

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 井 前 正 人

近年、栄養素による遺伝子発現制御機構が存在することが明らかになってきたが、アミノ酸欠乏による遺伝子発現制御機構は脂質や炭水化物など他の栄養素に比べて研究が進んでいない。これまで少数ながらアミノ酸欠乏による遺伝子発現制御に関与する転写因子が示されてきたが、十分な知見は得られていない。そこで筆者はアミノ酸欠乏により遺伝子発現が顕著に増加する IGFBP-1 遺伝子に注目した。当研究室で行われた IGFBP-1 遺伝子プロモーターの解析により 5' 上流領域-77~-112 の領域がアミノ酸欠乏への応答に必須なことが明らかとなり、この領域はアミノ酸欠乏応答ユニット (AARU: Amino acid deficiency response unit) と命名された。IGFBP-1 の遺伝子発現はアミノ酸欠乏以外にもインスリンやグルココルチコイドによっても制御されており、AARU 内部にインスリン応答領域 (IRE) とグルココルチコイド応答領域 (GRE) が 2 つずつ同定されている。このことからアミノ酸欠乏のシグナルは AARU 内部に存在する IRE および GRE を介していることが考えられる。IRE には転写因子 FoxO1、FoxO3 および FoxO4 が結合し、GRE には glucocorticoid receptor (GR) が結合する。FoxO はリン酸化酵素である SGK および DYRK1A によりリン酸化されると、その転写活性化能および細胞内局在が変化する。また 2 つの IRE を覆うように転写因子 HNF-3 $\alpha$ 、-3 $\beta$  および-3 $\gamma$  が結合する。これら因子が IGFBP-1 遺伝子発現制御に関与していることが以前から示唆されているが、詳しい機構は明らかになっていない。こうした背景から本研究では上記因子のアミノ酸欠乏およびホルモンへの応答を検討した。

まず序論で研究の背景について概説したのち、第 1 章ではアミノ酸欠乏、第 2 章ではインスリンおよび絶食、第 3 章ではグルココルチコイドによって各 HNF-3、FoxO、SGK および DYRK1A の mRNA 量、総タンパク質量および核内存在量に変化することを *in vivo* および *in vitro* において明らかにした。

第 4 章では IGFBP-1 および第 1 章でアミノ酸欠乏により発現が変化する事が明らかになった遺伝子に関して、その応答機構を検討するため、数種の阻害剤を用いたところ、本研究で検討した遺伝子への阻害剤の応答は遺伝子毎に異なっていた。このことからアミノ酸欠乏による各遺伝子の発現制御機構が異なっていることが示唆された。その中でも ERK、JNK、P38MAPK、PKA の阻害剤を用いた時に、多くの遺伝子のアミノ酸欠乏に対する応答が消失した。また一部の

遺伝子の発現変化が、アミノ酸欠乏により引き起こされる酸化ストレスや細胞容量の変化によることも示された。

第5章では IGFBP-1 および第2章でインスリンにより発現が変化することが明らかになった遺伝子に関して、第4章と同様の阻害剤を用いて解析を行った。その結果アミノ酸欠乏時とは異なり、本研究において検討した遺伝子は PI3K あるいは mTOR 経路により制御されていることが明らかになった。

本研究では、ラット肝臓においてアミノ酸欠乏やホルモン刺激に対して、AARU 内に結合する因子の mRNA 量や FoxO キナーゼの活性が変化し、その結果、各転写因子の核内存在量が増加することにより IGFBP-1 遺伝子の転写を制御していることが強く示唆された。一方細胞系ではラット肝臓とは異なる応答を示し、IGFBP-1 遺伝子発現制御機構が *in vivo* および *in vitro* で異なっていることが示された。またアミノ酸欠乏およびインスリンによる遺伝子発現のシグナル系の解析により、制御に関与しているシグナル因子が示された。また酸化状態や細胞容量が重要であることも示された。

今後はこれら転写因子が IGFBP-1 の遺伝子発現制御機構にどのように関与するかを遺伝子抑制等の手法で解明されることが望まれる。また今回遺伝子発現に変化のあった遺伝子に関してもそれらのプロモーター構造を解析することにより、アミノ酸やホルモンに対する初期段階の応答因子が解明されることが期待される。本研究で得られた知見は、多くの遺伝子の発現制御機構を解明するための基礎情報を提供するものである。よって審査委員一同は本論文が博士(農学)の学位論文として価値あるものと認めた。