

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 有戸 光美

SREBP (sterol regulatory element binding protein)は、脂質代謝関連遺伝子を包括的に制御する転写因子である。従って、SREBP の活性調節機構に関する知見を重ねることは、脂質代謝異常が原因である生活習慣病の予防、治療法確立への一助となると期待される。

SREBP は小胞体膜上で前駆体として合成され、小胞体からゴルジへの移行及びプロセッシングによる活性化機構を経て、核移行後、脂質合成系の遺伝子群の転写を正に制御する。この活性化機構は、細胞内コレステロール量により厳密に調節されている。また、核内における SREBP は、転写共役因子や核内受容体との相互作用や翻訳後修飾によりその活性が調節されていることが明らかになりつつある。

当研究室の研究で、核内で SREBP がユビキチン化修飾を受け、26S プロテアソーム系において分解されるという「量的調節」を受けること、また、SUMO (small ubiquitin like modifier)-1 化修飾を受け、その活性が負に制御されるという「質的調節」を受けることを明らかにしてきた。そこで、本研究では、核内における「質的調節」機構の一端を明らかにするために、SREBP の SUMO-1 化修飾調節機構、SUMO-1 化修飾による転写活性抑制の分子機構を解明することを目的とした。

第二章では、SREBP の SUMO-1 化の生理的意義付けを目的とし、その調節機構を明らかにした。SREBP-1a/2 のアミノ酸配列を調べた結果、SREBP1a/2 両方とも、SUMO-1 化部位の近傍に、「MAPK によりリン酸化を受ける」Ser 残基が存在していた。SREBP-2 では、SUMO-1 化修飾部位である Lys464 残基の近傍、432 番目と 455 番目に Ser 残基が存在している。これら残基の SUMO-1 化修飾への関与を検討するために、リン酸化を受けない SREBP-2 (S432A)又は(S455A)、リン酸化修飾をミミックした SREBP-2(S455D)の SUMO-1 化量を調べた結果、SREBP-2 (S455A)の SUMO-1 化量は野生型より多く、SREBP-2 (S455D)の SUMO-1 量はほとんど検出されなかった。さらに、MAPK 活性化剤として PMA、IGF-1 また MAPK カスケード阻害剤として U0126 による SREBP-2 の SUMO-1 化量への影響を調べた結果、PMA、IGF-1 により野生型 SREBP-2 の SUMO-1 化量は減少、U0126 により増加したが、SREBP-2 (S455A)の SUMO-1 化量に変化はなかった。さらに、IGF-1 による野生型 SREBP-2、SREBP-2 (S455A)、SREBP-2 (K464R)の転写活性への影響を調べた結果、IGF-1 により野生型 SREBP-2 の転写活性は上昇した一方、両変異体 SREBP-2 には、影響が無かった。以上より、SREBP-2 の SUMO-1 化修飾に、SUMO-1 化部位近傍の Ser455 の状態が重要であること、IGF-1 による MAPK を介した生理的刺激にตอบสนองし SUMO-1 化修飾が減少し、SREBP の活性が正に制御されることを明らかにし、SREBP の SUMO-1 化修飾は、Growth factor による細胞膜脂質供給促進メカニズムに関与する生理学的に重要な翻訳後調節であると結論付けた。

第三章では、SUMO-1 化修飾により SREBP の活性が負に制御される分子機構の一端を明らかにした。その機構の1つとして、転写共役抑制因子の関与を考え、HDAC (Histone deacetylase)ファミリーの関与を検討した。HDAC 阻害剤により、野生型 SREBP の転写活性が上昇するが、SREBP (K464R)に影響がないことから、HDAC ファミリーが SUMO-1 化修飾を受けた SREBP の転写活性に関与することを見出した。次に、細胞内及び応答遺伝子のプロモーター上で、HDAC3 複合体が、野生型 SREBP-2と相互作用すること、また、SREBP (K464R)とは相互作用しないことを示した。さらに、内因性 HDAC3 のノックダウンにより、野生型 SREBP-2の転写活性は上昇するが、SREBP-2(K464R)には影響が無いこと、SREBP 応答遺伝子発現が上昇すること、LDLR の発現亢進により LDL 取り込みが上昇することを示した。以上より、SREBP-2 は SUMO-1 化修飾依存的に HDAC3 をリクルートし、その活性が負に制御されると結論付けた。

本論文で、SREBP の詳細な SUMO-1 化調節機構及び SUMO-1 化修飾による活性抑制機構が明らかとなり、恒常的な脂質代謝制御機構の包括的理解に繋がると考える。

よって審査委員一同は、本研究が博士 (農学)の学位論文として価値あるものと認めた。