

氏名(本籍)	おかむらともお 岡村智雄(新潟県)		
学位の種類	博 士 (医 学)		
学位記番号	博 甲 第 4413 号		
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	The role of Drosophila ATF-2 in lipid metabolism. (脂質代謝におけるショウジョウバエ ATF-2 の役割)		
主 査	筑波大学教授	理学博士	石 井 哲 郎
副 査	筑波大学助教授	医学博士	内 田 和 彦
副 査	筑波大学助教授	薬学博士	伊 東 進
副 査	筑波大学講師	博士(工学)	奥 脇 暢

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

### 目 的：

転写因子 CREB/ATF ファミリーの中で ATF-2 は、細胞のストレス応答、細胞増殖停止やアポトーシスに関与する事が知られている。ATF-2 はエネルギー代謝に必須な肝臓や脂肪組織などの組織に発現しており、動物培養細胞を用いた研究から ATF-2 が糖や脂質の代謝に必須な遺伝子の転写を制御する事が報告された。しかしながら、ATF-2 の完全機能欠失マウスは胎便吸引症候群様の症状により出生直後に死亡するため、個体における ATF-2 の役割はまだ証明されていない。そこで、組織特異的に欠失するショウジョウバエの実験系を用いて ATF-2 の脂質代謝における役割を解明することを研究の目的とした。

### 対象と方法：

ショウジョウバエ ATF-2 (dATF-2) クローンを単離し、*in vitro* または *in vivo* キナーゼ解析、CRE 配列に接続したルシフェラーゼ遺伝子によるレポーター解析、胚を用いた遺伝学的相互作用解析等を行い dATF-2 が哺乳動物 ATF-2 と同様の性質を示すかどうか検討した。ショウジョウバエの系を用いて組織特異的かつ誘導的に dATF-2 の dsRNA (double strand RNA) を発現し、RNAi (RNA interference) により dATF-2 の発現抑制ができるトランスジェニックハエ(RNAi ハエ)を作成した。ハエの体全体、脂肪体(哺乳動物の肝臓と脂肪組織の機能を併せ持った昆虫の器官)及び筋肉で、dATF-2 の発現抑制を行い飢餓条件下での生存率を調べた。更に dATF-2 の RNAi ハエを用いて、体重、細胞の大きさ、脂肪体に貯蔵されているトリグリセリド (TG) レベル、体液中糖質レベル等の解析を行った。

### 結 果：

dATF-2 は JNK によるリン酸化は受けなかったが、ホモダイマーの形成、CRE 配列への結合、p38 MAPK によるリン酸化と転写活性化能の増加、浸透圧ストレスに対する応答等に関して哺乳動物 ATF-2 と似た生化学的性質を示した。ハエのエネルギー代謝で中心となる脂肪体と筋肉で組織特異的に ATF2 の発現を抑制する RNAi ハエを作成した。飢餓条件下における生存率を解析したところ、脂肪体特異的に

dATF-2 を欠失させた場合に生存率がコントロールに比べて低下したのに対して、筋肉特異的な dATF-2 の欠失では生存率に変化は観察されなかった。飢餓条件下で体重の測定と脂肪体細胞の大きさの計測を行ったが、dATF-2 欠失とコントロールとの間で有意な差はなかった。次に脂肪体のトリグリセリド (TG) レベルや体液中の糖質レベルを測定した。その結果、dATF-2 の欠失個体において TG レベルの有意な低下が観察された。この TG レベル低下の原因となるターゲット遺伝子を探したところ、TG 生合成の律速酵素 PEPCK (phosphoenolpyruvate carboxykinase) の発現が約 70% 低下していた。PEPCK は糖新生だけでなく、TG の原料となるグリセロール-3-リン酸の生合成に必要とされる酵素である。次に、*dPEPCK* のプロモーター領域を用いてレポーター解析を行ったところ、dATF-2 による *dPEPCK* の転写活性化には CRE の回文の半分の配列 (同遺伝子のプロモーター領域には 6ヶ所存在する) と p38 MAPK による活性化が必要である事を明らかにした。

#### 考 察：

これまで培養細胞を用いた研究から、ATF-2 がエネルギー代謝において役割を持つ可能性が示唆されていたが、本研究で初めて生体において ATF-2 が脂質代謝において機能する事を証明した。また、哺乳動物の培養細胞を用いた研究から ATF-2 が PEPCK の転写制御を行うという報告があるので、今回ハエで観察された dATF-2 による TG 生合成の制御がヒトやマウスにおいても存在する可能性がある。*dPEPCK* のプロモーター領域に完全な CRE 配列でなく半分の配列しかない原因としては、dATF-2 が他の転写因子とヘテロダイマーを形成して機能している可能性が示唆される。

#### 結 論：

ショウジョウバエ ATF-2 は、JNK によるリン酸化を受けないという点以外は哺乳動物 ATF-2 と同様の性質を示した。dATF-2 は脂肪体において、*dPEPCK* 遺伝子の転写制御を介して TG の生合成に寄与している。dATF-2 による *dPEPCK* 遺伝子の転写活性化には、p38 MAPK によるリン酸化が必要である。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、ショウジョウバエを用いて組織特異的に転写因子 ATF-2 を欠失する実験系を用いて ATF-2 が脂肪体のトリグリセリド合成において律速となる酵素 PEPCK の転写活性化に関与することを証明した優れた研究である。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。