

## 博士論文要旨

### 論文題名：放線菌由来脂肪細胞分化阻害物質の探索とその作用メカニズムに関する研究

立命館大学大学院理工学研究科  
総合理工学専攻博士課程後期課程

ふりがな まつお ひろたか  
氏名 松尾 洋孝

肥満は、心臓血管疾患や2型糖尿病などのリスクファクターと考えられている。しかしながら、肥満の治療薬は mazindol しかなく、依存性を生ずる可能性があり、問題視されている。そのため、新たな治療薬が必要とされており、脂肪細胞の分化阻害剤が治療薬として有効ではないかと考えられている。本研究では、脂肪前駆細胞のモデルとして用いられてきた 3T3-L1 細胞が、脂肪細胞へと分化するアッセイ系を用い、2種類の分化阻害剤を *Streptomyces* 属放線菌 TK08330 及び MC10130 株の生産物から得た。これら活性物質の構造を各種機器分析により解析した結果、18員環マクロライドの borrelidin、及び14員環マクロライドの cineromycin B と同定した。これらの活性物質は既知化合物であったが、これまでに脂肪蓄積阻害作用を有するという報告はなく、その作用機序に興味を持たれたため、解析を行った。

脂肪前駆細胞の分化には、様々な分化調節因子が複雑に絡み合っていると考えられているが、その詳細については不明な点が多い。また、分化にはマスターレギュレーターである peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)  $\gamma$  の発現が必須であることが知られており、その他にも様々な分化調節因子が知られている。Borrelidin で処理した細胞では、PPAR $\gamma$  の発現が減少したため、borrelidin は 3T3-L1 細胞の分化自体を阻害することが明らかになった。さらに、リアルタイム PCR による解析の結果から、分化のネガティブレギュレーターとして報告されている GATA binding protein (GATA) 3、Krüppel-like factor (KLF) 3、7 の mRNA 発現が、borrelidin によって分化誘導後 6 時間と早い段階で上昇し、その分化阻害作用に関与すると考えられた。そこで、これらの siRNA 導入実験を行ったところ、GATA-3 siRNA を導入した細胞では、borrelidin による PPAR $\gamma$  発現抑制作用は良く減弱された。しかしながら、脂肪蓄積阻害作用は有意ではあるが、わずかに減弱された程度であったため、GATA-3 のみならず他の調節因子も borrelidin の作用メカニズムに関与していると結論づけた。一方、cineromycin B も、3T3-L1 細胞の分化自体を阻害した。同様な解析の結果から、分化誘導後 30 分という極めて早い段階で、ネガティブ

レギュレーターの KLF2、3 の発現上昇を引き起こすことが、cineromycin B の主な分化阻害メカニズムであると結論づけた。

マクロライド系化合物が 3T3-L1 細胞の分化を阻害すること、分化の初期段階において GATA-3 や KLF2、3 の発現上昇を介した分化阻害作用はこれまでに報告されておらず、本研究の結果は新しい知見である。

# Abstract of Doctoral Thesis

## **Title: Study on inhibitors of adipocyte differentiation from actinomycetes and their modes of action**

Doctoral Program in Integrated Science and Engineering  
Graduate School of Science and Engineering  
Ritsumeikan University

まつお ひろたか  
MATSUO Hirotaka

Obesity is considered to be a risk factor for various conditions, such as cardiovascular diseases and diabetes mellitus type 2. Novel and effective methods for controlling obesity are required; inhibition of adipocyte differentiation is considered a potential target for therapeutic development. In this study, two inhibitors of 3T3-L1 differentiation were isolated from *Streptomyces* spp. TK08330 and MC10130 were identified based on spectroscopic data as the 18-membered macrolide borrelidin and 14-membered macrolide cineromycin B.

Although various regulators are involved in adipocyte differentiation, the details are incompletely understood. PPAR $\gamma$  is a master regulator and is necessary for adipocyte differentiation. Because borrelidin downregulated the expression of PPAR $\gamma$ , it also inhibited adipocyte differentiation. Furthermore, real-time PCR showed that GATA-binding protein (GATA) 3, Krüppel-like factor (KLF) 3 and KLF7, negative regulators of differentiation, were upregulated by borrelidin at 6.0 h after induction of differentiation. siRNA transfection experiments were next performed to identify the major contributing regulator to the inhibitory activity of borrelidin. The borrelidin-mediated inhibition of PPAR $\gamma$  expression was reduced by GATA-3 siRNA. Furthermore, the borrelidin-mediated inhibition of lipid accumulation was slightly, but significantly, reduced by GATA-3 siRNA. Therefore, other regulators play important roles in the mechanism of action of borrelidin. Cineromycin B also inhibited adipocyte differentiation, mainly via upregulation of the negative regulators, KLF2 and KLF3, at 0.5 h after induction of differentiation.