

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

三木 ひろみ

申請者氏名

脂肪細胞は、糖、脂質代謝等の恒常性維持に深く関与することが知られている。従って、その分化促進と機能亢進の分子機構の解明は、脂肪細胞を介在する代謝性疾患の分子機構を理解する上で重要であると考えられている。リガンド依存性転写因子であるダイオキシン受容体(AhR)のリガンドが、脂肪細胞分化抑制効果が指摘されてきたが、その作用点は不明である。本研究では、細胞特異的なAhR転写共役因子複合体を生化学的に同定・解析することにより、AhRリガンドによる脂肪細胞分化抑制制御機構の分子メカニズムの一端を解明することを試みている。

第二章では、第一章の序論に続き、AhRリガンドの脂肪細胞分化への効果を調べている。マウス骨髄由来間葉系幹細胞ST2及びマウス初代骨髄間葉系幹細胞を用いたin vitro系において、AhRリガンド3-Methylcholanthrene (3MC)が脂肪細胞分化誘導剤Troglitazone添加による脂肪細胞分化抑制効果を発揮することを示した。また、3MCは、脂肪細胞分化制御遺伝子 (PPAR γ 、C/EPB α) 及びインシュリン感受性に関連する分化マーカー遺伝子 (GLUT4、LPL、aP2) のmRNA発現を抑制することを示した。さらに、活性型AhRはコンセンサスXRE配列を含むPPAR γ 及びGLUT4 遺伝子プロモーターの転写活性を抑制した。従って、AhRは標的遺伝子プロモーターを介して転写抑制能を発揮することを明らかにしている。

第三章では、活性型AhRによる転写抑制制御を担う転写共役因子の同定を試みている。具体的には、AhRのC末端の転写活性化領域に相互作用する因子をST2細胞の核抽出液から精製し、TOF/MSにより同定した。その結果、既知の転写共役抑制因子NCoRとSMRT、ヒストンメチル化修飾酵素Ezh2、G9a及び新規の機能未知因子SARA (Silencer of AhR and Adipogenesis)/mKIAA1193を同定した。SARAは、既知の転写共役抑制因子に保存され蛋白質間相互作用に関するELM2/SANTドメインを有し、転写共役抑制因子としての機能が推察された。そこでSARAに着目し、まずRT-P

CR法によりSARAの発現をマウス各組織において調べたところ、SARAは様々な組織で発現しているが、特に脂肪組織で高発現することを明らかにした。SARAは、AhRとin vitroで直接結合し、細胞内では3MC依存的に相互作用が増強することを示した。さらに、SARAはAhRの転写活性化能を顕著に抑制すること、また、SARAの転写抑制効果がAhR選択的であることを示した。

第四章では、SARAが形成する転写共役抑制複合体と転写抑制機構を解析している。SARAのE_{LM2}ドメインをベイトに用いた精製サンプルを用いてグリセロール密度勾配遠心を行い、SARAを含む単一の複合体を検出した。また、SARA複合体構成成分を同定し、ポリコーム型複合体であるヒストンメチル化修飾酵素PRC2の主要構成成分Ezh2、Suz12、Eed1及びポリコーム関連遺伝子産物Epc1、SCM1を同定した。さらに、PRC2様のSARA複合体は、標的遺伝子プロモーター上で複合体を形成し、ヒストン修飾酵素活性を誘導することにより転写抑制制御を仲介することを示した。最後に、SARA遺伝子をノックダウンすることで、SARAがAhRのリガンド依存的な脂肪細胞分化制御において必須の役割を担っていることを明らかにしている。

本論文では、AhRとポリコーム型複合体の相互作用を仲介する新たなクラスの転写共役因子SARAの同定に成功し、AhRの脂肪細胞分化抑制機構の一端を組織特異的転写共役因子複合体レベルで明確化している。この成果は、AhRを介した遺伝子発現制御を伴う代謝制御及び細胞分化制御機構の理解に大きく貢献するものと期待される。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のあるものと認めた。