

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 山 本 紋 子

男性ホルモン（アンドロゲン）は、雄性生殖器官の形成・維持、骨格筋に対するタンパク質同化作用の他に、脳の性分化や生殖行動など雄性的行動誘導に必須な因子である。アンドロゲンは標的細胞内に到達後、核内受容体スーパーファミリーに属する転写因子のアンドロゲン受容体（AR）に結合し、標的遺伝子の発現を制御することで生理作用を発揮する。しかしながら、標的遺伝子の発現制御機構は不明である。そこで本論文は、ヒトAR（hAR）の転写制御機構を分子レベルで明らかにすることを目的とし、転写を活性化する共役因子に着目して行われた。

一章を序論とし、核内受容体の転写制御機構を説明している。核内受容体はリガンド依存的に標的遺伝子上流の特異的応答配列に結合し、転写共役因子を介してシグナルを基本転写装置に伝える。核内受容体群の転写活性化領域は2箇所存在し、N末端側にAF-1、C末端側にAF-2と呼ばれる領域が存在する。AF-1はリガンド非依存的で、かつ構成的な転写活性化能を示し、AF-2はリガンド依存的な転写活性化能を示す。AF-2領域は核内受容体間で相同性が極めて高く、リガンド依存的であることから、その機能解析は先行してきた。その結果、多くの核内受容体AF-2にリガンド依存的に相互作用する共役転写活性化因子（コアクチベーター）複合体の存在が明らかにされた。

一方、AF-1は核内受容体間で相同性は低く、その転写活性化能は細胞種特異的であることから、核内受容体が個々の特異性を発揮し、機能するための領域であると考えられる。しかし、その機能解析の遅れから、AF-1に作用するコアクチベーターは不明である。そこで本研究において、hARコアクチベーターの新たな探索系を構築した。

二章において、hAR AF-1転写活性化コア領域の同定を行った。その結果、144-251a.a.がその転写活性に重要であることが判明し、その領域と相互作用するAF-1コアクチベーターの存在が示唆された。

三章では、hARコアクチベーターの探索系を確立するため、ショウジョウバエにおいてhARのリガンド依存的な転写活性化評価系の確立を行った。ショウジョウバエの有用性は、核内受容体が発現し、機能していることと、有用な系統が多く存在する点にある。

ARはショウジョウバエに存在しないため、トランスジェニックを作出した。ショウジョウバエでの組織特異的なhARの発現は、エンハンサートラップ法と酵母転写因子GAL4システムによる外来遺伝子発現誘導系を組み合わせた方法を用いた。また、hAR転写活性化能の検討には、GFPをレポーターとして使用した。上流にAR応答配列（ARE）を有するGFP遺伝子を導入した、ARE-GFPトランスジェニック個体と、hAR発現個体とを掛け合わせた。その際、エサにリガンドであるアンドロゲンを加えると、次世代のembryoとlarvaにおいてGFPの発現が観察された。一方、抗アンドロゲン投与群では、GFP

の発現は見られなかった。従ってアゴニスト依存的にGFPが発現したことにより、ショウジョウバエで発現させたhARはリガンド依存的な転写活性化能を有することが明らかとなった。

同様の解析により、hAR AF-1がショウジョウバエにおいて機能することが明らかとなった。これらhARの転写活性化能は、ショウジョウバエの内在性転写共役因子が機能していると考えられた。従って、この系はhAR コアクチベーターの探索に有効であると判断した。

四章において、hAR転写活性化能に関与するショウジョウバエの内在性転写共役因子を探索する目的で、ショウジョウバエコアクチベーターの欠損変異体を用いて検討した。その結果、*in vivo*におけるhAR及びhAR AF-1の転写活性化能にショウジョウバエCBP (dCBP) が必須であることが明らかとなった。また、ショウジョウバエ培養細胞を用いた*in vitro*解析においても、hAR及びhAR AF-1の転写活性化能にdCBPが必須であることが判明した。しかしながら、共役因子は複合体として作用するため、hARの転写活性化にはdCBP単独で作用したとは考えにくい。従って、今後、多くの遺伝子欠損変異体を利用することで、hAR及びhAR AF-1に作用する新たなコアクチベーターを分子遺伝学的に同定することが可能である。

以上本研究では、外因性hAR及びhAR AF-1発現ショウジョウバエの作出に成功し、更に、転写共役因子の新たな探索系の確立に成功した。この系は、他の転写因子解析にも適用できるため、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。