

氏名	にしむらてつや 西村哲也
学位(専攻分野)	博士(薬学)
学位記番号	薬博第516号
学位授与の日付	平成15年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	薬学研究科生命薬科学専攻
学位論文題目	新規FGF, FGF-21の同定と肝臓でのコレステロール代謝における役割に関する研究

論文調査委員 (主査)  
教授 伊藤信行 教授 川崎敏祐 教授 市川厚

### 論文内容の要旨

FGF (fibroblast growth factor) はペプチド性細胞間シグナル伝達因子であり、これまでに一次構造上に類似性を持つ18種類のFGFが同定され、大きなファミリーを形成していることが明らかになっていた。FGFは現在では多彩な細胞に対して増殖活性や分化誘導等の作用を及ぼし、血管新生、創傷治癒、あるいは胎児期における形態形成を誘導するなど多様な作用のあることが知られている。

そこで申請者は、新規のFGFが単離できれば様々な生命現象におけるFGFの役割の新たな一面が明らかになり、さらには医薬品開発においても有用な知見が得られるかもしれないと考え、新規FGFの探索を試みた。その結果、申請者は、新規なFGF (FGF-19, FGF-21) を単離し、中でもFGF-21は肝臓において発現し、コレステロール代謝経路の調節に関与していることを明らかにした。

#### 第一章 新規FGFの同定と生体内分布

遺伝子配列のデータベースをホモロジー検索することにより新規FGFの探索を試み、FGF-15と相同性の高い新規FGF (FGF-19) の断片を発見しRACE法によりその全構造を決定した。次に発現臓器をRT-PCRで調べた結果、胎児期の脳に発現することを明らかにした。このことからFGF-19は脳の形態形成に関与していることが示唆された。また、さらにこのFGF-19配列を元にhomology-based PCRを行った結果、FGF-19と約35%の相同性を持つ新規な因子を単離し、これをFGF-21と命名した。FGF-21はそのN末端に典型的な分泌シグナル配列を持ち、また昆虫細胞発現系において作成した組み換えFGF-21タンパクは細胞外に分泌されたことから、FGF-21は細胞外シグナル分子として機能していることが明らかになった。

次に、FGF-21の生理的意義を明らかにするために、FGF-21遺伝子の発現分布を調べた。その結果、成体においては肝臓に特異的に発現していることが明らかになった。この発現パターンは、報告されている他のFGFの発現パターンとは全く異なっており、FGF-21は、生体内において他のFGFとは異なる独自の機能を持つことが示唆された。

#### 第二章 コレステロール代謝調節因子としてのFGF-21

肝臓は消化管に付随する体内最大の腺性器官で、約8割を占める実質細胞と非実質細胞より成り、門脈・胆管をもって腸に連絡する。機能としては様々な栄養物の代謝と貯蔵、胆汁の生産、血液成分の生成・変換、解毒と異物除去など様々な機能を営む。申請者は、FGF-21がこの多機能な肝臓においてどの様な働きを担っているのかを検討するため、発現パターンを詳しく調べた。その結果、FGF-21は発現量が日内変動し、発達過程においては生後発現量が上昇し、特に離乳期に一過性のピークを示すことを明らかにした。また、組織内においては門脈域周辺の肝実質細胞に限局して発現することを明らかにした。これらは物質代謝に関係した遺伝子によく見られる特徴であることから、FGF-21は物質代謝に関係した働きをもつことが示唆された。

また、FGF-21の作用機構の解明を目的に結合受容体を検討した結果、FGF-21はFGFR-4とのみ親和性をもつことを

明らかにした。FGFR4は実質細胞で高発現しており、FGFR-4KOマウスの肝臓では、コレステロール代謝課程の律速段階にある酵素、cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase (CYP7A)の発現が上昇し、胆汁酸合成が亢進していることが報告されている。そこで申請者は、FGF-21はFGFR-4を介してCYP7Aの発現を抑制し、胆汁酸合成を調節しているのではないかと考え、肝初代培養細胞に対する活性を検討した。その結果、組み換えFGF-21を加えて培養した細胞ではcontrolに比べCYP7A mRNAの発現量が減少していることが確認された。以上の結果から、FGF-21は肝実質細胞で発現し、肝実質細胞のFGFR-4に作用しCYP7Aの発現量を調節することによって、コレステロールと胆汁酸のホメオスタシス維持に関与していることが明らかにされた。

以上、本研究において、申請者は新規FGFであるFGF-21の同定と、FGF-21が肝実質細胞に対してオートクラインに作用するシグナル伝達因子として、コレステロールと胆汁酸のホメオスタシスの調節に重要な役割を持つことを明らかにした。これらの成果は複雑な胆汁酸合成経路の調節機構の解明や、高コレステロール血症の治療など臨床への応用に重要な知見をもたらすことが期待される。

### 論文審査の結果の要旨

FGF (fibroblast growth factor) はペプチド性細胞間シグナル伝達因子であり、これまでに一次構造上に類似性を持つ18種類のFGFが同定され、大きなファミリーを形成していることが明らかになっていた。FGFは現在では多彩な細胞に対して増殖活性や分化誘導等の作用を及ぼし、血管新生、創傷治癒、あるいは胎児期における形態形成を誘導するなど多様な作用のあることが知られている。

そこで申請者は、新規のFGFが単離できれば様々な生命現象におけるFGFの役割の新たな一面が明らかになり、さらには医薬品開発においても有用な知見が得られるかもしれないと考え、新規FGFの探索を試みた。その結果、申請者は、新規なFGF (FGF-19, FGF-21) を単離し、中でもFGF-21は肝臓において発現し、コレステロール代謝経路の調節に関与していることを明らかにした。

遺伝子配列のデータベースをホモロジー検索することにより新規FGFの探索を試み、FGF-15と相同性の高い新規FGF (FGF-19) の断片を発見しRACE法によりその全構造を決定した。次に発現臓器をRT-PCRで調べた結果、胎児期の脳に発現することを明らかにした。このことからFGF-19は脳の形態形成に関与していることが示唆された。また、さらにこのFGF-19配列を元にhomology-based PCRを行った結果、FGF-19と約35%の相同性を持つ新規な因子を単離し、これをFGF-21と命名した。FGF-21はそのN末端に典型的な分泌シグナル配列を持ち、また昆虫細胞発現系において作成した組み換えFGF-21タンパクは細胞外に分泌されたことから、FGF-21は細胞外シグナル分子として機能していることが明らかになった。

次に、FGF-21の生理的意義を明らかにするために、FGF-21遺伝子の発現分布を調べた。その結果、成体においては肝臓に特異的に発現していることが明らかにした。この発現パターンは、報告されている他のFGFの発現パターンとは全く異なっており、FGF-21は、生体内において他のFGFとは異なる独自の機能を持つことが示唆された。

肝臓は消化管に付随する体内最大の腺性器官で、約8割を占める実質細胞と非実質細胞より成り、門脈・胆管をもって腸に連絡する。機能としては様々な栄養物の代謝と貯蔵、胆汁の生産、血液成分の生成・変換、解毒と異物除去など様々な機能を営む。申請者は、FGF-21がこの多機能な肝臓においてどのような働きを担っているのかを検討するため、発現パターンを詳しく調べた。その結果、FGF-21は発現量が日内変動し、発達過程においては生後発現量が上昇し、特に離乳期に一過性のピークを示すことを明らかにした。また、組織内においては門脈域周辺の肝実質細胞に局限して発現することを明らかにした。これらは物質代謝に関係した遺伝子によく見られる特徴であることから、FGF-21は物質代謝に関係した働きをもつことが示唆された。

また、FGF-21の作用機構の解明を目的に結合受容体を検討した結果、FGF-21はFGFR-4とのみ親和性をもつことを明らかにした。FGFR4は実質細胞で高発現しており、FGFR-4KOマウスの肝臓では、コレステロール代謝課程の律速段階にある酵素、cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase (CYP7A)の発現が上昇し、胆汁酸合成が亢進していることが報告されている。そこで申請者は、FGF-21はFGFR-4を介してCYP7Aの発現を抑制し、胆汁酸合成を調節しているのではないかと考え、

肝初代培養細胞に対する活性を検討した。その結果、組み換え FGF-21 を加えて培養した細胞では control に比べ CYP7A mRNA の発現量が減少していることが確認された。以上の結果から、FGF-21 は肝実質細胞で発現し、肝実質細胞の FGFR-4 に作用し CYP7A の発現量を調節することによって、コレステロールと胆汁酸のホメオスタシス維持に関与していることが明らかにされた。

以上、本研究は新規 FGF である FGF-21 の同定と、FGF-21 が肝実質細胞に対してオートクラインに作用するシグナル伝達因子として、コレステロールと胆汁酸のホメオスタシスの調節に重要な役割を持つことを明らかにした。

よって、本論文は博士（薬学）の論文として価値あるものと認める。更に、平成15年2月25日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。