

## 論文審査の結果の要旨

氏名 伊藤 太二

本論文は転写制御因子 AP-1 による転写活性化の分子機構について解析したものである。AP-1 は細胞の増殖・発生・分化・癌化等に対して重要な役割を担っている転写制御因子である。AP-1 は、Fos ファミリータンパク質 (c-Fos、Fra-1、Fra-2、FosB) と Jun ファミリータンパク質 (c-Jun、JunB、JunD) から構成されており、Fos ファミリーと Jun ファミリータンパク質との間で形成される安定なヘテロダイマーとして主に機能する。各 Fos/Jun ダイマーはそれぞれ独特の転写制御活性を有していて、2 つのファミリータンパク質間で形成されるダイマーの種類によって、AP-1 結合配列を介する遺伝子発現に極めて広い多様性が生み出されると考えられる。しかしながら、このような多様な転写制御活性を担う機構やそれに関わる分子は未知であった。

論文提出者伊藤太二は、AP-1 の構成成分である c-Jun の N 端の転写活性化領域に結合する因子を酵母 two-hybrid 法を用いて検索し、クロマチンリモデリング因子である SWI/SNF 複合体の構成成分、BAF60a を得、AP-1 の転写活性化機構におけるその役割についての検討を行なった。その結果、以下のような新しい知見を得た。

BAF60a は *in vitro* で c-Jun と強く結合し、他の Jun family として JunB と (c-Jun に比べて) 弱く結合した。しかしながら、JunD との結合は検出されなかった。また BAF60a は Fos ファミリーの中では Jun ファミリーとは一次構造の大きく違う c-Fos とも結合した。

*in vivo* では AP-1 は主に Fos ファミリーと Jun ファミリーとの間で安定なヘテロダイマーを形成して機能すると考えられるので、予め Fos ファミリーと Jun ファミリーの間でダイマーを形成させた後、BAF60a との結合を調べた。結果、BAF60a は c-Fos/c-Jun ヘテロダイマーを高い選択性で結合すること、c-Fos または c-Jun を含むヘテロダイマーとは弱い親和性を持つこと、Fra-2/JunD ダイマーとの結合は検出されないことが示された。次に Fos ファミリー、Jun ファミリータンパク質間で形成される様々な組み合わせのヘテロダイマーの転写活性化能を F9 細胞株を用いた CAT assay により比較検討したところ、c-Fos/c-Jun ダイマーがもっとも強い転写の活性化を示し、Fra-2/JunD ダイマーはほとんど活性化は示さなかった。すなわち、Fos/Jun ダイマーの転写活性化能は BAF60a との結合能と高い相関があることが示され、Fos/Jun ダイマーの転写活性化能は BAF60a との結合能によって主に決定されていると考えられた。

次に c-Fos あるいは c-Jun は *in vivo* で SWI/SNF 複合体と結合しているかを確認する実験を行った。血清飢餓状態にさらして、G<sub>0</sub> 期に同調した細胞に対して血清刺激を行うと一過的に c-Fos、c-Jun の著しい発現が起こる。その状態における NIH3T3 の細胞抽出液を用いた免疫沈降法を行ったところ、c-Fos、c-Jun が SWI/SNF 複合体構成成分 Brm 及び INI1 を含む複合体と *in vivo* で結合していることが示された。

最後に、c-Fos/c-Jun ダイマーによる転写の活性化は SWI/SNF によるクロマチンリモデリングを介しているのか、またその際にも BAF60a によって c-Fos/c-Jun ダイマーが選択される分子機構が働くのかを調べた。SWI/SNF の DNA-dependent ATPase 活性を担う Brm や BRG1 を発現していない副腎皮質由来の adenocarcinoma SW13 細胞株を用いて AP-1 結合配列を上流に持つ collagenase 及び *c-met* の内在の発現を調べたところ、c-Fos/c-Jun ダイマーは collagenase では BRG1 及び Brm の、また *c-met* においては BRG1 の共導入に依存して著しい転写の活性化を示したが、これらの活性化は Fra-2/JunD ダイマーではみられなかった。

以上より、AP-1 成分中の特定のダイマーは BAF60a を介して SWI/SNF 複合体を染色体上に動員させて、転写開始を誘導することが示された。BAF60a については SWI/SNF 複合体に対する結合活性を持たない Fos/Jun ヘテロダイマー（例えば Fra-2/JunD ダイマー）は c-Fos を含むダイマーにより一旦 open な状態になった AP-1 結合配列に結合して、恒常的な転写を保持するといった機能を持つと考えられる。

以上のように論文提出者は AP-1 による転写活性化の分子機構をクロマチンリモデリングの視点で初めて解明した。転写制御因子 AP-1 と SWI/SNF 複合体との結合を示したことは、単に転写制御機構の解明にとどまらず、今後、AP-1 の関与する発生・分化・癌化といった現象を解明していく上でも大きな貢献である。ゆえにこの業績は博士（理学）の称号を受けるにふさわしいものであり、審査員全員が合格と判定した。

なお、本論文は山内麻衣、仁科光恵、山道信毅、水谷壮利、宇井基泰、村上政男、伊庭英夫との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行なったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

従って、博士（理学）の学位を授与できると認める。