

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲	第	号
------	-----	---	---

氏 名 姫 妹 婷

論 文 題 目

b-series gangliosides crucially regulate leptin secretion in adipose tissues

(b系列ガングリオシドは脂肪組織のレプチン分泌に重要な調節作用を示す)

論文審査担当者

主 査


委員

名古屋大学教授

門松 健治 

委員

名古屋大学教授

木山 博資 


委員

名古屋大学教授

藤本 豊士 

指導教授

名古屋大学教授

吉川 鋼一 

論文審査の結果の要旨

本研究では、GD3 合成酵素欠損マウス(GD3S KO)の血中レプチンレベルの極度な低下を認めた。脂肪組織および初代培養細胞を用いレプチンの発現レベルの検討、および免疫染色などにより解析した結果、レプチンの蓄積が認められた。また、b 系列ガングリオシドを培養上清に添加したところ、レプチンの細胞内の蓄積が減弱し、培養上清への分泌がガングリオシドの濃度および処理時間依存的に改善された。さらに、methyl- β -cyclodextrin (M β CD)で 3T3-L1 細胞株を処理したところ、レプチンの蓄積が認められたことから、レプチンの分泌にラフトが関与することが示された。ショ糖密度勾配遠心法を用い lipid raft を回収したところ、ロックアウトマウス由来の脂肪組織ではラフトのマーカである caveolin-1 や flotillin-1 が共に非ラフト画分に移行し、分布の異常を認めたことから、レプチンの分泌がラフトにおいてガングリオシドにより調節されることが示唆された。

本研究に対し、以下の点を議論した。

- 1、ガングリオシドは培養上清に添加すると短時間で細胞膜に挿入され、長時間共培養すると、エンドサイトシスされて、トランスゴルジで複雑型のガングリオシドに転換される。一方、レプチンは ER-ゴルジ体-分泌小泡-細胞膜の経路で分泌される。ロックアウトマウスの脂肪細胞では、b-系列ガングリオシドの添加がレプチンの分泌を濃度及び時間的に回復させることから、ガングリオシドはレプチンのトラフィックや分泌に影響する。レプチンのゴルジ体から細胞膜までの分泌経路において、どの輸送タンパク質に制御されるのか、レプチンの輸送顆粒はどのように細胞膜と融合し、レプチンを放出するかは、これまで全く研究されていなかった。今回の結果から、ガングリオシドがレプチン分泌小胞の形成、分泌小胞と細胞膜の融合、分泌小胞からレプチンの放出などの段階において、関連タンパク質と相互作用して、またはレプチンと相互作用することにより、分泌制御に働くことが考えられる。
- 2、具体的にラフト内のどの分子がレプチンの分泌に関与するかはまだ分かっていないが、例えば、インスリンの刺激に対する Glut4-輸送小胞では、SNARE タンパク質が重要である。Syntaxin-1A、SNAP-25、VAMP-2 などはラフトに局在し、分泌小胞の合成成分としてカルシウムチャンネルタンパク質と相互作用し、その発現やチャンネルの開放を制御することによってグルコースを細胞内の取り込みを調節する。脂肪細胞においてはレプチンの分泌は Glut4-輸送小胞を介さず、レプチンの輸送経路はアディポネクチンと異なると考えられるがレプチンのトラフィックに関する報告は今までまだ少なく、今後明らかにする必要がある。
- 3、マウスと同じようなレプチンレベルの低下は、人間においてはこれまで報告されていない。糖脂質を研究する方法は、核酸や蛋白質と比較するとかなり限られ、多くの研究をより深化させない限り、臨床への応用はまだ困難である。例えば、ギラン・バレー症候群の診断において抗ガングリオシド抗体の検査は、その臨床診断のための補助診断となっている。また、悪性黒色腫では正常細胞には見られない高レベルの GM2, GD2, GD3, GM3 などの比較的単純なガングリオシドが発現すること、またこれらに対する抗体は強い補体依存性細胞傷害活性を有する事から、黒色腫の治療にこれらの抗体を用いた免疫療法が期待されている。また、難治性神経芽腫に対する抗 GD2 モノクローナル抗体の免疫療法が臨床応用されたり、脊髄損傷、脳外傷、脳虚血障害、パーキンソン病等の治療として GM1 ガングリオシドの臨床試験が検討されるなど、より多くガングリオシドの臨床応用が期待される。

以上の理由により、本研究は博士 (医学) の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※甲第	号	氏名	姫 妹 婷
試験担当者	主 査	明 松 建 一	ホ 山 博 資	藤 本 豊 士
	指導教授	高 川 金 剛		

(試験の結果の要旨)

主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。

1. 脂肪細胞に投与したガングリオシドがレプチン分泌にどのように作用するか
2. レプチン分泌においてラフト内のどのような分子にガングリオシドが必要か
3. b-系列ガングリオシド欠損により人間はマウスと同じ症状が出るか、b-系列ガングリオシドの臨床における応用の可能性について

以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、分子細胞化学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。