

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 権藤 祐輔

遊離アミノ酸の1つであるタウリンは、カルボキシル基の代わりに硫酸基を持つβ-アミノ酸である。食品を介して摂取されたタウリンは、各組織に取り込まれて抗酸化・抗炎症・浸透圧調節といった多彩な生理作用を示すことが報告されている。しかし、これらの生理作用に関する研究報告は現象論に留まっているものが多く、遺伝子レベル、分子レベルでの解析は十分になされていないのが現状である。本研究は、食品成分の吸収の場であり、また食品成分と直接接触する組織である腸管の上皮細胞に着目し、タウリンが細胞に及ぼす作用を網羅的な遺伝子発現解析によって明らかにするとともに、その作用機構の分子レベルでの解明を目的として行われたもので、3章からなる。

研究の背景と目的を述べた序章に続き、第1章では、タウリンが遺伝子発現に及ぼす影響をDNAマイクロアレイを用いて調べている。その結果、タウリンはthioredoxin interacting protein (TXNIP) のmRNA発現を顕著に亢進することが見出され、タンパク質レベルにおいてもその亢進は確認された。この誘導はタウリンと構造的・機能的に類似しているアミノ酸であるβ-アラニンやγ-アミノ酪酸ではみられず、タウリン特異的であることが明らかとなった。さらに、タウリントランスポーター (TAUT) の基質でありタウリンの細胞内への輸送を競合的に阻害するβ-アラニンを同時に添加したときには、タウリンによるTXNIP mRNA発現上昇が抑制されたことから、タウリンによるTXNIP mRNA発現誘導には、タウリンが細胞内に輸送されることが重要であると考察している。

第2章では、タウリンによるTXNIP発現誘導の作用機序の解析を行なっている。解析の結果、タウリンはTXNIPの転写活性に影響を与えていることが明らかとなり、同時にTXNIPのプロモーター領域中にタウリンに応答する何らかの配列が存在することが示唆された。そこで、TXNIPプロモーター領域を部分的に欠損させたベクターを数種類作製し、それぞれについてタウリンによる転写活性化が起こるかどうかを検討した。プロモーター領域の+162/+218の欠損によってタウリンによる転写活性亢進が観察されなくなったため、タウリン応答配列はこの領域内に存在することが示された。この領域についてイン・シリコ解析によりタウリン応答配列の候補を分析したところ、哺乳類における遺伝子配列の保存度が高いものが2つ、および転写因子Ets-1とTst-1の応答配列が見出され、これらの配列が候補として考えられた。また、タウリンがどのようなシグナル伝達経路を介してTXNIP発現を亢進しているかを明らかにするために、様々なシグナル伝達経路阻害剤を用いて実験を行った結果、extracellular signal-regulated kinase (ERK) 経路の阻害剤であるPD98059添加によって、タウリンによるTXNIP mRNA発現および転写活性の亢進が抑制された。実際にタウリンによるERK経路の活性化が確認されたことから、タウリンはERK

シグナル伝達経路を介して TXNIP の発現を亢進していることが示唆された。

第3章では、タウリンによる TXNIP 発現誘導が各種細胞機能に及ぼす影響について、グルコース取り込み活性の抑制、エネルギーセンサーである AMP kinase (AMPK) の活性化、チオレドキシン活性の抑制を例にとりて検討している。まず、タウリンが濃度依存的に細胞のグルコース取り込みを低下させることを見出し、さらに TXNIP のノックダウンによってその低下が解除されることを明らかにした。このことは、タウリンが TXNIP の誘導を介してグルコース吸収を抑制することを示している。次にタウリンが濃度依存的に AMPK 活性を上昇させること、タウリン処理で細胞内 ATP 量が増加することを見出した。TXNIP ノックアウトマウスでは AMPK の活性が抑制されることから、タウリンは TXNIP を介して AMPK を活性化し、その結果 ATP 産生を亢進しているものと考えられた。最後に、TXNIP はチオレドキシンと相互作用して抗酸化活性（チオレドキシン活性）を負に制御することから、タウリンによる TXNIP の発現誘導はチオレドキシンの抗酸化活性を低下させることが示唆された。

以上、本研究は、多彩な生理機能を持つことが知られているタウリンによってその遺伝子発現が顕著に変化する生体内分子として TXNIP を初めて見出すとともに、タウリンによる生理機能調節において TXNIP が重要な役割を果たしていることを明らかにしたもので、学術上・応用上寄与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。