

別紙1-1

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 姍

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ニン分泌に重要な調節作用を示す)

論文審査担当者

主 査

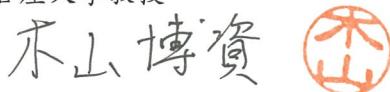
委 員

名古屋大学教授



名古屋大学教授

委 員



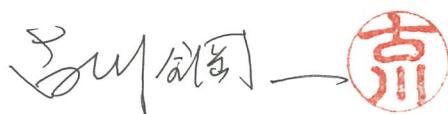
名古屋大学教授

委 員



名古屋大学教授

指導教授



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)の血中レプチニ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ニ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、レプチニンの蓄積が認められた。また、b系列表現ガングリオシドを培養上清に添加したところ、レプチニ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、レプチニンの蓄積が認められたことから、レプチニ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、ノックアウトマウス由来の脂肪組織ではラフトのマーカーである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、レプチニ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、レプチニンはER-ゴルジ体-分泌小泡-細胞膜の経路で分泌される。ノックアウトマウスの脂肪細胞では、b系列表現ガングリオシドの添加がレプチニ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ニンのトラフィッキングや分泌に影響する。レプチニ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、レプチニンの輸送顆粒はどのように細胞膜と融合し、レプチニンを放出するかは、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ニン分泌小胞の形成、分泌小胞と細胞膜の融合、分泌小胞からレプチニ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、またはレプチニ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ニ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ネルタンパク質と相互作用し、その発現やチャ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ニンの分泌はGlut4-輸送小胞を介さず、レプチニ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ニンのトラフィッキング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ニンレベルの低下は、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、より多くの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。

別紙2

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 婪
試験担当者	主査 門松健一 指導教授 吉川公四	木山博資 豊田 豊 一郎

(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、学位審査委員会議の上、合格と判断した。