

審査の結果の要旨

氏名 菊池 宏信

本研究は、生体内で脂肪蓄積による直接的作用に加えて各種サイトカインを分泌することで多様な病態に関与している脂肪細胞について、おもにマウス脂肪前駆細胞 3T3-L1 を用いて検討を行ったものである。脂肪前駆細胞 3T3-L1 細胞およびこれを分化させた adipocyte において温熱刺激や薬物刺激による細胞内 Ca 濃度の変化や脂肪分化に対する影響、サイトカイン分泌に対する影響を検討している。またこれらの分化、機能に温度感受性レセプターである TRPV が関与していることについて各種の検討を行い、下記の結果を得ている。

1. マウス 3T3-L1 および分化脂肪細胞では温度感受性 TRPV チャンネルが発現していること、その量的関係を PCR および real time PCR で確認した。
2. ウェスタンブロッティングおよび免疫染色にて TRPV1-4 の存在を確認した。
3. fura2-AM を用いた細胞内カルシウム濃度の測定法で TRPV1 のアゴニストであるカプサイシン、TRPV2 のアゴニストであるプロベネシド、TRPV4 のアゴニストである GSK1016790A、TRPV1-3 のアゴニストである 2-APB は細胞内カルシウム濃度を上昇させた。また細胞外液の温度を 25-40°C 付近まで上昇させることでも細胞内カルシウム濃度の上昇がみられた。またこれらの変化は非特異的 TRPV チャンネル阻害剤であるルテニウムレッドを添加することで抑制されることが分かった。
4. マウスから直接採取した脂肪細胞でも TRPV1,2,4 タンパクが発現していることを確認した。
5. FACS を用いた検討で脂肪細胞へ分化させる際に 42°C の温度刺激を加えることで分化細胞における脂肪の量が抑制されることが分かった。
6. 脂肪細胞への分化前に 42°C 1 時間の温熱刺激を与えることで細胞内における IL-6 タンパクの発現が増加することがウェスタンブロッティングおよび FACS を用いた検討で示唆された。
7. 脂肪細胞への分化前に細胞外液にカプサイシンおよびプロベネシドを添加して 24 時間処理することにより、分化脂肪細胞から分泌される IL-6 が増加することが ELISA を用いた検討で示唆された。

これらの結果から脂肪細胞には温度感受性 TRPV チャンネルが存在しており、IL-6 等のサイトカイン分泌などの重要な機能に関与している可能性が考えられた。これらの機構により TRPV チャンネルは肥満やこれに関連して発症する各種疾患に関与していることが示唆された。

以上、本論文はマウス脂肪前駆細胞 3T3-L1 を用いて、その分化・増殖・機能に温度感受性

TRPVチャンネルが大きく関与していることを示したもので、現在のところ未だ完全には解明されていないTRPVチャンネルの機能の一部を明らかにしたものであり、またこのチャンネル機能を温度や薬物刺激により変化させることを示したという点で今後の同分野での研究に貢献するものと考えられ、学位の授与に値すると考えられる。