

氏 名（本籍）	やまもと しょうじ 山 本 讓 司
学位の種類	博 士（医 学）
学位記番号	医 博 第 2 1 3 6 号
学位授与年月日	平 成 16 年 3 月 25 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科 （博士課程）医科学専攻
学位論文題目	骨格筋におけるアセチル CoA 合成酵素 2 型の転写調節機構

（主 査）

論文審査委員	教授 伊 藤 貞 嘉	教授 野 田 哲 生
	教授 片 桐 秀 樹	

# 論文内容要旨

アセチル CoA は脂肪酸やコレステロール合成、あるいは TCA 回路の基質として不可欠の分子である。アセチル CoA 合成酵素 (Acetyl-CoA synthetase, AceCS) には細胞質型とミトコンドリア型の 2 つのアイソフォームがあり、前者は肝臓や脂肪組織を中心に発現し、後者は骨格筋、心筋、腎臓を中心に発現している。この 2 つのアイソフォームは摂食・栄養状態による転写調節機構が大きく異なり、細胞質型 (AceCS1) は摂食時に発現が亢進し、ミトコンドリア型 (AceCS2) は絶食によって発現が亢進する。今回我々は絶食時の骨格筋における AceCS2 の転写制御機構の一部を解明した。

AceCS2 遺伝子の 5' 上流域には Krüppel-like factor (KLF) 結合予想部位が存在し、レポーター遺伝子アッセイ及び EMSA により KLF15 がこの部位に直接結合して AceCS2 プロモーター活性を上昇させる事を示した。また、Sp1 が AceCS2 プロモーターの基本転写活性に必要であり、Sp1 は KLF 結合部位下流に隣接した GC-Box に作用する事、Sp1 と KLF15 は相乗的に AceCS2 プロモーター活性を上昇させる事を SL2 細胞におけるレポーター遺伝子アッセイで解明した。GST pull-down assay により KLF15 と Sp1 は *in vitro* において直接結合する事を示した。更に、KLF15 を過剰発現する C2C12 安定細胞株において、AceCS2 mRNA の発現レベルは筋芽細胞の時点及び分化後それぞれにおいて対照と比較して 5.8 倍、2.9 倍まで上昇した。以上より、KLF15 が AceCS2 の転写制御を直接行っている重要な転写因子であることを明らかにした。

KLF15 は骨格筋や脂肪組織において GLUT4 の転写を亢進させることが報告されており、今回 AceCS2 の転写への関与が証明されたことからエネルギー代謝機構の調節において重要な役割を果たしているかと推定される。

## 審査結果の要旨

アセチル CoA は脂肪酸やコレステロール合成、あるいは TCA 回路の基質として不可欠の分子である。アセチル CoA 合成酵素 (Acetyl-CoA synthetase, AceCS) には細胞質型とミトコンドリア型の 2 つのアイソフォームがあり、前者は肝臓や脂肪組織を中心に発現し、後者は骨格筋、心筋、腎臓を中心に発現している。この 2 つのアイソフォームは摂食・栄養状態による転写調節機構が大きく異なり、細胞質型 (AceCS1) は摂食時に発現が亢進し、ミトコンドリア型 (AceCS2) は絶食によって発現が亢進する。本研究は、絶食時の骨格筋における AceCS2 の転写制御機構の一部を解明した。AceCS2 遺伝子の 5' 上流域には Kruppel-like factor (KLF) 結合予想部位が存在し、レポーター遺伝子アッセイ及び EMSA により KLF15 がこの部位に直接結合して AceCS2 プロモーター活性を上昇させることを示した。また、Sp1 が AceCS2 プロモーターの基本転写活性に必要であり、Sp1 は KLF 結合部位下流に隣接した GC-Box に作用すること、Sp1 と KLF15 は相乗的に AceCS2 プロモーター活性を上昇させることを SL2 細胞におけるレポーター遺伝子アッセイで解明した。GST pull-down assay により KLF15 と Sp1 は *in vitro* において直接結合することを示した。さらに、KLF15 を過剰発現する C2C12 安定細胞株において、AceCS2 mRNA の発現レベルは筋芽細胞の時点及び分化後それぞれにおいて対照と比較して 5.8 倍、2.9 倍まで上昇した。以上より、KLF15 が AceCS2 の転写制御を直接行っている重要な転写因子であることを明らかにした。

KLF15 は骨格筋や脂肪組織において GLUT4 の転写を亢進させることが報告されており、今回 AceCS2 の転写への関与が証明されたことからエネルギー代謝機構の調節において重要な役割を果たしていると推測される。本研究の知見は新しいものであり、学術的にも優れている。よって、学位に十分値するものと思われる。