

## 論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨の公表

学位規則第 8 条に基づき、論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨を公表する。

○氏名	松尾 洋孝 (まつお ひろたか)
○学位の種類	博士 (理学)
○授与番号	甲 第 1073 号
○授与年月日	2016 年 3 月 31 日
○学位授与の要件	本学学位規程第 18 条第 1 項 学位規則第 4 条第 1 項
○学位論文の題名	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
○審査委員	(主査) 今村 信孝 (立命館大学薬学部教授) 西澤 幹 (立命館大学生命科学部教授) 笠原 賢洋 (立命館大学生命科学部教授)

### <論文の内容の要旨>

本論文は、1.緒言、2.脂肪細胞分化阻害物質の探索とその活性に関する研究、3.脂肪蓄積阻害物質の作用機序に関する研究、4.総括の 4 章から成っている。

本論文では、様々な疾病の原因となる肥満への治療薬を目指し、脂肪細胞分化阻害剤を探索した。3T3-L1 細胞 (脂肪前駆細胞モデル細胞) が分化して細胞内に脂肪蓄積することを利用し、微生物培養物からまず脂肪蓄積阻害物質の探索を行い、*Streptomyces* 属 TK08330 株及び MC10130 株からそれぞれ活性物質を単離し、18 員環及び 14 員環マクロライドの borrelidin と cineromycin B と同定した。次にこれらの作用メカニズムについて解析を行った。Borrelidin で処理した 3T3-L1 細胞では、分化のマスターレギュレーター PPAR $\gamma$  の発現が減少しており、細胞分化自体を阻害していることが明らかになった。また、リアルタイム PCR の結果から、PPAR $\gamma$  の発現に抑制的に働く GATA 3、KLF 3、7 の mRNA 発現の上昇が認められ、これらが borrelidin の分化阻害作用に関与することが示唆された。そこで、siRNA 導入実験を行った結果、GATA 3 の siRNA 導入で PPAR $\gamma$  発現上昇、脂肪蓄積の一部回復が認められたため、borrelidin の分化阻害作用の一部は、GATA 3 の発現上昇に起因するものであることが確認できた。Cineromycin B もまた、3T3-L1 細胞の分化を阻害することが明らかになり、上記と同様な実験から、cineromycin B は、分化誘導後 30 分という極めて早い段階で、分化に抑制的に働く KLF2、3 の mRNA 発現上昇を引き起こすことによって、脂肪蓄積を含む分化を阻害することを明らかにした。これらの結果から、これら因子が細胞分化初期段階で重要な役割を果たしていること、また、抑制的な

因子の関連について考察した。

<論文審査の結果の要旨>

脂肪前駆細胞のモデルとして良く使われる 3T3-L1 細胞を用い、脂肪蓄積阻害物質を探索する研究は植物由来では幾つかの例が知られているが、微生物由来では余り例がない。また、活性物質の探索、単離、構造解析のみならず、その作用機序についての検討も合わせて行い、得られた活性物質を研究ツールとして利用しやすくするといった特徴ある研究となっている。

本論文の一連の研究成果は、研究ツールとしての化合物と脂肪細胞の分化過程への重要な知見を与え、以下の諸点で評価に値するものである。

1. 微生物産物から、脂肪蓄積阻害物質として 2 つの化合物を得て、マクロライド系の化合物 borrelidin と cineromycin B と立体化学を含め同定した。
2. 脂肪蓄積阻害作用を解析し、これらの物質が細胞分化を阻害することを明確にした。
3. Borrelidin の細胞分化阻害作用の一部が、分化の抑制的因子である GATA 3 の発現上昇によることを、リアルタイム PCR、siRNA 導入により、PPAR $\gamma$  発現量と脂肪蓄積量から明らかにした。
4. Cineromycin B の作用は、分化の抑制的因子である KLF2、3 の分化誘導直後の発現上昇によることを、borrelidin 同様に明らかにした。
5. Cineromycin B の結果から、分化誘導直後の抑制的因子の発現上昇が、以降の分化過程を完全に止めることを見出した。3T3-L1 細胞を用いたこれまでの分化の解析研究では、分化誘導後僅か 30 分でその後の運命を決定付けることは予想もされておらず、今後の分化過程の研究に重要な知見を提供した。
6. マクロライド系化合物では、初めての脂肪細胞分化阻害活性の発見であり、これらの化合物の薬剤リード化合物として、また、研究ツールとしての可能性を示した。

本論文の審査に関して、2015 年 10 月 26 日（月）に公聴会を開催した。

2 つのマクロライド系化合物の直接的な結合相手の解明や実験動物での評価は課題として残されたが、以上のような多くの評価すべき点から、本論文は博士の学位に値する論文と判断した。

<試験または学力確認の結果の要旨>

本論文の主査は、学位申請者と本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在学期間中に、研究指導を通じ、日常的に研究討論を行ってきた。また、本論文提出後、主査および副査はそれぞれの立場から論文の内容について評価を行った。

本論文の審査に関して、2015 年 10 月 26 日（月）15 時 30 分～16 時 35 分サイエンスコア 2 階演習室 7 において公聴会を開催し、学位申請者による論文要旨の説明の後、審査委

員は学位申請者松尾洋孝に対する口頭試問を行った。各審査委員および公聴会参加者より、活性物質の立体化学、作用機序、薬としての可能性などの質問がなされたが、いずれの質問に対しても学位申請者の回答は適切なものであった。学位申請者は、本学学位規程第 18 条第 1 項該当者であり、論文内容および公聴会での質疑応答を通して、学位申請者が十分な学識を有し、博士学位に相応しい学力を有していると確認した。

以上の諸点を総合し、学位申請者に対し、本学学位規程第 18 条第 1 項に基づいて、「博士（理学 立命館大学）」の学位を授与することが適当であると判断する。