

審査の結果の要旨

氏名 佐々木 崇

運動不足や食生活の乱れは糖尿病や高血圧、あるいは脂質異常症といった生活習慣病を誘導し、これは国民の健康寿命を縮めるばかりか医療費の増大という形で国家財政をも圧迫している。それゆえ、生活習慣病予防法の確立が日本のみならず世界的に強く望まれている。

本研究では人体で最大のエネルギー代謝臓器である骨格筋に焦点を当て、生活習慣病の予防に繋がる骨格筋代謝調節の分子メカニズムについて多くの新たな知見をもたらした。

序論に続く第二章では、骨格筋を介した脂質代謝改善作用に関して分子レベルでの解析が行われている。骨格筋では運動後に LPL の発現が増加し、これが運動による脂質代謝改善において重要な役割を担うと考えられてきたが、骨格筋において LPL がどのように発現調節されるかはこれまで明らかでなかった。本章ではまず、走行運動を負荷したマウス骨格筋の解析から、運動後の骨格筋では LPL だけでなく核内受容体 PPAR γ 1 の発現も上昇する事が明らかにされた。更に培養筋細胞 C2C12myotube を用いて、LPL 発現と PPAR γ 1 の関連、そして運動後の骨格筋で活性化する事が知られる AMPK の関与について詳細に解析を行い、筋細胞においては AMPK が PPAR γ 1 の発現を増加させる事、そして発現増加した PPAR γ 1 が LPL の発現を調節している事を明らかにした。特に AMPK による PPAR γ 1 発現上昇には mRNA の安定化が関与する事が示されており、PPAR γ 1 発現調節機構としては新規性に富んでいる。以上の成果は運動による脂質代謝改善機構の一端を明らかにするものである。

第三章および第四章では、骨格筋において G タンパク質共役型受容体 TGR5 が担う役割の解明を試みている。TGR5 は胆汁酸を内因性リガンドとして活性化する性質を持ち、高脂肪食誘導性の肥満や耐糖能異常を改善する機能分子として着目されているが、骨格筋における性質や機能には不明な点が多く残されており、詳細解明が望まれていた。

第三章では、骨格筋における TGR5 発現調節機構について解析を行った。培養筋細胞 C2C12myotube を用いて検証を進めた結果、TGR5 は小胞体ストレス応答 (UPR) によって発現増加する事を明らかにした。また TGR5 発現を調節する転写因子を同定するため、

TGR5 プロモーター領域をクローニングし、レポーターアッセイに供したところ、UPR により活性化される転写因子群のうち、ATF6 α 並びに XBP-1 が TGR5 プロモーター活性を強く上昇させる事を明らかにした。また TGR5 プロモーター上には ATF6 α や XBP-1 の結合配列として知られる ERSE 配列と UPR 配列に類似した配列が連なっている領域が存在しており、これらの配列が ATF6 α や XBP-1 の応答に重要であることを示した。さらにアデノウイルスを用いて ATF6 α を C2C12myotube に過剰発現した結果、TGR5 は強く発現増加し、主要な ATF6 α ターゲット遺伝子である BiP を上回る上昇率を示した。一方、生体骨格筋においては運動後に一過的に UPR が生じる事が報告されている。そこで運動後の骨格筋における遺伝子発現変動を解析したところ、UPR の活性化と TGR5 の発現上昇が確認された。さらに絶食時の骨格筋においても UPR が生じる事を新たに見出し、この時もやはり TGR5 の発現増加を伴う事を確認している。以上の結果は、TGR5 が新規 UPR 応答遺伝子である事、そして生体骨格筋においても運動や絶食と言った条件下では UPR を介した TGR5 の発現亢進が起こり得る事を示しており、これは TGR5 の発現調節機構を分子レベルで解明した最初の報告となっている。

第四章では、骨格筋特異的に TGR5 を過剰発現するトランスジェニック (Tg) マウスを作出し、骨格筋における TGR5 の機能解明を試みている。まず Tg マウスのフェノタイプを解析した結果、野生型に比べ骨格筋量が増大する事が示された。Tg マウスで確認された筋肥大は、タンパク質合成を担う経路では説明がつかなかったため、培養細胞レベルで詳細な検証を行った。その結果、アデノウイルスを用いて TGR5 を過剰発現した C2C12 に TGR5 リガンドを加える事で、筋分化が亢進する事が示された。また Tg マウスから得られた初代培養筋衛星細胞でも同様の現象が確認された。一方、TGR5 による筋肥大メカニズムを明らかにする過程で、TGR5 が S6K の活性を抑制する事が明らかになった。S6K は高脂肪食により誘導されるインスリン抵抗性の原因となる事が報告されている事から、Tg マウスは肥満によるインスリン抵抗性を免れると推測し、その検証を行った。マウスに対し長期の高脂肪食負荷試験を行ったところ、Tg マウスは野生型に比べて経口糖負荷試験の結果が良好であり、インスリン負荷試験に関しても改善傾向が認められた。またこの時、S6K のターゲットでありインスリン抵抗性の原因ともなる IRS-1 のセリン残基のリン酸化は、Tg マウスで有意に抑制されていた。以上の結果より TGR5 は骨格筋において筋肥大、およびインスリン抵抗性改善作用を持つ事が示された。これは骨格筋が TGR5 を介した代謝改善効果の作用点として重要な役割を担う事を示している。

以上、本研究は骨格筋を対象とした代謝改善に関わる新たな分子機構を明らかにするもので、学術的価値のみならず、生活習慣病の予防や治療に向けた新たな機能性食品や医薬品開発への貢献も大いに期待される。よって審査委員一同は本論文が博士(農学)の学位論文として価値あるものと認めた。