論文の内容の要旨

論文題目　SREBP-1 による脂肪酸合成系遺伝子群の転写調節機構

氏名　雨宮　三千代

SREBP(sterol regulatory element binding protein；ステロール応答エレメント結合タンパク)は、コレステロールや脂肪酸合成系酵素遺伝子の発現を調節する膜結合型の転写因子であり、３つのアイソフォームから成る（SREBP-1a、-1c、-2）。

核型SREBP-1a、-1c、-2をそれぞれ高発現させたトランスジェニックマウス（Tg）の研究によれば、導入した遺伝子のアイソフォームの違いにより肝臓では脂肪酸とコレステロールの合成に違いがみられた。SREBP-1a Tgマウスはコレステロール、脂肪酸合成が増加し、著しい脂肪肝を呈したが、SREBP-1c Tgマウスでは脂肪酸合成が、SREBP-2 Tgマウスではコレステロール合成が亢進した。

肝臓のコレステロール合成系およびリポジェニック酵素群のmRNAの発現も同様な傾向を示した。SREBP-1a Tgマウスはコレステロール合成およびリポジェニック酵素群のmRNA量が共に増加したが、SREBP-2 Tgマウスではコレステロール合成系酵素の発現が顕著に増加した。SREBP-1c Tgマウスは発現量は低いが、リポジェニック酵素群のmRNAが野生型マウスより増加した。

また、マウスを絶食後、高炭水化物食を再摂食させた実験では、肝臓ではSREBP-2の発現に変化がなかったのに対し、SREBP-1cの発現は著しく増加し（オーバーシューティング）、これに伴いFAS、ACC、SCDの発現も高まった。

以上の結果は、肝臓ではSREBPはアイソフォームの違いにより機能分担しており、SREBP-2はコレステロール合成系遺伝子の、SREBP-1は脂肪酸合成系遺伝子の転写活性を制御している可能性を示唆する。

肝臓におけるコレステロール合成の制御因子がSREBP-2であることは既にGoldsteinや Brown により詳細に解析されている。しかし、栄養代謝をシグナルとする SREBP-1cの活性化機構は研究の途上にある。そこで我々は、細胞内の余剰な糖を脂肪酸や中性脂肪合成へと導く転写調節機構を理解するためにリポジェニック酵素の包括的な転写因子であるマウスSREBP-1cプロモーターの解析を行った。

マウス **SREBP-1c** 遺伝子のプロモーター解析

マウス SREBP-1c プロモーター領域を 2600bp までシークエンスし、種々の長さのルシフェラーゼコンストラクト（2600,550,350,150,90,85-Luc）を発現ベクターとして作製した。プロモーターの基本転写活性領域を特定するため、作製したルシフェラーゼコンストラクト、較正用 SV-β-ガラクトシダーゼプラスミドを共に 293 細胞に遺伝子導入

したところ、-90bp 付近にある SRE-complex（逆向き CAT-box,E-box,SRE3 配列,GC-box）が基本転写活性を形成することが明らかとなった。

次に SREcomplex（90bp-Luc）の各配列の欠損体、変異体を作製し、SREBP-1a に対する転写活性を比較したところ、SRE3 配列が SREBP の標的配列であり、逆向き CAT-box 欠損または変異で活性は完全に消失し、GCbox 変異では著しく活性が低下した。また、SREBP-1a,-1c,-2 のいづれも SREcomplex を同程度に活性化し、アイソフォームによる特異性の違いはみられなかった。

ゲルシフト法により各配列に結合する因子を同定したところ、SRE3 配列には SREBP が、GC-box には内因性 SP1,SP3 が、E-box には内因性 USF1,USF2 が結合することを確認したが、逆向き CAT-box に結合する因子は同定できなかった。

SREBP は細胞内ステロールの低下により、切断活性が上昇し、膜結合型から核型に移行することが知られている。しかし、本プロモーターの-400～-150bp には、ステロールで活性が誘導される領域の存在が明らかとなった。この領域は共同研究者である吉川らにより同定され、LXR/RXR(Liver X Receptor/Retinoid X Receptor)の標的配列 LXREa と LXREb であることが判明した。

以上の結果から、本研究ではマウス SREBP-1c プロモーターのステロールによる相異なる調節機構が明らかとなった。低ステロール下では内因性 SREBP の誘導により SREBP 自身が転写を活性化する「ポジティブフィードバック機構」が働き、一旦 SREBP が細胞内で発現されると、膜切断が続く限り自らの遺伝子を作り出すオートループ機構が作用する。これは絶食から高炭水化物食再食時に、マウスの肝臓では脂肪酸の合成が著しく亢進する現象を支持するものである。一方、ステロール存在下ではオキシステロールで活性化される LXR/RXR 系が作用する。