカー前駆体の脂質部分を構成する脂肪酸であるアラキドン酸添加時に、著明な細胞内DAG含量の増加を認め、PKCε活性の上昇を認めた。

最後にヒト臨床検体での検討を行った。2009年9月～2011年11月に大阪大学 糖尿病・内分泌・代謝内科 外来（メタボリック・ステーション）を受診した男性患者86名を対象とした。血清GPI-PLD 濃度測定はELISA kit (Uscn Life Science)を用いて測定した。各種臨床パラメーターとの相関を解析した。単変量解析にてF value>4.0 であった項目に対して、stepwise法により多変量解析を行った。単変量解析ではBMI、TG、AST、ALTが正相関、アディポネクチンが負の相関を示していた。stepwise法で多変量解析したところ、TGとALTが独立した規定因子として挙げられた。

〔総　括(Conclusion)〕

高血糖に伴うGPI-PLDの発現上昇は、肝臓におけるDAG蓄積を介して、耐糖能異常や脂肪肝進展に関与することを明らかにした。