

## 総合研究奨励賞 (結城賞)



山口 哲志

## 略 歴

2011年 3月 岡山大学医学部医学科 卒業  
2011年 4月 岡山大学病院 初期研修医  
岡山大学大学院医歯薬学総合研究科博士課程 入学  
2013年 4月 総合病院岡山市立市民病院 専修医  
2017年 4月 岡山大学病院 腎臓・糖尿病・内分泌内科 医員  
2022年 3月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科博士課程 修了

## 研究論文内容要旨

我々は肥満や2型糖尿病の病態形成に関与するマイクロRNA (miRNA) を探索するため、野生型C57BL6マウスを通常食飼育群と高脂肪高蔗糖食 (HFHS) 飼育群に分けて飼育し、精巣周囲脂肪組織、肝臓、血清からtotal RNAを精製し、RNAシーケンスを施行した。その結果HFHS飼育マウスの精巣周囲脂肪組織において*Mir221*が5.7倍、*Mir222*が8.1倍と発現が増加する事が判明した (*Metabolism*. 64(4): 489-97, 2015)。本研究では脂肪細胞特異的*Mir221/222*ノックアウトマウス (*Mir221/222AdipoKO*) を用いて肥満症および2型糖尿病における*Mir221/222*の機能を解明した。

野生型マウス (*Mir221/222flox/y*) および*Mir221/222AdipoKO*をHFHS飼育に供した所、*Mir221/222AdipoKO*は*Mir221/222flox/y*に比較してHFHS飼育による体重増加が有意に抑制され、白色脂肪細胞のサイズは小型化し、インスリン負荷試験およびブドウ糖負荷試験において血糖値は改善する傾向を認めた。DNAマイクロアレイを用いた精巣周囲脂肪組織の遺伝子発現解析によりDNA-damage-inducible transcript 4 (*Ddit4*) をターゲット遺伝子候補として同定し、同遺伝子の3' 非翻訳領域に対するmiR-221-3pおよびmiR-222-3pによる転写活性抑制をルシフェラーゼアッセイにより確認した。*Ddit4*はmTOR (mammalian target of rapamycin) の抑制因子であり、AKTの脱リン酸化を促進する事で、TSC2 (tuberous sclerosis complex 2) の活性化を介してmTOR活性を抑制する事が分かっている。精巣周囲脂肪組織におけるmTOR活性をウエスタンブロットで評価した所、*Mir221/222AdipoKO*においてAKTのリン酸化、TSC2の抑制性リン酸化およびS6K (ribosomal protein S6 kinase) のリン酸化が有意に抑制されていた。さらにmTORの下流の機序に関して、レンチウイルスベクターを用いて*Mir221/Mir222*の3T3L1細胞の脂肪分化・合成・分解に与える影響を解析した所、*Mir222*の過剰発現により3T3L1細胞の分化7日目において、脂肪細胞分化マーカーであるPPAR $\gamma$ およびCEBP $\alpha$ 蛋白質発現量が有意に増加し、脂肪蓄積が亢進する傾向を認めた。

mTORは肥満患者の内臓脂肪組織において活性が上昇している事が報告されており、脂肪細胞分化や脂肪の合成を正に制御し、脂肪分解を負に制御する。*Mir221/222AdipoKO*の精巣周囲脂肪組織では*Ddit4*の発現増加を介してTSC2/mTOR/S6Kが抑制される結果、特に脂肪細胞分化の抑制を介して食餌誘導性肥満が改善する事が明らかとなった。