

審査の結果の要旨

氏名 児玉 常 憲

HIF-1 は転写レベルで細胞の低酸素環境に対する適応を制御するマスターレギュレーターであることが知られている。本研究は、生体ストレス応答系である視床下部—下垂体—副腎系の末梢エフェクター分子としてのグルココルチコイドが低酸素刺激により惹起される HIF-1 の転写活性にいかなる影響を及ぼすのかという点について HeLa および COS7 細胞を用いて検討をおこなったものである。下記の結果を得ている。

- 1) RT-PCR 法によってグルココルチコイドによる HIF-1 標的遺伝子 VEGF, adrenomedullin および GLUT-3 の mRNA 発現に与える影響を HeLa 細胞で検討した。その結果、低酸素分圧下でこれら標的遺伝子の mRNA 発現は誘導され、さらにその発現は合成グルココルチコイドであるデキサメサゾンによって増強されることが示された。
- 2) HIF-1 の転写活性を HRE-ルシフェラーゼ遺伝子をレポーターに用いて検討し、HeLa 細胞および COS7 細胞において低酸素分圧下でデキサメサゾンは GR を介して HIF-1 転写活性を増強させることが示された。ここで、デキサメサゾンは HIF-1 α タンパク発現量に影響を与えなかったことから、GR による HIF-1 転写活性化増強作用は HIF-1 α タンパク安定性以外の機構によるものと考えられた。GRE-ルシフェラーゼ遺伝子をレポーターに用いて、HIF-1 はグルココルチコイド応答性転写には影響を与えないことが示された。
- 3) HIF-1 転写活性増強作用は、ステロイドレセプターの中で GR ともっともアミノ酸相同性が高い MR では認められず、リガンドに関してもグルココルチコイドアゴニストにのみ認められたことから、レセプター選択性およびリガンド選択性が存在すると考えられた。
- 4) HIF-1 転写活性増強作用に関与する GR の領域を種々の GR 変異体を用いて検討した。その結果、LBD が重要であるばかりか、LBD 単独でも作用を有

し、GR の DNA 結合と転写活性は必須ではないことが示された。

- 5) HIF-1 転写活性増強作用に関与する HIF-1 の領域を種々の HIF-1 α 変異体を用いて検討した。その結果、HIF-1 α の bHLH-PAS 領域より C 末端側の転写活性化領域の重要性が示唆された。

以上、本論文は培養細胞株において、グルココルチコイドが GR を介して低酸素刺激による HIF-1 転写活性化増強能を有すること、すなわち HIF-1 α と GR とのシグナル間にクロストークが存在することを明らかにした。この増強作用には、GR の LBD と HIF-1 α の bHLH PAS 領域より C 末端側領域という互いのきわめて特徴的な領域が関与しており、GR の DNA 結合や転写活性化は必ずしも必要ないことを明らかにした。LBD 単独でもグルココルチコイドの生理的働きが伝搬されうることを示した報告は本研究がはじめてである。また、グルココルチコイドの生体内恒常性維持機構に関与する新たな作用機構という着想点も併せ、オリジナリティ、プライオリティーともに高く、生体の低酸素ストレス応答機構の解明に重要な役割を担う可能性を有しており、学位の授与に値するものと考えられる。