

## 論文審査の結果の要旨

氏名：梅 田 香 織

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：ヒト LXR $\alpha$  新規スプライシング変異体の作用機序の解明

審査委員：（主 査） 教授 石 原 寿 光

（副 査） 教授 國 分 眞一朗 教授 相 馬 正 義

教授 浅 井 聰

梅田香織氏は、ヒトにおけるコレステロールの代謝調節センサーとして働く核内受容体 LXR $\alpha$  の新規スプライシング変異体を 2 種同定した。LXR はリガンド依存性転写因子であり、生体内のコレステロール代謝調節の主役を演じており、動脈硬化やメタボリックシンドロームなどの疾患における治療標的として注目されている。また、これまでに核内受容体のスプライシング変異体はいくつか知られているが、それらが組織特異的な機能や病態と関連している可能性が示唆されている。そこで、梅田氏は LXR $\alpha$  の新規スプライシング変異体 LXR $\alpha$  4、LXR $\alpha$  5 および既知であるが解析が不十分な LXR $\alpha$  3 について、分子生物学的、細胞生物学的並びに構造化学的解析を行った。

一次構造から LXR $\alpha$  3 ではカルボキシル末端側に位置するリガンド結合領域の一部が欠失し、LXR $\alpha$  4 ではリガンド結合領域内に 64 個のアミノ酸の挿入が起り、また LXR $\alpha$  5 ではリガンド結合領域内の途中で翻訳が終止することが予想された。まず、ヒトがん細胞由来細胞株およびヒト正常組織におけるこれらの変異体の発現を real-time PCR 法および Western blot 法で検討したところ、がん細胞株において LXR $\alpha$  3 が明らかに発現し、LXR $\alpha$  4 および LXR $\alpha$  5 もレベルは低いが発現を認めた。また、正常組織における発現は、がん細胞におけるものより低かった。次に、各変異体のリガンド依存性転写誘導活性をラット Cyp7a1 プロモーター上の LXR の結合コンセンサス配列を含むルシフェラーゼレポーターアッセイ等で検討したところ、リガンドとして用いた T0901317 依存的に LXR $\alpha$  4 では、LXR $\alpha$  1 に比べて低いながら活性を認めたが、LXR $\alpha$  5 は活性を有さなかった。さらに、これらの変異体の LXR 結合領域への結合を検討したところ、LXR $\alpha$  4、LXR $\alpha$  5 とも結合を認めた。

これら変異体のタンパク相互作用に関する検討を two-hybrid assay 等を駆使して行ったところ、LXR $\alpha$  4 はヘテロ二量体パートナーであるレチノイド X 受容体との相互作用を示し、また LXR $\alpha$  4 と LXR $\alpha$  5 はコファクタータンパク質と弱く相互作用することが明らかとなった。さらに、LXR $\alpha$  1 に対するドミナントネガティブ効果の有無の解析では、LXR $\alpha$  5 のみがドミナントネガティブ作用を持つことが示された。最後に、構造学的考察をすることにより、これらのタンパク間相互作用の基盤となりうる構造学的特徴を明らかにした。

これらの結果は、コレステロール代謝制御の新規のメカニズムの可能性を提示し、脂質代謝異常や動脈硬化などの病態の解析に重要な情報を提供するものである。

よって本論文は、博士（医学）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

平成 25 年 7 月 10 日