

審査の結果の要旨

氏名 茶山 由一

本論文は、冬眠に先駆けて誘導される白色脂肪組織リモデリング機構の分子基盤についての研究成果を述べたものである。冬眠動物が冬眠期の低栄養・低代謝状態といった過酷な生理的状況下で生命を維持するために、細胞・組織を冬眠可能な状態へとリモデリングすることが示唆されてきたが、その分子基盤はほとんど明らかになっていない。白色脂肪組織は栄養を脂質として貯蓄し、生体のエネルギー代謝を制御する主要な組織の一つである。生体の栄養状態や外環境刺激は、組織常在細胞の種類や量の変化を誘導して白色脂肪組織リモデリングを惹起する。学位申請者は、通年冬眠誘導可能な条件的冬眠動物シリアンハムスターを実験動物として用い、白色脂肪組織リモデリングが冬眠に先駆けて誘導されることを形態学的解析および遺伝子発現解析等により分子・細胞レベルで解明した。

学位申請者らが確立した冬眠誘導飼育系において、シリアンハムスターは長期間の前冬眠期を経て冬眠を開始する。冬眠期には、低体温・低代謝状態である深冬眠が数日間維持され、その後、一時的な体温・代謝の回復を伴う中途覚醒が誘導される。シリアンハムスターは、深冬眠-中途覚醒サイクルを数ヶ月にわたって繰り返し、寒冷環境下で正常体温を維持するのに必要なエネルギー消費を抑制する。申請者は、鼠径部皮下白色脂肪組織に着目し、非冬眠群(長日・温暖条件飼育群)・前冬眠群(長期短日・寒冷飼育かつ冬眠開始前の個体群)・冬眠群(中途覚醒、深冬眠状態の個体群)の4群間について白色脂肪細胞の形態を比較解析した。その結果、白色脂肪細胞が長期的な短日・寒冷刺激によって萎縮し、小型白色脂肪細胞の割合が冬眠群で有意に上昇することを見出した。このような白色脂肪細胞の細胞サイズの変化は、脂肪組織における脂質分解と脂質合成のバランスを反映しており、鼠径部白色脂肪組織の脂質代謝機構が冬眠に向けて変化することを示唆する。さらに、申請者は、熱産生タンパク質 uncoupling protein 1 (ucp1)陽性かつ多泡性脂肪滴を備えるベージュ様脂肪細胞が冬眠に向けて鼠径部白色脂肪組織中に誘導されることを免疫組織化学により見出した。以上の結果は、白色脂肪組織に存在する脂肪細胞の形態・種類が冬眠開始に向けて変化することを示唆する。

次に、申請者は、冬眠に向けた白色脂肪組織リモデリング機構を分子レベルで規定するために、次世代シーケンサーRNA-seq 解析による網羅的遺伝子発現解析を行った。白色脂肪組織の発現遺伝子プロファイルは非冬眠状態から冬眠状態に向けて段階的に変化した。さらに、パスウェイ解析を行った結果、インスリンシグナル経路やペルオキシゾーム増殖剤活性化受容体(PPAR)シグナル経路に関与する多くの遺伝子が冬眠に向けて発現変動することを見出した。興味深いことに、冬眠状態のシリアンハムスター白色脂肪組織では、これらのシグナル経路によって発現が制御される脂質異化経路遺伝子と脂質同化経路遺伝子の両者が同時に高い発現レベルを示した。このような脂質代謝経路の増強は、絶食状態を維持する深冬眠と一時的に摂食を行う中途覚醒を繰り返すシリアンハムスターの冬眠において、白色脂肪組織に蓄えた脂質の利用と補給を効率的に実行する上で重要であると考えられる。

冬眠に向けて発現変動した脂質代謝関連遺伝子群に対する階層的クラスタリング解析では、前冬眠群が非冬眠群よりも冬眠群に近いクラスターを形成した。これは、脂質代謝関連遺伝子の発現が前冬眠期に誘導開始される可能性を示唆する。そこで、申請者は、前冬眠期間の複数のタイムポイントで白色脂肪組織を採取し、脂質代謝関連遺伝子の発現誘導開始点を定量PCR 相対発現定量解析により規定した。脂質異化経路遺伝子(*Lipe*, *Acox1*)および脂質同化経路遺伝子(*Scd1*, *Gpam*)の両者は長期間(12-15 週)の短日・寒冷刺激によって前冬眠後期に有意に発現上昇した。

また、これらの脂質代謝関連遺伝子の発現量は冬眠期に最大になり、その後、短日・寒冷環境下で自発的に冬眠を終了したポスト冬眠群では減少した。以上の結果は、冬眠期の低代謝・低栄養状態に備えて、白色脂肪組織の脂質代謝機構が前冬眠期に増強される可能性を示唆する。

3つのサブタイプが存在する核内受容体 PPAR ファミリー分子(PPAR- α , - δ , - γ)は、生体の栄養状態に応答してターゲット遺伝子の発現を制御する転写因子である。申請者は、冬眠に向けた PPAR シグナリング経路ターゲット遺伝子の発現がいずれの PPAR サブタイプによって制御されるのかを明らかにするために、シリアンハムスター鼠径部白色脂肪組織の組織培養系を用いた薬理的解析を行った。非冬眠群の培養白色脂肪組織では、PPAR- δ および PPAR- γ のアゴニスト(L-165041、Rosiglitazone)の各作用群で脂質代謝関連遺伝子(*Lipe*, *Scd*, *Gpam*)が有意に発現上昇した。しかし、PPAR- α アゴニスト(Fenofibrate)ではこれらの遺伝子の発現は誘導されなかった。また、深冬眠群の培養白色脂肪組織においても、PPAR- δ および PPAR- γ アゴニスト作用によって、脂質異化経路遺伝子(*Lipe*, *Acox1*)と脂質同化経路遺伝子(*Gpam*, *Scd1*)の両者が発現上昇傾向を示した。以上より、長期間の短日-寒冷暴露により PPAR- δ / γ が活性化され、冬眠に向けた白色脂肪組織の脂質代謝経路が増強される可能性が示唆される。

本論文で申請者は、シリアンハムスター鼠径部白色脂肪組織のリモデリングが冬眠に先駆けて誘導される可能性を示した。これは、通年冬眠誘導可能な条件的冬眠動物シリアンハムスターにおいても、内因性の概年リズムに従って冬にのみ冬眠を行う義務的冬眠動物と同様に、冬眠を行う上で「冬眠可能な状態」への生体リモデリングが必須であることを示唆する。さらに、本研究は PPAR- δ / γ の活性化が冬眠に向けた白色脂肪組織リモデリング誘導に寄与する可能性を実験的に示した。以上の研究結果は、冬眠に先駆けて誘導される白色脂肪組織リモデリングを分子・細胞レベルで規定した重要な成果であり、生物が環境変化に応答して生体エネルギー代謝機構を柔軟に変換するメカニズムの理解に貢献すると考えられる。季節性の生体変化は、冬眠動物のみならず、ヒトを含む動物の生理状態や病態において観察されており、そのメカニズムの解明は季節性情動障害や過食・肥満といった病態の新たな治療戦略確立に寄与する可能性がある。

以上より、本論文は博士（薬科学）の学位請求論文として合格と認められる。