

## 論文内容の要旨

報告番号		氏名	内山 智子
Intermittent Hypoxia Up-Regulates <i>CCL2</i> , <i>RETN</i> , and <i>TNF<math>\alpha</math></i> mRNAs in Adipocytes via Down-regulation of miR-452.  (間歇的低酸素被曝は、脂肪細胞において micro RNA-452 の発現低下を介して <i>CCL2</i> , <i>Resistin</i> , <i>TNF<math>\alpha</math></i> の発現上昇を引き起こす)			

### 論文内容の要旨

【背景と目的】睡眠時無呼吸症候群(Sleep Apnea Syndrome: SAS)は2型糖尿病の危険因子である。我々は、SASが全身の細胞にもたらす間歇的低酸素(Intermittent Hypoxia: IH)に着目し、膵 $\beta$ 細胞、肝細胞、神経細胞等を用いてIH曝露がインスリン抵抗性をもたらすメカニズムの検討を行ってきた。今回、脂肪細胞から分泌されるアディポカインに着目し、IH曝露によるアディポカイン mRNA の発現及びその調節機構について検討した。

【方法】マウス前駆脂肪細胞 3T3-L1 の成熟脂肪細胞への分化誘導を行い、非分化誘導細胞と分化誘導後の細胞、さらにヒト脂肪細胞 SW872 を用いた。IH群は[5%CO<sub>2</sub>・1%O<sub>2</sub>:5分、5%CO<sub>2</sub>・21%O<sub>2</sub>:10分]を1サイクルとして24時間培養を行い、対照群(Normoxia群)は5%CO<sub>2</sub>・21%O<sub>2</sub>で同時間培養を行った。曝露終了後、種々のアディポカイン[Leptin, Adiponectin (Adip), Resistin (Retn), TNF $\alpha$ , IL-6, Ccl2]の mRNA 発現をリアルタイム RT-PCR 法で測定した。また、培地の RETN, TNF $\alpha$ , CCL2 を ELISA 法で定量した。転写活性を測定するため、*RETN*, *TNF $\alpha$* , *CCL2* 遺伝子の 5' 上流を luciferase 遺伝子と連結し、SW872 細胞に導入後、IH曝露を行い測定した。また、遺伝子発現調節に関わる可能性のある micro RNA (miR)量をリアルタイム RT-PCR 法で測定した。

【結果】①非分化誘導 3T3-L1 では IH 群で有意に *Ccl2* mRNA 発現が増加した。②分化誘導後 3T3-L1 で IH 群では有意に *Retn*, *TNF $\alpha$* , *IL-6*, *Ccl2* mRNA 発現が増加した。③SW872 では IH 群で有意に *RETN*, *TNF $\alpha$* , *CCL2* mRNA 発現が増加した。④IH群で培地の RETN, TNF $\alpha$ , CCL2 が増加していた。⑤*RETN*, *TNF $\alpha$* , *CCL2* 遺伝子の転写活性は IH で上昇しなかった。⑥*RETN*, *TNF $\alpha$* , *CCL2* mRNA と相補性を有する miR を *in silico* で検索した結果、miR-452 が候補と考えられた。⑦IH群では、有意に miR-452 発現量が低下していた ( $P=0.0458$ )。⑧miR の合成に関与する *DROSHA* や *DICER* の mRNA 量には有意な変化は認められなかった。⑨miR-452 mimic の導入により、IH群で観察された *RETN*, *TNF $\alpha$* , *CCL2* mRNA 発現量の増加がみられなくなった。

【考察】SAS 患者の脂肪細胞では IH によって、miR-452 が減少し、miR-452 を介した *RETN*, *TNF $\alpha$* , *CCL2* mRNA 分解機構が減弱し、RETN, TNF $\alpha$ , CCL2 の発現上昇が起こる可能性が考えられた。