

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 八代 拓也

今後、高齢社会の進展と共に、動脈硬化性疾患の患者数は益々増加することが懸念されている。動脈硬化性疾患発症の最重要危険因子は、血中の LDL (Low density lipoprotein) であることが立証されており、LDL の細胞内取り込みを担う LDL 受容体 (LDLR) の高発現が、動脈硬化性疾患発症のリスクを低減させることが知られている。そこで本研究では、LDLR 遺伝子の発現調節機構の包括的な解明による、動脈硬化性疾患に対する新たな予防・治療法の提案を目指した。

始めに、LDLR mRNA の安定性は、3'UTR (Untranslated region) 上の ARE (AU-rich element) によって規定されることから、そこに結合する AUBP (AU-rich element-binding protein) を同定するため、siRNA スクリーニングを行ったところ、その候補として HuR (Human antigen R) を見出した。また、遺伝子操作により、HuR を過剰発現したところ、LDLR mRNA は安定化することが示された。次に、これらの現象が HuR と LDLR mRNA の直接の結合に起因するかについて検討した。HuR 抗体で免疫沈降した共沈物中に LDLR mRNA が含まれるか解析した結果、HuR と LDLR mRNA の結合が示された。最後に、HuR と LDLR mRNA の結合に必要な領域の決定を試みた。LDLR mRNA の 3'UTR には ARE が 4 つ存在するため、様々な長さの RNA プローブを作製し、HuR との結合を解析したところ、HuR は最も 5'側に位置する ARE に結合することが示された。以上の結果より、HuR は、LDLR mRNA に結合することで mRNA を安定化させていることが明らかとなった。

続いて、AMPK (AMP-activated kinase) 活性化剤である AICAR (5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleoside) が LDLR の発現を誘導するかについて検討した。まず、AICAR による LDLR mRNA の安定性への影響を解析したところ、AICAR は LDLR mRNA を安定化させることが示された。次に、AICAR による LDLR mRNA 安定化のシグナル伝達経路を解明するために、各種阻害剤を用いて検討した。その結果、AICAR による LDLR mRNA 安定化は、MEK/ERK (Extracellular signal regulated-kinase) 経路を介して誘導されることが示された。さらに、高コレステロール状態にしたハムスターに、AICAR を投与して、血中脂質成分を測定したところ、AICAR による血中 LDL コレステロール値の低下が示された。以上の結果より、AICAR は、LDLR mRNA の安定化を介して LDLR の発現を亢進し、LDL のクリアランスを高めることが明らかとなった。

最後に、赤ワインに含まれるポリフェノールであるリスベラトロールが、LDLR の遺伝子発現を誘導するかについて検討した。HepG2 細胞を様々な濃度のリスベラトロールで処理して、LDLR を含む脂質代謝関連遺伝子の mRNA 量の変化を解析したところ、リスベラトロールの濃度依存的に LDLR mRNA 量の増加が示された。そこで、リスベラトロールが LDLR のプロモーター活性に及ぼす影響をレポーターアッセイにて解析したところ、リスベラトロールによる LDLR 転写亢進への SREBP (Sterol regulatory element-binding

protein)の関与が示された。次に、リスベラトロールによる SREBP 活性化のメカニズムを検討するために、SREBP のタンパク質を解析したところ、リスベラトロールは SREBP の前駆体から活性型へのプロセッシングを亢進することが示された。以上の結果より、リスベラトロールが SREBP のプロセッシングを亢進して LDLR を含む標的遺伝子の発現を誘導することが明らかとなった。

最近では、既存の LDL コレステロール低下薬であるスタチンとは異なるメカニズムで LDLR の発現を亢進することが、先進的な動脈硬化予防法として望まれている。本論文で明らかにした「HuR による LDLR mRNA 安定化」および「AICAR による LDLR mRNA 安定化」は、正にスタチンとの相乗効果が期待できる薬剤の開発に貢献し得るだろう。また、「リスベラトロールによる LDLR の転写亢進」は、日々摂取する食品成分が、LDL コレステロールの上昇を抑制する可能性を示したものであり、抗動脈硬化性疾患を謳う機能性食品の開発の一助となることが予想される。

上述のように、本研究は、学術上、応用上貢献するところが少なくない。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。