

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 アヌラク キョウカシ ユンケット

ANURAK KHIEOKHAJONKHET の提出論文 Studies on molecular mechanisms of lipid metabolism in Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* and red seabream *Pagrus major* (ヒラメおよびマダイの脂質代謝に関する分子生物学的研究) は、魚類の脂質代謝を制御するホルモン感受性リパーゼ (HSL) に注目し、産業上重要なヒラメとマダイの遺伝子クローニングを行うとともに、HSL を介した脂質代謝制御機構を明らかにしたものである。その概要を以下に示す。

魚肉のおいしさは、「旬」とされる時期に脂質が蓄積されることが多いことから、脂質含量がその品質の一端を担っている。脂質含量は全身のエネルギー代謝のバランスによって変化し、貯蔵脂質の本体は主にトリアシルグリセロール (TAG) の形で蓄えられている。他の臓器のエネルギー需要にこたえるため、様々なシグナルに応じて脂質蓄積組織は TAG を遊離脂肪酸 (FFA) とグリセロールに加水分解する。ホルモン感受性リパーゼ (HSL) は哺乳類の脂肪組織における脂質分解に関して重要な働きを有することが明らかになっているが、魚類における HSL の生理機能については不明である。また、魚類における脂質蓄積は、主に脂肪組織、肝臓と骨格筋 3 つの組織で起こることが明らかとなっているが、魚種によってその蓄積パターンが大きく異なるが、その機構については全く不明であった。そこで本研究では、まず、ヒラメおよびマダイについて HSL の cDNA クローニングを行った。両魚種で、HSL1 および HSL2 をコードする遺伝子がクローニングされ、ヒラメでそれぞれ 702 および 837、マダイでそれぞれ 716 および 874 のアミノ酸残基をコードしていた。リパーゼに共通して存在する酵素活性 triad はすべての HSL で保存されていた。

ヒラメの HSL 遺伝子転写物は、エンガワおよび肝臓に多く、マダイでは脂肪組織および生殖腺で多かった。いずれの魚種および組織でも、HSL2 遺伝子転写物は HSL1 のものより少なく、タンパク質の発現も同様であった。特異的抗体を用いた免疫沈降/ウェスタンブロットティングによって HSL1 タンパク質は 125kDa、HSL2 タンパク質は 96kDa であった。

オイルレッド O 染色によってエンガワ筋肉組織に筋細胞に沿うように脂肪細胞が分布し、in situ ハイブリダイゼーションによってこれらの脂肪細胞の辺縁部分に HSL 遺伝子転写産物が存在することが明らかとなった。エンガワの脂質クラス分析を行ったところ、通常は筋肉では認められない FFA が検出され、TAG が活発に加水分解を受けていることが推察された。これは、持続的な鰭の好氣的運動を維持するためであると思われる。

栄養状態が HSL の発現に及ぼす影響を明らかにするために、マダイを 7 日間絶食し、その後 3 日間給餌した。マダイの脂肪組織および肝臓の HSL mRNA レベルが 4 日目から 7 日

目まで増大し、脂肪組織の HSL1 および HSL2 mRNA の発現量は肝臓組織の場合より高い傾向が認められた。

また、体液性因子による HSL の発現制御を明らかにするために、マダイの脂肪組織、肝臓、骨格筋組織を小片としてインスリンあるいは増殖ホルモンの添加の影響を調べた。インスリン処理によって、HSL1 および HSL2 mRNA の発現はいずれも時間経過に伴って減少する傾向が認められた。インスリン情報伝達系が cAMP を加水分解する酵素 PDE3B を活性化することによって、HSL の発現が抑制されたものと考えられます。

一方、成長ホルモンでは、脂肪組織および肝臓の HSL の mRNA 発現量を増大させた。

以上、本研究は、水産化学の観点から重要な魚類の脂質含量を制御する系として HSL を中心とした解析を行ったもので、基礎生物科学的な知見の提供だけでなく、産業上の応用にもつながるものとして、審査委員全員一致で本論文が博士(農学)の学位論文として価値あるものと認めた。