

## 博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 大橋 瑠子  
学位 博士 (医学)  
学位記番号 新大博 (医) 第1776号  
学位授与の日付 平成27年3月23日  
学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当  
博士論文名 LXR $\alpha$ の核小体への局在とリボソームDNA転写制御

論文審査委員 主査 教授 柿田 明美  
副査 教授 味岡 洋一  
副査 教授 藤井 雅寛

### 博士論文の要旨

[背景と目的]LXR $\alpha$  (Liver X receptor  $\alpha$ ) はLDL (low density lipoprotein) など酸化ステロールの受容体として機能し、脂質代謝、胆汁酸代謝などに関与する核内受容体である。しかし特異性の高い抗体がこれまでなかったためmRNAレベルの研究が多く、その組織細胞内局在や機能については不明な点が多い。申請者は最近作製されたLXR $\alpha$ に対する特異的抗体を用いて、LXR $\alpha$ の細胞内局在とこれまで知られていなかったリボソーム生合成への関与について解析を行ったので報告する。

[方法と結果]ヒト肝芽腫培養細胞株 HepG2 細胞は定型どおり抗生物質・L-グルタミン・10%FBS加 high glucose DMEM 培地でCO<sub>2</sub> 5%の条件下で培養した。HepG2 細胞に対し蛍光免疫染色および In situ run-on transcription assay を行い、LXR $\alpha$ は核小体内において fibrillar、UBF が局在し RNA polymerase I (RNA pol I) の転写活性の高い領域、すなわち dense fibrillar component と呼ばれる領域に局在することを証明した。また、RNA pol I の転写活性を Actinomycin D 投与によって抑制すると LXR $\alpha$ は核小体内に局在できず核質へ移行したことから、LXR $\alpha$ の核小体内局在はRNA pol I の転写活性に依存していることがわかった。

免疫沈降-western blot 法では LXR $\alpha$ と fibrillar や UBF とのタンパク間相互作用は検出できなかったが、クロマチン免疫沈降法を用いた検討の結果、LXR $\alpha$ は18S ribosomal DNA と28S ribosomal DNA に結合することが判明した。LXR $\alpha$ は脂肪酸代謝に関係する遺伝子各種の mRNA を転写する際には RXR $\alpha$  とヘテロダイマーを形成し、LXR $\alpha$ のリガンド投与によってRXR $\alpha$ が間接的に転写活性を有することが知られているのでRXR $\alpha$ についてもクロマチン免疫沈降法による検討を行ったところLXR $\alpha$ リガンド投与の有無に関わらずRXR $\alpha$ の ribosomal DNA への結合は検出されなかった。

HepG2 細胞に対してLXR $\alpha$ を活性化する合成リガンドである T0901317 を投与するとリボソーム前駆体である47S/45S ribosomal RNA の転写が促進されたが、LXR $\alpha$ を siRNA でノックダウンすると転写促進が起らなかった。

[考察と結論]以上の結果より、LXR $\alpha$ はリボソーム生合成において重要な役割を担っていることが示唆された。LXR $\alpha$ は核質には薄く観察されるのみであるが核小体内のDFCと呼ばれる領域に多く局在する。これまで専らLXR $\alpha$ の機能はコレステロールの合成・代謝や胆汁酸合成などに関わる遺伝子のmRNA転写で

あるとされてきたが、核小体の中心的機能であるリボゾーム生成にも関与するということがわかった。LXR $\alpha$ と fibrillar in や UBF とのタンパク間相互作用は検出できなかったが ribosomal DNA とは結合が見られ、これまで知られている他の転写因子とは若干異なる機構で ribosomal DNA の転写に関与している可能性が考えられる。興味深いことに、一般的に LXR $\alpha$ を介した mRNA の転写においては LXR $\alpha$ -RXR ヘテロダイマーが形成されるのに対して ribosomal DNA の転写にはこれまで存在が疑問視されていた LXR $\alpha$ モノマーまたはホモダイマーが関与すると推定される。

#### 審査結果の要旨

LXR $\alpha$  (Liver X receptor  $\alpha$ ) は脂質・胆汁酸代謝などに関与する核内受容体の一つである。本研究では LXR $\alpha$  特異的抗体を新規に作製し、LXR $\alpha$  の細胞内局在とこれまで知られていなかったリボゾーム転写への関与について解析した。HepG2 細胞では、LXR $\alpha$  は mRNA 転写の主座である核質よりも核小体内の dense fibrillar component に強く局在していた。この領域にはリボゾーム RNA 転写に特化した RNA polymerase I (RNA pol I) が存在する。RNA pol I の転写を Actinomycin D で抑制すると LXR $\alpha$  は核小体から核質へ移行したことから、LXR $\alpha$  の核小体内局在は RNA pol I の転写活性に依存していることがわかった。クロマチン免疫沈降の結果、LXR $\alpha$  に対する合成リガンド T0901317 投与時に LXR $\alpha$  とリボゾーム DNA との結合性が上昇した。さらに、T0901317 で LXR $\alpha$  を刺激すると 47S/45S リボゾーム前駆体の転写が促進され、LXR $\alpha$  を siRNA でノックダウンすると転写が抑制された。以上より、LXR $\alpha$  はリボゾーム転写に重要な役割を担っていることが示唆された。

本論文は、LXR $\alpha$  の局在と機能を初めて明らかにした。この点において学位論文としての価値があると判定した。