

Title	Identification of a novel distal enhancer in human adiponectin gene
Author(s)	瀬川, 勝盛
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/49323">https://hdl.handle.net/11094/49323</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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

【100】

氏 名	瀬 川 勝 盛
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 2 3 0 9 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 21 年 3 月 24 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 生命機能研究科生命機能専攻
学 位 論 文 名	Identification of a novel distal enhancer in human adiponectin gene (ヒトアディポネクチン遺伝子の新規遠位エンハンサーの同定)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 下村伊一郎 (副査) 教 授 米田 悦啓 教 授 野島 博 教 授 月田早智子

#### 論 文 内 容 の 要 旨

Adiponectin is exclusively expressed in adipose tissue and secreted from adipocytes, and shows anti-diabetic and anti-atherogenic properties. However, the precise transcriptional mechanism of adiponectin remains elusive. In this study, the 5' flanking promoter region and 1<sup>st</sup> intron of human adiponectin gene were analyzed using UCSC genome browser, and a 5' flanking 10390 bp fragment

with/or without 1<sup>st</sup> intron, containing an evolutionally conserved region among species, was investigated. The luciferase reporter assay using these fragments suggested that 5' flanking promoter region of human adiponectin is sufficient to attain its adipocyte-specific expression, and that its 1<sup>st</sup> intron has no enhancer activity. Indeed, Cre transgenic mice using only 5' flanking 10390 bp fragment exhibited Cre expressions in adipose-specific manner. Further analysis of this 5' flanking 10390 bp fragment on luciferase reporter assay identified a novel distal enhancer in human adiponectin gene. Promoter constructs with the distal enhancer exhibited high promoter activities in 3T3-L1 mature adipocytes. However, no such activity was observed in another type of cell line. The distal enhancer is highly conserved, and contains two completely conserved CCAAT boxes. In 3T3-L1 mature adipocytes, deletion or each point mutation of these CCAAT boxes markedly reduced luciferase activity driven by adiponectin promoter. Knockdown of CCAAT-enhancer binding protein  $\alpha$  (C/EBP $\alpha$ ) using small interfering RNA diminished adiponectin mRNA expression and luciferase activity driven by adiponectin promoter with the distal enhancer. However, adiponectin promoter with each mutation of two CCAAT boxes in the distal enhancer did not respond to knockdown of C/EBP $\alpha$  expression. Furthermore, C/EBP $\alpha$  bound to the distal enhancer both *in vitro* and *in vivo*. We also identified a proximal promoter region responsible for transcriptional activation by the distal enhancer in human adiponectin gene. Our results indicate that C/EBP $\alpha$  plays a pivotal role in the transcription of human adiponectin gene via the distal enhancer and proximal region in its promoter.

#### 論文審査の結果の要旨

アディポネクチンは、脂肪細胞特異的に発現し、血中濃度が極めて高いタンパク質であるが、その遺伝子転写メカニズムについては不明な部分が多い。そこで本研究では、ヒトアディポネクチン遺伝子の脂肪細胞特異的発現機構を理解するため、5'上流約10kbpプロモーターと第1イントロンに注目し、ルシフェラーゼを用いたプロモーターアッセイ、およびトランスジェニックマウスの作製を行いこれらの転写活性を詳細に解析した。その結果、ヒトアディポネクチン遺伝子の5'側上流10390bpのプロモーターが培養細胞、マウスモデル共に脂肪特異的な転写活性を示すこと、転写開始点の上流約2.6kbp領域に、脂肪細胞特異的な強いエンハンサー活性が存在することが明らかとなった。この新規遠位エンハ

ンサー領域は、種を超えて高度に保存されており、CCAATボックスが2箇所存在することが分かった。またこれらのCCAATボックスに結合する転写因子C/EBP $\alpha$ が実際に結合して機能していることを証明した。さらにこの遠位エンハンサー領域が機能するために必須である近位プロモーター領域も同定することができた。以上のように、本研究は、ヒトアディポネクチン遺伝子の脂肪細胞特異的発現機構の理解に向けた新しい知見を明らかにしていることが高く評価でき、学位の授与に値すると考える。