



|              |                                                                                                                                                 |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | Malic enzyme の栄養素とホルモンによる転写, mRNA, 酵素レベルでの調節                                                                                                    |
| Author(s)    | 桂田, 昭彦                                                                                                                                          |
| Citation     | 大阪大学, 1989, 博士論文                                                                                                                                |
| Version Type |                                                                                                                                                 |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/36739">https://hdl.handle.net/11094/36739</a>                                                             |
| rights       |                                                                                                                                                 |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。 |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

|         |                                               |
|---------|-----------------------------------------------|
| 氏名・(本籍) | かつら 桂 だ 田 あき 昭 ひこ 彦                           |
| 学位の種類   | 医 学 博 士                                       |
| 学位記番号   | 第 8 8 6 7 号                                   |
| 学位授与の日付 | 平成元年10月5日                                     |
| 学位授与の要件 | 学位規則第5条第2項該当                                  |
| 学位論文題目  | Malic enzyme の栄養素とホルモンによる転写, mRNA, 酵素レベルでの調節  |
| 論文審査委員  | (主査)<br>教授 田中 武彦<br>(副査)<br>教授 坂本 幸哉 教授 谷口 直之 |

## 論文内容の要旨

### 〔目 的〕

一連の脂肪酸合成系酵素は無脂肪高糖食により誘導され、絶食や糖尿病で抑制されることがよく知られている。脂肪酸合成系酵素の遺伝子レベルでの調節機構を解明することを目的としているが、本研究では、特にその酵素系の1つである malic enzyme cDNA を cloning し、酵素誘導、mRNA 量、転写速度に対する食餌栄養素や insulin, triiodo-thyronine ( $T_3$ ) の関与について解析した。

### 〔方法ならびに成績〕

*Malic enzyme cDNA の cloning* ラット肝より精製した mRNA より cDNA library を作成し、pBR322 の Pst I 部位に組み込み transformant を得た。それより malc enzyme cDNA の塩基配列に相補的な 17mer の合成 probe を用いて cDNA を cloning した。全長 1.1kb の cDNA が得られたが、3' 側の 0.78kb の部分を以下の実験に用いた。mRNA 量の測定は急冷凍した肝より RNA を精製し dot-blot hybridization 法により行った。また、肝核を  $^{32}\text{P}$ -UTP と incubate し、ラベルされた mRNA を cDNA と hybridize させて転写速度を測定した。

食餌栄養素による *malic enzyme* の転写と転写後の調節 ラットを2日絶食後、糖質+蛋白質、糖質のみ、蛋白質のみ、糖質+蛋白質+脂肪の4つの食餌群に分けて4日間 isocaloric な pair-fed を行った。糖質のみを投与した群で mRNA 量と転写速度が糖質+蛋白質群と同じレベルにまで上昇した。しかし、酵素活性はその64%までしか上昇しなかったことから mRNA 量の増加は糖質のみで充分で、蛋白質は翻訳の段階で関与することが示唆された。また、蛋白質のみの群では mRNA 量は糖質+蛋白質群の44%であったが、本酵素は蛋白質より糖依存性が強いように思われる。immunochemical titration によ

り酵素活性の増加は酵素量と平行していることを確認した。また、脂肪の投与により酵素の誘導と mRNA 量は著明に減少した。即ち、脂肪は翻訳以前の段階で malic enzyme の合成を制御し、mRNA の分解に関与しているように思われる。malic enzyme の転写速度の refed による上昇は各食餌群で絶食時の 1.5-2 倍であったが mRNA 量や酵素誘導の変動幅ははるかに大きかった。従ってこの酵素では転写のほか、核内および細胞質での mRNA の安定性など post-transcriptional な調節が重要であろうが糖質や脂肪はそれに関与していることが示唆された。

*Insulin* による調節 糖尿ラットにおける malic enzyme の転写速度は正常動物の 64%, mRNA 量は 40%, 酵素活性(量)は 10% であったが、これらはすべて insulin の投与により回復した。糖尿ラットでは正常に比べて転写速度が低いことから insulin は転写に関与することが示唆された。さらに、糖尿動物では転写速度の低下率より酵素の低下率ははるかに大きいことから insulin は翻訳にも作用するように思われる。また、高 fructose 食により mRNA 量はかなり回復するが酵素レベルは回復しにくいこともこれを支持する。

$T_3$  による調節 正常ラットに  $T_3$  を注射すると、さきの各食餌群で malic enzyme の転写速度が促進された。絶食群でさえも  $T_3$  投与により転写速度が上昇したので  $T_3$  による転写速度の促進には、栄養条件はあまり影響しないように思われる。一方、糖尿動物についても  $T_3$  処理を行ったところ転写速度が有意に上昇したので  $T_3$  は insulin を介さずに、あるいは低 insulin 状態で転写を促進することが明らかになった。

〔総括〕

1. Malic enzyme の誘導において糖質は転写と mRNA の安定性に、蛋白質は翻訳に関与し、脂肪は翻訳以前の段階で蛋白合成を制御していることが明らかになった。
2. insulin は本酵素の転写と翻訳に関与することが示唆された。
3.  $T_3$  は摂食、絶食のいずれの状態においても、また糖尿ラットにおいても malic enzyme の転写速度を促進した。

## 論文の審査結果の要旨

ほ乳動物での脂肪酸の合成は、主として肝臓で行われ、その律速段階は脂肪酸の合成である。肝脂肪酸の合成は一連の脂肪酸合成系酵素と呼ばれる acetyl-CoA carboxylase, fatty acid synthase, malic enzyme, glucose-6-phosphate dehydrogenase によって行われ、従来から酵素レベルでの研究が行われてきたが、遺伝子レベルでの調節はほとんど明らかにされていない。本研究は、これら 4 つの酵素について cDNA をクローニングし、ラット肝における食餌栄養素、インシュリン、サイロイドホルモンによる転写と転写後の調節を研究したものである。

本研究は、主として malic enzyme について述べられているが、この酵素は糖依存性が強く、糖質のみの摂取で mRNA 量は充分に上昇するが、酵素誘導は不十分で、食餌蛋白質は翻訳に必要なことが示

唆された。また、転写速度は上昇しないので糖質は主として mRNA の安定化に関与すると考えられる。しかし、他の脂肪酸合成系酵素では、糖質の摂取により転写速度が上昇した。インシュリンはこれらの酵素の転写速度を高めたが、翻訳にも関与する場合があった。サイロイドホルモンは主として転写速度を亢進するが、mRNA の安定化に寄与する例も見出された。

脂肪酸合成系酵素のすべてについて転写と転写後の調節を比較し、総合的に研究したのは始めてでありその意義は大きく、学位論文に値するものとする。