

[別紙2]

審査の結果の要旨

氏名 小川智子

本研究はエストロゲン依存性腫瘍である乳癌の発症・増悪において重要な役割を果たしていると考えられているエストロゲンレセプター(ER)に関して、リガンド非存在下における転写制御機構の解明を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. リガンド非存在下において、ERのリガンド非依存的な転写活性化領域であるAF-1の転写活性を抑制している領域、repression domain (RD)を同定した。RDは、リガンド依存的な転写活性化領域であるAF-2内の、396アミノ酸から461アミノ酸の領域に存在することがわかった。
2. RDによるAF-1活性抑制に何らかの因子が介在している可能性を考え、AF-1 coactivatorであるp300に着目した。RDによってp300とAF-1との相互作用が阻害されるか否かを検討したところ、RDが存在するとp300を加えてもAF-1活性が現れないことがわかった。さらに、*in vitro*で同様の検討をしたところ、*in vivo*とは異なりRDが存在してもp300とAF-1との相互作用が阻害されないことが明らかになった。このことから、RDによるp300とAF-1の相互作用阻害には、何らかの細胞内因子が関わっている可能性が示唆された。
3. リガンド非存在下においてERに相互作用する因子を検索する目的で、GST-ERカラムを用いたER相互作用因子の精製を行った。この結果、リガンド非存在下において特異的に結合するタンパクが得られ、これを解析したところ、Hsc70 (heat shock cognate

protein 70) であることが判明した。

4. リガンド非存在下において、ER の RD に結合して p300 と AF-1 の相互作用を阻害している何らかの細胞内因子が、ER 相互作用因子の精製で得られて Hsc70 である可能性を考え、Hsc70 の ER に対する結合領域の同定を試みたところ、ER の 396 アミノ酸から 461 アミノ酸の領域、すなわち RD であることが判明した。
5. ER の様々な領域を削った deletion mutant に関して、それぞれに結合している因子が Hsc70、p300 のいずれであるかを検討したところ、ER の全長ではリガンド非存在下では Hsc70 が、リガンド存在下では p300 が結合していることがわかった。また、deletion mutant においては、RD が存在するものでは Hsc70 が、RD 存在しないものでは p300 が結合していることがわかった。

以上、本論文ではリガンド非存在下において ER の RD に Hsc70 が結合しており、p300 と AF-1 との相互作用を阻害することによって、ER の転写活性を抑制していることが示唆された。本研究は、これまで未知に等しかった、リガンド非存在下における ER の転写制御機構の解明に、さらにホルモン依存性腫瘍の発症および増悪のメカニズムの解析にも貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。