

## 論 文 内 容 要 旨

The androgen-induced protein AibZIP facilitates proliferation of prostate cancer cells through downregulation of p21 expression

(アンドロゲンにより誘導される AibZIP は p21 の発現を抑制して前立腺がん細胞の増殖を促進する)

Scientific Reports, 6, 2016.

主指導教員：今泉 和則 教授  
(基礎生命科学部門 分子細胞情報学)

副指導教員：浅野 知一郎 教授  
(基礎生命科学部門 医化学)

副指導教員：安井 弥 教授  
(基礎生命科学部門 分子病理学)

崔 香

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

AibZIP (Androgen-Induced bZIP) は小胞体膜貫通型転写因子群 OASIS ファミリーのメンバーである。OASIS ファミリータンパク質は小胞体ストレスセンサーATF6 と構造的に類似しており、小胞体ストレスなどの刺激に応じて小胞体からゴルジ体へと移行し、Site-1 protease (S1P) および Site-2 protease (S2P) によって膜内切断を受ける。切断された N 末端断片は核内へ移行し、転写因子として機能する。OASIS ファミリータンパク質は、細胞または組織特異的発現を示し、分化や増殖などの生理機能に関与することが報告されている。本研究では、OASIS ファミリーのうちこれまであまり機能が解っていなかった AibZIP の働きに注目して解析を行った。

AibZIP の発現をアンドロゲン感受性の前立腺がん細胞株 LNCaP 細胞で調べた。細胞を合成アンドロゲンである R1881 で処理すると転写レベルで *AibZIP* が発現上昇することが確認できた。*AibZIP* 遺伝子上流には典型的な ARE (Androgen Response Element) がいないため *AibZIP* の転写誘導には別の転写因子が作用することが考えられる。SPDEF (SAM-pointed domain-containing ETS-like factor) はアンドロゲンで誘導される転写因子の一つで、GGA(A/T) 配列に結合し、ターゲット遺伝子を誘導することが知られている。*AibZIP* 遺伝子上流配列を解析すると、SPDEF の結合サイトが複数認められた。実際に SPDEF が *AibZIP* の転写誘導を起こすことを確認するため、*AibZIP* のプロモーターを組み込んだレポーターコンストラクトを作成し、SPDEF を導入した時のレポーター活性を測定した。その結果、SPDEF の発現によりレポーター活性が有意に上昇することがわかった。さらにクロマチン免疫沈降法により SPDEF が *AibZIP* のプロモーターに直接結合していることも確認でき、アンドロゲンにより誘導される *AibZIP* の転写は SPDEF を介することが明らかになった。

*AibZIP* をノックダウンした LNCaP 細胞は、コントロール siRNA を導入した細胞に比べて細胞増殖が有意に低下していた。この時の細胞周期関連遺伝子の発現を調べたところ、サイクリン依存性キナーゼ阻害因子 p21 の発現が有意に上昇していた。OASIS ファミリーの一つである OASIS の転写ターゲットが p21 であることが知られている。LNCaP 細胞において *AibZIP*

と *OASIS* をダブルノックダウンしたところ、*AibZIP* を単独でノックダウンした際に見られた *p21* の発現上昇が抑制された。このことから *AibZIP* は *OASIS* による *p21* の発現制御に関与していることがわかった。次に *AibZIP* による *OASIS* の機能制御機構を解明する目的で、全長型 *AibZIP* と全長型 *OASIS* をダブルトランスフェクションし、*OASIS* の活性化状態を調べた。その結果、*AibZIP* を導入することで *OASIS* の S2P による切断が低下し、*OASIS* の活性化が抑制された。その時の細胞内局在を調べると、本来 *OASIS* は小胞体と核に局在するが、*AibZIP* の導入によりゴルジ体へ集積し、核への局在が消失した。さらに両者がヘテロダイマーを形成することも免疫沈降の実験から明らかになった。これらの結果は、*AibZIP* が *OASIS* と結合し、*OASIS* をゴルジ体に留めて核への移行を妨げていることを示している。

本研究により *AibZIP* は、アンドロゲン刺激に反応して誘導された転写因子 SPDEF によって転写誘導されることが明らかになった。全長型 *AibZIP* は、小胞体およびゴルジ体において *OASIS* と結合し、S2P による *OASIS* の膜内切断及び核内移行を阻害して *OASIS* による *p21* の転写を抑制することがわかった。また、*AibZIP* の発現を抑制するとアンドロゲン依存性の前立腺がん細胞の増殖が有意に低下することから、*AibZIP* とその下流の経路が細胞増殖に必須の役割を担っていることが明らかになり、前立腺がん治療の有力なターゲットになりえることが示唆された。