

## ウシの代謝・内分泌ネットワークにおける ケメリンの分泌調節作用の解明

東北大学大学院農学研究科・准教授 盧 尚建

\*\*\*\*\*

### ■ 目的

ケメリンは新規のアディポカインとして、単胃動物や反芻動物の脂肪組織で様々な実験がなされている。脂肪組織以外でも発現の高い肝臓組織においても実験はなされてきたが、そのほとんどはヒトやマウスなどの単胃動物であり、ウシなどの反芻動物を対象とした研究報告はない。そこで、本研究では仔ウシの肝臓組織と培養肝細胞を用いてどのような因子でケメリンの遺伝子およびタンパク質の発現が調節されているかの検討を目的とした。

### ■ 方法

90日齢に離乳予定の黒毛和種牛の20日齢および80日齢時に肝臓バイオプシーを行い、得られた肝臓組織からケメリン、PC (pyruvate carboxylase) および ACC (acetyl-CoA carboxylase) の遺伝子発現量を測定した。1, 3, 5月齢の黒毛和種およびホルスタイン種の仔ウシを用い、肝臓組織および初代培養肝細胞を単離した。初代培養肝細胞はプロピオン酸 (0.1 ~ 10mM)、インスリン (1, 10, 100nM)、パルミチン酸およびオレイン酸 (各 25, 50, 100, 250 $\mu$ M) で24時間刺激を行い細胞を回収した。得られた肝臓組織および初代培養肝細胞のサンプルからケメリン、PC および ACC の遺伝子発現量を測定した。また、タンパク質抽出液よりウェスタンブロット法や初代培養肝細胞の免疫蛍光染色法によりケメリンのタンパク質発現を測定した。遺伝子発現はQ-PCRで解析した。

### ■ 結果および考察

ウシの肝臓組織において20日齢から80日齢にかけてケメリンの遺伝子発現に上昇傾向が見られ ( $P < 0.10$ )、PC の遺伝子発現は有意に抑制された ( $P < 0.05$ )。また離乳前後の肝臓組織においてはケメリンの遺伝子発現に有意な差は見られなかったが、離乳後にケメリンの遺伝子発現は低い値を示した ( $P = 0.12$ )。

ウシから単離した初代培養肝臓細胞において、免疫蛍光染色によりケメリンタンパク質は細胞質全体に分布していることが確認された。プロピオン酸刺激を行った時にケメリンの遺伝子発現はコントロールと比較して黒毛和種牛で1月齢では有意に抑制され、5月齢では10mMの時に有意に上昇した。また、ホルスタイン種において3月齢でプロピオン酸の濃度依存的に発現が上昇した。PCの遺伝子発現は黒毛和種3月齢および5月齢では有意に上昇した。また、ACCの遺伝子発現は黒毛和種1月齢で有意に上昇した。インスリン刺激を行った時、黒毛和種牛において1月齢と3月齢でケメリンの遺伝子発現量は有意に抑制された。長鎖脂肪酸であるパルミチン酸の刺激に対して、黒毛和種牛では3月齢においてパルミチン酸250 $\mu$ Mでケメリンの遺伝子発現が上昇した。また、オレイン酸の刺激に対しては3月齢においてオレイン酸100 $\mu$ M、250 $\mu$ Mで有意に抑制された。3月齢のホルスタイン種においてはパルミチン酸、オレイン酸刺激によりケメリンの遺伝子発現量が有意に上昇した。

### ■ 結語

以上の結果から、肝臓組織においてケメリンの遺伝子発現に変化を与える要素は成長であり離乳にはないよう思えるが、培養肝細胞の刺激実験によって離乳前後で糖代謝の基質および脂質合成の生産物がケメリンの遺伝子発現に影響を与えていることが判明した。よって、離乳および成長に伴う反芻動物の生理機構の変化がケメリンの遺伝子発現に影響を与えている可能性が示唆された。