



## Cl<sup>-</sup> channels regulate lipid droplet formation via Rab8a expression during adipocyte differentiation

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2020-04-28 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 大内, 佳奈江 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="https://fmu.repo.nii.ac.jp/records/2000297">https://fmu.repo.nii.ac.jp/records/2000297</a>

# 論文内容要旨 (和文)

学位論文題名	Cl <sup>-</sup> channels regulate lipid droplet formation via Rab8a expression during adipocyte differentiation Cl <sup>-</sup> チャンネルは脂肪細胞分化過程において Rab8a の発現を介して油滴形成を制御する
<p>背景：</p> <p>Cl<sup>-</sup>チャンネルは、細胞の分化、容積調節、移動、増殖、小胞の酸性化に重要な役割を果たしている。特に、細胞分化においては、Cl<sup>-</sup>チャンネルが幾つかの細胞内シグナルを活性化させることで、分化を引き起こすことが報告されている。CIC-3 は RUNX2 (runt-related transcription factor 2)経路を介した骨細胞分化に関与し、CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator)は Wnt/<math>\beta</math>catenin 経路を介して胚性幹細胞から中内胚葉への分化に関与していることが報告されている。しかしながら、Cl<sup>-</sup>チャンネルと脂肪細胞分化の関係性は明らかになっていない。本研究の目的は、自己複製能と多分化能を併せ持つ脂肪組織由来幹細胞 (adipose tissue-derived stem cells ; ASCs) と Cl<sup>-</sup> チャンネルブロッカーを用いて、脂肪細胞分化における Cl<sup>-</sup>チャンネルの役割を明らかにすることである。</p> <p>方法：</p> <p>ウサギの脂肪組織からコラゲナーゼタイプ I を用いて ASCs を単離し、RT-PCR、免疫染色、フローサイトメーターによって ASCs の性状解析を行った。単離した ASCs を脂肪細胞分化誘導培地と Cl<sup>-</sup>チャンネルブロッカーである NPPB を用いて 7 日間培養した。ASCs、NPPB 未処理の分化細胞 (control)、NPPB で処理した分化細胞から RNA を回収し、リアルタイム RT-PCR によって ASCs マーカー (CD44, SMA, Vimentin)、脂肪細胞マーカー (FAS, adiponectin) の発現量を比較した。さらに、脂肪滴 (lipid droplets ; LDs) と LDs 融合に関わる Rab8a の発現量をリアルタイム RT-PCR と免疫染色によって解析した。また、Cl<sup>-</sup>チャンネルブロッカーは、液胞型 H<sup>+</sup> ATPase (V-ATP ase)による H<sup>+</sup>輸送と共役した CIC Cl<sup>-</sup>チャンネルによるアニオン輸送を阻害することで小胞内の酸性化に影響することが報告されている。このため、V-ATPase 阻害剤である Bafilomycin を用いて分化誘導を行い、LDs 形成と小胞内酸性化の関係性を pH 感受性蛍光色素である BCECF-AM を用いて評価した。</p> <p>結果：</p> <p>単離した ASCs は、ASCs マーカーの発現がみられ、ほとんどの細胞において CD44 陽性細胞であった。7 日間の分化誘導後、未処理の control と NPPB を処理した分化細胞は、ASCs に比べて ASCs マーカーの発現量低下及び脂肪細胞マーカーの発現量上昇が確認されたことから脂肪細胞への分化が示唆された。一方で、未処理の control と NPPB を処理した分化細胞間においては有意な差は確認されず、細胞の形態も同等であったことから NPPB による脂肪細胞分化への影響はなかったことが示唆された。しかしながら、NPPB を処理した分化細胞において、LDs サイズ及び LDs 融合に関与する Rab8a の発現量が control に比べ低下した。さらに、NPPB 以外の Cl<sup>-</sup>チャンネルブロッカーである DIDS、IAA-94 及び Bafilomycin で処理した分化細胞においても、LDs サイズの減少及び Rab8a の発現量が低下し、細胞内 pH は control に比べて酸性側へ移行した。</p> <p>結論：</p> <p>Cl<sup>-</sup> チャンネルは脂肪細胞分化には関与せず、Rab8a 発現と細胞内小胞の酸性化を介した LDs 形成に関与していることが示唆された。</p>	

(Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 10 Oct, 2019)

令和2年3月4日

学位論文審査結果報告書

大学院医学研究科長

下記の通り学位論文の審査を終了したので報告いたします。

審査結果要旨

氏名 大内 佳奈江

学位論文題名 1- channels regulate lipid droplet formation via Rab8a expression during adipocyte differentiation (Cl- channels は脂肪細胞分化過程において Rab8a の発現を介して油滴形成を制御する)

申請者は、脂肪細胞分化における Cl<sup>-</sup>チャネルの役割を脂肪組織由来幹細胞 (ASCs) において Cl<sup>-</sup>チャネルブロッカーを用いて研究した。解析の結果、Cl<sup>-</sup>チャネルは分化には関わらないが、Rab8a 発現と細胞内小胞の酸性化を介した LDs 形成に関与することを示した。本審査会は令和2年2月10日に行われ、質疑応答は適切に回答されて、別紙のような指摘を踏まえて修正された論文が提出された。本研究は、Cl<sup>-</sup>チャネルと ASCs の関係をはじめて検討したものであり、審査員一同、提出論文は学位授与に相応しいと結論された。

審査委員

野本 美香

本間 美和子

和田 郁夫