

ヒト皮膚線維芽細胞における脂肪酸、コレステロール代謝調節機構

佐藤 隆 一 郎

東京大学大学院農学生命科学研究科・応用生命化学

本研究課題では、脂肪酸合成・コレステロール代謝調節の中心的役割を担う転写因子 SREBP(Sterol Regulatory Element Binding Protein)の機能を、分子細胞生物学的アプローチにより明らかにすることにより、皮膚細胞における脂質代謝調節解明の基礎研究になることを目的とした。SREBP は互いに 47%の相同性を持つ SREBP-1 と SREBP-2 の 2 種類の蛋白質から成るファミリーを形成するが、その機能的役割分担について不明な点が多い。SREBP-1 が主として脂肪酸代謝関連遺伝子、SREBP-2 がコレステロール代謝関連遺伝子を転写制御するものと考えられているが明確な知見は少ない。我々は、それぞれを一過的に発現する細胞株を樹立し、SREBP-1、-2 のそれぞれに応答する遺伝子を subtractPCR 法にて同定することを試みた。

【結果および考察】

CHO-487 細胞で SREBP-1 を一過的に過剰発現させ転写が亢進した遺伝子を subtractPCR 法により単離し、その塩基配列を決定した。その結果、これまで報告のある SREBP 応答遺伝子の他に ACL 遺伝子が見出された。SREBP の制御を受ける HMG CoA synthase mRNA 量の変動をそれぞれの CHO 細胞株を用いて検討したところ、ACL については HMG CoA synthase mRNA と同様な濃淡のパターンは認められたものの、コレステロール過剰状況下の CHO-Lac 細胞でも発現が確認され、SREBP-1 は転写の一部を調節していることが推察された。ACL 遺伝子の転写制御が、SREBP-1 の過剰発現により観察される人為的な現象なのか、細胞内コレステロールの増減に応じて起こる SREBP の活性化によっても引き起こされるのかについて、ヒト肝細胞 Hep G2 による解析を行なったところ、ACL は細胞内のコレステロールの増加に伴い発現が低下し、減少に伴い発現増加が認められた。ルシフェラーゼアッセイの系にヒト SREBP-1、SREBP-2 発現プラスミドをそれぞれ導入し、応答を検討した結果、ACL は SREBP-1 により高い感受性を持って反応した。一方、コントロールで用いた HMG CoA synthase、LDL 受容体遺伝子は双方に対してほぼ同等の反応を示した。さらに SREBP-1、SREBP-2 を過剰発現するトランスジェニックマウス肝臓中でのそれぞれの mRNA 量を測定したところ、HMG CoA synthase、LDL 受容体 mRNA は両トランスジェニックマウス間で差が認められなかったのに対し、ACL mRNA は SREBP-1 トランスジェニックマウスで高値を示し、ルシフェラーゼアッセイの結果と一致した。