総合論文 脂肪酸代謝と SREBP

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 (〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1)

SREBP はコレステロール、脂肪酸代謝に関与する遺伝子群の転写を制御する転写因子である。SREBP は互いに 47% のアミノ酸相同性を有する SREBP 1 と SREBP 2 からなる。他の bHLH-Zip (basic Helix-Loop-Helix leucine Zipper) を持つ転写因子とは異なり、SREBP は小胞体膜あるいは核膜上の膜蛋白質として合成される。bHLH-Zip 領域を含む転写因子活性部位は 2 段階の切断機構を介して膜から切り離される。SREBP ファミリーの中で、SREBP 1 が主として脂肪酸代謝調節を行う。SREBP 1 には alternative splicing により生成される SREBP 1a と SREBP 1c が存在するが、1c は N 末端の転写活性化領域の 24 アミノ酸残基が欠損しており、1a に比べて転写因子としての活性は低い。SREBP 1 の調節遺伝子として脂肪酸合成酵素、アセチル CoA カルボキシラーゼ、ATP クエン酸リアーゼ、ステアロイル CoA デサチュラーゼ、グリセロ 3 燐酸アシルトランスフェラーゼが挙げられる。最近の研究結果から、多価不飽和脂肪酸が SREBP 1 の活性化を抑制することが明らかになり、その作用機序の詳細の解明が待たれる。SREBP の機能を介してコレステロール代謝と脂肪酸代謝が密接な関係を持ちつつ制御されている事実は特筆するに値する。

(連絡者：佐藤隆一郎) Vol.1, No.11, 1065 (2001)

総合論文 スフィンゴミエリン代謝酵素の構造と機能 —病態との関連性を中心として—

小泉 恵子

名古屋大学 大学院 医学研究科 付属病態制御研究施設 がん細胞研究部門
(〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町 65)

スフィンゴミエリン代謝酵素あるいはその産物と病態または細胞内情報伝達機構との関連性に関する報告はこの 10 年間でおびただしい数にのぼる。しかし、それらの報告の相互でかなりの相違や矛盾が見られ、その原因の一つとして、代謝酵素に関する基礎的研究の遅れがあげられる。そこで、今回はスフィンゴミエリン代謝酵素の構造に関する基礎的解析結果の現状と、それを基にした機能の解析結果を中心として述べる。スフィンゴミエリン代謝酵素の中で、合成系としてはその第一ステップを担うセリン パルミトイルトランスフェラーゼを、分解系からは同じくその第一ステップを担うスフィンゴミエリナーゼとその次のステップのセラミダーゼを主に取り上げた。

(連絡者：小泉恵子) Vol.1, No.11, 1073 (2001)

脂肪酸代謝と SREBP

Fatty Acid Metabolism and SREBP

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

〒113-8657

東京都文京区弥生 1-1-1

Ryuichiro SATO

Department of Applied Biological Chemistry

Graduate School of Agricultural and Life

Sciences The University of Tokyo

1-1-1 Yayoi, Bunkyo, Tokyo 113-8657, Japan

Abstract: SREBPs (Sterol Regulatory Element-binding Proteins) regulate the transcription of genes encoding proteins and enzymes involved in cholesterol or fatty acid metabolism. There exist two isoforms, SREBP-1 and -2, with 47% amino acid homology. Unlike other members of the basic helix-loop-helix leucine zipper (bHLH-Zip) family, SREBPs are synthesized as precursors bound to the ER membrane and nuclear envelope. The transcriptionally active NH₂-terminal portion including the bHLH-Zip domain is released from the membrane by two-step proteolysis. Among the SREBP family members, SREBP 1 mainly regulates fatty acid metabolism. The alternative splicing generates SREBP 1a and 1c, the latter lacks 24 amino acids in the NH₂-terminal transactivation domain, thereby being a weaker transcription factor than 1a. Their responsive genes include fatty acid synthase, acetyl CoA carboxylase, ATP citrate-lyase, stearoyl CoA desaturase, glycerol-3-phosphate acyltransferase gene. Recent studies demonstrate that unsaturated fatty acids downregulate the SREBP 1 activities, but that the precise regulatory mechanism remains unclear. It is noted that both cholesterol and fatty acid metabolism are coordinately regulated through the actions of the SREBPs.

Key words: Fatty Acid, Cholesterol, SREBP, Transcription

1 はじめに

細胞内のコレステロール合成ならびに LDL 取り込みは厳密なフィードバックコントロールにより制御されている。このコントロールは主として種々の酵素、蛋白質の発現を転写レベルで調節することにより行われており、その中心的役割を果たす転写因子 SREBP (Sterol Regulatory Element-Binding Protein) は 1993 年に発見された。その後の研究から、SREBP はコレステロール代謝のみならず、脂肪酸代謝、脂肪細胞分化等に関与する遺伝子の転写を制御していることが明らかにされ、脂質代謝全般を調節する転写因子として認識されている。

2 コレステロールによるフィードバック機構

コレステロールは動物の形質膜、オルガネラ膜の構成成分として、また種々の生体機能を調節するステロイド

ホルモンの前駆体として機能する。1990 年代の後半には、発生の過程においてコレステロールが新たな機能を有していることが明らかにされた。脊椎動物の形態形成の過程で機能する分泌蛋白質ソニックヘッジホッグは、自己消化により N 末端側を切断、分泌するが、このペプチドの C 末端にコレステロールがエステル結合し、形態形成能の発現に不可欠な役割を果たすのである。このような広範な生理機能を持つコレステロールは、細胞内での存在量を精密に制御することが求められる。すべての細胞はアセチル CoA を出発物質として 30 段階近くの酵素反応を介してコレステロールを合成することが出来る。細胞内でのコレステロール合成経路と LDL 取り込みの概略を Fig. 1 に示した。この合成経路の調節機構として、その上流に位置する HMG CoA 合成酵素、HMG CoA 還元酵素の活性調節が古くから知られている。すなわち細胞を LDL 存在下で培養すると、両酵素共にその活性は 10% 以下になり、細胞にとり最小限必要な非ステロール化合物 (スクアレン以前に合成されるドリ

連絡者: 佐藤隆一郎

E-mail: aroysato@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

Fig. 1 Pathways of Cholesterol Synthesis and Uptake and Their Regulation by Cholesterol.

コール等)の合成に必要な活性のみが維持される。さらにファルネシルピロリン酸合成酵素、ステロール合成の第一段階であるスクアレン合成酵素も、ステロールによる活性調節を受けることが知られている。これと同時に、LDL受容体の細胞表面の数も細胞内のコレステロールの増減に応じて調節されている。これらの調節機構を分類すると転写調節と転写後調節の2つに大別できる。現在までのところ、転写後調節を受ける酵素はHMG CoA還元酵素にのみ認められている。小胞体膜蛋白質であるHMG CoA還元酵素は、細胞内のコレステロール量が多くなると速やかに分解されるという転写後調節を受ける。一方、HMG CoA還元酵素を含めそれ以外のすべては転写調節により発現量が増減する。

3 SREBP ファミリー

HMG CoA合成酵素、還元酵素ならびにLDL受容体遺伝子の5'上流の解析が行われ、ステロールによる転写調節に必須なエレメントの同定がなされた。LDL受容体遺伝子の解析が最も入念に行われ、転写開始点からおよそ60塩基程度上流に位置する10塩基からなる5'-ATCACCCAC-3'配列がSRE (Sterol Regulatory Element)と命名された。類似の配列がHMG CoA合成酵素、還元酵素の上流にも見出され、それぞれステロールによる転写調節に必須な配列であることが確認された。このSREに特異的に結合する蛋白質の精製がHeLa細胞の核抽出画分を用いて行われ、精製蛋白質の部分ア

Fig. 2 Comparison of the Amino Acid Sequences and Domain Structures of Humna SREBP 1a and SREBP 2.

ミノ酸配列をもとに、2種類のcDNAがクローニングされそれぞれSREBP 1, 2と名付けられた^{1,2)}。2種類の蛋白質はいずれも約1100アミノ酸からなり、N末端に酸性アミノ酸リッチな転写活性化領域、その後方に多くの転写因子に見られるbHLH-Zip (basic Helix-Loop-Helix leucine-Zip) 領域を含む酷似した構造を持ち、互いに47%のアミノ酸相同性を持っていた (Fig. 2)。核から抽出された精製蛋白質が70 kDa程度の分子量であったのに対し、予想された分子量は120 kDaを超えるものであり、矛盾が生じた。この分子量の差異は、全く予想しなかったことに、いずれの分子にもその中央部に2ヶ所の膜貫通部位が存在し、合成直後はこれらを介してSREBPは小胞体膜、核膜に高分子量の膜蛋白質として局在し、その後一連のプロセッシングを受け、N末端側が切断され、70 kDa程度の活性型が核へと移行して転写因子として機能することによる。それではどの様にして活性型への変換が起こるかという疑問に答えるべく詳細な検討がなされた結果、細胞内のコレステロール量が低下すると核内の活性型が増加し、応答遺伝子の転写を促進し、一方コレステロール量が過剰になると活性型は核内から消失し、プロセッシングが細胞内コレステロール量により制御されることが明らかになった^{3,4)}。

SREBPファミリーとして2種類の遺伝子にコードされたSREBP 1 (クロモソーム17 p 11.2) とSREBP 2 (クロモソーム22 q 13) が存在することを述べたが、SREBP-1には開始コドンを含むエキソン1aとそこから14 kb下流の同じく開始コドンを含むエキソン1cからスプライシングの違い (Alternative splicing) により生じる2種類のスプライシングアイソフォームが存在する。その結果、活性型SREBP 1aと1cはN末端側が異なり、1aに比べて1cでは24アミノ酸残基が欠落している。転写活性化領域が短い分だけ1cは転写因子活性が弱い特長を持つ。SREBP 1とSREBP 2 mRNAの各組織における発現パターンは、SREBP 1が脂質代謝の活発な肝臓、副腎等で発現が高いのに対し、SREBP 2は各組織で一様に発現されている。この事実は、後述するように

Fig. 3 The Regulatory Cis-Elements in the Promoter Region of Known Sterol Responsive Genes.

SREBP 2 がコレステロール代謝を制御するために各組織で一様に発現し、SREBP 1 が脂肪酸合成等を制御するために脂質代謝が活発な臓器で高発現されていると考えることが出来る。

4 SREBP による正の転写調節に必要な協調因子

LDL 受容体遺伝子の SREBP による転写促進には SRE 配列の他に、その近傍にほとんどすべての細胞に発現している転写因子 Sp 1 の結合部位の存在が必須であることが知られている (Fig. 3)。脂肪酸合成に関与するアセチル CoA カルボキシラーゼと脂肪酸合成酵素遺伝子はいずれもその上流域に Sp 1 結合部位と SREBP 結合部位を有する。一方、最近の実験結果からファルネシルピロリン酸合成酵素、SREBP-2 遺伝子の上流域には SREBP 結合部位と NF-Y (Sp 1 同様に広範囲に発現が認められる転写因子) 結合部位 (CCAAT 配列) が存在し、協調的に働くことが明らかになっている。我々が行った転写調節実験によれば、SREBP 結合部位 (ATCACCC-CAC), そこから 18 塩基離れた CCAAT 配列のいずれか一方に変異を入れた場合に、コレステロールによる転写調節が消失した⁵⁾。すなわち SREBP による転写調節は、SRE 配列へ SREBP が結合するだけでは十分でなくその近傍に Sp 1 もしくは NF-Y の結合することが必須であることが明らかになった。

また、SRE 配列と CCAAT 配列の距離を 8 塩基から 32 塩基まで変動させてステロールによる転写調節応答を調べると⁶⁾、15-22 塩基の距離を置いて 2 つの配列が

並列するときにその応答が最も高かった。この結果は、ヒト SREBP 2 遺伝子で 18 塩基、HMG CoA 合成酵素遺伝子で 15 塩基、スクアレン合成酵素遺伝子で 16 塩基、ファルネシルピロリン酸合成酵素遺伝子で 21 塩基の距離を置いて 2 つの配列が存在する事実とよく一致する

5 SREBP の活性化機構

細胞内のコレステロール量に応じた SREBP の活性化は当初、N 末端側を切断する 1 段階なものとして予想されていたが、融合蛋白質を培養細胞に発現させて切断を追跡するという、入念な手法により 2 段階で行われることが明らかにされた⁷⁾。合成直後の SREBP はその N 末端、C 末端側を細胞質に、2 ヶ所の膜貫通部位とその間のループ部位を小胞体内腔に突き出す形で膜上に局在するが、第 1 段階目の切断は小胞体内腔側のループ部位のアミノ酸配列 RSVL の直後で生じる。この切断には RSVL 配列中の R (アルギニン) と L (ロイシン) が必須である (Fig. 4)。この切断に深く関わる因子として、同じく小胞体膜上に膜蛋白質として存在する SCAP (SREBP Cleavage Activating Protein) が同定された⁸⁾。ヒト SCAP は 1277 アミノ酸からなり、8 回の膜貫通領域を持ち、C 末端側約 500 アミノ酸を細胞質に突き出す形で膜蛋白質として主に小胞体膜上に局在する。この C 末端側約 500 アミノ酸の領域には種々の蛋白質で蛋白-蛋白結合に関与する WD 繰り返し配列 (GH-X [23-41]-WD からなるアミノ酸配列の繰り返し) が存在し、この領域を介して SREBP の C 末端領域と結合する。従って、小胞体膜上では一部の SREBP と SCAP はお互いの C 末端側領域同士で結合しあい、複合体を形成しながら存在す

Fig. 4 SREBP on the Endoplasmic Reticulum Membrane and Its Processing.

The COOH-terminal region of SREBP is associated with the COOH-terminal domain of SCAP containing WD repeats. This interaction is essential for the sterol-mediated 1st cleavage of SREBP by S1P at the site of RXXL sequence. The 2nd cleavage site by S2P is the L-C bond in the 1st transmembrane domain.

る。SCAP の抗体を用いた免疫共沈殿実験の結果から、膜に存在する SREBP-1 の約 20%、SREBP-2 の約 40% が SCAP と複合体を形成しており、量的には SREBP に比べて SCAP の方が少ないものと推測されている。ハムスター SCAP においては、298 番目のチロシンがシステインに 443 番目のアスパラギン酸がアスパラギンに変異すると細胞内のコレステロールが過剰の条件下でも SREBP はプロセッシングを受けて、活性型へと変換することが認められている。さらに細胞生物学的な解析から、SREBP のプロセッシングには SCAP との結合が必須であり、この結合を介した第 1 段階切断が行われな限りは第 2 段の切断は行われず、活性型は生じないことが証明されている。

SCAP の構造で興味深い点は、第 2 から第 6 膜貫通部位の 5 回膜貫通領域が、コレステロール合成の律速酵素であり、やはり 8 回膜貫通する小胞体膜蛋白質である HMG CoA 還元酵素の第 2 から第 6 膜貫通領域と相同性が高いことである。HMG CoA 還元酵素は細胞内のコレステロール量が多くなると、急速に分解され、その結果としてコレステロール合成を抑制する。このコレステロールにより調節される分解には、膜貫通領域が必須であり、SCAP の膜貫通領域ともども膜内のコレステロールもしくはその誘導体を感知する「ステロールセンサー」として働くことが予測されている。上述したハムスター SCAP で検出された変異もこの膜貫通領域に存在していることから、変異のためにセンサー機能が破綻してコレステロール過剰条件下でも SREBP を活性化する方向へと導いてしまうと考えることは出来る。さらにその後、このステロールセンサー領域を持つ膜蛋白質として、C 型ニーマンピック病原因遺伝子産物 NPC1、コレステロールを共有結合する発生、分化のシグナル伝達物質であるヘッジホッグの受容体である Patched がクローニングされてきた。C 型ニーマンピック病においては、NPC1 に変異が生じ、LDL 受容体により取り込まれた LDL 中のコレステロールがライソソームから小胞体等へ細胞内転送されずにライソソーム内に滞留する。従って、いずれの蛋白質もコレステロールを感知する機能を持ち合わせており、ステロールセンサー領域がこれを担うものと想定されているがその詳細は未だ不明である。

6 プロセッシング酵素 (S1P, S2P)

その後、1 段階目の切断を行う酵素 (S1P, Site-1 Protease) のクローニングが行われ、1052 アミノ酸からなり、1ヶ所の膜貫通領域を持つ subtilisin 様セリンプロテアーゼに属するプロテアーゼであることが判明した⁹⁾。S1P は合成後、小胞体においてシグナルペプチドの切

断、さらに自己切断により S1P-B (アミノ酸 138-1052)、S1P-C (アミノ酸 187-1052) へと変換する。-B、-C 型が活性型であるが、-C 型が最終産物で最も存在量が多く、ゴルジに局在することから、S1P による SREBP の切断はゴルジで起こるものと推察される。

第 2 切断酵素 (S2P: Site-2 protease) は、519 アミノ酸からなる疎水性の高い膜蛋白質である¹⁰⁾。これまでの報告から、膜を 4 回貫通すると共に、3 回程度膜に一部組み込まれた構造を取ることが予想されている (Fig. 4)。メタロプロテアーゼに見られる、亜鉛結合部位を有する特長を持つ。S2P による切断は、SREBP-1、-2 の第 1 膜貫通部位の N 末端から 3 番目アミノ酸のロイシンと 4 番目のシステインの間で起こる。この様な膜貫通領域の途中で酵素による切断を受ける蛋白質として SREBP 以外に、アルツハイマー病発症と深い関係のあるアミロイド前駆体蛋白質、発生、分化に関与する膜蛋白質 Notch、変異蛋白質の小胞体内滞留によるストレスを核へ情報伝達する小胞体膜蛋白質 Ire1、ATF6 などが挙げられる。Notch は細胞表面に膜蛋白質として存在し、リガンドであるデルタの結合により膜貫通領域での切断が生じ、細胞質側の部位が核へと移行し、転写因子として機能する。また、ATF6 は bZip 領域を含む N 末端側を細胞質に突き出す形で小胞体膜上に局在し、小胞体ストレスにより膜貫通領域での切断が生じ、N 末端側が核へと移行し、応答遺伝子の転写を促進する。切断後にその一部が核へ到達し、転写因子として機能すると言う点からは Notch、ATF6 は SREBP と共通点が多い。

7 プロセッシングの調節

S1P-C がゴルジで活性型として局在することを上述したが、SCAP の細胞内移行等を調べた細胞生物学的解析から、次のような調節系が存在するものと提唱されている¹¹⁾。即ち、SCAP-SREBP 複合体はコレステロール過剰条件下では小胞体膜上に局在し、S1P による切断を受けることなく、核へ応答遺伝子の転写促進の情報を伝達し得ない。一旦コレステロール量が枯渇すると、複合体はゴルジへと輸送され、ここで S1P-C による切断を受け、引き続き S2P による切断を受けるものと考えられる。S2P の作用部位はゴルジか、もしくは第 1 膜貫通領域を含む SREBP の N 末端側がもう一度小胞体へと戻り、そこで切断を受けるのか詳細は不明である。SCAP-SREBP の細胞内移行に SCAP 分子内の膜貫通領域に存在するステロールセンサーが働いているものと予想されるが、どのような機構でそれが機能して複合体の細胞内移行が制御されているかについては今後の解析を待つしかない。実際、コレステロール本体があるいはその

誘導体のいずれがこのプロセッシング調節の真のレギュレーターかについても不明な点が多い。興味深いことに、培養細胞をスフィンゴミエリナーゼで処理し、細胞膜中のスフィンゴミエリン量を減少させると細胞膜内のコレステロールは小胞体へと移行するが、これに伴い、細胞内の総コレステロール量は変化しないものの小胞体膜中のコレステロールが上昇したことにより、SREBPのプロセッシングは阻害される。また、コレステロールよりその代謝物である酸化ステロールにより強い転写抑制活性のあることは古くから知られており、最近クローニングされたコレステロールの25位を水酸化する酵素、コレステロール-25-ヒドロキシラーゼを過剰発現させ、細胞内のコレステロールを積極的に酸化ステロールへと変換させると、やはりSREBPのプロセッシングは抑制される。以上の知見は、小胞体膜内の酸化ステロール量がSCAPのステロールセンサーに感知されることを予測させるが、その実体は明らかでない。

また最近、S1P、S2PがATF6のプロセッシングに関与することが明らかにされ、このプロセッシング機構の新たな基質について更なる研究が進むものと思われる¹²⁾。

8 SREBP 1 による脂肪酸代謝関連遺伝子転写調節

SREBP がクローニングされた当初から、コレステロール代謝を制御するのにどうして生体は構造の酷似した2種類の転写因子を必要とするかについて興味を持たれた。その後、コレステロール代謝関連遺伝子のみならず、脂肪酸代謝関連遺伝子の転写をもSREBPが制御することから、個々の応答遺伝子により2種類の転写因子への感受性が異なる事が予想された。テキサス大学で開発された数種のトランスジェニックマウスは¹³⁻¹⁵⁾、この様な疑問に対して明確な答えを提示してくれた (Table 1)。最も顕著な表現型が現れたのはヒトSREBP-1a 活性型を過剰発現させたトランスジェニックマウス (Tg-SREBP 1a) で、肝臓の肥大化を伴う脂肪肝が認められた。ヒトSREBP 2 活性型を過剰発現させたトランスジェニックマウス (Tg-SREBP 2) ではこの様な表現型は現れず、この差異はSREBP 1aが脂肪酸合成関連酵素遺伝子の転写を著しく上昇させるのに比し、SREBP 2 はむしろコレステロール合成関連酵素遺伝子の転写を促進することに起因していた。実際、³Hでラベルされた

水から脂肪酸もしくはコレステロールへの変換を調べると、Tg-SREBP 1a では前者を著しく上昇させ、Tg-SREBP 2 では後者をより強く促進した。弱い転写活性しか持たないものの、多くの組織で主要アイソフォームとして合成されるヒトSREBP 1c 活性型を発現させたTg-SREBP 1c では、Tg-SREBP 1a に比較すると弱いながらも脂肪酸合成を選択的に促進する傾向が見られた。

アセチル CoA カルボキシラーゼ、脂肪酸合成酵素等の脂肪酸合成に関わる酵素群はリポジェニック酵素と呼ばれ、絶食状況下で活性が底値になり、高炭水化物無脂肪食を与えると絶食前より顕著に活性上昇する。リポジェニック酵素にはさらに、トリグリセリド合成に重要なグリセロ3リン酸アシルトランスフェラーゼ、解糖系酵素、NADPH 供給に不可欠なリンゴ酸酵素等も含まれるが、これらリポジェニック酵素 mRNA はTg-SREBP 1a, 1c で顕著に上昇し、正常マウスを絶食、再摂食条件下で観察した実験結果でも核内の活性型SREBP 1 蛋白量の増加に伴い増加した。以上の事実は、エネルギー供給過剰状況下におけるリポジェニック酵素の転写誘導はSREBP 1 により制御されることを意味している。さらに、SREBP 1 欠損マウスを用いた実験では、再摂食によるリポジェニック酵素 mRNA の増大は認められず、SREBP 1 が脂肪合成を広範に支配していることが確認されている。尚、SREBP 1 欠損マウスではホモ接合体マウスの約30%が生存したのに対し、SREBP 2 欠損マウスは胎児期ですべて死亡してしまう。この事実は、脂肪酸合成関連遺伝子の転写調節にはSREBP 1 以外の転写因子も関与し、欠損マウスではそれらによる代償作用が働いたものと考えられる。

9 SREBP 1 アイソフォーム

SREBP 1 には第17染色体上で約14 kb 離れたエキソン1a とエキソン1c に含まれる開始コドンから始まるSREBP 1a と1c が存在する (Fig. 5)。3' 側にも alternative splicing するエキソンが存在するが、転写因子として機能するのはN末端側であるので、この領域での1a と1c の違いが機能に大きな影響を与える。Fig. 5 にはそれぞれのN末端領域のアミノ酸配列を示したが、1a 特異的な配列中には17 残基中8 残基の酸性アミノ酸が存

Table 1 Transgenic Mice Expressing an Active Form of Human SREBP 1a, 1c or SREBP 2.

	Liver	Cholesterol synthesis Tg / wild type	Fatty acid synthesis Tg / wild type	HMG CoA reductase mRNA Tg / wild type	Fatty acid synthase mRNA Tg / wild type
Tg-SREBP 1a	Fatty liver	5.0	26.0	5.4	7.9
Tg-SREBP 1c	Normal	0.9	4.0	1.9	2.9
Tg-SREBP 2	Normal	28.0	4.0	15.0	4.6

Fig. 5 Gene Structure and Amino Acid Sequences for Human SREBP 1a and 1c. Each exon in the human SREBP 1 gene is denoted by a closed square.

在するのに対し、1c 特異的な 5 残基中には 1 残基の酸性アミノ酸しか存在しない。SREBP は 1 と 2 とともに、N 末端側の酸性アミノ酸に富む領域が転写因子の活性化を促す機能を持っており、1c では酸性アミノ酸が 7 残基少ないことから、転写因子として応答遺伝子の発現制御活性が微弱であることが予想された。実際、レポーターアッセイ等で転写因子活性を両者で比較すると、1a に比べて 1c の活性は著しく低い。

SREBP 1a と 1c の発現パターンは組織により若干異なるが、肝臓、副腎では活性の弱い 1c が圧倒的に多く発現され、その他の組織でも 1c が主たる発現アイソフォームである。一方、これまで調べられた培養細胞ではいずれも SREBP 1a が主たるアイソフォームであり、マウスの脾臓、胸腺、腸管で 1a 発現が高いこととあわせて考えると、分裂、増殖の盛んな細胞で SREBP 1a の発現が高いようであるが、スプライシングパターンが培養細胞で 1a にシフトする機構等については不明である。

10 SREBP 1 応答遺伝子

筆者らは SREBP 1 の新たな応答遺伝子を探索する過程で、脂肪酸合成の最初のステップであるアセチル CoA を合成する ATP クエン酸リアーゼ遺伝子を見出した¹⁶⁾。細胞は ATP の需要が低い時にミトコンドリアで生じたアセチル CoA をクエン酸に変え、その後細胞質へと輸送し、細胞質で ATP クエン酸リアーゼの作用で再びアセチル CoA へと変換し、脂肪酸合成へと向かわせ、これを貯蔵する。このような性質を持つ酵素であることから ATP クエン酸リアーゼはリボジェニック酵素の 1 つであり、SREBP 2 よりも SREBP 1 による転写調節を強く受けた。また同様の知見は、トランスジェニックマウスでも認められた。トランスジェニックマウスもしくは SREBP 1 過剰発現細胞から得られた結果より、SREBP 1 に特異的に転写制御を受ける応答遺伝子を Table 2 に列挙した。脂肪酸への不飽和結合の挿入に関

Table 2 Responsive Genes for SREBP 1.

Fatty acid synthesis
* ATP citrate-lyase
* Acetyl CoA carboxylase
* Fatty acid synthase
Unsaturated fatty acid synthesis
* Stearoyl CoA desaturase 1
* Stearoyl CoA desaturase 2
Triacylglycerol synthesis
* Glycerol-3-phosphate acyltransferase
NADPH synthesis
* Malic enzyme
* Glucose-6-phosphate dehydrogenase

与するステアロイル CoA デサチュラーゼもその標的遺伝子の一つであり、SREBP 1 は不飽和脂肪酸合成にも不可欠な調節因子である。

11 脂肪細胞分化と SREBP 1

脂肪細胞分化に伴い発現が亢進する調節蛋白質として同定された bHLH-Zip 型転写因子である ADD1 (Adipocyte Determination and Differentiation dependent factor-1) は¹⁷⁾、その後 SREBP 1c と同一であるという事が判明した。SREBP 1 は脂肪細胞分化の初期に転写が亢進し始め、それに引き続き分化のマスターレギュレーターとして働く PPAR γ の発現上昇が観察される。この事実から、マスターレギュレーターの上流に位置して、分化の方向付けをする転写因子として SREBP 1 の機能が期待されたが、実際 PPAR γ の転写を亢進する機能を有することが実験的に確かめられた。さらに SREBP 1 を過剰発現させた細胞の培養液中に PPAR γ を活性化する未知のリガンドの存在が示唆されたことより、SREBP 1 には PPAR γ の内因性リガンド産生に関与する酵素の発現を亢進し、脂肪細胞分化を促す効果があるものと推測されている。また SREBP 1 はレプチンの転写を制御するとともに、レプチンによる転写抑制を介したフィードバックコントロールを受けることが認められており、広くエネルギー代謝にも関与していることがうかがえる¹⁸⁾。

脂肪細胞分化に SREBP 1 が関与し、脂肪組織には SREBP 1c が主に検出されることより、aP2 プロモーターを用いて SREBP 1c を脂肪組織に特異的に過剰発現させるマウスが開発され、脂肪組織の変化について解析された。このトランスジェニックマウスでは、予想に反して脂肪組織の著しい減少、脂肪組織特異的遺伝子の発現低下、さらに顕著なインスリン抵抗性、高インスリン血症、高血糖が観察され、遺伝子疾患であるリポジトロフィーのモデルとされた。また SREBP 1 欠損マウス

では脂肪組織重量の減少は認められるものの、脂肪組織そのものに大きな変化は見られなかった。これらの *in vivo* の結果は、NIH 3T3-L1 細胞を用いて行われる脂肪細胞分化実験において認められる SREBP 1 の分化促進効果を必ずしも支持するものではない。今後さらに詳細な研究により、脂肪細胞分化過程における SREBP 1 の機能が明らかにされる必要がある。

12 脂肪酸による SREBP 1c の活性調節

上述したとおり、各組織において主として発現している SREBP-1 アイソフォームは 1c であり、脂肪酸代謝を考える上で 1c の活性制御は重要である。SREBP 1c の転写はインスリンもしくはグルコースにより促進され、一方魚油成分の多価不飽和脂肪酸が SREBP 1c の mRNA 発現を抑制することが明らかにされている^{19,20)}。この事実は、摂食後インスリンの働きにより肝臓等において種々のリポジェニック酵素が転写レベルで上昇する機構は、SREBP 1c がその一部を担い、インスリンもしくはグルコース濃度上昇→SREBP 1c 転写亢進→標的遺伝子スイッチオン、という機構が存在すると考えることが出来る。多価不飽和脂肪酸による脂質代謝改善効果は、PPAR α の基質としてこれらが働き、脂肪酸酸化が亢進することにより一部起因するが、SREBP 1c の活性調節を介した機構も提示されている。種々の多価不飽和脂肪酸が SREBP 1c の mRNA 発現を抑制することが報告されており、これは多価不飽和脂肪酸により mRNA の安定性が減弱するためという実験データが示されているが、その詳細な機構は不明のままである。また、多価不飽和脂肪酸の効果は mRNA 安定化にとどまらず、SREBP 1c の前駆体が活性型へとプロセッシングされる過程を抑制し、核内型 SREBP 1c を減少させることも認められている。mRNA 安定性、プロセッシング抑制のいずれも SREBP 1c に特異的に認められる調節機構であり、SREBP 2 はこの制御を受けない。多価不飽和脂肪酸が SREBP 1c のプロセッシングを特異的に阻害する事実は、上述したプロセッシング機構は主として SREBP 2 のプロセッシングを説明するものであり、それとは異なる活性化機構の存在することを示唆している。脂肪酸代謝調節、SREBP 1 活性化について Fig. 6 にまとめた。

13 おわりに

SREBP を介してコレステロール代謝と脂肪酸代謝は密接なクロストークをする。また多価不飽和脂肪酸の有する生理活性のいくらかは、SREBP 活性化調節を介して行われている可能性が高く、脂肪酸代謝調節機構の全体像を正確に把握する上で、その機能の詳細な解析が待

Fig. 6 Regulation of Fatty Acid Metabolism by SREBP 1.

たれる。

文 献

- 1) Yokoyama, C., Wang, X., Briggs, M. R., Admon, A., Wu, J., Hua, X., Goldstein, J.L. & Brown, M. S., (1993) *Cell*, 75, 187.
- 2) Hua, X., Yokoyama, C., Wu, J., Briggs, M.R., Brown, M. S., Goldstein, J.L. & Wang, X., (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90, 11603.
- 3) Wang, X., Sato, R., Brown, M.S., Hua, X. & Goldstein, J. L., (1994) *Cell*, 77, 53.
- 4) Sato, R., Yang, J., Wang, X., Evans, M.J., Ho, Y.K., Goldstein, J.L. & Brown, M.S., (1994) *J. Biol. Chem.*, 269, 17267.
- 5) Sato, R., Inoue, J., Kawabe, Y., Kodama, T., Takano, T. & Maeda, M., (1996) *J. Biol. Chem.*, 271, 26461.
- 6) Inoue, J., Sato, R. & Maeda, M., (1998) *J. Biochem.* 123, 1191.
- 7) Sakai, J., Duncan, E.A., Rawson, R.B., Hua, X., Brown, M.S. & Goldstein, J.L., (1996) *Cell*, 85, 1037.
- 8) Hua, X., Narturfft, A., Goldstein, J.L. & Brown, M.S., (1996) *Cell*, 87, 415.
- 9) Rawson, R.B., Zelenski, N.G., Nijhawan, D., Ye, J., Sakai, J., Hasan, M.T., Chang, T.Y., Brown, M.S. & Goldstein, J.L., (1997) *Mol. Cell*, 1, 47.
- 10) Sakai, J., Rawson, R.B., Espenshade, P.J., Cheng, D., Seegmiller, A.C., Goldstein, J.L. & Brown M.S., (1998) *Mol. Cell*, 2, 505.
- 11) DeBose-Boyd, E.A., Brown, M.S., Li, W-P., Narturfft, A., Goldstein, J.L. & Espenshade, P.J., (1999) *Cell*, 99, 703.
- 12) Ye, J., Rawson, R.B., Komuro, R., Chen, X., Dave, U.P., Prywes, R., Brown, M.S. & Goldstein, J.L., (2000) *Mol. Cell*, 6, 1355.
- 13) Shimomura, I., Shimano, H., Horton, J.D., Goldstein, J.L. & Brown, M.S., (1997) *J. Clin. Invest.*, 99, 838.
- 14) Shimano, H., Horton, J.D., Hammer, R.E., Shimomura, I., Brown, M.S. & Goldstein, J.L., (1996) *J. Clin. Invest.*, 98, 1575.
- 15) Horton, J.D., Shimomura, I., Brown, M.S., Hammer, R. E., Goldstein, J.L. & Shimano, H., (1998) *J. Clin. Invest.*, 101, 2331.
- 16) Sato, R., Okamoto, A., Inoue, J., Miyamoto, W., Sakai, Y.,

- Emoto, N., Shimano, H. & Maeda, M., (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 12497.
- 17) Tontoz, P., Kim, J.B., Graves, R.A. & Spiegelman, B. M., (1993) *Mol. Cell. Biol.*, **13**, 4753.
- 18) Soukas, A., Cohen, P., Socci, N.D. & Friedman, J.M., (2000) *Genes & Dev.*, **589**, 963.
- 19) Shimomura, I., Bashmakov, Y., Ikemoto, I., Horton, J. D., Brown, M.S. & Goldstein, J.L., (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 13656.
- 20) Hannah, V.C., Ou, J., Luong, A., Goldstein, J.L. & Brown, M. S., (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 4365.
-