OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	脂質代謝の制御を担う転写因子SREBPに関する研究
Author(s)	井上, 順
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3169327
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

氏名	井上（いのうえ）　順（じゅん）
博士の専攻分野の名称	博　士（薬　学）
学位記番号	第　15364　号
学位授与年月日	平成12年 3 月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 薬学研究科応用薬学専攻
学位論文名	脂質代謝の制御を担う転写因子SREBPに関する研究
論文審査委員	（主査） 教　授　前田　正知 （副査） 教　授　山元　弘　　教　授　真弓　忠範　　教　授　土井　健史

論文内容の要旨

コレステロールは生体にとって必要不可欠な成分であるが、その摂取量が多すぎると動脈硬化などの原因のひとつになる。そのために生体は細胞内のコレステロール量が過剰になると、コレステロールの合成および血中からの取り込みを転写レベルで制御している。その制御を担う転写調節因子としてSREBPが発見された。現在のところSREBPには2つのアイソフォームSREBP－1とSREBP－2が知られている。SREBPは合成後小胞体膜および核膜に前駆体として局在し、細胞内コレステロールレベルの低下に伴って2段階のプロセッシングを受け、N末端側が切り離され、これが核内へと移行して転写因子として働く。コレステロールによるSREBPの制御は、プロセッシングの段階でのみ行われていると考えられていた。

本研究では、ヒト培養細胞において細胞内コレステロール量が欠乏することにより、SREBP－2遺伝子の転写が活性化することを明らかにした。さらにプロモーター領域の解析を行い、その活性化にはSREBPおよびNF－Yの協調的な作用が必須であることを明らかにした。また、SREBP－1遺伝子は細胞内コレステロール量に応じた転写変動は見られなかった。SREBP－1とSREBP－2は共に細胞内コレステロール量に応じたプロセッシング調節を受けて成熟体になり、核内に移行して転写調節因子としての機能を発揮する。しかしそれぞれの遺伝子の転写レベルは細胞内コレステロール量の欠乏により、SREBP－2遺伝子では約2倍に上昇したが、SREBP－1遺伝子では変動しなかった。この結果より細胞内コレステロール量が欠乏した際にはSREBPのプロセッシングが促進されるだけでなく、SREBP－2遺伝子の転写が上昇することにより、前駆体SREBP－2の発現が上昇することが明らかになった。この2つの相乗的な作用により核内の成熟体SREBPの量が増加すると考えられる。

またコレステロール生合成に関わるスクアレン合成酵素とHMG－CoA合成酵素遺伝子の細胞内コレステロール量に応じた転写変動も、SREBPとNF－Yの協調的な作用が必須であることを明らかにした。さらにSREBPとNF－Yによる転写活性化は、プロモーター上でSREBPとNF－Yの結合配列が15塩基から20塩基のとき最大になることを示した。現在のところSREBPは5'－C／TACC／T　－3'配列に、NF－YはCCAAT Boxに結合すると考えられている。このことから、SREBPはかなり多くの遺伝子のプロモーター領域に結合すると考えられる。しかし転写を活性化するためにはその15から20塩基離れた位置に、CCAAT Boxが必要であり、これにより特異的な遺伝子を活性化することができると考えることができる。すなわちSREBPは細胞内のコレステロールレベルのセンサーであり、NF－Yは特異的な遺伝子を活性化するために機能してると推察することができる。

またIPTGによる誘導によってSREBP－1（1～487A.A.）を発現する細胞株CHO－487を樹立した。これを用いて、差引きハイブリダイゼーション法によりSREBP－1によって転写が誘導される遺伝子のクローニングを行った。その結果、脂肪酸合成を担うスモールファミリーであるMNO（malate NADP-oxidoreductase)、ACL（ATP citrate－lyase)、FAS（fatty acid synthase)、ACC（acetyl－CoA carboxylase）の4種の遺伝子すべてが、SREBPによって転写調節を受けることが示された。また骨格筋に含まれるM－proteinがSREBPによって活性化を受けることが明らかになった。現在のところ、なぜ細胞内のコレステロールレベルに応じて、脂肪酸合成や骨格筋に含まれるタンパク質をコードする遺伝子の転写が調節されるのかは不明である。

最近の報告によると、インスリンによりSREBP－1の転写およびプロセッシングが亢進し、Fish Oilに含まれるアラキドン酸やリノール酸などの多価不飽和脂肪酸がこれを阻害することが明らかにされた。このことから考えると、細胞内コレステロールレベルに応じて脂肪酸合成が調節されるのではなく、それを担う因子がSREBPであるため、コレステロールの低下によってSREBPが活性化されると、その結果として脂肪酸合成に関る遺伝子までもが活性化されると考えることが妥当だと思われる。

さらに3T3－L1細胞における脂肪細胞への分化過程においてSREBP－1の転写レベルが亢進し、SREBP－2の転写レベルが大きく変動しないことを示した。またそのとき、SREBP－1およびSREBP－2の成熟体が核内に増加することを示した。これにより脂肪細胞への分化過程においてSREBPのプロセッシングが亢進していることが示唆された。これは脂質を蓄積した脂肪細胞におけるプロセッシングの亢進であり、現在までに明らかにされている細胞内コレステロール量の減少に伴うプロセッシングとは異なった機構によりSREBPのプロセッシングが制御されている可能性が考えられる。さらにS1P、S2P、SCAPなどの、コレステロール量に応じたプロセッシングに関与するタンパク質の発現が転写レベルで大きな変動を示さないことからも、脂肪細胞への分化過程においてSREBPの新規なプロセッシング機構の存在を示した。

SREBPによる転写調節の全貌は未だ明らかになっていない。本研究では、SREBP－2遺伝子の自己制御機構を明らかにし、さらにSREBPがコレステロール代謝のみならず、脂質代謝全般を調節することを明らかにした。今回の研究成果は、SREBPの多岐にわたる生理作用の解明に大きく貢献した。

論文審査の結果の要旨

コレステロールは生体にとって必要不可欠な成分であるが、その摂取量が多すぎると動脈硬化などの原因のひとつになる。そのために生体は細胞内のコレステロール量が過剰になると、コレステロールの合成および血中からの取り込みを転写レベルで制御している。この制御を担う転写調節因子としてSREBPが発見された。

本研究では、ヒト培養細胞を用いて、細胞内コレステロール量が欠乏することによりSREBP－2遺伝子の転写が活性化することを明らかにした。その活性化にはSREBPおよびNF－Yの協調的な作用が必須であること、またコレステロール生合成に関わるスクアレン合成酵素とHMG－CoA合成酵素遺伝子の細胞内コレステロール量に応じた転写変動にも、同様の協調的作用が必須であることを明らかにした。

さらに差引きハイブリダイゼーション法によりSREBP－1によって転写が誘導される遺伝子のクローニングを行い、脂肪酸合成を担うMNO（malate NADP＋oxidoreductase)、ACL（ATP citrate－lyase)、FAS（fatty acid synthase)、ACC（acetyl－CoA carboxylase）の4種の遺伝子すべてが、SREBPによって転写調節を受けることを示した。

一方脂肪細胞への分化過程において脂質を蓄積しているにもかかわらずSREBPのプロセッシングが亢進していることを示唆し、SREBPの新規なプロセッシング機構の存在を示した。

SREBPによる転写調節の全貌は未だ明らかになっていない。本研究では、SREBP－2遺伝子の自己制御機構を明らかにし、さらにSREBPがコレステロール代謝のみならず、脂質代謝全般を調節することを明らかにした。今回の研究成果は、SREBPの多岐にわたる生理作用の解明に大きく貢献し、博士（薬学）の学位に十分値するものである。