

審査結果の要旨

氏名 寿見 孝一

核内受容体は、発生・分化といった生理的因子あるいは環境因子等の種々の刺激に応答してリガンド依存的に遺伝子発現を調節する転写制御因子であり、その構造上の特徴から遺伝子スーパーファミリーを形成している。ヒトでは核内受容体遺伝子は48種同定されているが、その多くは内因性のリガンドや生理学的機能が未知のオーファン受容体として分類されている。これら核内受容体は、脂溶性低分子化合物をリガンドとすることに加え、糖尿病や高脂血症といった代謝異常症、薬物相互作用あるいは癌細胞の増殖に関与するものも含まれている。

Hepatocyte nuclear factor 4 α (HNF4 α) は肝臓に特異的に発現するトランスサイレチンおよび apoC-III の遺伝子プロモーター上に結合する因子としてラット肝核抽出液より同定された核内受容体スーパーファミリーに属する転写因子である。肝細胞においては、脂質代謝、グルコース代謝、発生、分化、膵 β 細胞においてはグルコース代謝およびインスリン分泌に関して重要な役割を果たしていることが指摘されている。

HNF4 α はインスリン分泌不全を主症状とする糖尿病 MODY 1 (MODY; maturity-onset diabetes of the young) の原因遺伝子である。最近、HNF4 α 標的遺伝子として、インスリン分泌に関与するK_{ATP}チャネル (ATP依存性ポタシウムチャネル) サブユニットKir6.2 が報告されているが、膵 β 細胞の発生や他の標的遺伝子の発現制御におけるHNF4 α の役割は明らかにされていない。また、HNF4 α は肝細胞において、胆汁酸生合成に関与する律速酵素CYP7A1 (cholesterol 7 α -hydroxylase)、CYP8B1 (sterol 12 α -hydroxylase) の発現を調節しているが、脂質輸送・排泄機構等のコレステロール代謝におけるHNF4 α の役割は明らかとなっていない。

そこで本研究では、膵臓および肝臓における HNF4 α の役割を明らかにすることを目的として、膵 β 細胞および肝細胞において HNF4 α 蛋白質の発現抑制、過剰発現を行った場合について、cDNA マイクロアレイ解析を実施し新規 HNF4 α 標的遺伝子を同定した。

第2章では、マウスインスリノーマ膵 β 細胞 MIN6 において、レトロウイルスによ

り HNF4 α を過剰発現した場合についてマイクロアレイ解析を行い、発現変動遺伝子のプロファイリングを行った。その結果、HNF4 α により発現制御されている遺伝子として、生体異物輸送に関わる ABC 蛋白質 (ATP-binding cassette transporters) ABCC2、ABCC4、ABCG2 や、ABCC2 等のトランスポーター相互作用蛋白質 PDZK1 (postsynaptic density protein (PSD-95) / *Drosophila* discs-large (dlg) / tight-junction protein (ZO1)) を抽出した。

第 3 章では、ヒト肝癌細胞 HepG2 において、RNAi (RNA interference) により HNF4 α 蛋白質を発現抑制した場合、アデノウイルスにより HNF4 α 蛋白質を過剰発現した場合について、マイクロアレイ解析を行い遺伝子発現のプロファイリングを行い、代謝制御に関わる遺伝子の抽出を行った。その結果、HNF4 α により発現制御されている遺伝子として、脂質排泄に関与する ABC 蛋白質 ABCG2、ABCG5、ABCG8 や膜蛋白質と相互作用する PDZK1 を抽出した。ヒトおよびマウス ABCG5/ABCG8 プロモーター配列のホモロジー、変異を導入した ABCG5/ABCG8 プロモーターおよび欠損 ABCG5/ABCG8 プロモーターを用いたレポーターアッセイ、さらには EMSA による検討結果より、ABCG5/ABCG8 プロモーター領域の HNF4 α 標的配列を同定した。

本研究では、HNF4 α の膵 β 細胞でのインスリン分泌・発生における役割、肝細胞での糖・脂質代謝における役割を明らかにすることを目的とし、マイクロアレイ解析を実施し、HNF4 α 新規標的遺伝子を抽出しその遺伝子発現調節における HNF4 α の役割について解析を行った。その結果、HNF4 α は従来から知られているコレステロールから胆汁酸生合成に関与する律速酵素のみならず、肝細胞から胆汁中への脂質排泄に関わる ABC 蛋白質 ABCG5、ABCG8 の発現制御にも関与する因子であることが示唆され、HNF4 α は糖代謝に加え脂質代謝においても役割を果たし脂質恒常性維持において重要な機能を司る転写因子であることを明らかにした。

よって本論文は博士 (工学) の学位請求論文として合格と認められる。