

## 略 歴

1996年	3月	日本大学農獣医学部 卒業
1998年	3月	東京農工大学大学院 生物システム応用科学研究科 修士課程 修了
2000年	4月	日本学術振興会 特別研究員DC
2003年	3月	名古屋市立大学大学院 医学研究科博士課程 修了
2003年	4月	米国Dartmouth Medical School 博士研究員
2006年	4月	日本学術振興会 特別研究員PD
2006年	7月	熊本大学大学院 医学薬学研究部 助手
2007年	1月	名古屋大学大学院 医学系研究科 助手・助教
2013年	10月	名古屋大学大学院 医学系研究科 講師
2016年	7月	東京大学大学院 農学生命科学研究科 特任准教授 現在に至る

## 栄養センサー mTOR による細胞内コレステロール感知機構と 摂食シグナルによるその調節機序の解明

コレステロール恒常性は細胞レベル、個体レベルにおいて厳密に調節されており、その異常は心血管疾患やがんを始めとする生活習慣病に関与することが知られている。細胞コレステロール恒常性は、主に転写因子 Sterol regulatory element-binding protein (SREBP) と Liver X receptor (LXR) によって制御されている。SREBP はほぼ全てのコレステロール合成酵素遺伝子や低密度リポタンパク質レセプター (LDLR) 遺伝子の発現を制御している。一方、LXR は細胞内の過剰コレステロールを放出するトランスポーターである ABCA1 や ABCG1 の発現を制御する。したがって、細胞コレステロール量は SREBP によるコレステロール獲得と LXR による過剰コレステロールの細胞外への排出によって制御されている。SREBP は不活性型が小胞体膜に局在する特異な転写因子である。SREBP の活性制御はこれと複合体を形成する複数の分子や転写活性ドメインの切り出しに関与するプロテアーゼなどによって厳密に制御されている。中でも、SREBP と複合体を形成して活性化を制御する SCAP や INSIG はどちらもステロールによって調節を受けている。つまり、この巧妙な SREBP 活性制御を司る中心的な因子は小胞体のコレステロールであり、細胞は小胞体コレステロール量を感じることによってコレステロール代謝を制御しているのである。

セリン・スレオニンリン酸化酵素 mTOR は、アミノ酸やインスリン、増殖因子などの摂食に伴う代謝変化を仲介する分子であり、栄養センサーとして機能することが知られている。我々を含む多くのグループの

報告から mTOR が SREBP とそれに伴うコレステロール代謝を制御することが明らかになった。しかしながら、mTOR による SREBP 活性調節機構は未だ十分に理解されていない。

本研究では、mTOR による SREBP 及びコレステロール代謝制御機構の分子機構を明らかにすることを目的に以下の実験を行った。まず、mTOR が SREBP の活性化に関与するか複数の培養細胞株を用いて解析した。その結果、薬理的もしくは遺伝学的な mTOR 阻害によって SREBP-1 及び SREBP-2 の不活化が確認されるとともに、コレステロール合成が低下することが明らかになった。また、摂食等の栄養状態によってその血中レベルが変化する insulin-like growth factor (IGF-1) は mTOR 活性依存的に SREBP を活性化した。次に、mTOR が小胞体コレステロール量を変化させるかについて検討を行った。その結果、mTOR を阻害することで、小胞体コレステロールレベルが上昇することが示唆された。反対に、IGF-1 で mTOR を活性化すると小胞体コレステロールレベルは減少した。さらに mTOR による SREBP 活性化制御について解析するため、コレステロール依存的な SREBP 制御に中心的な役割を果たす SCAP の恒常的活性化型を発現する変異細胞を用いて解析を行った。その結果、この変異細胞では mTOR 阻害剤による SREBP-2 の抑制効果が野生型細胞に比べて顕著に弱いことが示された。以上の結果から、mTOR は小胞体のコレステロール含量を制御することで SREBP の活性化とコレステロール代謝を制御していることが示唆された。

## はじめに

コレステロールは、動物細胞に必須の脂質分子である。コレステロールは、細胞膜等の膜を構成し、膜の流動性や膜ドメインの形成を規定することで、膜機能を調節している<sup>(1)</sup>。また、遊離型コレステロールの過剰な蓄積は、細胞傷害を引き起す。したがって、細胞のコレステロール含量は厳密に調節されている。コレステロール恒常性の異常は、動脈硬化を伴う心血管疾患だけでなく癌やアルツハイマー病などでも認められ、その恒常性維持機構の解明は人類の健康にとって重要な課題となっている<sup>(2)</sup>。

細胞コレステロール恒常性は、1) コレステロール合成、2) 細胞外からのコレステロールの取込み、3) 細胞外への過剰コレステロールの放出、4) 過剰コレステロールのエステル化の4つの精巧な機構によって維持されている<sup>(3,4)</sup>。中でも、コレステロール合成や取込み、放出は、これらの機構に関与するタンパク質の厳密な発現調節によって制御されており、主に2つの転写因子、sterol regulatory element binding protein (SREBP) と liver X receptor (LXR) が主要な役割を演じている。SREBP は、コレステロール合成に関与するほぼすべての酵素遺伝子やコレステロール取込みに関与する低密度リポタンパク質レセプター (LDLR) 遺伝子の転写を制御している<sup>(5)</sup>。一方、LXR は、細胞内の過剰なコレステロールを細胞外へ排出する ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) や ABCG1 などの発現を制御している<sup>(6)</sup>。

SREBP は2つの遺伝子によってコードされる SREBP-1a、SREBP-1c と SREBP-2 に大別される。SREBP-1a はコレステロールと脂肪酸の合成、SREBP-1c は脂肪酸合成、SREBP-2 はコレステロール合成に関与する遺伝子の転写を主に制御している<sup>(7)</sup>。SREBP は、前駆体として小胞体に局在し、SCAP 及び INSIG という2つのタンパク質と3者複合体を形成している。細胞コレステロールレベルが減少すると、SREBP は SCAP と共に小胞体からゴルジ体へ輸送され、ゴルジ体にて2つのプロテアーゼ、S1P と S2P によって切断を受け、活性型となる。転写活性ドメインを含む活性型は、細胞質から

核内へ移行し、標的遺伝子の転写を活性化する<sup>(7)</sup>。

細胞コレステロールの60～90%は、細胞膜に存在し、これは細胞膜脂質の25～40%に相当する。一方、小胞体のコレステロール含量は極めて低く、細胞コレステロールの1%程度、小胞体膜脂質の5%程度にすぎない<sup>(4)</sup>。細胞は、小胞体のコレステロール含量の僅かな変化を感知することで、コレステロール恒常性を制御していると考えられている<sup>(8)</sup>。しかしながら、小胞体コレステロール量を制御する分子メカニズムはほとんど分かっていない。

セリン・スレオニンキナーゼの一つである mechanistic target of rapamycin (mTOR) は、外界からの様々なシグナルを細胞に伝達する重要なシグナル分子である。mTORは、mTOR complex 1 (mTORC1) と mTORC2 という2つの独立した機能を有する複合体を形成している。特に、mTORC1は、成長因子や栄養状態などを感知し、細胞の代謝を調節する栄養センサーとして機能している<sup>(9)</sup>。最近の研究から、SREBP-1及びSREBP-2の活性がmTORシグナル、特にmTORC1によって制御されることが明らかにされた<sup>(10-13)</sup>が、その詳細な制御メカニズムは不明な点が多い。

そこで、本研究では、mTORを介した細胞コレステロール恒常性維持機構についてより深く理解することを目的に、mTORによるSREBP活性制御機構に着目して研究を行った。そして、我々の解析より、mTORが細胞コレステロールの感知に重要な役割を果たしていることを示唆する興味深い結果を得たので報告する。

## 方 法

### 細胞培養

各種細胞は、7.5%ウシ胎児血清を含む培地にて、37℃、5% CO<sub>2</sub>の条件下で培養した。SCAPに変異を有する25RA細胞は、Ta-Yuan Chang教授 (Geisel School of Medicine at Dartmouth, USA) よりご供与頂いた。

### siRNAのトランスフェクション

コントロール及びヒト raptor 及びヒト rictor に対する siRNA は Dharmacon から購入した。細胞へのこれら siRNA のトランスフェクションは、Lipofectamine 2000 もしくは Lipofectamine RNAiMAX (Thermo Fisher Scientific) を用いて、添付のプロトコールに従って、行った。

### ウェスタンブロット

細胞ライセートは、以前の報告に従って調製した<sup>(12)</sup>。細胞ライセートのタンパク質濃度を BCA Protein Assay Kit (Thermo Fisher Scientific) を用いて測定後、等量を SDS-PAGE に供した。SDS-PAGE 終了後、タンパク質を PVDF 膜に転写し、常法に従って、1次抗体及び HRP 標識2次抗体で処理した後、目的のタンパク質を化学発光法によって検出した。

### 脂質合成アッセイ

脂質合成アッセイは、細胞を [<sup>3</sup>H] 標識酢酸と1時間、インキュベートすることで行った。従来の方法<sup>(12)</sup>に従って、細胞から脂質を抽出し、薄層クロマトグラフィーにて展開した後、コレステロール及びリン脂質画分に含まれる放射能活性を液体シンチレーションカウンターにて測定した。

## 小胞体コレステロールレベルの評価

小胞体コレステロールレベルは、 $[^3\text{H}]$  標識オレイン酸のコレステロールエステルへの取込みで評価した<sup>(14)</sup>。

## 統計解析

得られた結果は、平均値 $\pm$ 標準偏差 (SD) で示した。統計解析は、スチューデントの t 検定、もしくは Tukey-Kramer 法を用いた多重比較検定を行った。P < 0.05 のとき、有為差があると判断した。

## 結果

### mTOR による SREBP 活性と脂質合成の調節

mTOR シグナルが、SREBP-1/SREBP-2 の活性化や脂質合成の調節に関与しているか確認するため、2つの mTOR 阻害剤 (Ku-0063794、PP242) 及び mTORC1 阻害剤 rapamycin で SK-MEL-28 細胞を処理し、SREBP-1 及び SREBP-2 の活性化に与える影響を検討した (図 1A)。これらの mTOR 阻害剤は、mTOR シグナル下流分子である Akt や 4EBP1、S6 のリン酸化を濃度依存的に阻害したことから、図 1 に示す実験条件下で mTOR が阻害されていることが確かめられた。次に、

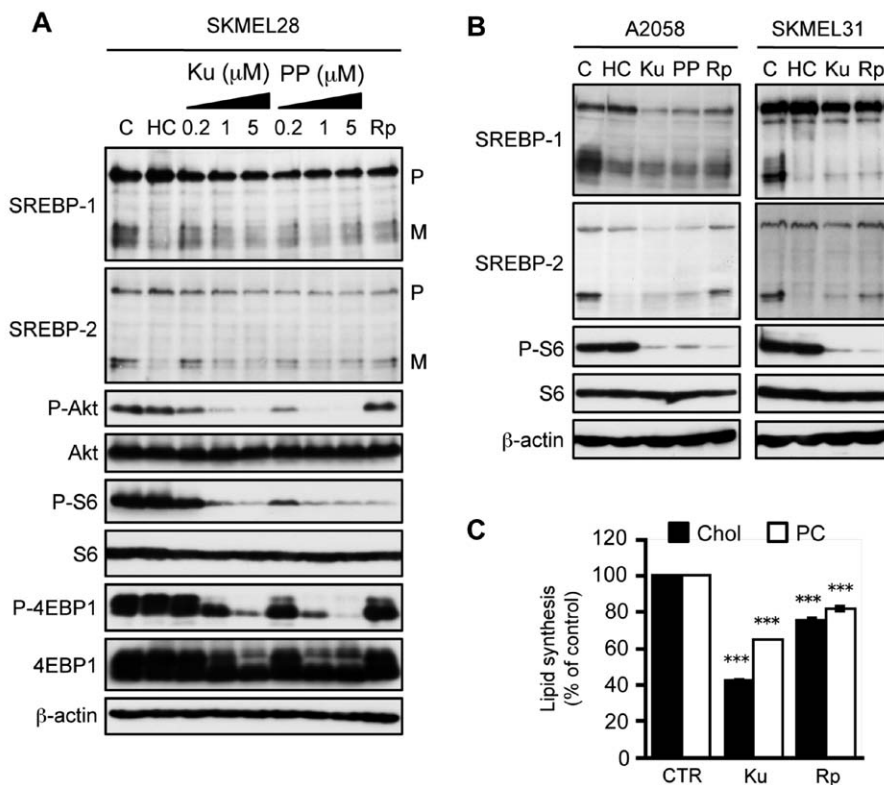


図 1. mTOR による SREBP と脂質合成の調節

- A) SK-MEL-28 細胞を DMSO (C) 25-HC (HC)、Ku-0063794 (Ku)、PP242 (PP)、rapamycin (Rp) で処理し、細胞ライセートを標記した各種抗体でイムノブロットした。 $\beta$ -actin はローディングコントロールとして用いた。
- B) A2058 及び SK-MEL-31 細胞を標記した試薬で処理し、A と同様にイムノブロットを行った。
- C) SK-MEL-28 細胞を用いて、mTOR 阻害剤の脂質合成への影響について解析した。

この実験条件下における SREBP-1 及び SREBP-2 の活性化につき、評価を行なった。その結果、mTOR 阻害剤は濃度依存的に SREBP-1 及び SREBP-2 両者の活性化型を減少させた。mTOR 阻害剤による活性化型の減少は、強力な SREBP 阻害因子として知られる 25-hydroxycholesterol (25-HC) や我々が以前に報告した rapamycin による減少<sup>(12)</sup>と同程度であった。SK-MEL-28 細胞のほか、A2058 細胞や SK-MEL-31 細胞においても、mTOR 阻害剤による SREBP-1/SREBP-2 の活性化型の減少が認められた (図 1B)。さらに、コレステロール合成の律速酵素である HMG-CoA 還元酵素の mRNA 及びタンパク質の発現減少も認められた。次に、mTOR 阻害剤 (Ku-0063794) 及び mTORC1 阻害剤 (rapamycin) が脂質合成に与える影響について検討した。mTOR 阻害剤は、コレステロール及びホスファチジルコリンの合成を抑制し、コレステロール合成をより強く抑制した (図 1C)。また、mTOR 阻害剤による脂質合成阻害効果は、rapamycin による阻害効果よりも強かった。以上の結果より、mTOR は、SREBP-1 及び SREBP-2 の活性化量を調節することで、脂質合成、特にコレステロール合成を制御することが示唆された。

### mTOR は SREBP のプロセッシングを制御する

SREBP-1/SREBP-2 の活性は、主に 2 つのステップで制御される：1) ゴルジ体での 2 つのプロテアーゼ (S1P と S2P) による前駆体の切断、2) 活性化型のプロテアソーム分解 (図 2A)。そこで、mTOR がどちらのステップに関与するか検討するため、プロテアソーム阻害剤 (MG-132) 存在下及び非存在下で mTOR 阻害剤処理を行った。その結果、MG-132 存在下においても、mTOR 阻害剤及び mTORC1 阻害剤は、SREBP-1/SREBP-2 の活性化型を減少させた (図 2B)。この結果は、

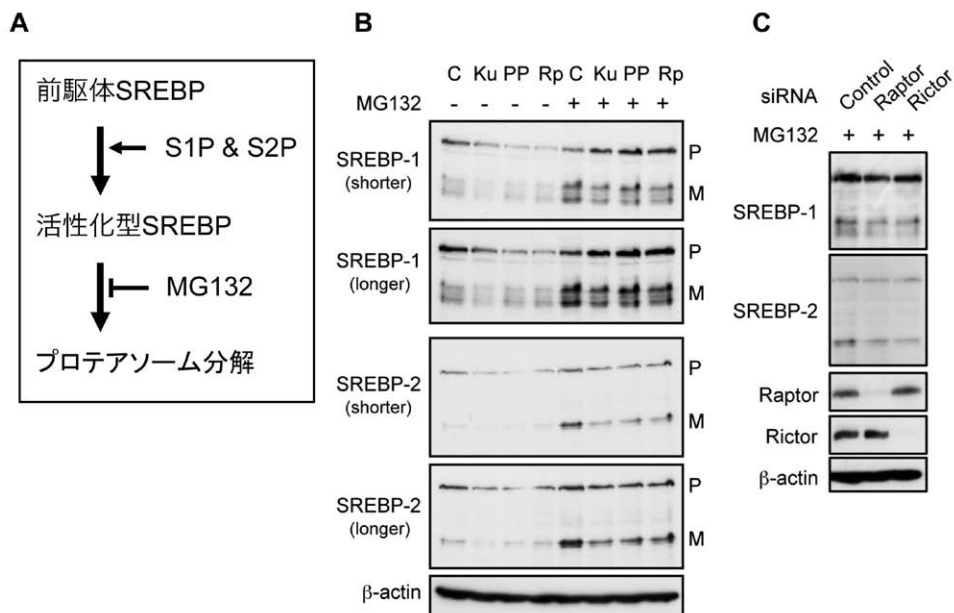


図 2. mTOR は SREBP のプロセッシングを制御する

- A) SREBP 活性化の模式図。  
 B) SK-MEL-28 細胞を MG132 存在下、非存在下で DMSO (Ctr)、Ku-0063794 (Ku)、PP242 (PP)、rapamycin (Rp) で処理し、SREBP-1 及び SREBP-2 のイムノブロットを行った。 $\beta$ -actin はローディングコントロールとして用いた。  
 C) SK-MEL-28 細胞にコントロール siRNA、raptor siRNA、rictor siRNA をトランスフェクションした後、MG132 存在下で 3 時間培養し、SREBP-1、SREBP-2、raptor、rictor のイムノブロットを行った。

mTOR が SREBP の切断による活性化を制御していることを示唆している。この結果を確認するため、遺伝学的な手法を用いて、さらなる検討を行った。mTORC1 及び mTORC2 それぞれの特異的かつ必須の構成因子である raptor 及び rictor を siRNA によってノックダウンし、MG-132 存在下で SREBP-1/SREBP-2 の活性化を評価した。その結果、raptor 及び rictor のノックダウンによって SREBP-1 及び SREBP-2 の活性化型が減少した (図 2C)。以上の結果から、mTORC1 及び mTORC2 は SREBP-1 及び SREBP-2 のプロセッシングを制御していることが示唆された。

### 成長因子による SREBP 活性調節

Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) は摂食に伴う栄養状態の変化によってその血中レベルが変化する成長因子の一つであり、細胞増殖やタンパク質合成、細胞分化を制御する。そこで、IGF-1 が SREBP の活性化に及ぼす影響について検討した。SK-MEL-28 細胞を MG-132 及び mTOR 阻害剤存在下で IGF-1 刺激した後、細胞ライセートを回収し、SREBP-1 及び SREBP-2 のイムノブロットを行った。その結果、IGF-1 刺激に伴い、SREBP-1 及び SREBP-2 の活性化型の顕著な増加が認められた (図 3)。しかしながら、mTOR 阻害剤 (Ku-0063794) 及び rapamycin 存在下では、IGF-1 による SREBP-1/SREBP-2 の活性化は完全に抑制された。以上の結果から、IGF-1 による SREBP-1/SREBP-2 のプロセッシング亢進は mTOR シグナル依存的であることが示された。

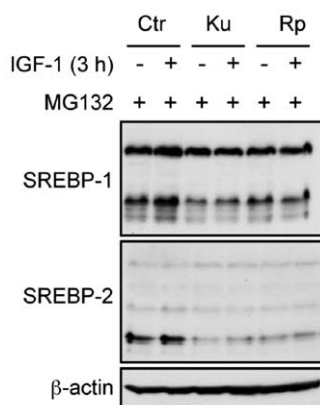


図 3. IGF-1 による SREBP 活性化

SK-MEL-28 細胞を MG132 及び DMSO (Ctr)、Ku-0063794 (Ku)、rapamycin (Rp) 存在下で IGF-1 刺激 (3 時間) を行った。細胞ライセートをイムノブロットに供し、SREBP-1 及び SREBP-2 を検出した。β-actin はローディングコントロールとして用いた。

### mTOR による小胞体コレステロールレベルの制御

上述の結果より、mTOR は SREBP のプロセッシングを制御していることが示唆される。SREBP プロセッシングは、主に小胞体からゴルジ体への前駆体の輸送によって制御されており、この輸送は小胞体コレステロールレベルによって調節されている<sup>(8)</sup>。そこで、mTOR が小胞体コレステロールレベルに与える影響について解析した。SK-MEL-28 細胞を mTOR 阻害剤で処理した際の小胞体コレステロールレベルを測定したところ、Ku-0063794 は濃度依存的に小胞体コレステロールを増加させる結果が得られた (図 4A)。興味深いことに、Ku-0063794 による小胞体コレステロールレベルと SREBP-1/SREBP-2 活性化型レベルの変化をプロットすると、濃度依存的な負の相関が認められた (図 4A)。小胞体コレステロールレベルの上昇は、rapamycin でも認められた (図 4B)。一方、IGF-1 による mTOR 活性化は、小胞体コレステロールレベルを顕著に減少させた (図 4C)。さらに、IGF-1 による小胞体コレステロールレベルの減少は、mTOR 及び mTORC1 阻害剤によってキャンセルされた。以上の結果より、mTOR は小胞体コレステロールレベルを減少させることで SREBP の活性化を誘導していると考えられた。

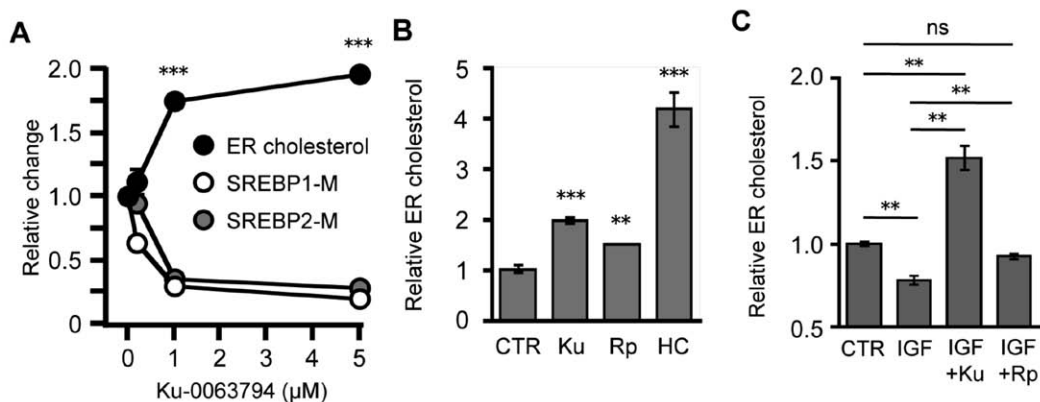


図 4. mTORによる小胞体コレステロールの調節

- A) SK-MEL-28 細胞を Ku-0063794 で処理した後、方法に記載された方法にて小胞体コレステロールレベルを測定した。SREBP-1 及び SREBP-2 の活性化型レベル (SREBP1-M, SREBP2-M) は図 1A の結果に基づく。  
 B) SK-MEL-28 細胞を DMSO (Ctr)、Ku-0063794 (Ku)、rapamycin (Rp)、25-HC (HC) で処理した際の小胞体コレステロールレベル。  
 C) SK-MEL-28 細胞を標記の通り IGF-1、Ku-0063794 (Ku)、rapamycin (Rp) で処理した際の小胞体コレステロールレベル。

上述の結果をさらに検証するため、SREBP の小胞体からゴルジ体への輸送に必須な役割を演じる SCAP の恒常的活性化型変異 (D443N 変異) を持つ変異 CHO 細胞を用いた実験を実施した。恒常的活性化型 SCAP を発現する細胞では、細胞コレステロールレベルに関係なく SREBP-2 が活性化する<sup>(15)</sup>。野生型 SCAP と恒常的活性化型 SCAP を発現する細胞を mTOR 阻害剤で処理し、SREBP-2 のプロセッシングを解析したところ、野生型 SCAP を発現する細胞では濃度依存的に活性化型が減少するのに対して、恒常的活性化型 SCAP を発現する細胞では活性化型の減少はほとんど見られなかった (図 5A、B)。以上の結果から、mTOR は SREBP の輸送も担う小胞体からゴルジ体への小胞輸送 (COP-II 経路) を阻害しているのではなく、小胞体のコレステロールレベルを調節することで、SREBP のプロセッシングを制御することが示唆された。

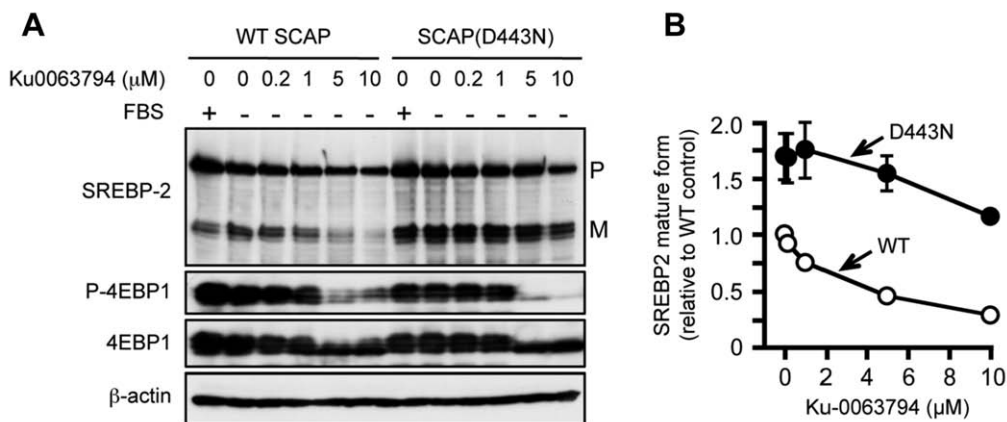


図 5. 恒常的活性化型 SCAP を発現する変異 CHO 細胞における mTOR 阻害剤が SREBP-2 プロセッシングに与える影響  
 A) 野生型 (WT) CHO 細胞及び D443N-SCAP 発現 CHO 細胞を Ku-0063794 で処理した後、得られた細胞ライセートをイムノブロットに供し、SREBP-2 及び 4EBP1 を検出した。 $\beta$ -actin はローディングコントロールとして用いた。  
 B) 上記の結果より得られた SREBP-2 活性化型レベルをプロットした。

## 考 察

SREBP は、細胞コレステロール恒常性維持に必須な転写因子である。その活性化は、主に小胞体からゴルジ体への前駆体タンパク質の輸送によって調節されている<sup>(5)</sup>。そして、この輸送は、小胞体コレステロールレベルによって厳密に制御されている<sup>(8)</sup>。また、最近の研究から、SREBP の活性化が mTORC1 によっても制御されることが明らかになっている<sup>(10-13)</sup> が、その詳細な分子メカニズムは不明な点が多く残されている。本研究では、栄養センサーとして機能する mTOR による SREBP 活性化制御機構について、より詳細な解析を行った。

我々の薬理学的、遺伝学的な解析から、mTOR 阻害が SREBP-1 及び SREBP-2 の活性化を抑制することが明らかになった。また、摂食等の栄養状態で血中レベルが変化する IGF-1 が、mTOR シグナル依存的に SREBP-1 及び SREBP-2 の活性化を制御することが示された。さらに、mTOR による SREBP 活性化は、主に SREBP 前駆体のプロセシングステップに関与することが示唆された。

SREBP のプロセシングは、前駆体が局在する小胞体から切断酵素が発現するゴルジ体への輸送によって制御されており、この輸送は小胞体コレステロールレベルによって厳密に制御されている。小胞体のコレステロールレベルが小胞体脂質の 5%未満になると、SREBP-2 は小胞体からゴルジ体へ輸送される<sup>(8)</sup>。そこで、mTOR が小胞体コレステロールレベルを制御している可能性について検証したところ、mTOR 阻害が小胞体コレステロールレベルの上昇を引き起すことが示された。これとは反対に、IGF-1 による mTOR 活性化は、小胞体コレステロールレベルを減少させた。これらの結果は、mTOR が小胞体コレステロールレベルを制御することで SREBP のプロセシングを制御していることを示唆している。この仮説をさらに検証するために、恒常的に SREBP を小胞体からゴルジ体へ輸送する活性を有する変異型 SCAP を発現する細胞を用いた解析を試みた。野生型 SCAP を発現する細胞では、上述の通り、mTOR 阻害によって SREBP-2 のプロセシング抑制が確認されたが、恒常的活性化型 SCAP を発現する細胞では SREBP-2 のプロセシングが mTOR 阻害によって抑制されなかった。これらの結果より、mTOR は小胞体コレステロールレベルを調節することで、SREBP の活性化を制御していることが強く示唆された。

mTOR は栄養センサーとして機能することが示されており、特に、mTORC1 はリソソームにおいてアミノ酸を感知していると考えられている<sup>(9)</sup>。本研究より、mTOR は小胞体のコレステロールを感知することでコレステロール恒常性を制御していることが示唆された。しかしながら、mTOR による小胞体コレステロールレベル制御の詳細な分子機構は明らかでない。mTOR を介した小胞体コレステロール制御分子の同定など、より詳細な分子機構の理解が今後の課題である。

## 謝 辞

本研究を遂行するにあたり、研究助成を賜りました公益財団法人アサヒビール学術振興財団に厚く感謝申し上げます。



## 参考文献

1. Ikonen E. (2008) Cellular cholesterol trafficking and compartmentalization. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 9: 125-38.
2. Maxfield F, Tabas I. (2005) Role of cholesterol and lipid organization in disease. *Nature.* 438: 612-21.
3. Chang T-Y, Chang CCY, Ohgami N, Yamauchi Y. (2006) Cholesterol sensing, trafficking, and esterification. *Ann Rev Cell Dev Biol.* 22: 129-57.
4. Yamauchi Y, Rogers MA. (2018) Sterol metabolism and transport in atherosclerosis and cancer. *Front Endocrinol.* 9: 509.
5. Brown M, Goldstein J. (2009) Cholesterol feedback: from Schoenheimer's bottle to Scap's MELADL. *J Lipid Res.* 50: S15-27.
6. Tontonoz P. (2011) Transcriptional and posttranscriptional control of cholesterol homeostasis by liver X receptors. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 76: 129-37.
7. Horton J, Goldstein J, Brown M. (2002) SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J Clin Invest.* 109: 1125-31.
8. Radhakrishnan A, Goldstein J, McDonald J, Brown M. (2008) Switch-like control of SREBP-2 transport triggered by small changes in ER cholesterol: a delicate balance. *Cell Metab.* 8: 512-21.
9. Saxton RA, Sabatini DM. (2017) mTOR signaling in growth, metabolism and disease. *Cell.* 168: 960-78.
10. Porstmann T, Santos C, Griffiths B, Cully M, Wu M, Leevers S, et al. (2008) SREBP activity is regulated by mTORC1 and contributes to Akt-dependent cell growth. *Cell Metab.* 8: 224-36.
11. Düvel K, Yecies J, Menon S, Raman P, Lipovsky A, Souza A, et al. (2010) Activation of a metabolic gene regulatory network downstream of mTOR complex 1. *Mol Cell.* 39: 171-83.
12. Yamauchi Y, Furukawa K, Hamamura K, Furukawa K. (2011) Positive Feedback Loop Between PI3K-Akt-mTORC1 Signaling and the Lipogenic Pathway Boosts Akt Signaling: Induction of the Lipogenic Pathway by a Melanoma Antigen. *Cancer Res.* 71: 4989-97.
13. Peterson TR, Sengupta SS, Harris TE, Carmack AE, Kang SA, Balderas E, et al. (2011) mTOR complex 1 regulates lipin 1 localization to control the SREBP pathway. *Cell.* 146: 408-20.
14. Yamauchi Y, Iwamoto N, Rogers MA, Abe-Dohmae S, Fujimoto T, Chang CCY, et al. (2015) Deficiency in the Lipid Exporter ABCA1 Impairs Retrograde Sterol Movement and Disrupts Sterol Sensing at the Endoplasmic Reticulum. *J Biol Chem.* 290: 23464-77.
15. Hua X, Nohturfft A, Goldstein JL, Brown MS. (1996) Sterol resistance in CHO cells traced to point mutation in SREBP cleavage-activating protein. *Cell.* 87: 415-26.