

学 位 論 文 要 旨

鶏前駆脂肪細胞における脂肪酸誘導性分化過程の特徴 Characterization of chicken specific adipocyte differentiation during fatty acid-induced adipogenesis

生物生産科学専攻 動物生産科学大講座
松原 雄介

家禽類の食肉は低脂肪・低カロリーの食品として注目され、その生産量の増大のための品種改良や、飼料の改良が行われてきた。一方で、余剰な摂取エネルギー分は多量の腹腔内脂肪として蓄積しており、それらは脂肪肝などを引き起こす要因となるとともに、食肉生産現場においてほとんどが破棄されることから、食肉の生産効率を考える上での大きな課題となっている。

鶏、特にブロイラーにおける腹腔内脂肪の成長は、4週齢までに脂肪細胞数が急増し、その後細胞内に脂肪を蓄積していく過程からなる。そのため、鶏脂肪細胞の増殖や分化を制御することができれば、過剰な脂肪蓄積を予防できるものと考えられる。すなわち鶏脂肪細胞の分化過程の特徴を明らかにすることにより、その分化制御を基軸とした脂肪過剰蓄積制御法の確立に繋がる。しかし現在までに鶏前駆脂肪細胞を安定して分化誘導する実験系はなく、ニワトリにおける脂肪形成メカニズムはほとんど明らかとされていない。そこで本研究は安定した鶏脂肪細胞の分化誘導系の確立を行い、同培養系を用いて鶏脂肪細胞が前駆脂肪細胞から成熟脂肪細胞へと分化・成熟する過程での制御因子を同定するとともに、その制御因子を中心としたニワトリにおける adipogenesis の解明を分子生物学的手法にて明らかとすることを試みた。

1. 鶏前駆脂肪細胞の分化誘導の確立と分化関連遺伝子の発現変動

マウス 3T3-L1 での分化誘導系を参考とした各種ホルモン (Insulin, 3-isobutyl-1-methylxanthin, Dexamethasone) に、更に鶏脂肪組織において脂肪酸合成能が低いことに着目して、外因性の脂肪酸を添加した培地により分化誘導を試みた。細胞への脂肪滴の蓄積や分化マーカーである aP2 mRNA の発現より、

鶏脂肪細胞は外因性の脂肪酸によりその分化が誘導されることを見出した。同分化誘導系を用いて鶏前駆脂肪細胞の分化時の各種分化関連遺伝子の発現変動を確認したところ、哺乳類で脂肪細胞の分化制御の中心的な役割を果たす PPAR γ が、脂肪酸誘導性の鶏脂肪細胞における分化過程において中心的な役割を担うことが示された。C/EBP α , β , δ や SREBP などの他の転写因子は分化進行に伴った発現増加が示された。脂肪酸合成酵素である FAS や糖取り込みに関わる GLUT も鶏脂肪細胞の分化時にその発現が誘導されることが確認された。

2. PPAR γ の活性と発現制御による鶏脂肪細胞の分化様相の確認

鶏脂肪細胞の分化を誘導する脂肪酸は PPAR のリガンドとしての機能を有する。そこで、鶏脂肪細胞に対して PPAR γ の合成リガンドである Troglitazone を用いて鶏脂肪細胞の分化様相を観察することを試みた。その結果、鶏脂肪細胞の分化を誘導する脂肪酸は、PPAR γ のリガンドとしての機能だけでなく、PPAR γ の発現自体への関与が示された。また PPAR γ を鶏脂肪細胞に過剰発現させることにより、分化を誘導しうることが確認され、鶏脂肪細胞分化において脂肪酸により PPAR γ を誘導する機構が、その制御に重要であると考えられた。

3. PPAR γ の発現に関わる adipogenesis 関連因子の発現解析

哺乳類の脂肪細胞分化の研究において、PPAR γ の誘導に関わるとされる転写因子 (ZNF423, KLFs) やシグナル因子 (FGF10) について、鶏脂肪細胞分化および組織発達時の発現から PPAR γ 発現と、鶏 adipogenesis との関連について検討を行った。鶏脂肪細胞の分化過程においては、これら因子の発現は有意に変化を示していたが、PPAR γ の発現を協調的に制御していると思われる因子は認められなかった。すなわち、哺乳動物で見いだされている PPAR γ を誘導する因子は、ニワトリでは PPAR γ を誘導する主要因子ではないことが明らかとなった。一方、ZNF423 は、鶏脂肪細胞・組織の成熟に関与している可能性が見いだされた。

4. 外因性の脂肪酸特異的鶏脂肪細胞分化誘導機構の解明

分化マーカーである aP2 は、哺乳類では脂肪酸によりその分化抑制により発現亢進していることが示されている。そこで、鶏脂肪細胞における脂肪酸による分化制御を核 run-on assay により確認したところ、ニワトリにおける aP2 および PPAR γ の発現誘導は、核内にて転写レベルで発現亢進が誘導されていることが確認された。そこで、脂肪酸による PPAR γ の発現制御機構の解明に向けプロモーター解析を実施した結果、鶏 PPAR γ 上流の、約 660-2000bp の領域にて脂肪酸に応答している可能性が示唆された。

本研究により鶏脂肪細胞を分化誘導する系を確立し、鶏脂肪細胞の分化における、adipogenesis の特異性の一端を明らかにすることができた。また脂肪酸による PPAR γ の遺伝子発現が誘導することによる鶏特異的な分化機構の存在を証明し、その発現を誘導している因子の探索により、多くの鶏脂肪細胞・組織における特徴を明らかにすることができた。将来的には、分子生物学的手法を用いた更なる詳細な検討により、安全かつ簡便で有効なニワトリの過剰脂肪蓄積の栄養による制御へ応用することが可能となり、食肉生産の課題への有効な解決策のひとつとなることが期待される。