

# 博士論文要旨

脂質代謝調節因子の発現制御機構と脂質異常症を是正する機能性成分に関する研究

井上 雄貴

脂肪酸は生体恒常性維持に重要な役割を担うことから、脂肪酸代謝は様々な酵素や因子により調節されている。それゆえ、その調節機構の破綻は、様々な疾患の発症リスクを増加させる。X連鎖性副腎白質ジストロフィーは、全身性の極長鎖脂肪酸 (very long-chain fatty acid : VLCFA) 蓄積と脱髄病巣における炎症性マクロファージの集積が認められる疾患である。VLCFA 蓄積と炎症との関連性については不明な点が多いことから、本疾患を理解するうえで、マクロファージ活性化における VLCFA の関与を解明することは重要である。また、近年、非アルコール性脂肪性肝疾患 (nonalcoholic fatty liver disease : NAFLD) が増加していることから、その背景にある脂質異常症の予防・治療法の開発が求められている。脂質代謝制御因子であるアンジオポエチン様タンパク質 8 (angiopoietin-like protein 8 : ANGPTL8) の発現抑制は NAFLD を軽減することから、ANGPTL8 は NAFLD の創薬ターゲットとして期待されている分子である。本研究では、上述の 2 つの課題に取り組むために、1) マクロファージにおける VLCFA 合成酵素 elongation of very long chain fatty acids (ELOVL) の発現制御機構、2) ANGPTL8 の発現制御する機能性成分に関する研究に取組み、以下の知見を得た。

1. ヒト単球由来細胞株 THP-1 細胞から分化誘導した M1 様マクロファージで ELOVL7 の遺伝子発現量が亢進した。公共 RNA-seq データ解析と THP-1 細胞を用いた生化学な解析から、M1 様マクロファージにおける ELOVL7 発現誘導は NF- $\kappa$ B により制御されていることが明らかとなった。ELOVL7 ノックダウンは IL-6 や IL-12/IL-23 p40

の分泌を抑制した。さらに、形質細胞様樹状細胞 (plasmacytoid dendritic cell : pDC) の RNA-seq 解析の結果、活性化 pDC でも ELOVL7 の発現が亢進していた。これらの結果から、M1 様マクロファージや pDC おける炎症応答には、NF- $\kappa$ B を介した ELOVL7 の発現誘導が部分的に関与していると考えられた。

2. ローヤルゼリー (royal jelly : RJ) 含有脂肪酸であるセバシン酸 (sebacic acid : SA) は、ヒト肝がん由来細胞株 HepG2 細胞における ANGPTL8 発現を抑制した。ANGPTL8 プロモーターのレポータープラスミドを用いた解析から、ANGPTL8 プロモーターの-262/-137 の領域が ANGPTL8 の転写活性ならびに SA による転写の抑制に重要であることが明らかとなった。本領域には転写因子 HNF4 $\alpha$  の推定結合領域が存在していた。SA は、HNF4 $\alpha$  mRNA 発現量には影響を及ぼさなかったが、そのタンパク量を減少させた。また、HNF4 $\alpha$  推定結合部位への HNF4 $\alpha$  の結合が SA で抑制されることを ChIP 法とプルダウンアッセイで確認した。さらに、HNF4 $\alpha$  ノックダウンは、ANGPTL8 のプロモーター活性を減弱し、その遺伝子発現量を抑制した。これらの結果から、HepG2 細胞における SA による ANGPTL8 の発現抑制作用は、SA が HNF4 $\alpha$  タンパク発現量の減少させることで発揮されると考えられた。

以上、本研究により、マクロファージの免疫応答時に誘導される ELOVL7 の機能と RJ 含有脂肪酸による脂質代謝改善効果の作用機序について新知見を得ることができた。本研究の成果は、免疫細胞内における VLCFA の制御を標的とした創薬研究や、RJ に代表される中鎖脂肪酸を含む機能性健康食品の脂質異常症への医療応用につながる有益なエビデンスになると考える。

## 論文審査結果の要旨

氏名（本籍）	井上 雄貴 (岐阜県)
学位の種類	博士（薬科学）
学位記番号	甲 第 4 5 号
学位授与年月日	令和 5 年 3 月 1 0 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当者
学位論文の題名	脂質代謝調節因子の発現制御機構と脂質異常症を是正する機能性成分に関する研究
論文審査委員	(主査) 松永 俊之
	(副査) 嶋澤 雅光
	(副査) 田中 宏幸

本研究は、生体機能の維持に重要な脂肪酸の代謝異常に関連した疾患の発症機序の解明および予防・治療法の開発に取り組んだものである。X連鎖性副腎白質ジストロフィーでは、全身性の極長鎖脂肪酸（VLCFA）蓄積と病巣での炎症性マクロファージの活性化が認められることから、VLCFA合成酵素 ELOVLファミリーとマクロファージ活性化との関連性を公共 RNA-seq データと THP-1 細胞を用いた生化学実験により解析を行った。炎症性マクロファージで ELOVL7 の発現が亢進すること、この発現が NF- $\kappa$ B により制御されること、ELOVL7 ノックダウンにより炎症性サイトカイン分泌が減少することを見出した。また、脂質代謝異常の予防・治療に向けた研究では、非アルコール性脂肪性肝疾患の創薬ターゲットとして期待されるアンジオポエチン様タンパク質 8（ANGPTL8）の発現に対するローヤルゼリー含有脂肪酸セバシン酸（SA）の効果を HepG2 細胞を用いて検証した。SA により ANGPTL8 が減少すること、HNF4 $\alpha$  が ANGPTL8 の発現制御に重要な転写因子であること、SA による ANGPTL8 発現低下は HNF4 $\alpha$  タンパク質分解に起因することを明らかにした。

以上より、本研究は、脂質代謝異常に起因する疾患の予防・治療につながる有益なエビデンスとなることから、博士（薬科学）の論文として価値あるものと認める。