

|         |   |            |  |
|---------|---|------------|--|
| 氏名      | 丁 英姫  |            |  |
| 学位の種類   | 博士 (学術)   |            |  |
| 学位記番号   | 第 5531 号  |            |  |
| 学位授与年月日 | 平成 22 年 3 月 24 日  |            |  |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 4 条第 2 項  |            |  |
| 学位論文名   | Molecular cloning and physiological characterization of mammalian low-density lipoprotein receptor-related protein 10 and cellular retinoic acid binding protein genes<br>哺乳動物の低密度リポ蛋白質受容体ファミリーLRP10 遺伝子と細胞内レチノイン酸結合蛋白質 CRABP 遺伝子のクローニングと機能解析 |            |  |
| 論文審査委員  | 主査教授 西川 禎一  | 副査教授 曾根 良昭 |  |
|         | 副査教授 羽生 大記  | 副査准教授 佐伯 茂 |  |

### 論文内容の要旨

生活習慣病のうち、脂質代謝異常症や糖尿病の発症には低密度リポ蛋白質 (LDL) 受容体ファミリーが関与し、肥満症の発症にはレチノイン酸受容体 (RAR) が関与することが示唆されている。そこで本研究では、LDL 受容体ファミリーLRP10 と細胞内レチノイン酸結合蛋白質 (CRABP) を同定し、それらの遺伝子の構造、発現、機能を明らかにした。

第 1 章では、生活習慣病の発症機構について文献的に概説した。

第 2 章では、LDL 受容体ファミリーに属す新規の遺伝子を発見し LRP10 と命名した。ヒト LRP10 cDNA は全長 5,715 塩基からなり、1,905 個のアミノ酸をコードし、その分子量は 210kDa であり、LDL 受容体の特徴的な 5 つの機能ドメインを有していた。ヒトのゲノム LRP10 は、染色体 11 番目に存在し、38 個のエキソンから構成されていた。LRP10 の発現量は大脳皮質、海馬、脈絡叢、顆粒層で高く、出産直後から増加した。LRP10 は大脳皮質では神経前駆細胞が存在する脳室帯に存在した。これらのことより、LRP10 は脳神経系の発達と遊走に関与していると推定した。

第 3 章では、糖代謝、骨代謝を制御する Wnt シグナル伝達経路に対する LRP10 の作用を調べた。LRP10 は Wnt/ $\beta$ -catenin シグナル伝達経路の下流に位置する T 細胞因子 (TCF) の転写活性を阻害し、LRP10 のリガンド結合ドメインと EFG 前駆体相同ドメインが TCF 転写活性を制御することを明らかにした。LRP10 は GSK3 $\beta$  による  $\beta$ -catenin のリン酸化やユビキチン化を阻害せず、また  $\beta$ -catenin の核内への移行も阻害しなかったことから、LRP10 は核内での  $\beta$ -catenin と TCF の複合体形成を阻害する、あるいは TCF と標的遺伝子の結合を阻害することによって TCF 転写活性を抑制し、Wnt/ $\beta$ -catenin シグナル伝達経路を介する糖代謝、骨代謝の制御機構に関与すると推論した。

第 4 章では、細胞内レチノイン酸結合蛋白質 CRABP 遺伝子の構造、発現、機能を検討した。CRABP には CRABP-I と CRABP-II があり、CRABP-I と CRABP-II は各々全長 411 塩基、414 塩基から構成されていた。CRABP-I は脂肪組織に、CRABP-II は骨格筋、大腸に高発現した。ビタミン A の活性型代謝産物レチノイン酸は、脂肪細胞の CRABP-I の発現を亢進させたが、脂肪細胞 CRABP-II の発現を抑制したことより、CRABP-I と CRABP-II がレチノイン酸の核内への移行を正と負に制御することによって、レチノイン酸の作用発現を制御すると推定した。

以上より、本研究は、低密度リポ蛋白質受容体ファミリーLRP10 は脳神経系の制御に関与すると共に、糖質代

謝、骨代謝を制御し、細胞内レチノイン酸結合蛋白質 CRABP-I と CRABP-II はレチノイン酸による脂肪細胞の分化を制御することを示唆した。

### 論文審査の結果の要旨

申請者は、生活習慣病の発症機構を分子レベルで明らかにすることを目的に、脂質代謝異常症や糖尿病の発症に関与する低密度リポ蛋白質 (LDL) 受容体ファミリー遺伝子と、脂肪細胞の分化に関与する細胞内レチノイン酸結合蛋白質遺伝子 (CRABP) に着目し、その構造と機能について検討している。

第1章では、生活習慣病の発症に果たす LDL 受容体ファミリーと細胞内レチノイン酸結合蛋白質の生理学的重要性について文献的に考察している。

第2章では、LDL 受容体ファミリーに属す新規の遺伝子を発見し LRP10 と命名し、その構造と発現組織について検討している。ヒト LRP10 cDNA は全長 5,715 塩基からなり、1,905 個のアミノ酸をコードし、その分子量が 210kDa であること、ゲノム LRP10 が染色体 11 番目に存在し、38 個のエキソンから構成され、LDL 受容体に特徴的な 5 つの機能ドメインを有することを明らかにしている。さらに、LRP10 は大脳皮質、海馬、脈絡叢、顆粒層で発現量が高く、出産直後から発現量が増加すること、大脳皮質では神経前駆細胞が存在する脳室帯に存在することを示している。これらの研究結果は、LRP10 が脳神経系の発達と遊走に関与していることを示唆した点で評価できる。

第3章では、糖代謝や骨代謝を制御する Wnt シグナル伝達経路に対する LRP10 の作用を検討し、LRP10 が Wnt/ $\beta$ -catenin シグナル伝達経路の下流に位置する T 細胞因子 (TCF) の転写活性を阻害することを見出し、LRP10 遺伝子のリガンド結合ドメインと EGF 前駆体相同ドメインの構造が TCF 転写活性の制御に重要であることを証明している。LRP10 は GSK3 $\beta$  による  $\beta$ -catenin のリン酸化やユビキチン化を阻害せず、また  $\beta$ -catenin の核内への移行も阻害しないことを申請者は明らかにし、LRP10 は核内での  $\beta$ -catenin と TCF の複合体形成を阻害する、あるいは TCF と標的遺伝子の結合を阻害することによって TCF 転写活性を抑制することを示唆している。これらの研究結果は、LRP10 が、Wnt/ $\beta$ -catenin シグナル伝達経路を介する糖代謝、骨代謝の制御機構に関与することを明らかにした点で評価できる。

第4章では、細胞内レチノイン酸結合蛋白質 CRABP 遺伝子の構造、発現、機能について検討している。その結果、CRABP には CRABP-I と CRABP-II があり、CRABP-I と CRABP-II は各々全長 411 塩基、414 塩基から構成され、その cDNA は各々 137 個、138 個のアミノ酸をコードし、ヒト、マウス、ラットの間で高い相同性を示すことを明らかにした。CRABP-I は脂肪組織に、CRABP-II は骨格筋、大腸に高発現することを見出した。ビタミン A の活性型代謝産物であるレチノイン酸は、脂肪細胞の CRABP-I の発現を亢進させたが、脂肪細胞 CRABP-II の発現を抑制したことより、CRABP-I と CRABP-II は、レチノイン酸の核内への移行を正と負に制御することで、レチノイン酸の作用発現を制御している可能性を示唆する知見を得ることに成功している。これらの研究結果は、レチノイン酸による脂肪細胞の分化誘導機構を明らかにした点で評価できる。

以上より、本論文は、申請者が自ら発見した低密度リポ蛋白質受容体ファミリー LRP10 が脳神経系の制御に関与すると共に、糖質代謝、骨代謝を制御することによって生活習慣病の発症に関与すること、細胞内レチノイン酸結合蛋白質 CRABP-I と CRABP-II がレチノイン酸による脂肪細胞の分化を制御することによって生活習慣病の発症に関与することを明らかにした。本論文で得られた研究結果は、生活習慣病の発症を栄養学的に抑制するた

めの重要な基礎的知見を提供していると評価できる。

よって、審査委員会は本論文を博士（学術）の学位を授与するに値するものと判断した。