

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 李 佳芳

L-カルニチンは動物の脂質代謝のために必須の物質であり、脂肪酸をミトコンドリア内に運搬するキャリアとしての役割をもつ。L-カルニチンは食物を通して摂取されるか、あるいは肝臓や腎臓で合成され、主として骨格筋内にプールされる。L-カルニチンはまた経口サプリメントとしても使用されており、肥満や消耗性疾患を改善することが期待されている。近年、医学領域では血液中の L-カルニチン濃度が肝疾患や腎疾患で変動することから、疾患マーカーとしての利用可能性が考慮され始めているが、動物では血中 L-カルニチンの体系的研究は実施されていない。本研究は、健康猫ならびに各種疾患に罹患した猫の血中 L-カルニチンの変動とそのメカニズムを検討したものであり、以下の 3 章から構成されている。

第 1 章では健康猫ならびに各種疾患に罹患した猫の血中 L-カルニチンを、総カルニチン、遊離カルニチンならびにアシルカルニチンに分けて定量した。動物飼育管理施設で繋養されている猫 41 頭では、加齢に伴って血中のアシルカルニチン濃度が上昇する傾向が認められ、これは雄猫でとくに顕著であった。2008 年から 2011 年に東京大学附属動物医療センターに来院した各種疾患に罹患した猫 139 頭では、特に糖尿病、心疾患、腫瘍性疾患で血中の総カルニチン、遊離カルニチンおよびアシルカルニチンの高値が認められた。また、炎症マーカーである血清ハプトグロビン、血清アミロイド A ならびに脂質代謝マーカーである血清レプチンを併せて測定したところ、血中総カルニチン、遊離カルニチンおよびアシルカルニチンはいずれも血清ハプトグロビンと有意に正の相関を示した。以上より、糖尿病、心疾患、腫瘍性疾患を中心とした疾患に罹患した猫では、炎症性の機転を介して骨格筋から L-カルニチンが放出され、血中で高値となっている可能性が示された。

第 2 章では、マウス骨格筋由来 C2C12 細胞株および初代培養ネコ骨格筋細胞を用い、ストレス下でこれらの細胞から L-カルニチンが放出される機序を検討した。筋管細胞に分化した C2C12 細胞およびネコ骨格筋細胞を、炎症による酸化障害モデルとして 0.5 mM の過酸化水素存在下で 12 時間培養し、細胞外への総カルニチンの放出を観察した。また、虚血モデルとして 100% 窒素大気中で 12 時間培養した細胞についても同様にカルニチンの放出を観察した。この結果、過酸化水素存在下または窒素大気中で培養した細胞では、無処置対象と比較して有意にカルニチンの放出が亢進した。細胞膜上のカルニチン輸送担体である OCTN2 の阻害剤を加えて同様に検討したところ、L-カルニチンの放出は抑制されず、むしろ亢進した。以上より、ストレス下の骨格筋細胞は、OCTN2 以外の経路を介して L-カルニチンを放出することが示された。

第 3 章では、ストレス下の骨格筋細胞におけるカルニチン代謝関連遺伝子の発現変化を網羅的に観察するため、マウス C2C12 筋管細胞を過酸化水素存在下または窒素大気中で 12

時間培養し、マイクロアレイを用いて遺伝子発現の変動を観察した。この結果、*Mrp152* 遺伝子の発現亢進、*RNF220* 遺伝子の発現抑制などいくつかの有意な変動が観察されたが、*OCTN* ファミリー遺伝子を含め、カルニチン代謝に直接関与する遺伝子発現の変動は観察されなかった。

本論文の結果から、猫では糖尿病、心疾患ならびに腫瘍性疾患で血中 L-カルニチンが上昇し、これはヒトとは異なる反応であることも明らかになった。また血中 L-カルニチンはハプトグロビンと正の相関を示したことから、猫では血中 L-カルニチンは疾患マーカーとして利用できる可能性が高いと考えられた。さらに、試験管内での骨格筋細胞のカルニチン放出についてもメカニズムの一端が明らかとなった。これらの新規知見は獣医学の上で有意義であると考えられる。よって審査委員一同は、本論文が博士（獣医学）の学位論文として価値あるものと認めた。