

(別紙1)

学位論文審査の結果の要旨	
専攻	畜産科学専攻
氏名	金翔宇
審査委員署名	主査 西田 武弘 副査 室井 喜景 副査 手塚 雅文 副査 アコスタ トマス 副査 渡部 清之
題目	ブタ脂肪細胞の褐色化に関する外因性刺激および分子機構の解明 (Elucidating Exogenous Stimulation and Molecular Mechanisms for Browning in Pig Adipocytes)
審査結果の要旨 (1,000 字程度)	
<p>白色脂肪細胞は、寒冷刺激、甲状腺ホルモン刺激、火傷、およびアドレナリン製剤であるカテコラミンなどの <math>\beta 3</math> アドレナリン受容体 (ADRB3) を介した神経刺激によって代謝機能を亢進したベージュ脂肪細胞へと変化 (褐色化) する。褐色化は、白色脂肪細胞の代謝機能を大きく変えるため、肥満などの代謝疾患の新たな治療方法として期待されている。褐色化研究は世界的にも盛んに行われているが、褐色化の分子メカニズムには不明な点が多い。そこで本論文では、UCP1 の機能が欠損したブタの脂肪組織から作出した初代培養を用いた細胞研究 (<i>in vitro</i>)、およびハンガリー原産のブタ品種であるマンガリッツァを用いた生体研究 (<i>in vivo</i>) を展開し、白色脂肪細胞の褐色化に関する分子メカニズムの解明を目的とした。</p> <p>細胞研究では、ブタ脂肪組織の初代培養として脱分化脂肪細胞 (dedifferentiated fat cells: DFAT) を用いた。また、褐色化を誘導するために脂肪分化誘導後の DFAT にイソプロテレノールを添加し、褐色化の現象を確認するために PPAR coactivator 1 alpha (PGC-1<math>\alpha</math>)、uncoupling protein (UCP) および cytochrome c oxidase (COX) などの遺伝子発現および脂肪滴数の変化を調べた。PGC-1<math>\alpha</math>、UCP3 および COX ファミリーの遺伝子発現は、1 <math>\mu</math>M のイソプロテレノール投与によって有意に増</p>	

加した。ブタ *UCP3* のプロモーターを用いたルシフェラーゼアッセイでは、*PPAR $\gamma$*  または *PGC-1 $\alpha$*  の遺伝子導入によりコントロールよりもルシフェラーゼ活性が有意に増加し、両遺伝子を導入することでさらにルシフェラーゼ活性の有意な増加を示した。また、褐色化時の *ADRB* の阻害剤であるプロプラノロール投与は、イソプロテレノール投与による *PGC-1 $\alpha$*  および *UCP3* の発現上昇を抑制した。さらに  $1\ \mu\text{M}$  のイソプロテレノール投与は、脂肪滴のサイズを有意に減少させ、脂肪滴の細分化による脂肪分解の形態を示した。以上の結果から、*UCP1* を欠いたブタの白色脂肪細胞においても褐色化を誘導できることを明らかにした。

マンガリツァを用いた生体研究では、商業用品種と異なるマンガリツァ特異的な脂肪組織における発達の違いを明らかにした。さらに、夏季および冬季におけるマンガリツァの筋肉と脂肪における熱産生に関連する遺伝子の発現を比較した。マンガリツァの筋肉は、冬季において *ATP2A1* および *SLN* の遺伝子発現が夏季と比較し有意に増加した。マンガリツァの脂肪では、冬季において *PGC-1 $\alpha$* 、*UCP1*、*UCP2*、および *UCP3* の遺伝子発現が夏季と比較し有意に増加した。したがって、マンガリツァは筋肉と脂肪の両組織において非ふるえ熱産生により冬季に体温を維持していることが示された。以上の結果から、本実験はマンガリツァの耐寒性を獲得する分子メカニズムを解明した。さらに、マンガリツァの脂肪における研究結果は、ブタの脂肪初代培養で観察された褐色化時の遺伝子動態と一致し、冬季に褐色化している可能性が示された。

本研究結果は、*UCP3* による褐色化およびブタ品種による季節に伴った褐色化の可能性を示し、ヒトの肥満治療など医学に寄与する重要な研究となった。

以上の結果から、本審査委員会は、本論文が博士（農学）の学位を授与するに十分な内容であると判断した。

## 学位論文の基礎となる学術論文

### 主論文

1. Kim S., Nakayama C., Kondoh D., Okazaki T., Yoneda E., Tomita K., Sasaki M., Muranishi Y. (2023) Seasonal adaptation of Mangalica pigs in terms of muscle morphology and metabolism. *Anatomia Histologia embryologia*. 53(1)
2. 金 翔宇, 谷口 航輝, 佐々木 真彩, 山根 慧悟, 高谷 龍馬, 小出 明里, 米田 英里奈, 萩谷 功一, 佐々木 基樹, 村西 由紀 (2022) マンガリツァの発育に伴う脂肪形成と脂質関連遺伝子の特徴に関する研究. 北海道草地畜産学会, 10(1): 39-46

### 参考論文

1. Kim S., Yoneda E., Tomita K., Kayano M., Watanabe H., Sasaki M., Shimizu T., Muranishi Y. (2023) LPS Administration during Fertilization Affects Epigenetic Inheritance during Embryonic Development. *Animals*. 13(7): 1135
2. 佐藤 心, 小出 明里, 金 翔宇, 山根 慧悟, 米田 英里奈, 近藤 大輔, 渡部 浩之, 佐々木 基樹, 村西 由紀 (2022) 北海道和種馬の春機発動における精巣発達に関する研究. *Hippophile*. 92: 1-8
3. 福井 豊, 金 翔宇, 村西 由紀 (2022) ラパ AI (子宮内人工授精) 記: その 6. シープジャパン, 112: 25-37
4. 山根 慧悟, 佐々木 真彩, 金 翔宇, 小出 明里, 米田 英里奈, 近藤 大輔, 渡部浩之, 佐々木 基樹, 村西 由紀 (2022) マンガリツァ新生仔における精巣および精巣上体の組織学的評価と遺伝子発現解析. 北海道草地畜産学会, 10(1): 25-37

(別紙2)

最終試験の結果の要旨	
専攻	畜産科学専攻
氏名	金翔宇
審査委員署名	主査 西田 武弘 副査 室井 喜景 副査 手塚 雅文 副査 アスタ トマス 副査 渡部 浩元
実施年月日	令和6年 1月 23日
試験方法 (該当のものを○で 囲むこと)	<input checked="" type="checkbox"/> 口頭・筆記
要 旨	
<p>本審査委員会（上記主査および副査4名）は、令和6年1月23日に帯広畜産大学畜産学部において、本学位申請者に対して学位論文の内容について説明を求め、その後、口頭により本審査委員及び出席者から論文の内容と関連事項について質問が出された。これらの質問や意見に対して、申請者からいずれにおいても満足のいく回答が得られた。よって本審査委員会は、同人を帯広畜産大学大学院畜産学研究科畜産科学専攻博士後期課程修了の学力と見識を有するものと認め、博士（農学）の学位を与えるに十分な資格が有するものと判定した。</p>	