

審査の結果の要旨

氏名 洪子雯

ヒトの生理的代謝において最も劇的な変動を引き起こす現象は、絶食ならびにその後の再摂食である。近年では、摂食刺激に対し、胆嚢より放出された胆汁酸がインスリンと並行して摂食応答を制御するシグナル因子として注目されている。TGR5 は胆汁酸を内因性リガンドとする受容体であり、肝臓において、抗癌、抗アポトーシス作用など様々な機能が報告されているが、発現制御に関する解析は進んでいない。当研究室の先行研究では、マウスを絶食に供することにより肝臓での TGR5 発現が増加することを見出している。しかし、摂食時に胆汁酸が増加し、TGR5 を介して肝細胞内の cAMP が上昇する事の生理的意義は不明である。本研究では、絶食により TGR5 の発現制御機構の解明と胆汁酸による TGR5 活性化の生理機能を解析し、絶食時のエネルギー代謝調節の分子メカニズムについて多くの新たな知見を提示している。

序論に続く第二章では、血中胆汁酸濃度を上昇させ TGR5 を活性化する食品成分を探索する目的で、肝臓への胆汁酸輸送体 NTCP の阻害活性を検出するアッセイ系を構築した。食品成分化合物ライブラリーから NTCP 阻害活性を有する分子としてフィセチン (FST) というフラボノイドを見出している。細胞実験の結果から、FST は短時間で NTCP による胆汁酸取り込みを抑制するとともに、経時的に NTCP タンパク質の発現量を低下させ、長時間にわたり胆汁酸取り込みを減少させる機能を有していることが明らかにされた。マウスへの *in vivo* 投与実験においては、28 日 FST 処理により門脈及び全身循環における胆汁酸濃度の増加が確認され、NTCP 阻害による胆汁酸の再吸収の減少を確認した。胆汁酸およびコレステロール代謝に関連する遺伝子とタンパク質の発現変動に関して解析を行った結果、胆汁酸生合成の律速酵素 Cyp7a1 の遺伝子発現の上昇により、コレステロール異化を促進すること、また、胆汁酸の循環レベルを増加させることが示された。FST の投与により、エネルギー消費への影響を測定した結果、血中胆汁酸濃度の上昇は TGR5 の活性化を介し、酸素消費量、およびエネルギー代謝を促進することが判明した。

第三章では、肝臓において胆汁酸を結合してシグナルを伝達する受容体 TGR5 についてその機能解析を進めている。自由摂食ならびに 24、36、48 時間絶食させたマウスの肝臓サンプルを用いて TGR5 遺伝子発現の変動を追跡したところ、絶食により TGR5 発現が上昇することが確認された。ヒトとマウス TGR5 のプロモータープラスミドを用いて、レポーターアッセイを行った結果、p53 が TGR5 のプロモーター活性を上昇させることが認められた。さらに、複数の分子細胞生物学的手法により、TGR5 は新たな p53 標的遺伝子として、絶食時の AMPK-PGC1 シグナル経路で制御されることが明らかにされた。

第四章では、TGR5 の合成リガンドを用いて TGR5 遺伝子及びタンパク質の発現機構解析を行っている。その結果、胆汁酸は TGR5 のリガンドとして、プロテアソームによる分解を阻害し、絶食後の TGR5 タンパク質発現をさらに安定化する効果が示唆された。

絶食による TGR5 の発現制御機構の解明に続き、第五章では、再摂食時の TGR5 の生理的意義について検討している。TGR5 の活性化により細胞内の cAMP を上昇させ、脂質生合成に関与する遺伝子 SREBP-1 と ACC の発現を抑制し、脂肪酸合成が低下することを確認している。さらに、TGR5-KO マウス由来のマウス初代肝細胞では、脂肪酸合成と TG の濃度の増加が認められた。一方、INT777 (TGR5 特異的な合成リガンド) の処理により cAMP シグナル経路を仲介する PKA のリン酸化が見られた。以上の結果から、TGR5 は肝臓において脂質代謝調節に関与することが示された。長時間絶食 (>36h) 後のマウス肝臓における TGR5 発現増加と食後胆汁酸の分泌による TGR5 の活性化により、エネルギーを効率よく利用するための生存メカニズムとして機能している可能性が示唆された。

これらの研究成果は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。