

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 平野 祐子

本論文は、脂質代謝を包括的に制御する転写調節因子 SREBP の翻訳後修飾による機能調節に関する研究であり、2 章からなる。

コレステロールは、細胞膜を構成するとともに、胆汁酸やステロイドホルモンなどの生理活性物質の前駆体となるなど生体に必要不可欠な成分である。しかし、その摂取過多は高脂血症、肥満症といった生活習慣病を招く。細胞は厳密にそのコレステロール量を認識して、コレステロール生合成と血中からの取り込みをフィードバック制御する。転写因子 SREBP はこの過程に関与しており、コレステロールと脂肪酸代謝関連酵素の転写を制御することで包括的に脂質代謝を調節することが明らかにされてきた。SREBP は、コレステロールにより厳密に調節されたプロセッシング機構により活性化されるが、申請者はその後の転写活性化や代謝分解の過程において、その調節が反映されることを約束する機構が存在するのではないかと考え、活性型 SREBP の翻訳後修飾について検討し、その新たな調節機構についての知見を得るべく以下の研究を行った。

第一章においては、選択的な分解のシグナルとなるユビキチン化とそれに続くプロテアソームによる分解について検討した。活性型 SREBP は、短寿命なタンパク質であるが、プロテアソーム阻害剤である ALLN を添加することで安定化されることが報告されており、ユビキチン-プロテアソーム系により分解されることが予期されていた。そこで、活性型 SREBP の分解機構及び分解が転写活性制御に如何に関与しているかについて検討した。

その結果、活性型 SREBP は核内においてステロールの影響を受けず構成的にユビキチン化修飾を受けてプロテアソームにより代謝回転されることが明らかになった。さらに、プロテアソーム阻害剤や変異型ユビキチンにより内因性 SREBP は核内に安定化しその標的遺伝子の転写を亢進したことから、分解が転写調節に関わる可能性が示された。また、SREBP 特異的なユビキチン化の機構を明らかにするために SREBP の *in vitro* ユビキチン化アッセイ系を構築することに成功し、活性型 SREBP のユビキチン化には E2 として Ubc4 又は UbcH5c が関わり、SCF 型 E3 複合体によりユビキチン化されることを示した。

第二章では、SUMO (small ubiquitin-like modifier) -1 について検討した。SUMO-1 化修飾は、転写因子などの調節因子の特異的な活性を調節する一般的な機構であると考え

られている。SUMO-1 は SUMO-1 化コンセンサス配列 (I/V/L)KX(D/E) に存在するリジン残基に結合するが、SREBP-1 には 4 箇所、SREBP-2 には 2 箇所のコンセンサス配列が存在することから、活性型 SREBP が SUMO-1 による修飾を受け、その SUMO-1 化が転写活性や代謝分解に影響を及ぼすかについて検討した。

その結果、内因性及び外因性 SREBP が SUMO-1 化修飾を受けることを明らかにした。変異体を用い解析により、活性型 SREBP-1 では 123 番目と 418 番目のリジン残基が、活性型 SREBP-2 では 464 番目のリジン残基が、Ubc9 依存的に SUMO-1 を共有結合することを同定した。機能解析において、変異型 SUMO-1 の導入及び SREBP の SUMO-1 化部位変異体を発現させた場合に、内因性および外因性の SREBP は標的遺伝子の転写を亢進したことから、活性型 SREBP の SUMO-1 化はその転写活性を抑制することが示唆された。SUMO-1 化は、ユビキチン化と同様にリジン残基に結合するが、パルスチェイス実験と *in vitro* ユビキチン化アッセイにより SREBP の SUMO-1 化は、ユビキチン-プロテアソーム系による分解に影響せず、さらに、内因性の活性型 SREBP を欠く M19 細胞を用いた実験から、細胞内ステロール量により調節を受けないと示された。

これまで、SREBP の転写活性調節にはプロセッシングのみに焦点が当てられてきたが、本研究では活性型 SREBP の機能発現を核内における翻訳後調節という新たな視点から評価した。細胞内の重要な生理反応、例えば、発生、免疫応答や細胞分裂などは、それに関わる種々のタンパク質の翻訳後修飾により調節されている。したがって、活性型 SREBP の様々な修飾による調節機構を解明することは脂質代謝に関わる生命現象の理解にもつながるものである。

本論文において活性型 SREBP は、ユビキチン-プロテアソーム系による分解を介した量的調節と SUMO-1 化による転写活性抑制を介した質的調節という 2 つの異なる調節を受けることが示された。このことは、コレステロールにより調節された活性化が厳密に標的遺伝子の転写に反映されることを約束する機構を明らかにしたといえ、SREBP の調節機構の理解に貢献すると思われる。また脂質代謝の理解と確実な制御への応用にも寄与することが期待される。よって、審査員一同は、本論文が、農学博士の学位論文として価値あるものと認めた。