

[課程—2]

審査の結果の要旨

氏名 孫 威

2型糖尿病と肥満の疾患感受性候補遺伝子である *Cdkal1* は、膵 β 細胞における役割が報告されている。3T3-L1 脂肪細胞を用いた検討では *Cdkal1* の過剰発現が脂肪細胞の分化や脂肪蓄積を抑制する作用を有することから、その *in vivo* での役割を検討するために、*Cdkal1* の脂肪組織におけるトランスジェニックマウスを作成して、下記の結果を得ている。

1. 脂肪細胞で分化や脂肪蓄積に抑制的に作用する *Cdkal1* の *in vivo* での作用を知るために *aP2* プロモーター下に N 末端 FLAG タグ付きの *Cdkal1* トランスジェニック (Tg) マウスを作製した。サザンブロットィング、RT-PCR、ウエスタンブロットィングで、*aP2* プロモーターで脂肪組織に選択的に高発現する *Cdkal1* を確認した。
2. 通常食下では、体重、糖脂質代謝を検討するとともに、脂肪組織の重量、組織像、分化関連遺伝子の発現を確認したが、有意差を認めなかった。さらに、新生児における解析も施行したが、明らかな脂肪組織の発生に変化は無いことが示唆された。
3. 高脂肪食下において、体重が減少する傾向が見られ、皮下白色脂肪組織、褐色脂肪組織の重量はそれぞれ有意な減少と減少傾向を認めた。糖脂質炎症関連の遺伝子発現には明らかな変化を認めなかった。ブドウ糖負荷試験では血糖の有意な減少、インスリン値の減少傾向を認めた。インスリン負荷試験では有意な血糖減少を認めた、インスリン抵抗性の改善が示唆された。
4. *Cdkal1* Tg マウスの皮下白色脂肪組織由来の初代培養細胞の脂肪分化においては、3T3-L1 脂肪細胞での過剰発現と異なり、脂肪分化関連遺伝子や Wnt 経路遺伝子の発現に有意差を認めなかった。野生型マウスの初代培養脂肪分化においてレトロウイルスを用いた *Cdkal1* 過剰発現を行うと、3T3-L1 の実験と同様に Wnt 経路遺伝子の発現が増加し、脂肪細胞分化が抑制された。レトロウイルスのプロモーターは分化過程を通して恒常的に活性化しているのに対し、トラ

ンスジーンは分化依存的な aP2 プロモーターを用いている違いによる可能性が示唆された。

5. Cdkal1 の既知の作用である tRNA のチオメチル化を RT-PCR を用いた方法で解析したところ、Cdkal1 過剰発現した HEK293T 細胞や Tg マウスの脂肪組織では差を認めず、既知のメカニズムとは独立している可能性が示唆された。

6. さらに、遺伝的モデルマウスにおける db/db マウス脂肪組織の Cdkal1 発現量を検討した。db/db マウスの褐色脂肪組織と皮下白色脂肪組織では野生型と比較して、Cdkal1 発現量が有意に減少および減少傾向を認めた。褐色脂肪組織と皮下白色脂肪組織で Cdkal1 タンパク質レベルも減少していた。

7. ヒト脂肪組織の CDKAL1 発現量と Body mass index およびウエスト周囲長の相関性を検討した。Cdkal1 の発現は、Body mass index およびウエスト周囲長と有意な逆相関を示した。

以上より、脂肪組織の Cdkal1 が、全身の糖・エネルギー代謝に関与する可能性が示唆された。肥満と 2 型糖尿病における Cdkal1 の新たな役割を明らかにした点で重要な貢献であり学位の授与に値するものと考えられる。