

氏 名 大橋 夏子

学 位 の 種 類 博士 (医学)

学 位 記 番 号 博士甲第794号

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第1項

学 位 授 与 年 月 日 平成29年 9月13日

学 位 論 文 題 目 Pivotal role of O-GlcNAc modification in cold-induced thermogenesis by brown adipose tissue through mitochondrial biogenesis

(褐色脂肪組織における O-GlcNAc 修飾はミトコンドリアバイオジェネシスを介した寒冷環境での熱産生に重要である)

審 査 委 員 主査 教授 辻川 知之

副査 教授 伊藤 俊之

副査 教授 遠山 育夫

論文内容要旨

※整理番号	802	(ふりがな) 氏名	おはし なつ こ 大橋 夏子
学位論文題目	Pivotal role of O-GlcNAc modification in cold-induced thermogenesis by brown adipose tissue through mitochondrial biogenesis (褐色脂肪組織における O-GlcNAc 修飾はミトコンドリアバイオジェネシスを介した寒冷環境での熱産生に重要である)		
【目的】	<p>近年、肥満を背景とした糖尿病患者の増加が世界的問題となっている。糖尿病や合併症発症との関連が報告されている翻訳後修飾である O-GlcNAc 修飾は、細胞内のブドウ糖の一部がヘキソサミン生合成経路に流入し産生される UDP-GlcNAc が、O-GlcNAc transferase (OGT) により標的分子に付加される翻訳後修飾である。ブドウ糖のみならずアミノ酸や脂肪酸の代謝産物も基質となることから、O-GlcNAc 修飾は細胞内栄養センサーと考えられている。しかし、各代謝臓器における生理的役割に関しては十分に解明されていない。そこで、飢餓、摂食、寒冷などの生体環境に応じてブドウ糖や脂肪酸の流入と放出が活発に行われる脂肪組織において、O-GlcNAc 修飾を介した栄養センサーの破綻がエネルギー代謝にどのような影響を与えるかを検討した。</p>		
【方法】	<p>① 脂肪組織における O-GlcNAc 修飾が成長・糖代謝に及ぼす影響 -Ogt-FKO マウスでの検討 白色脂肪、褐色脂肪細胞共に Cre を発現する雄の Adiponectin-Cre マウスと雌の Ogt-flox マウスを交配させ、脂肪組織特異的 Ogt 欠損マウス (Ogt-FKO) を作成し、脂肪組織における生理的役割を検討した。体重、脂肪組織の形態学的変化、血糖、血中インスリン、腹腔内ブドウ糖負荷試験及び腹腔内インスリン負荷試験を行い、糖代謝を評価した。</p> <p>② 褐色脂肪組織における O-GlcNAc 修飾が寒冷環境下での熱産生に及ぼす影響の検討 マウスに 4℃の寒冷負荷を行い、体温変化を検討した。褐色脂肪組織における熱産生関連遺伝子及び蛋白発現の変化を、RT-qPCR 法、Western blot 法、免疫染色で評価した。</p> <p>③ 褐色脂肪組織における O-GlcNAc 修飾がエネルギー代謝に及ぼす影響 -Ogt-BKO マウスでの検討 褐色脂肪細胞に Cre を発現する雄の Ucp1-Cre マウスと雌の Ogt-flox マウスを交配させ褐色脂肪組織特異的 Ogt 欠損マウス (Ogt-BKO) を作成した。褐色脂肪組織における熱産生関連遺伝子と蛋白発現の変化を、RT-qPCR 法、Western blot 法で評価した。また寒冷環境下において、腹腔内ブドウ糖負荷試験による糖代謝の変化と、ブドウ糖とオリーブ油投与による体温や血糖変化を検討した。さらに、単離初代培養マウス褐色脂肪細胞において、Ogt の標的蛋白に関して検討した。</p>		

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。

2. ※印の欄には記入しないこと。

【結果】

- ① 脂肪組織における O-GlcNAc 修飾が成長・代謝に及ぼす影響 -Ogt-FKO マウスでの検討
Ogt-FKO マウスでは、対照群である Ogt-flox マウスと比較し発育及び糖代謝に有意な差を認めなかったが、形態学上、褐色脂肪細胞への過剰な脂肪滴蓄積による褐色脂肪組織の肥大化と白色脂肪組織の萎縮を認めた。
- ② 脂肪組織における O-GlcNAc 修飾が寒冷環境下での熱産生に及ぼす影響の検討
Ogt-FKO マウスは、寒冷負荷3時間で20°C前後へと顕著な体温低下を示した。その原因として Ogt-FKO マウスでは熱産生を司る UCP1 の発現低下が示唆された。加えて、ミトコンドリア機能制御に重要な PGC-1 α の蛋白発現低下が明らかとなった。PGC-1 α の mRNA 発現に関して両群で差を認めないことから、Ogt-FKO マウスの褐色脂肪組織において、PGC-1 α を標的蛋白とした Ogt による翻訳後修飾の異常が起こっている可能性が示唆された。
- ③ 褐色脂肪組織における O-GlcNAc 修飾が寒冷環境下でのエネルギー代謝に及ぼす影響 -Ogt-BKO マウスでの検討
褐色脂肪組織においてのみ Ogt を欠損させた Ogt-BKO マウスにおいても、褐色脂肪組織の肥大化と寒冷負荷不耐性、PGC-1 α 蛋白とミトコンドリア関連蛋白の発現低下が認められた。一方、Ogt-FKO マウスと異なり白色脂肪組織の萎縮は認めなかった。以上より褐色脂肪細胞における O-GlcNAc 修飾が熱産生に必須であることが示された。さらに、寒冷環境下での腹腔内ブドウ糖負荷試験において、Ogt-BKO マウスの血糖値は Ogt-flox マウスと比して有意に低下しており、ブドウ糖投与により体温維持が可能となった。一方、オリーブ油投与では絶食時と同様に寒冷負荷不耐性を示した。以上の結果から、寒冷環境下で、Ogt-BKO マウスの褐色脂肪組織では、脂肪酸の利用障害と代償的な糖利用の亢進がおこっている可能性が示唆された。その原因として、Ogt-BKO マウスでは、脂肪酸の β 酸化に関与する酵素群 (LCAD・MCAD) の蛋白発現が低下しており、脂肪酸の利用障害が生じていると考えられた。さらに Ogt-BKO マウスの単離初代培養褐色脂肪細胞において Ogt 蛋白、PGC-1 α 蛋白の発現低下を認め、プロテアソーム阻害剤投与により部分的に PGC-1 α 蛋白の発現が回復することから、PGC-1 α 蛋白の O-GlcNAc 修飾が PGC-1 α 蛋白の安定化に関与することが示唆された。

【考察】

今回の検討で、褐色脂肪組織における Ogt 欠損により PGC-1 α 蛋白の発現低下に伴うミトコンドリア関連蛋白と UCP1 の発現低下によって、顕著な寒冷負荷不耐性を示す熱産生障害を引き起こすことが明らかとなった。さらに、LCAD・MCAD 蛋白の発現低下に伴う脂肪酸の利用障害と代償的な糖利用の亢進が示唆されたことから、褐色脂肪組織における Ogt が細胞内栄養センサーとして寒冷環境下でのエネルギー代謝に重要な役割を果たしていることが示された。

【結語】

褐色脂肪細胞における O-GlcNAc 修飾はミトコンドリアバイオジェネシスを介した寒冷環境での熱産生に重要である。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	802	氏名	大橋 夏子
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨) ※明朝体 11ポイント、600字以内で作成のこと</p> <p>本論文では、脂肪細胞の O-GlcNAc 修飾がエネルギー代謝にどのような影響を与えるかについて明らかにするため、脂肪組織特異的 O-GlcNAc transferase 欠損 (Ogt-FKO) マウスを作成し、脂肪組織における生理的役割と褐色脂肪組織における熱産生関連遺伝子の変化について検討、さらに褐色脂肪組織特異的 Ogt 欠損 (Ogt-BKO) マウスを作成し、寒冷刺激下での体温変化や脂肪酸代謝の変化と Ogt の標的蛋白について検討を行い、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none">1) Ogt-FKO マウスにおける褐色脂肪細胞への過剰な脂肪滴蓄積による組織肥大化。2) Ogt-FKO マウスにおける UCP1 発現低下と寒冷負荷による顕著な体温低下。3) Ogt-BKO マウスにおける寒冷負荷不耐性と PCG-1α 蛋白とミトコンドリア関連蛋白の発現低下。4) Ogt-BKO マウスにおいて脂肪酸 β 酸化の酵素群 (LCAD・MCAD) 蛋白発現低下による熱産生低下。5) Ogt-BKO マウスの単離初代培養褐色脂肪細胞における PCG-1α 蛋白の発現低下とプロテアソーム阻害剤投与による部分的回復。 <p>本論文は褐色脂肪細胞における O-GlcNAc 修飾と熱産生の関連について新たな知見を与えたものであり、また最終試験として論文内容に関連した試問を実施したところ合格と判断されたので、博士 (医学) の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総字数 587 字)</p> <p style="text-align: right;">(平成 29 年 8 月 29 日)</p>			