

氏名(本籍)	武内謙憲(埼玉県)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博甲第4761号		
学位授与年月日	平成20年3月25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	In vivo promoter analysis on refeeding response of hepatic sterol regulatory element-binding protein-1c expression (肝 SREBP-1c (sterol regulatory element-binding protein-1c) 遺伝子発現の摂食応答の <i>in vivo</i> プロモーター解析)		
主査	筑波大学教授	医学博士	浦山 修
副査	筑波大学教授		五十嵐 徹也
副査	筑波大学講師	博士(医学)	鈴川 和己
副査	筑波大学講師	博士(理学)	小林 麻己人

論文の内容の要旨

(目的)

Sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c) はトリグリセライド合成系の諸酵素の活性を調節している転写因子であり、摂食後に肝臓や脂肪組織において顕著に発現が誘導される。この摂食応答の転写調節のメカニズムを解明するために、ルシフェラーゼ・レポーター遺伝子を挿入したアデノウイルス・ベクターを作製し、生体内の発光を検出することのできる IVIS Imaging system (*in vivo* realtime 画像解析システム) を使用して *in vivo* の臓器を用いたプロモーター解析方法を確立した。

(対象と方法)

摂食応答の転写調節のメカニズムの解明の際に、初代培養細胞を含む *in vitro* の培養細胞系のプロモーター解析は困難であることが判明したので、*in vivo* の臓器解析系を考案した。肝細胞及び脂肪細胞への遺伝子導入については、トランスジェニックマウスを作製する方法とアデノウイルス・ベクターによる遺伝子導入法について検討した。まず SREBP-1c 遺伝子上流の調節領域(プロモーター/エンハンサー領域、転写開始点から約 2.2kbp 上流)をクローニングした後、ルシフェラーゼ・レポーター遺伝子上流に置くコンストラクトのプラスミドを調製し、受精卵に注入することでトランスジェニックマウスを作製した。また、そのコンストラクトを挿入したアデノウイルス・ベクターを作製し、マウスの静脈から投与し肝臓にレポーター遺伝子を導入した。その後のプロモーター活性の調節の研究には、実際的である後者を供した。

(結果・考察)

マウス SREBP-1c 遺伝子の転写開始点上流約 2.2kbp の 5' 上流プロモーター領域から数百塩基ずつ欠失させていき、ルシフェラーゼ・レポーター遺伝子に繋げたアデノウイルス・ベクターを作製し、摂食応答を測定したところ、LXR (Liver X receptor, *in vitro* において SREBP-1c のプロモーター活性を上昇させることが知られている) の結合する 2 つの LXRE を含む約 100 bp の領域に摂食応答に重要な配列のあることが明らかになった。さらに、LXR に対する SiRNA の発現系や様々なコンストラクトのルシフェラーゼ・レポーター

解析用アデノウイルス・ベクターを作製し検討を行い、2つの LXRE のみでなくその近傍にある配列も重要であることが示された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

著者は、SREBP-1c の発現調節の解明のために、*in vivo* の実験系が重要であることを多数のウイルスベクターのコンストラクトと imaging system の活用によって示した。この研究成果は、SREBP-1c による脂質合成の理解に欠かせないものであり、高く評価できる。本研究を基礎にさらなる進展が期待される。

なお、提出論文は「Takeuchi, Y. et al. *Biochim Biophys Res Commun* 363, 329,2007」であるが、審査委員会ではその後の研究についても説明及び質疑応答がなされ、その追加部分を含めて審査が行われた。

学位論文審査委員会において審査委員全員出席のもとに最終試験を行い、論文について説明をもとめ、関連事項について質疑応答を行った結果、審査委員全員によって合格と判定された。

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。