

京都大学	博士 (医学)	氏名	西野共達
論文題目	MicroRNA-33 regulates sterol regulatory element-binding protein 1 expression in mice (マイクロ RNA-33 は生体内で SREBP-1 の発現を制御する)		
(論文内容の要旨)			
<p>マイクロ RNA(miR)は、20-22 塩基程度のノンコーディング RNA の一つであり、標的遺伝子の mRNA の 3'非翻訳領域に相補的に結合することで、翻訳抑制や mRNA 分解を促進する。マイクロ RNA-33(miR-33)は <i>Sterol regulatory element binding factor 2 (SREBF2)</i> 遺伝子のイントロンに種を超えて高度に保存されて存在し、脂質代謝を調節するノンコーディング RNA として報告された。miR-33 の主な標的遺伝子には、HDL-コレステロール生成の律速段階となる <i>ATP-binding cassette, sub-family A, member 1 (ABCA1)</i> があり、miR-33 ノックアウトマウス(miR-33^{-/-}マウス)では、ABCA1 の蛋白発現量の増加から、血清 HDL-コレステロールの上昇を認めた。miR-33^{-/-} <i>ApoE</i>^{-/-}マウスの解析から、動脈硬化の形成が抑制されることが分かり、miR-33 抑制が新規動脈硬化治療として期待されている。しかし、高齢あるいは高脂肪食負荷を行った miR-33^{-/-}マウスにおいては、野生型に比べ、体重増加・脂肪肝を認めたため、この分子機構について検討した。miR-33^{-/-}マウスを通常食で飼育すると 26 週齢から野生型に比べ、有意な体重増加を認め、その増加が主に肝臓と白色脂肪組織重量の上昇によることが分かった。45%高脂肪食を負荷したところ、負荷 4 週後の早期から同様の表現型を認めた。miR-33^{-/-}マウスの肝臓組織では高度脂肪肝を認め、主に中性脂肪が蓄積していた。肥満・脂肪肝を来す以前の通常食負荷 16 週齢の肝臓にてマイクロアレイ解析を行ったところ、miR-33^{-/-}群において <i>SREBF1</i> を始めとした脂肪酸合成系の遺伝子群の発現上昇を認めた。<i>in silico</i>での標的遺伝子検索により <i>SREBF1</i> 遺伝子の 3'非翻訳領域に miR-33 の標的配列が種を超えて保存されおり、同領域を luciferase の下流へつないで行った Luciferase assay にて miR-33 が確かに <i>SREBF1</i> を直接の標的遺伝子とすることが明らかとなった。また、マウス初代肝細胞において、<i>SREBF2</i> の発現上昇刺激であるコレステロール欠乏刺激によって、miR-33 の発現が上昇し、同時に SREBP-1 の蛋白発現量が抑制された。さらに、<i>SREBF1</i>^{-/-}マウスと miR-33^{-/-}マウスを交配し、SREBP-1 の発現量を野生型と同程度まで抑制したマウスにおいて、45%高脂肪食負荷での体重増加と脂肪肝の表現型は消失した。以上のことから、miR-33 が <i>in vitro, in vivo</i> 下で、<i>SREBF1</i> 遺伝子を標的遺伝子として機能する事が明らかとなった。この結果は、コレステロール代謝を制御する <i>SREBF2</i> 遺伝子と脂肪酸代謝を制御する <i>SREBF1</i> 遺伝子間に、<i>SREBF2</i> のイントロンに存在する miR-33 を介した新たな調節機構があることを見出したことになる。この機構によって、miR-33 が ABCA1 の抑制のみならず、脂肪酸の新規合成を抑制することにより、細胞内コレステロールレベルのホメオスタシスを保持している可能性が示唆された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

マイクロ RNA は、ノンコーディング RNA の一種で、発生や代謝調節などの生理学的役割から、肥満、動脈硬化、がん等の病態生理に関わることが明らかとなってきた。

miR-33 は、血清 HDL コレステロール生成の律速段階となる ABCA1 を始めとした脂質代謝に関わる遺伝子群を標的とするマイクロ RNA である。miR-33 ノックアウトマウスや合成 RNA による miR-33 抑制はマウス生体内での動脈硬化形成を抑制し、新規抗動脈硬化治療の標的として注目されている。しかし今回、ノックアウトマウスが長期飼育あるいは高脂肪食負荷により肥満、脂肪肝を示すことが明らかとなった。肥満、脂肪肝を呈する以前のノックアウトマウス肝臓を用いたマイクロアレイ解析と *in silico* での標的遺伝子検索から、*Srebf1* が新規標的遺伝子である可能性を見出し、*in vitro* の Luciferase assay、*in vivo* での *Srebf1* ヘテロマウスとの交配実験等により、miR-33 が *Srebf1* を実際に標的とし、*Srebf1* 下流の脂肪酸合成系を負に抑制する可能性を見出した。このことから、miR-33 がより精細に細胞内コレステロールレベルの調節を行っていることが示唆された。

以上の研究は、miR-33 による脂質代謝の新機構解明に貢献し、マイクロ RNA による動脈硬化、脂肪肝、肥満などの病態生理解明、また新規治療法開発に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、学位授与申請者は、平成 28 年 2 月 26 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降