

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 高橋 俊作
学位 博士 (医学)
学位記番号 新大院博 (医) 第 906 号
学位授与の日付 令和2年3月23日
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
博士論文名 Loss of autophagy impairs physiological steatosis by accumulation of NCoR1
(オートファジーの機能不全はNCoR1の蓄積により生理的脂肪肝を障害する)
論文審査委員 主査 教授 南野 徹
副査 講師 小林 隆
副査 講師 土屋 淳紀

博士論文の要旨

【背景】脂肪滴は余剰の中性脂肪を蓄積する細胞小器官である。この細胞小器官は栄養飢餓に対応する栄養素リザーバーであると同時に、脂肪毒性を緩衝する機能を持つ。オートファジー、あるいはオートファジー関連タンパク質が脂肪滴生成に関与することが提唱されているが、その分子機構は不明な点が多い。核内受容体コリプレッサー1 (NCoR1) は、核内受容体とヒストン脱アセチル化酵素に結合し、ヒストンの脱アセチル化を促進することで様々な核内受容体による遺伝子発現を抑制する。最近、NCoR1はオートファジーにより選択的に分解される基質であり、オートファジーの抑制により顕著に蓄積することが判明した。

【目的】オートファジー阻害によるNCoR1の蓄積が、脂肪酸合成、トリグリセリド合成のマスター転写因子である肝臓X受容体 α (LXR α)を不活性化し、その結果として脂肪滴形成や生理的脂肪肝が抑制されるか否かを *in vitro* および *in vivo* で検証する。【方法】肝細胞特異的にオートファジー必須遺伝子 *Atg7* を欠損させたマウス (*Atg7^{f/f}; Alb-Cre* マウス) とコントロールマウス (*Atg7^{f/f}* マウス) を使用し、給餌および絶食におけるNCoR1の細胞内レベル、LXR α 標的遺伝子の発現量、トリグリセリド量、そして脂肪滴の形成を検証した。次に、*Atg7^{f/f}; Alb-Cre* マウスと *Atg7^{f/f}* マウスに対し肝臓体積の70%に相当する肝部分切除後のLXR α 標的遺伝子の発現量、脂肪滴の形成、そして肝再生を経時的に解析した。さらに、CAS9-CRISPRにより作製した *ATG7* 欠損 HepG2 (*ATG7^{-/-}* HepG2) 細胞に、lacZ (Autophagy-incompetent 細胞) あるいは *ATG7* (Autophagy-competent 細胞) を発現させた細胞を作製した。Autophagy-incompetent、Autophagy-competent 細胞におけるNCoR1の細胞内レベル、LXR α 標的遺伝子の発現量、トリグリセリド量、そして脂肪滴の形成を解析するとともに、それら細胞の *NCoR1* をノックダウンすることでオートファジー欠損による脂肪滴形成の影響が解消されるか否かを検討した。【結果】給餌および絶食の条件ともに、*Atg7^{f/f}* マウスの肝臓と比較し *Atg7^{f/f}; Alb-Cre* マウスの肝臓では NCoR1 の著明な蓄積と LXR α 標的遺伝子の発現量の低下を認めた。*Atg7^{f/f}* マウスの肝臓においては、飢餓に応じた生理的な脂肪肝である脂肪滴の蓄積とトリグリセリドの上昇が認められたが、*Atg7^{f/f}; Alb-Cre* マウスの肝臓ではほとんど確認されなかった。*Atg7^{f/f}* マウスの肝臓では肝部分切除後24時間を最大として脂肪肝が見られた一方、*Atg7^{f/f}; Alb-Cre* マウスの肝臓では脂肪肝が

ほぼ完全に抑制されていた。Atg7^{f/f}マウスの肝臓では肝部分切除後 48 時間の時点で肝細胞増殖が認められたのに対し、Atg7^{f/f}; Alb-Cre マウスの肝臓では肝細胞増殖は顕著に不良であった。Atg7^{f/f}マウスの肝臓は肝部分切除後 168 時間で 70%程度まで再生が確認されたが、Atg7^{f/f}; Alb-Cre マウスの肝臓では再生が不良であった。Autophagy-competent 細胞では、Autophagy-incompetent 細胞と比較して NCoR1 の細胞内レベルが顕著に低下し、LXR α 標的遺伝子の発現量も上昇していた。その結果、トリグリセリド量、そして脂肪滴形成の回復が見られた。Autophagy-incompetent 細胞において NCoR1 をノックダウンすると、オートファジー欠損による脂肪滴形成の低下が有意に回復した。【考察】本論文では、オートファジーの機能不全が NCoR1 の蓄積をもたらし、生理的脂肪肝が抑制されることを示す。栄養飢餓や肝部分切除により肝細胞内に脂肪酸が過多となった場合、脂肪酸からトリグリセリドへの合成や脂肪滴形成は、アシルカルニチンの蓄積による細胞毒性を緩和する作用を持つ。申請者らは、オートファジーによる NCoR1 の量的調整が、脂肪毒性を緩和すると結論付けた。今後、オートファジーと具体的な疾患の関係が解明され、治療への応用が期待される。

審査結果の要旨

脂肪滴は栄養飢餓に対応する栄養素リザーバーであると同時に、脂肪毒性を緩衝する機能を持つ。オートファジー、あるいはオートファジー関連タンパク質が脂肪滴生成に関与することが提唱されているが、その分子機構は不明な点が多い。核内受容体コリプレッサー-1 (NCoR1) は、核内受容体とヒストン脱アセチル化酵素に結合し、ヒストンの脱アセチル化を促進することで様々な核内受容体による遺伝子発現を抑制する。最近、NCoR1 はオートファジーにより選択的に分解される基質であり、オートファジーの抑制により顕著に蓄積することが判明した。そこで本研究では、オートファジー阻害による NCoR1 の蓄積が、脂肪酸合成、トリグリセリド合成のマスター転写因子である肝臓 X 受容体 α (LXR α) を不活性化し、脂肪滴形成や生理的脂肪肝が抑制されるか否かを検証することを目的とした。給餌および絶食の条件ともに、Atg7f/f マウスの肝臓と比較し Atg7f/f; Alb-Cre マウスの肝臓では NCoR1 の著明な蓄積と LXR α 標的遺伝子の発現量の低下を認めた。Atg7f/f マウスの肝臓においては、飢餓に応じた生理的な脂肪肝である脂肪滴の蓄積とトリグリセリドの上昇が認められたが、Atg7f/f; Alb-Cre マウスの肝臓ではほとんど確認されなかった。Atg7f/f マウスの肝臓では肝部分切除後 24 時間を最大として脂肪肝が見られた一方、Atg7f/f; Alb-Cre マウスの肝臓では脂肪肝がほぼ完全に抑制されていた。Atg7f/f マウスの肝臓では肝部分切除後 48 時間の時点で肝細胞増殖が認められたのに対し、Atg7f/f; Alb-Cre マウスの肝臓では肝細胞増殖は顕著に不良であった。本研究によって、オートファジーの機能不全が NCoR1 の蓄積をもたらし、生理的脂肪肝が抑制されることが示唆された。今後、オートファジーと具体的な疾患の関係が解明され、治療への応用が期待される。