



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	プロテアソーム機能低下が白色脂肪組織慢性炎症に与える影響 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	仲川, 心平
Description	配架番号 : 2669
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14968号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/85840
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	NAKAGAWA_Shimpei_review.pdf, 審査の要旨



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 仲 川 心 平

主査 教 授 近 藤 亨
審査担当者 副査 准教授 和 田 は る か
副査 准教授 高 畑 雅 彦

学位論文題名

プロテアソーム機能低下が白色脂肪組織慢性炎症に与える影響
(Decreased proteasomal function exacerbates obese-related chronic inflammation in adipose tissue)

本学位論文は、プロテアソーム機能低下が脂肪細胞の老化を誘導し、肥満による慢性炎症の増悪に関わることを明らかにしたものである。研究手法は、基本的な分子細胞生物学実験、免疫組織化学実験、キモトリプシン様活性が低い $\beta 5t$ サブユニットを強制発現させたトランスジェニックマウス(Tg)を用いた肥満誘導実験と多岐にわたる。加齢に伴う肥満では、肥満患者と同様に白色脂肪細胞(eWAT)に慢性炎症が観られる。一方で、加齢に伴うプロテアソーム機能の低下が老化関連疾患の発症に関わっていることや Tg が様々な老化形質を示すことが報告されている。これらは、プロテアソーム機能の低下が eWAT の老化と脂肪組織に慢性炎症を誘導することを示唆している。申請者は、高脂肪食投与による Tg の肥満、eWAT 周辺の炎症と ER ストレスの増悪を明らかにすると共に、脂肪細胞様細胞株 3T3-L1 細胞を用いた実験系により、プロテアソーム機能阻害が ER ストレスと炎症性サイトカイン発現を亢進することを明らかにした。

審査にあたり、まず副査の和田はるか准教授から、学位論文について、figure および figure legends における誤記、n の表記法、考察における表現(Tg マウスの検討のみではプロテアソーム機能低下について「加齢に伴う」とまでは言えないこと、通常の細胞老化と肥満による細胞老化は区別できないこと)について改善案・修正案が提示され、申請者は適切に修正すると回答した。次に、加齢に伴いプロテアソーム機能が低下する一般的な機序と、その際 $\beta 5t$ の発現が確認されるかについての質問があった。申請者はプロテアソーム機能低下の機序として、プロテアソームサブユニットの置換や変化、発現変化など様々な原因が知られているが、 $\beta 5t$ との置換が行われているという報告は確認できていないと回答した。脂肪組織の慢性炎症と加齢関連疾患の直接的な関係性の有無、およびそれがどのように確認されているのかについての質問があった。申請者はマクロファージの除去を含む複数の手法

を用いた報告があると回答した。また、薬剤の使用によるプロテアソームの機能の改善や低下(ボルテゾミブなど)に伴い、細胞老化の改善や増悪が起こるのかについての質問があった。申請者は、確認して報告すると回答した。脂肪細胞特異的にプロテアソーム機能を低下させる実験をしたのかについての質問があった。申請者は、脂肪細胞特異的にプロテアソーム機能を低下させる *in vivo* 実験は行っていないが、*in vitro* 実験により脂肪細胞とプロテアソーム機能の直接的な関係性を検討したと回答した。CLS 部とプロテアソーム機能の相関についての質問があった。申請者は CLS 部におけるプロテアソーム機能の検討は行っていないと回答した。CLS 部で脂肪細胞の壊死が起こっている場合は、脂肪細胞はアディポサイトカインを分泌していないのではないかという質問があった。申請者は、少なくとも CLS 部以外の脂肪細胞は *viable* であり、実験の結果に矛盾しないものと考えたと回答した。

次に高畑雅彦准教授から Tg マウスの炎症はプロテアソーム機能低下の直接的な影響ではなく、プロテアソーム機能低下に伴う肥満の影響を見ているのではないのかという質問があった。申請者は、マウス実験では両者の区別は難しかったものの、細胞実験では MG132 負荷は脂肪滴形成自体には影響を与えないにも関わらず脂肪細胞の炎症性アディポサイトカインの発現を亢進させ、プロテアソーム機能低下の直接的な影響が考慮されると回答した。Tg マウスの運動量についての質問があった。申請者は、本実験では運動量の比較は行っていないと回答した。体重など、Tg マウスの成長過程についての質問があった。申請者は、Tg は HFD 投与時に WT に比して体重の増加が顕著であるものの、HFD 投与期間 16 週に達する前に死に至るマウスが散見され、死亡例の多くでは HFD 投与にもかかわらず体重低下を認める個体が多いと回答した。他の加齢促進マウスにおいてもプロテアソーム機能が低下しているのかという質問があった。申請者は確認し、報告すると回答した。プロテアソーム機能低下時に脂肪細胞自体の TNF α 発現に変化がみられないことについて、臨床的にこのような現象が報告されているのかという質問があった。申請者は確認し、報告すると回答した。

主査の近藤亨教授からは、MCP-1 や PAI-1 の発現によって、脂肪細胞における M1 マクロファージ自体の浸潤が増加するのか、M2 から M1 への極性転換が増加するのかについての質問があった。申請者は、2つの区別については提示した論文では言及されていなかったとの記憶があるが、確認し報告すると回答した。HE 染色写真では、HFD 投与 Tg eWAT の脂肪細胞が、HFD 投与 WT eWAT の脂肪細胞に比して小さく見えるという質問があった。申請者は、定量化までは行っていないが、全体としては Tg eWAT の脂肪細胞の方が小さいという印象はなく、部位による差が偶然捉えられたものであると回答した。

全ての質問に対して申請者は文献的知見と実験結果をもって適切に回答した。また本研究で解明した研究成果の意義、今後解明すべき点を明確に理解し、次段階の研究指針や応用の方向性も十分把握していた。

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て申請者が博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。