

論文審査の結果の要旨

氏名 陳 彦榮

本論文は7つのChapterからなる。Chapter IでのGeneral introduction, Chapter IIでのMaterials & methodsに続き、Chapter IIIとChapter IVでは研究成果、Chapter VではConclusion、Chapter VIとChapter VIIではAcknowledgementとReferenceが記されている。

申請者の所属する研究室では、肝臓における発生・分化の分子機構解明に向けた研究を展開している。本論文で申請者は、肝細胞の分化、成熟過程における代謝酵素遺伝子の発現調節に着目し、代謝酵素の発現において中心的な役割を果たす転写因子C/EBP α の機能を調節する因子について詳細に解析している。新生児肝臓での様々な代謝酵素発現にはC/EBP α が必須の役割を担うことが知られている。C/EBP α 遺伝子欠損マウスでは糖代謝酵素やアンモニア代謝の発現がおこらず、この結果血中glucose濃度が低下する一方、血中アンモニア濃度が上昇し、生後数時間のうちに死亡することが示されている。しかし、申請者らはC/EBP α はマウス胎児14日目肝臓ですでに発現し出生前後でもその発現量に劇的な変化はないことを見いだした。つまりC/EBP α の発現量だけでは、出生前後に起こる代謝酵素の劇的な発現誘導を説明できない。そこでC/EBP α の作用を制御する因子の存在を考え、以下の2つの制御機構を見いだした。

Chapter III では出生時期にC/EBP α と協調して働きC/EBP α の機能を増強する因子としてFoxo1を同定した。insulinは成体肝臓中でPEPCKやG6Paseと言った糖新生に関わる酵素の発現を制御することが知られている。本研究は胎児肝細胞培養系でもinsulinが、糖新生に関わる酵素発現を抑えることを明らかにした。そこでinsulin下流の転写因子Foxo1に着目し、Foxo1が新生児期においてもPEPCKの発現を調節することを明らかにした。この作用はFoxo1とC/EBP α が複合体形成し、Foxo1がC/EBP α の転写活性を促進することで発揮されることを明らかにした。更に、新生児の肝臓ではC/EBP α -Foxo1複合体が標的遺伝子プロモーター上にリクルートされることを確認した。よって本研究により、C/EBP α -Foxo1複合体が協調的に糖新生に関わる酵素遺伝子の発現を制御することで肝細胞の分化成熟に機能することが示された。

Chapter IVは、糖代謝酵素と同じように出生時期に劇的に発現が開始するア

アンモニア代謝酵素CPS1の転写機構を解析している。体内で生成された有毒なアンモニアは尿素回路により、無毒な尿素に変換される。CPS1は尿素回路の最初の反応を触媒する酵素であり、CPS1の発現はC/EBP α に依存していることが知られている。本研究では、C/EBP α の機能を調節する分子が存在する可能性を考えた。そこでまず、肝細胞分化段階の胎児12日目と胎児17日目のDlk+の肝芽細胞をmicroarray解析を行い、胎児12日目で発現し胎児17日目で発現が消失する転写抑制因子YB-1の発現変動に着目した。胎児肝細胞培養系においてretrovirusを用いYB-1を強制発現するとCPS1の発現を抑制することを明らかにした。さらに、YB-1はCPS1プロモーターのC/EBP α 結合配列近傍のY-boxを介し、C/EBP α 依存的な転写を抑制した。一方、四塩化炭素により障害した成体肝臓においては、一時的にYB-1の発現が上昇する。この時、CPS1の発現は減少しアンモニア代謝能も低下することを明らかにした。以上のことから下記のモデルが考えられた。すなわち、C/EBP α はE14ですでにCPS1プロモーター上に存在するものの、そのC/EBP α 結合配列近傍にYB-1が結合しC/EBP α による転写を抑制する。一方、分化が進むとともにYB-1の発現が徐々に減少することでC/EBP α に対する転写抑制が解除され、CPS1の発現が開始されるためである。

以上、本研究により、肝細胞の成熟過程における糖新生およびアンモニア代謝において、C/EBP α を中心としそれぞれFoxo1、YB-1を介した新たな仕組みが明らかにされた。

なお、本論文 Chapter IIIは関根圭輔、小島伸彦、深水昭吉、緒方一博、宮島篤との共同研究、Chapter IVは関根圭輔、中村康司、柳内浩之、田中稔、宮島篤との共同研究であるが、申請者主体となって実験及び考察を行ったもので申請者の寄与が十分であると判断する。したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。