

## 論文の内容の要旨

氏名：藤田 裕

博士の専攻分野の名称：歯学（博士）

論文題名：Differentiated embryo chondrocyte 1 (DEC1) is a novel negative regulator of hepatic fibroblast growth factor 21 (FGF21) in aging mice

(Differentiated embryo chondrocyte 1 が示す老化マウス肝臓における Fibroblast growth factor 21 の抑制作用)

老化は生体において生理的機能が不可逆的に低下する過程である。時計遺伝子の一つである Differentiated embryo chondrocytes 1 (DEC1) は、ベーシック・ループ・ヘリックス転写因子の一つであり、概日リズム、細胞増殖、細胞分化、アポトーシスおよび細胞老化と関係し、老化マーカーとして広く知られている。老化による概日リズム障害は、全身的な影響を及ぼすため、概日リズムのメカニズムを解明することは極めて重要である。また、高齢者では、肝機能の低下により薬物動態に大きな影響を及ぼす。肝臓は薬物代謝の主要臓器であり、薬物投与においては注意を要する。

一方、老化と酸化ストレスは深く関係し、酸化ストレスは生活習慣病などの様々な疾患の発症や進展に関与し、肝疾患にも深く関係している。肝細胞内ではミトコンドリアなどの種々の小器官で様々な酵素反応が行われることによって多量の活性酸素が産生され、肝臓組織を破壊する。線維芽細胞増殖因子 Fibroblast growth factor 21 (FGF21) は、肝臓で高度な発現を示す内分泌 FGF の一つである。FGF21 は肝機能の改善や長寿に関連しているが、老化した肝臓における FGF21 の機能については不明な点が多い。

本研究では、老化した肝臓における FGF21 のメカニズムを企図とした。老化モデルマウスを作製し、若齢（3 ヶ月齢）および老齢（24 ヶ月齢）の C57BL/6 マウス肝臓組織および DEC1 ノックアウトマウス肝臓組織を用いて、免疫組織化学染色法、リアルタイム PCR 法およびウエスタンブロッティング法、さらにヒト肝癌由来細胞株である HepG2 細胞を用いて遺伝子導入法を行い、DEC1 と FGF21 との関係について解析した。

結果は以下に示すとおりである。

### 1. 免疫組織化学染色法

#### 1) 老化の評価

老化マーカーの  $\beta$ -galactosidase、DEC1 および p16 は、3 ヶ月齢肝臓組織と比較して 24 ヶ月齢の肝臓組織では門脈および肝細胞にて発現増加を認めた。一方、DEC1 ノックアウトマウス肝臓組織ではいずれも高い発現は認められなかった。

#### 2) 酸化ストレスの評価

酸化ストレスマーカーの Superoxide dismutase 1 (SOD1) および Glutathione peroxidase 1 (GPx1) では、24 ヶ月齢肝臓組織において、SOD1 は血管周囲、GPx1 は肝細胞中心にて発現増加を認めた。また、24 ヶ月齢肝臓組織では多くの脂肪沈着が認められたが、DEC1 ノックアウトマウスの肝臓組織では酸化ストレスマーカーの高い発現および脂肪沈着は認められなかった。

#### 3) FGF21 とストレスシグナルとの関係

FGF21、活性化転写因子 Activating Transcription Factor 4 (ATF4) および細胞外シグナル調節キナーゼ Extracellular Signal-related Kinase (ERK) は、3 ヶ月齢肝臓組織では門脈周囲に発現増加を認めたが、24 ヶ月齢肝臓組織では発現低下が認められた。

### 2. *In vivo*、*In vitro* におけるリアルタイム PCR 法およびウエスタンブロッティング法

1) マウス肝臓組織における DEC1、FGF21、ATF4 の mRNA およびタンパク発現解析では、24 ヶ月齢肝臓組織では DEC1 の発現増加を示したが、FGF21、ATF4 は発現低下を示した。24 ヶ月齢 DEC1 ノックアウトマウス肝臓組織では、FGF21 および ATF4 は 24 ヶ月齢肝臓組織と比較して発現増加を示した。

2) HepG2 細胞に遺伝子導入を行い、DEC1 過剰発現によって FGF21、ATF は発現低下を示した。一方、DEC1 siRNA による RNA 干渉によって、FGF21、ATF4 は発現増加を示した。

時計遺伝子の DEC1 は線維芽細胞増殖因子の FGF21 発現を抑制させるという、新しい調節機能を有する一つの因子であることが明らかとなった。