

2022 年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

研究課題	異所性脂肪滴融合の制御を担う選択的 LXR リガンド評価系の構築 —LXR の新たな転写制御機構を紐解くことで創薬基盤を構築する—
キーワード	① 非アルコール性脂肪性肝疾患、② 中性脂肪、③ 肝臓 X 受容体

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏名	オカダ マイコ 岡田 麻衣子
配付時の所属先・職位等 (令和4年4月1日現在)	東京工科大学 応用生物学部・助教
現在の所属先・職位等 (令和5年7月1日現在)	東京工科大学 応用生物学部・助教
プロフィール	東京大学大学院農学生命科学研究科博士課程において農学博士の学位を取得後、同大学および聖マリアンナ医科大学の助教を経て、現職に着任。核内受容体を基盤とする生命現象の解明に従事。

1. 研究の概要

非アルコール性脂肪性肝疾患 (non-alcoholic fatty liver disease : NAFLD) は飲酒習慣やウイルス感染によらずに発症する肝疾患である。NAFLD では生体内の過剰な中性脂肪が肝臓に脂肪滴として蓄積し、重篤な脂肪肝および脂肪性肝炎を呈する。従来、NAFLD の治療は食事療法や運動などの対症療法が主であったが、近年重篤な肝硬変や難治性肝がんの一部が NAFLD の悪性化に起因することが明らかとなり、NAFLD の抜本的な治療薬の開発が急務となっている。そこで本研究課題では、NAFLD の創薬シーズスクリーニング系の構築に向けて脂肪滴蓄積制御機構を解明することを目的とした。本研究の遂行により、創薬標的として着目した LXR の脂肪滴制御機構には、従来の脂肪酸合成系に加えて、脂肪滴融合系の制御が重要であることが示された。さらに、LXR 相互作用因子である KCTD3 が脂肪滴融合系の LXR 標的遺伝子の特異的に制御する LXR 制御因子であることが示唆された。つまり、KCTD3 は肝臓において LXR の標的遺伝子特異性を規定する主要な LXR 制御因子であることが示唆された。

以上の研究成果は NAFLD の増悪要因である脂肪滴蓄積の分子基盤を担うものであり、NAFLD の創薬シーズスクリーニング系構築への応用が期待される。

2. 研究の動機、目的

非アルコール性脂肪性肝疾患 (non-alcoholic fatty liver disease : NAFLD) は飲酒習慣によらずに発症する肝疾患である。NAFLD では生体内の過剰な中性脂肪が肝臓に脂肪滴として蓄積し、重篤な脂肪肝および脂肪性肝炎を呈する。従来、NAFLD の治療は食事療法や運動などの対症療法を主としていたが、近年、重篤な肝硬変や難治性肝がんの一部が NAFLD の悪性化に起因することが明らかとなり、NAFLD の抜本的な治療薬の開発が急務となっている。

本研究では創薬標的として NAFLD の増悪要因である肝臓 X 受容体 (liver x receptor : LXR) に着目した。LXR は酸化ステロールを生体内アゴニストとする核内受容体であり、リガンド依存性の遺伝子発現制御を介して生体内のコレステロール恒常性を維持する。しかし、LXR の過剰な活性化は肝臓に異所性の脂肪滴を蓄積させて NAFLD を増悪させる。したがって、この LXR

の機能を抑制する LXR リガンド、すなわち脂肪滴蓄積抑制を担う LXR アンタゴニストは NAFLD の新規創薬シーズとなることが期待される。創薬シーズの開発には LXR の脂肪滴蓄積制御機構の解明が必要不可欠であるが、従来、LXR は脂肪酸合成遺伝子群の発現誘導により中性脂肪を亢進させることで、脂肪滴蓄積に寄与することが知られている。一方でこれまでの研究過程により、LXR が脂肪滴の融合を担う遺伝子の発現を促進して、脂肪滴の肥大化に寄与することを見出しつつある。一般に、脂肪滴のサイズが大きいほどリパーゼによる分解を受けにくくなるため、効率よく脂肪滴内の中性脂肪を貯蔵できると考えられている。興味深いことに、このような脂肪滴融合関連遺伝子群の発現誘導については、既存の LXR の転写制御機構のみでは説明ができないことが明らかになりつつある。したがって、創薬シーズの評価にあたっては、脂肪酸合成を指標とした評価系のみではなく、脂肪滴融合を指標とした評価系の構築が必要である。

以上を踏まえ、本研究では NAFLD の創薬シーズスクリーニング系の構築に向けて、LXR の脂肪滴蓄積制御機構、特に脂肪滴融合制御機構を解明することを目的とした。

3. 研究の結果

1. LXR 標的遺伝子発現における KCTD3 の機能評価

KCTD3は申請者らによりLXR相互作用因子として生化学的に同定されたタンパク質である。KCTD3の発現低下はLXRによる脂肪滴蓄積を著しく低減させたことから、KCTD3はLXRの転写活性化因子であることが示唆されている。そこで、LXRの標的遺伝子群の発現量や細胞内の脂肪滴の形態におけるKCTD3の発現低下の影響を評価した。その結果、KCTD3は既存のLXR標的遺伝子である一連の脂肪酸合成関連遺伝子群の発現制御には関与せず、脂肪滴融合関連遺伝子群の発現を特異的に制御することが示された。さらに、蛍光顕微鏡観察によりKCTD3は脂肪滴のサイズ亢進に寄与することが示唆された。

2. KCTD3 による LXR 転写活性化能の評価系構築の試み

LXRリガンドの既存の評価系として、LXRの転写活性化能を評価するLuciferase reporter assayが挙げられる。KCTD3の発現低下またはKCTD3過剰発現におけるLXRの転写活性化能を評価したところ、LXR応答DNA配列のコンセンサス配列を有するreporter plasmidは、KCTD3によるLXRの転写活性化能の評価に適さないことが明らかとなった。このことから、脂肪滴融合を制御するLXRリガンドの評価系を構築するには、脂肪滴融合遺伝子の発現誘導に重要なLXR応答配列を明らかにして、新たなreporter plasmidを作製する必要があることが示唆された。そこで、データベース解析により、脂肪滴融合遺伝子の近傍のLXR応答配列を探索した。その結果、遺伝子領域上流に2か所のLXR応答配列候補を見出した。今後この候補配列を用いたreporter plasmidを作製することで、脂肪滴融合遺伝子の転写制御機構に特異的なLXRリガンド評価系に応用できると考えられる。

4. 研究者としてのこれからの展望

LXR の過剰な活性化は肝臓では非アルコール性脂肪性肝疾患の増悪要因となるが、一方で、マクロファージではコレステロール排泄を促すため、アテローム性動脈硬化症の治療の観点からも着目されている。このように LXR の生理機能は多岐に渡るため、LXR の生理機能に特異性を発揮する創薬シーズの開発が必要不可欠である。したがって、今後 KCTD3 が LXR の脂肪滴融合機能を特異的に制御する分子機構を解明できれば、特異性の高い治療薬開発へと応用できることが期待される。

5. 支援者（寄付企業等や社会一般）等へのメッセージ

この度は研究課題に女性研究者奨励金を授与いただきまして、感謝申し上げます。ご支援のおかげで、世界的な課題である非アルコール性脂肪性肝疾患の治療薬開発に向けた研究を進行することができました。この度得た研究成果は学術的にも新規性が高く、創薬研究のみならず、生体のコレステロール恒常性維持のしくみをより深く理解するうえでも重要であると考えられます。今後、本研究課題で得た成果をさらに発展させていくことで社会還元できるよう、精進して参ります。