

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)		氏名	大植 香菜
学位授与の要件	学位規則第 4 条第①・ 2 項該当			
論 文 題 目 生体のエネルギー代謝を制御する PRIP 分子の機能解析研究				
論文審査担当者				
主 査	教授	高田 隆		印
審査委員	教授	加藤 功一		
審査委員	教授	杉田 誠		
〔論文審査の要旨〕				
<p>脂肪細胞に蓄えられている脂肪滴は、その表面に存在するタンパク質が必要に応じて活性化され脂肪が分解される。この脂肪動員のメカニズムには、プロテインキナーゼ A (PKA) によるホルモン感受性リパーゼ (HSL) とペリリピンのリン酸化が関与する。こうした PKA が仲介する脂肪分解のメカニズムはよく研究されている。一方、脂肪分解を抑制的に制御するメカニズムに関しては、タンパク質の脱リン酸化酵素が関わるとの報告があるもののその詳細な分子メカニズムは分かっていない。Ins (1, 4, 5)P₃ 結合性分子 PRIP (PLC-related catalytically inactive protein) はタンパク質脱リン酸化酵素 (protein phosphatase (PP)1 や PP2A) と複合体を形成する。PRIP1, 2 遺伝子ダブルノックアウト (Príp-DKO) マウスは、野生型マウス (WT) と比べて摂餌量の増加を認めたが、痩せ型を呈し脂肪組織が矮小であった。これまでの研究で、WT マウスと比較すると Príp-DKO マウスの脂肪組織では HSL のリン酸化レベルが恒常的に高く、血清中の遊離脂肪酸濃度とグリセロール濃度も高い値を示し、恒常的に脂肪分解活性が上昇していることが分かった。HSL の脱リン酸化には PP1 や PP2A が関与していることから、PRIP がこの脱リン酸化過程に関与していることが考えられた。そこで、私は PRIP がどのようにして HSL の脱リン酸化を制御しているのかを調べることにした。マウスを絶食させ白色脂肪組織を調べると、絶食前は PRIP1 も PRIP2 も細胞質分画に多く存在していたが、絶食刺激後の脂肪組織では PRIP1 も PRIP2 も脂肪滴分画へ移行するのを認めた。これは、マウスの精巣上体周囲白色脂肪組織を器官</p>				

培養し、アドレナリンで刺激した実験においても同様の結果となった。次に、GFP 標識した PRIP を COS7 細胞に遺伝子導入し、オレイン酸を添加して脂肪滴を形成させた細胞を用い、アドレナリンで刺激した際の PRIP と PP2A (特異抗体で可視化) の細胞内動態を共焦点顕微鏡にて観察した。すると、アドレナリン刺激依存性に PRIP と PP2A が脂肪滴周囲に集積する像を認めた。また、器官培養した白色脂肪片を予めアドレナリンで刺激しておき、脱リン酸化過程を経時的に解析した結果、*Prip*-DKO 白色脂肪組織片で有意にその脱リン酸化過程が障害された。以上より、PRIP は、脱リン酸化酵素の脂肪滴への移行を促し、PKA が仲介する脂肪分解系を負に制御する分子であることが明らかとなった。

Prip-DKO マウスは過食であり、白色脂肪組織に脂肪が蓄積しにくく高脂血症を示した。しかし、血糖値の上昇や他の組織への意異常な脂質の蓄積を認めなかった。また、高脂肪食による食事誘引性肥満に対しても抵抗性を示した。そこで *Prip*-DKO マウスのエネルギー代謝機構における PRIP の役割を調べることにした。すると WT マウスと *Prip*-DKO マウスでは運動量に差がないにも関わらず、エネルギー消費が有意に上昇しており、体温の上昇も認めた。そこで熱産生とエネルギー代謝に関係している褐色脂肪組織を調べたところ、*Prip*-DKO マウスにおいて熱産生タンパク質である脱共役タンパク質 1 (UCP1) の mRNA とタンパク質発現が増加していた。つまり、*Prip*-DKO マウスでは熱産生系が亢進していることが分かった。また、*Prip*-DKO マウスの褐色脂肪細胞中の脂肪滴の大きさは有意に小さく、褐色脂肪組織の HSL のリン酸化レベルも高かった。これは WT マウスと *Prip*-DKO マウスの初代培養褐色脂肪細胞におけるアドレナリン β 刺激によっても同様の結果となった。褐色脂肪組織は白色脂肪組織と同様に、交感神経系の刺激により PKA を活性化し HSL やペリリピンがリン酸化され、細胞内に存在する脂肪滴 (中性脂肪) の加水分解を促進し脂肪酸を細胞内に遊離する。褐色脂肪組織での UCP1 による熱産生の主な熱源はこの細胞内に蓄積されている脂肪酸であり、これによって UCP1 の熱産生が活性化される。*Prip*-DKO マウスでは褐色脂肪組織での脂肪分解も亢進しており、UCP1 活性が増強されて熱産生が上がり、体温の上昇やエネルギー消費が亢進していると結論づけた。

以上の結果から、本論文は、PRIP がタンパク質脱リン酸化酵素の脂肪滴膜上への移行を制御する分子であり脂肪分解調節を調節していること、また、褐色脂肪組織においてもエネルギー消費系を制御し熱産生能調節する分子であることを明らかにした。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士 (歯学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。