

学位論文審査の結果の要旨

令和 4年 2月 9日

審査委員	主 査	西山 成		
	副 主 査	中村 隆範		
	副 主 査	平野 勝也		
願 出 者	専攻	医学	部門	
	学籍 番号	16D710	氏名	小林 俊博
論 文 題 目	HDL promotes adiponectin gene expression via the CAMKK/CAMKIV pathway			
学位論文の審査結果	<input checked="" type="radio"/> 合格 ・ <input type="radio"/> 不合格 (該当するものを○で囲むこと。)			
<p>(論文要旨)</p> <p>本研究では、HDLがSR-BI / CLA-1を介し、アディポネクチンの遺伝子発現を刺激するかどうか、さらにその刺激がどのシグナル伝達経路を介して起こるのかを、Western Blot, RT-PCR, Reporter gene assayなどの手法を用いて検討した。</p> <p>結果、①3T3L1細胞においてHDL暴露によりアディポネクチン遺伝子発現が刺激されること、②HDLによるアディポネクチンの遺伝子発現促進を、CaMKKの特異的阻害剤 (STO-609) が妨げること、③CaMKIVcがアディポネクチン遺伝子の転写活性を増加させ、CaMKIVドミナントネガティブ変異体がアディポネクチンプロモーター活性に対するHDLの影響をブロックすること、④SR-BI / CLA-1のノックダウンでも、アディポネクチン遺伝子発現に対するHDLの影響が相殺されることが示された。</p> <p>以上より、HDLがSR-BI / CLA-1を活性化することによりアディポネクチンの遺伝子発現を刺激しており、その活性化メカニズムのシグナル伝達経路の1つとしてCaMKK / CaMKIV経路が考えられることが示唆された。</p> <p>(質疑応答・審査概要)</p> <p><中村副主査></p> <ul style="list-style-type: none"> ・細胞内情報伝達系のスクリーニングを行った際、HDLによる転写活性抑制がどの薬剤でも認められているように思えるがどうか？⇒各種の薬剤を溶解するDMSOの影響でluciferase activityが阻害された可能性がある。また各種の細胞内情報伝達系が少なからずHDLからの情報伝達に関与する可能性も否定はできない。 ・分化誘導された3T3L1細胞の増殖能および脂肪滴はHDLによって減少するか？⇒分化誘導された3T3L1細胞は、脂肪滴を有する脂肪細胞様の形態となり、それとともに増殖能は減衰する。HDL添加により、分化した3T3L1細胞の脂肪滴、コレステロール含量の定量はできていないが、形態的な変化は認められなかった。 				

<平野副主査>

・HDLによるアディポネクチン遺伝子の発現調節に関する結果であったが、アディポネクチンによる SR-BI/CLA-1の発現調節はどうか？⇒アディポネクチンはHDL代謝に影響を及ぼすとされ、加えてHDLの主蛋白であるApoA1、コレステロール排出に関与するABCA1、さらにSR-BI/CLA-1の発現を促進するとされている。

・一般的なCaMKKの活性化機構はどうか？⇒Caの流入、Ca・CaMによる活性化、PKAを介する活性化機構が知られている。

・siRNAによるSR-BI/CLA-1発現抑制を検証したか？⇒siRNAの遺伝子導入により、SR-BI/CLA-1遺伝子のknock downを確認している。

<西山主査>

・Reporter gene assayとmRNA、蛋白発現のdiscrepancyはどうか？⇒Reporter gene assayは遺伝子導入効率が全細胞の10%程度であるため、mRNA、蛋白発現とは少し異なった結果になっていると思われる。

・CaMKIV下流の転写調節機序はどうか？⇒一般的にCaMKIVの下流に存在する転写因子はCREBであり、アディポネクチンのpromoter内には様々な cis-elementが存在し、CREも存在している。今後の研究の方向として、この転写因子を同定する研究も必要と思われる。

<宮武指定討論者>

・本実験の臨床的な意義はどうか？⇒HDL、アディポネクチン共に抗動脈硬化作用が指摘されている。本実験は、HDLによる抗動脈硬化作用の新たな機序として提唱できるとと思われる。

・臨床的にHDLを増加させる方法はあるか？⇒運動、少量のアルコールなどが指摘されているが、十分な科学的根拠がない。女性ホルモンはHDL代謝を全般的に増強しており、SR-BI/CLA-1発現を増強することが知られている。

本研究に関する学位論文審査委員会は令和4年2月9日に行われ、以上に記載の通り、様々な質疑応答が行われたが、いずれも適切な回答が得られた。

本論文は、HDLによるアディポネクチン発現促進のシグナル伝達経路を明らかにする研究であり、脂肪細胞におけるアディポネクチンの発現においてHDLやSR-BIさらにCaMKK/CaMKIVカスケードを介した調節機構が関与していることを明らかにした点で意義があり、委員会の合議により本論文が博士（医学）論文に相応しいものと判断し、合格とした。

掲 載 誌 名	Journal of Molecular Endocrinology Volume 68: Issue 2		
(公表予定) 掲 載 年 月	2022年 1月	出版社（等）名	Society for Endocrinology

(備考) 要旨は、1, 500字以内にまとめてください。