

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 医学 ）	氏名	崔 香
学位授与の条件	学位規則第4条第1・2項該当		
論文題目 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)			
論文審査担当者			
主 査	教授	松原 昭郎	印
審査委員	教授	稲葉 俊哉	
審査委員	教授	酒井 規雄	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>OASIS、BBF2H7、Luman、CREBH、AibZIP からなる小胞体膜貫通型転写因子群 OASIS ファミリーは小胞体ストレスセンサーATF6 と構造的に類似している。これらは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各ターゲット遺伝子の発現を促進する。OASIS ファミリータンパク質は、細胞または組織特異的に発現し、細胞の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 (Androgen-Induced bZIP)の働きに注目して解析を行った。</p> <p>AibZIP はアンドロゲン感受性の前立腺がん細胞株 LNCaP 細胞においてアンドロゲンにより発現が誘導される遺伝子として同定された。LNCaP 細胞を合成アンドロゲンである R1881 で処理すると AibZIP の mRNA が時間依存的に増加することが確認できた。AibZIP 遺伝子の上流には典型的な ARE (Androgen Response Element) がないため 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 遺伝子の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製し、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 のプロモーター領域内 GGA(A/T)配列(-645kb から-642kb 又は-607kb から-604kb)に直接結合していることも確認</p>			

できた。以上の結果から、アンドロゲンにより誘導される *AibZIP* の転写は、アンドロゲンにより活性化する *SPDEF* を介することが明らかになった。

次に癌細胞の増殖における *AibZIP* の働きについて解析を行った。*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。すなわち、*AibZIP* は *p21* の転写レベルを低下させることで LNCaP 細胞の増殖を促進させる働きがあることがわかった。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 OASIS をノックダウンすると *p21* の発現が低下することが確認できた。*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、ウェスタンブロッティングにより OASIS の活性化状態を調べた。その結果、*AibZIP* を導入することで S1P により切断された OASIS の切断断片が増加し、S2P による切断が抑制された。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に集積し、核への局在が消失した。さらに両者が bZIP ドメインを介して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 S2P による切断を妨げ、OASIS をゴルジ体に留めて核への移行を阻害していることを示している。

以上の結果から本研究では、*SPDEF* の下流でアンドロゲン依存的に転写翻訳される *AibZIP* が、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を証明した。*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* とその下流の経路は細胞増殖に必須の役割を担っていることを明らかにした。これら成果は、*AibZIP* が前立腺がん治療の有力なターゲットになりえることを示している。

よって審査委員会委員全員は、本論文が崔香に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。