

| | | | |
|---------|--|--------|--------|
| 氏名 | 志鎌 明人 | | |
| 学位の種類 | 博士 (医学) | | |
| 学位記番号 | 博甲第 7858 号 | | |
| 学位授与年月 | 平成 28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 Ad-luc と TFEL scan を用いた 脂質代謝関連遺伝子の転写調節機構の解明 | | |
| 主査 | 筑波大学教授 | 博士(医学) | 野口 恵美子 |
| 副査 | 筑波大学教授 | 医学博士 | 住田 孝之 |
| 副査 | 筑波大学准教授 | 博士(医学) | 福田 綾 |
| 副査 | 筑波大学准教授 | 博士(医学) | 加治 優一 |

論文の内容の要旨

(目的)

近年、全世界的に生活習慣病が増加の一途をたどっており、これらは動脈硬化性疾患とも深く関連し、その根源には内臓脂肪中心の肥満があると考えられている。筑波大学内分泌代謝・糖尿病内科研究室では、以前より体内での中性脂肪合成系の調節機構の研究を続け、肝臓における中性脂肪合成系の調節に SREBP-1 と呼ばれる転写因子が重要な働きをしていることを明らかにしてきた。

一方で、肝臓における SREBP-1c の活性は、mRNA の発現量により調節されており、摂食時に顕著な発現上昇が見られるが、摂食という生体特有の現象を in vitro の系で解析するのは困難であった。そこで筑波大学内分泌代謝・糖尿病内科研究室では、摂食での転写調節メカニズムを生きたマウスを用いて詳しく解析するため、in vivo Ad-luc 法というプロモーター解析手法を確立し、生体における転写調節メカニズムの詳細な解析を可能にした。この解析技術と、マウスの転写因子発現プラスミドライブラリー TFEL (Transcription Factor Expression Library) を用いて、様々な糖・脂質代謝関連遺伝子の転写調節メカニズムの解析を進めている。

Malic enzyme 1 (ME1) はリンゴ酸をピルビン酸に変換する酵素であり、脂肪酸伸長反応に必要な NADPH 産生を担っており、de novo lipogenesis において重要な遺伝子である。

本研究では、in vivo Ad-luc 法と TFEL scan 法を用いた摂食による Malic enzyme 1 遺伝子の転写調節機構の解析を行った。

(対象と方法)

転写因子発現プラスミドライブラリーTFEL とは、マウスのゲノム上に存在する転写因子の大多数を集めた発現プラスミドライブラリーである。TFEL を用いた trans 因子発現クローニング法 (TFEL scan 法) により、ME1 遺伝子プロモーター活性化因子の探索を行った。その活性化因子に対して、ルシフェラーゼレポーターアッセイ、ゲルシフトアッセイを用いて、発現誘導を制御する DNA 配列の解析を行い、また in vivo Ad-luc 法を用いて、摂食による ME1 遺伝子の転写調節機構の解析を行った。

(結果)

TFEL scan 法により、転写因子 Nrf2 及び SREBP-1 が ME1 遺伝子のプロモーターを活性化することを見出した。また、ルシフェラーゼレポーターアッセイ、ゲルシフトアッセイ、in vivo Ad-luc 法を用いた解析にて Nrf2, SREBP-1 が ME1 プロモーターにそれぞれ結合すること、更に摂食での ME1 遺伝子発現制御にその 2 者が関与することを明らかにし、その中で SREBP-1 が Nrf2 を正に制御する可能性を見出した。

(考察)

本研究において、TFEL scan 法により、転写因子 Nrf2 及び SREBP-1 が ME1 遺伝子のプロモーターを活性化することを見出した。また、ルシフェラーゼレポーターアッセイ、ゲルシフトアッセイ、in vivo Ad-luc 法を用いた解析にて Nrf2, SREBP-1 が ME1 プロモーター領域に結合すること、更に摂食での ME1 遺伝子発現制御にその 2 者が関与することを明らかにした。また Hep3B 細胞における LXR アゴニスト T0901317 添加にて Nrf2 核タンパク質及び Nrf2 ターゲット遺伝子群の発現上昇を来す機序に関しては、その機序に関して未解明の部分が多いが、今回の結果には栄養制御のキーレギュレーターである SREBP-1 と酸化ストレス防御のキーレギュレーターである Nrf2 の相互関係を解明する糸口があると考えた。SREBP-1 が Nrf2 を正に制御するメカニズムに対する、志鎌氏の作業仮説としては、SREBP-1 が SQSTM1/p62 エンハンサー領域に結合し、p62 の転写活性の上昇を介して、Nrf2 のオートファジー経路による分解が抑制され、Nrf2 が核内へ移行、蓄積出来るようになるプロセスを想定している。今後は SQSTM1/p62 エンハンサー領域の制御機構の解明を含め、更なる検討を続けていく予定である。

審査の結果の要旨

(批評)

志鎌氏は、所属する研究室が独自に有する技術である TFEL scan 法により栄養関連遺伝子の転写に関する研究を精力的に行い、転写因子 Nrf2 及び SREBP-1 が ME1 遺伝子のプロモーターを活性化することを見出した。今回の結果は栄養制御と酸化ストレス防御の相互関係の解明につながる研究として新規性の高い業績として評価される。

平成 28 年 1 月 6 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について口頭発表後、質疑応答を行い、最終試験を行った。志鎌氏が十分な研究を行いその内容を理解していること、本研究の新規性について確認した。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

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