

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 丸山 貴史

本論文は、脂質代謝制御の中心を担う転写因子 Sterol regulatory element-binding protein 1 (SREBP-1) の特異的な阻害剤の探索を行ったものである。SREBP-1 の過剰な活性化は脂肪の蓄積を引き起こすため、生活習慣病の発症と密接に関連する。このため、SREBP-1 の活性制御は生活習慣病の予防・治療のために重要な課題であるが、その活性化分子機構は未知のままであった。本論文では SREBP-1 特異的な活性化機構解明のツールとなり得る阻害剤を同定するため、生理的条件下で引き起こされる SREBP-1 特異的な活性化を阻害する化合物を同定し、今後の活用・展望を述べている。

第一章の序論では脂質代謝制御における SREBP-1 の役割および同じファミリーに属しコレステロール代謝を司る SREBP-2 との違いを紹介するとともに、既知の活性化機構に関する知見をまとめ、研究の目的について述べている。

第二章では、SREBP-1 特異的な活性化の分子機構を明らかにするための実験ツールとして活用することを目指し、生体内で見られる特異的な SREBP-1 の活性化を促す刺激に対して SREBP-1 活性化を阻害する化合物の探索を行っている。そのためにヒト、マウス、ラット由来の肝細胞や前駆脂肪細胞など複数の細胞種に対して、インスリン、エタノール、飽和脂肪酸をはじめとした様々な生理的な刺激を加え、スクリーニングに適した顕著な活性化が見られる条件を検討している。その結果、脂肪細胞に脂肪滴形成を誘導することで、SREBP-1 の標的遺伝子が顕著に発現増加することを示し、同時に SREBP-1 の活性化を阻害することで脂肪滴形成の阻害およびその標的遺伝子発現誘導が抑制されることを確認している。さらに脂肪滴の大きさが SREBP-1 の活性を反映しうることから、脂肪滴の大きさを定量する手法を独自に開発し、新規の SREBP-1 活性評価手法を編み出している。次に、ハイスループットなスクリーニング系を確立するため、培養方法、培地の添加剤、培養日数、プレートの種類などの検討を行い、安定した系の条件を見出している。構築したスクリーニング系を用いて、SREBP-1 の活性を阻害しうる化合物を、約 76,000 化合物という大規模な化合物ライブラリーから選抜している。選抜された化合物のうち、SREBP-1 を介さずに脂肪滴形成を阻害する化合物や細胞毒性をもつ化合物を除き、さらに SREBP-2 の標

的遺伝子発現量に影響を与えず、SREBP-1 標的遺伝子発現量を減少させる 5 化合物を同定している。以上の結果より、SREBP-1 特異的な活性化機構の存在を示唆するとともに、同定された化合物はその未知の活性化分子機構に作用するものと考察している。

第三章では SREBP-1 に直接阻害する化合物を創出することを目指し、精製した SREBP-1 組換えタンパク質を用いて、化合物との結合を評価するためのスクリーニング系を構築し、SREBP-1 に直接結合する化合物を探索している。本論文では SREBP-1 の機能に重要かつ特異性の高い領域の精製に成功し、その精製タンパク質を用いて、化合物との結合時に見られる熱安定性の変化を指標としたハイスループットな結合評価系を構築している。構築した評価系を用いて、約 32,000 化合物からスクリーニングを行い、結合すると考えられる化合物を選抜している。さらに、それらの化合物の中には非特異的に結合する化合物が存在することを想定し、Surface Plasmon Resonance を利用した結合評価を実施し、結合飽和性が見られた、特異的に結合していると考えられる 4 化合物を同定している。これらの化合物は直接結合していると考えられることから、今後は近年注目されている技術である E3 ユビキチンリガーゼを利用したプロテインノックダウン技術を活用することで SREBP-1 特異的な分解誘導剤創出に繋がると考察している。

最後の第四章では各章の結果をまとめ、考えられる作用機序や今後の展望について述べている。

以上、本論文で見出した化合物は、不明な点が多い SREBP-1 特異的な活性化分子機構解明のための実験ツールとなる化合物や、生活習慣病発症・進展における SREBP-1 の特異的な阻害による表現型解析を行う上で有用な化合物と期待され、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、本論文は博士（農学）の学位請求論文として合格と認められる。

見本

審査の結果の要旨

氏 名 本郷 太郎

(※履歴書の記載と同じにしてください。)

[illegible]

よって、本論文は博士（農学）の学位請求論文として合格と認められる。

(↑今年度より文言が変更されました)

※「文書ファイル（Word 等で作成したもの）」及び「PDF ファイル」を提出してください。