

審査の結果の要旨

氏名 有山 博之

肥満はメタボリックシンドロームの発症と密接に関係している。脂肪組織に過剰に蓄積した脂肪が分解されると、多量の遊離脂肪酸が血中に放出され、高脂肪酸血症を呈する。高濃度の血中遊離脂肪酸は脂肪組織以外の細胞に取り込まれ、蓄積することにより、細胞障害や細胞死を引き起こす。この現象は脂肪毒性 (Lipotoxicity) と呼ばれ、膵臓、肝臓、心臓および骨格筋など様々な臓器で起こり、インスリン抵抗性、メタボリックシンドロームと密接に関わっている。近年、培養細胞を用いた解析から、脂肪毒性は遊離脂肪酸の中でもパルミチン酸 (16:0) などの飽和脂肪酸によって引き起こされること、飽和脂肪酸は細胞死のみならず、小胞体ストレス応答 (UPR: Unfolded Protein Response) を引き起こすことが明らかとなっており、脂肪毒性が引き起こす病態において、飽和脂肪酸により誘導される UPR の関与が非常に注目されている。有山は修士課程において、飽和脂肪酸が生体膜リン脂質に蓄積することが UPR の惹起に重要であることを示した。さらに博士課程において、飽和脂肪酸誘導性の UPR の分子機構を明らかにすることを目指し、飽和脂肪酸誘導性 UPR に関与する新規分子の同定を目指した。

これまでに有山は、SCD1 (Stearoyl-CoA desaturase1) の発現抑制により、リン脂質の飽和脂肪酸を特異的に増加させる実験系を確立しており、またこのとき UPR が惹起されることを見出している。そこで有山は、DNA マイクロアレイを行い SCD1 発現抑制下で発現上昇する遺伝子を探索した。発現上昇がみられた遺伝子のうち、小胞体局在型タンパク質に着目し、これらを RNAi することで飽和脂肪酸による UPR に対する影響を調べた。その結果、飽和脂肪酸増加時の UPR に最も顕著な影響を与える遺伝子として SFAUS (Saturated Fatty Acid-induced UPR Suppressor) を同定した。SFAUS を発現抑制すると、飽和脂肪酸増加時にみられる UPR センサータンパク質 IRE1、PERK の活性化 (自己リン酸化)、およびその下流で生じる CHOP mRNA の発現上昇が著しく抑制されることを見出した。一方で、SFAUS の発現抑制は、小胞体内に構造異常タンパク質を蓄積させる薬剤であるツニカマイシン、タプシガルジン、DTT による UPR の活性化には全く影響を与えないことも示した。

SFAUS は飽和脂肪酸誘導性の UPR 特異的に作用することから、飽和脂肪酸の代謝に関与していることが考えられた。そこで有山は、放射標識した 16:0 を用いて、SFAUS 発現抑制時の 16:0 の代謝変化を調べた。その結果、SFAUS の RNAi により 16:0 のリン脂質への取り込みが劇的に抑制され、トリグリセリド、コレステロールエステルへの取り込みが増加することを見出した。これらの結果から、SFAUS 発現抑制時にみられた飽和脂肪酸による UPR の抑制は、飽和脂肪酸代謝変化を介していることを示唆した。実際、飽和脂肪酸代謝に関与する複数の遺伝子が、SFAUS の発現抑制によって転写活性化されていることも示した。

次に有山は、飽和脂肪酸が SFAUS に与える影響を調べるため、SFAUS モノクローナル抗体を樹立し、飽和脂肪酸増加時の SFAUS タンパク質の動態を調べた。その結果、飽和脂肪酸

増加時において、SFAUS のタンパク質発現が顕著に減少していることを見出した。さらにこのタンパク質分解はユビキチン-プロテアソームを介していることも示した。以上のことから有山は、飽和脂肪酸増加時に SFAUS は積極的に分解され、飽和脂肪酸代謝を変化させていることを示唆した。

これまでの解析から SFAUS を発現抑制すると、飽和脂肪酸代謝が変化することで、飽和脂肪酸毒性が抑制されることを明らかにした。そこで有山は、SFAUS 発現抑制下における細胞内の脂質プロファイルの変化を LC-MS、GC-MS により詳細に調べた。その結果、興味深いことに 16:0 を添加すると、特徴的な脂肪酸鎖を持つ Lipid X が蓄積することを見出した。Lipid X が飽和脂肪酸毒性に関与することを調べるために、Lipid X の合成系を RNAi で抑制する実験系、リン脂質分解酵素の強制発現により Lipid X を分解する実験系の 2 つのアプローチを試みた。その結果、どちらの実験系においても、16:0 添加時の UPR が部分的に抑制される結果を得ており、飽和脂肪酸誘導性の UPR に Lipid X が関与していることを示唆した。

有山は本研究において、飽和脂肪酸毒性に関与する新規遺伝子として SFAUS を同定した。また SFAUS 発現抑制が、飽和脂肪酸代謝を劇的に変化させることにより、飽和脂肪酸誘導性の UPR を抑制することを明らかにした。さらに飽和脂肪酸が SFAUS タンパク質の分解を促進させることを見出した。これまで飽和脂肪酸毒性の研究分野において、その毒性発揮機構の解析はなされているものの、飽和脂肪酸毒性に対する防御機構に関してはほとんど報告がない。本研究の結果は、飽和脂肪酸増加時における SFAUS の積極的なタンパク質分解が、飽和脂肪酸毒性に対する防御機構として機能していることを示唆している。また SFAUS の分解は、リン脂質中に飽和脂肪酸増加への応答反応であり、SFAUS 分解機構を明らかにすることで、リン脂質中の飽和脂肪酸を感知する機構が明らかになることが期待される。また SFAUS 発現抑制下で詳細な脂質解析を行うことにより、Lipid X が飽和脂肪酸誘導性の UPR に関与する可能性を見出した。Lipid X は通常培養条件では、ほとんど検出されず、UPR を引き起こす分子スイッチとなっている可能性を提唱している。Lipid X を起点とした研究により、飽和脂肪酸誘導性の UPR の分子機構の解明が進むことが期待され、飽和脂肪酸毒性における新たな治療ターゲットを提示できると考えられる。以上の結果から、有山の研究は博士（薬学）に充分値すると判断した。