HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	脂肪滴周囲蛋白Perilipin 1の機能解析［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	山本, 浩平
Description	配架番号：2414
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第13035号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70564
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Kohei_Yamamoto_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏 名　　山 本　浩 平

主査　教授　　松 居　喜 郎
審査担当者　副査　教授　　森 本　裕 二
副査　准教授　中 村　幸 志
副査　教授　　山 下　啓 子

学 位 論 文 題 名

脂肪滴周囲蛋白 Perilipin 1 の機能解析
(Functional analysis of lipid-droplet associated protein Perilipin 1)

Perilipin 1 (PLIN1) は主として脂肪細胞のに発現する、脂質の貯蔵と分解の双方を調節する脂肪滴周囲蛋白である。PLIN1 と共通のドメインを持つ脂肪滴周囲蛋白群 Perilipin (PLIN) ファミリーはいずれも細胞内で脂質を脂肪滴として貯蔵する作用を持つが、中でも PLIN1 は強力な脂質貯蔵、分解作用を持つと考えられている。一方で PLIN2 (adipophilin, adipose differentiation-related protein, ADRP)は短期的な弱い貯留により、細胞内脂質の受け渡しを担うと考えられている。

PLIN1 は近年動脈硬化形成の過程で重要な役割を持つとされるマクロファージ内にも同定された。マクロファージには炎症を促進する M1 マクロファージと抑制する M2 マクロファージの少なくとも二つの極性があると知られている。事前の検討では、M1 マクロファージの浸潤が顕著であったプラーク内には PLIN2 の発現が著明であるのに対し、M2 マクロファージの比率が高いプラーク内には PLIN1 の発現が優位であり、マクロファージにおける PLIN1 および PLIN2 の発現は、プラークに浸潤したマクロファージの極性と関連し、動脈硬化の進展において何らかの役割を持っている可能性が示唆された。第一部においては、マクロファージにおける PLIN1 の過剰発現が動脈硬化の進展に及ぼす影響を明らかとすることを目的として検討が実施された。また PLIN1 には 4 種のスプライシングバリアント PLIN1a、PLIN1b、PLIN1c、PLIN1d の存在が報告されており、脂肪細胞において主として発現している PLIN1 は PLIN1a である。ステロイド産生組織においては PLIN1a の発現に加え PLIN1c の発現が報告されているが、その違いに関する報告は少なく、ステロイド産生組織における役割を示した報告はこれまでにない。第二部においては、副腎細胞における PLIN1a、PLIN1c それぞれの機能を明らかとするため、培養副腎細胞株 Y-1 を用いて検討が実施された。

第一部では PLIN1 transgenic mice (Plin1Tg)を apolipoprotein E knockout mice (ApoeKO) と交配して Plin1Tg/ApoeKO を作製し、C57BL/6J 野生型マウス、ApoeKO とともに普通食下に 20 週齢まで飼育した後、オイルレッド O 染色にて大動脈動脈硬化領域を評価した。また 20 週齢における動脈硬化リスク因子、大動脈洞部におけるプラーク内マクロファ

ージの極性とPLIN発現を評価した。第二部ではY-1に脂質を負荷してPLIN1aおよびPLIN1cの発現の変化を評価し、その際の培養上清中プロゲステロン濃度を測定した。更にY-1にPLIN1aまたはPLIN1cを過剰発現させ、培養上清中のプロゲステロン濃度、Trilostaneを加えた際の培養上清中プレグネノロン濃度を測定した。

第一部の検討では、ApoeKO/Plin1TgにおいてApoeKOと比較した動脈硬化領域面積の有意な縮小を認めた。体重、性腺周囲脂肪重量、血清中性脂肪濃度は3群間に有意差を認めなかった。血清総コレステロール濃度はC57BL/6Jと比較し、ApoeKO、ApoeKO/Plin1Tg両群で有意に高値であったが、ApoeKO、ApoeKO/Plin1Tg間には有意な差を認めなかった。ApoeKOのプラークにおいてはM1マクロファージの浸潤が優位であったが、ApoeKO/Plin1Tgにおいては浸潤したマクロファージの極性に明確な違いを認めなかった。ApoeKOのプラーク内にPLIN1の発現は明らかではなく、PLIN2の高度な発現が認められた。一方でApoeKO/Plin1Tgのプラーク内には明瞭なPLIN1発現が観察され、高度なPLIN2発現は認めなかった。第二部の検討において、Y-1ではPLIN1aはオレイン酸の負荷、PLIN1cはコレステロールの負荷により発現増強が認められた。培養上清中プロゲステロン濃度はコレステロール負荷により有意な上昇を認めた。PLIN1aまたはPLIN1cの過剰発現により、培養上清中のプロゲステロン濃度は有意に低下したが、プレグネノロン濃度には有意な変化を認めなかった。

PLIN1の過剰発現を誘導したApoeKOにおいては動脈硬化領域の減少が認められ、PLIN1は動脈硬化抑制作用を有していると考えられた。一般的な動脈硬化のリスク因子については既報と同様明確な差を認めず、PLIN1mの動脈硬化抑制作用は直接的なものと考えられた。Y-1においては中性脂肪の負荷によってPLIN1aの発現が、コレステロールの負荷によってPLIN1cの発現が増強され、PLIN1aは中性脂肪の貯蔵に、PLIN1cはコレステロールエステルの貯蔵に機能している事が示唆された。PLIN1aおよびPLIN1c過剰発現系を用いた検討において、ステロイドホルモン産生量の変化が示され、PLIN1はステロイド合成に何らかの役割を持っている可能性が示された。

審査にあたり申請者は、(1) 本検討の臨床的な意義、(2) マクロファージにおけるPLIN1の発現を調節する因子、(3) マクロファージの極性分化を調節する因子、などについての説明を求められ、それぞれ、(1) 動脈硬化性疾患の既知のリスク因子とは独立した、新規の因子を特定することにより、動脈硬化性疾患の予防薬開発等につながる可能性があること、(2) 現在明らかとはなっていない部分ではあるが、進行中の細胞実験において、チアゾリジン誘導体やGLP-1作動薬がPLIN1の発現を増加させる可能性を示しつつあること、(3) TNF-alphaやIL-4等のサイトカインによる極性分化が一般によく知られており、脂肪毒性や細胞内外の炎症環境によって極性に変化が生じた可能性が推察され、PLIN1発現量の変化はその一因となっている可能性があること、を回答した。

この論文は新たな動脈硬化およびステロイド新生の機序の解明に寄与した点において高く評価され、今後の更なる発展が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに充分な資格を有するものと判定した。