

論文審査の結果の要旨

氏名 金 經雲

サイトカインと総称される分泌タンパク質は細胞間のシグナル伝達分子として細胞の増殖、分化を制御する。サイトカインは細胞膜の受容体に結合し、そのシグナルは様々な細胞内因子によって細胞核へと伝えられ、遺伝子発現を調節する。この細胞内シグナル伝達機構の解明は生命現象の理解に必須である。本論文において、金君は、新規の zinc finger タンパク質、EZI (endothelial cell-derived zinc finger protein) を同定し、それがサイトカインの細胞内シグナル伝達分子である STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3) の機能発現に重要な働きをすることを明らかにした。本論文は論文の要旨 (第1章)、略語の説明 (第2章)、に始まり、第3章の序論では、サイトカインのシグナル伝達系とその中心的な分子STAT(signal transducer and activator of transcription) について述べ、続く第4章と第5章で EZI の同定と機能解析の結果と考察が述べられている。まず始めに、血管内皮前駆細胞においてインターロイキン-6 (IL-6) ファミリーのサイトカイン、オンスタチン M (OSM) の刺激によって誘導される遺伝子として EZI (endothelial cell-derived zinc finger protein) を同定した。EZI は12個の Zinc Finger ドメインをもつ新規のタンパク質である。Zinc Finger タンパク質の多くは転写に関与することから、様々なプロモーターからの転写に対する EZI の作用を検討し、STAT3 依存的なプロモーターからの転写を促進することを見いだした。また、免疫沈降法により、EZI は STAT3 と結合することを明らかにした。さらに、EZI の欠失変異体を用いた解析を行い、STAT3 結合領域を持ち Zinc Finger を欠失した EZI 変異体は STAT3 の核移行と STAT3 依存的転写活性化を抑制することを示した。siRNA により EZI の発現が抑制された細胞では、OSM による STAT3 の核移行および核局在化が阻害された。さらに、EZI に結合するオリゴヌクレオチド (デコイ) や EZI の N 末端領域に存在する STAT3 結合領域から作製したペプチドを用いて、それらが STAT3 の核移行を阻害し、結果的に STAT3 の活性化を抑制することも見いだした。以上の結果から、EZI は STAT3 に結合して STAT3 の核移行を促進し、核内では STAT3 を核内に留めてその活性化を促進すること

が強く示唆された。第5章においては、EZI の核移行メカニズムについて述べている。EZI は主に核に局在するタンパク質であったが、EZI の欠失変異体を用いた解析を行った結果、全ての Zinc Finger モチーフを欠損した変異体において、その核への移行が阻害された。そこで EZI の核移行のシグナルを同定するため、EZI の Zinc Finger モチーフを段階的に欠損させ、それらの核移行能力を検討したところ、EZI の核局在には3番目と8番目の Zinc Finger モチーフが重要であることが示され、さらにその変異体は STAT3 依存的転写活性化も阻害する事を見いだした。一方、プロテオミクス法を用いた解析から Importin 7 が EZI に結合することを明らかにした。Importin 7 はタンパク質の核移行を制御する因子として知られている。実際、siRNA により Importin 7 の発現を抑制すると EZI の核移行が抑制された。以上の結果を踏まえ、金君は本論文の結論として、EZI は Importin 7 を介して STAT3 の核移行を制御していることを論じている。

STAT3 がその生理的な機能を発現するためには細胞質から核内への移行が必須であるが、STAT3 のアミノ酸配列には典型的な核移行シグナルが見いだされず、STAT3 の核移行の機構については長年不明であった。本研究は、新たに同定された zinc finger タンパク質 EZI が importin 7 を介して STAT3 を核に移行させることを示し、STAT の作用機序の解明に大きく貢献するものである。STAT はサイトカインなどのシグナル伝達における重要な分子であり、論文提出者の研究は、分子生物学に大きく貢献するものと考えられる。なお、本論文中のすでに EMBO J. に発表した部分については、中山恒および宮島篤との共同研究であるが、本論文においては論文提出者が主体となり実験及び考察を行っており、論文提出者の寄与が十分であると判断し、博士（理学）の学位を授与できると認める。