The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	SREBP cleavage-activating protein(SCAP) is required for increased lipid synthesis in liver induced by cholesterol deprivation and insulin elevation
Author(s)	松田, 守弘
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43741
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【35】

氏　　名	松田守弘（まつだ もりひろ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　16832　号
学位授与年月日	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生体制御医学専攻
学位論文名	SREBP cleavage-activating protein(SCAP) is required for increased lipid synthesis in liver induced by cholesterol deprivation and insulin elevation. （随意時的、肝臓特異的 SREBP cleavage-activating protein（SCAP）ノックアウトマウスの作成と解析）
論文審査委員	（主査） 教　授　松澤　佑次 （副査） 教　授　谷口　直之　　教　授　宮崎　純一

論文内容の要旨

【目的】

コレステロールや脂肪酸の合成に関与する遺伝子を制御する転写因子である sterol regulatory element binding protein（SREBP）の活性化は、ステロールにより生理的に調節されており、その活性化調節には SREBP cleavage activating protein（SCAP）が中心的役割を果たしていることが培養細胞を用いた実験で示されてきた。本研究は SCAP を欠損するマウスを作成することにより、SCAP 並びに SREBP の生体における機能を明らかにしようとするものである。

【方法ならびに成績】

SREBP の生体での働きを明らかにしようと、これまでノックアウトマウスの作成が試みられたが、何れも胎生致死のため成長したマウスで SREBP の機能解析はできなかった。そこで我々は、Cre/lox システムを利用し、さらに Cre recombinase を発現誘導させる promoter として、Interferon inducer である pIpC の投与により活性化される Mx1 promoter を用いることにより、出生後随意時的且つ肝臓特異的に SCAP 遺伝子を欠損させることができるマウス（SCAPlox/lox、Mx1Cre transgenic mice）を作成した。このマウスに pIpC を腹腔内投与したところ、遺伝子再構築により SCAP の promoter（2kb）と exon1が欠失することを Southern blot で確認し、SCAP 蛋白が消失することを immuno blot で確認した。さらに、SCAP が欠損した肝臓では、SREBP 蛋白のいずれのアイソフォームも欠損していることを immuno blot で確認した。また、HMG CoA synthase などのコレステロール合成に関わる遺伝子や Fatty acid synthase などの脂肪酸合成に関わる遺伝子を Northern blot で調べたところ著明に低下していた。さらに、肝臓組織内ならびに血中のコレステロール、中性脂肪濃度を計測したところ、何れも有意に低下していた。

この SCAP 欠損マウスに、[3H] water を腹腔内投与して 1 時間後、各種臓器を取り出し、コレステロール、脂肪酸を抽出して [3H] の放射活性を計測することにより、de novo に合成されるコレステロール、脂肪酸の量を算出した。その結果、肝臓でのコレステロール、脂肪酸合成能は野生型と比較して約80%低下していた。また、SCAP 欠損マウスの肝臓から単離した初代培養肝細胞を用いて [14C] Acetate から合成されるコレステロール、脂肪酸を定量した結果、コレステロール、脂肪酸の合成および Medium 中への分泌は約90%低下していた。

SCAP 欠損マウスを24時間絶食にした後12時間再食させ、HMG CoA synthase や Fatty acid synthase などの脂

質合成に関わる遺伝子を Northern blot で調べた。野生型ではこれらの遺伝子は再食による高インスリンにより過上昇するものの、SCAP 欠損マウスでは全く変化しなかった。

SCAP 欠損マウスに HMG CoA reductase inhibitor である Lovastatin を投与し、HMG CoA synthase や Fatty acid synthase などの脂質合成に関わる遺伝子を Northern blot で調べた。野生型では、Lovastatin により肝臓内のコレステロールが低下し、負フィードバック機構によりこれらの遺伝子は過上昇したが、SCAP 欠損マウスではこの反応は認められなかった。

【総括】

SCAP を随意時的、肝臓特異的に欠損させることができるマウスを作成し、生体における SCAP/SREBP 経路の loss of function の系を初めて構築することに成功した。SCAP/SREBP 経路は定常状態の脂質合成に不可欠であるだけではなく、高インスリンやコレステロール低下によって生じる脂質合成促進にも極めて重要な働きをしていることが示された。

論文審査の結果の要旨

コレステロールや脂肪酸の合成に関与する遺伝子を制御する転写因子である SREBP は、その生理的機能に関して、ノックアウトマウスが胎生致死のため、これまで解明されていなかった。本論文は、このような問題点を、pIpC の注射によって活性化される Mx1 promoter を利用した Cre/lox system を用いることによって克服し、成体時に SREBP の活性化に重要な SREBP cleavage-activating protein（SCAP）の遺伝子欠損を作ることができるマウスの作成に成功し、生体における SCAP/SREBP の重要性を初めて明らかにしたものである。SCAP/SREBP が欠損したマウスを用いた種々の解析により、SCAP/SREBP が定常状態における肝臓でのコレステロール、脂肪酸合成のみならず、インスリンやコレステロール自体による脂質合成の調節機構にも極めて深く関与していることが証明されており、本論文で示された研究成果は、今後の脂質代謝研究ひいては高脂血症治療に対して極めて重要な情報を与えるものであり、学位に十分値するものである。