

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 布施 宏昭

ステロイドホルモンは核内ステロイド受容体に結合し、標的遺伝子の転写を介して生理作用を發揮する。核内ステロイド受容体の転写制御に関しては転写促進能 AF-1/AF-2 の存在、転写共役因子によるクロマチン構造変化が明らかにされているが、これらが標的組織ごとに多様な作用を發揮するメカニズムの詳細は未解明な部分が多い。

本研究は組織特異性をもたらす核内ステロイド受容体の転写制御機構について、受容体自体の発現量がリガンド応答性を制御する可能性、合成リガンドによる受容体構造変化により組織選択性が發揮される可能性、さらに組織特異性を發揮する上での AF-1 の詳細な転写制御分子機構の 3 点から解明を試みている。

第一章ではアンドロゲン受容体 (AR) 発現増加による前立腺癌の耐性化に注目し、AR の発現量が抗アンドロゲンリガンドへの応答性を制御する可能性を、AR レポーターアッセイ系にて検討している。その結果、AR 発現量の増加は、抗アンドロゲンリガンドである hydroxy-flutamide 及び bicalutamide の特性をアンタゴニストからアゴニストへと変化させること、さらに AR A/B 領域の欠損変異体を用いた検討からこの特性変化が AR AF-1 を介して起こることを示し、組織特異的な転写制御において、受容体自体の発現量も AF-1 を介してリガンドの応答性を変化させる要素であることを明らかとしている。これは病態の解明において核内ステロイド受容体の制御機構からの解析が重要な鍵となる可能性、及び新たな視点での薬剤開発の可能性を示したものである。

第二章では合成抗アンドロゲンリガンド TZP-4238 の骨特異的な作用について、ラット骨粗鬆症モデルを用いた形態学的検討を行い、TZP-4238 が組織選択的なアンドロゲンリガンドである可能性を検討している。その結果 TZP-4238 は骨吸収抑制作用を持つエストロゲンと異なり、皮質骨からなる骨幹部の外径及び骨密度を特異的に増加させ、破断強度の増大をもたらすこと、及び骨形態計測及び生化学的骨代謝マーカーによる作用機序の検討から、骨形成促進作用を有することを示し、TZP-4238 が組織選択性を有する合成アンドロゲンリガンドであることを明らかとしている。これは骨組織には前立腺とは異なるアンドロゲン制御機構が存在する可能性及び、組織選択性エストロゲン受容体調整剤 (SERM) に限らず、核内ステロイド受容体は合成リガンドによる立体構造変化を経て、組織選択性を付与しうることを示したものである。

第三章ではミネラルコルチコイド受容体 (MR) の AF-1 転写制御機構を分子生物学的に解析し、その転写制御機構が MR のリガンド選択性に関与する可能性を検討している。その結果、まず活性の存在が明確でなかった MR A/B 領域について、2 箇所活性中心 AF-1a、AF-1b から構成される AF-1 活性を同定した。続いて MR AF-1 に対して、既知転写共役因子のうち p300、TIF 2 が間接相互作用により転写活性を亢進することを示し、AF-1a 領域をベイトとした GST アフィニティークロマトグラフィーにより、直接相互作用する新規な転写共役因子として RNA

helicase A (RHA)/CBP 複合体を同定した。MR は生体内に存在するコルチゾールに比べてアルドステロンへの選択性を示すが、この RHA/CBP 複合体のリガンド選択性への関与について、共免疫沈降法及び Chromatin Immunoprecipitation (ChIP)-assay で検討し、RHA/CBP 複合体がアルドステロン選択的に MR に結合すること、さらにこれらが結合する AF-1a を介してアルドステロン選択的に MR 転写活性を亢進することを示した。以上の結果から MR にも AF-1 活性が存在し、AF-2 と転写共役因子を共有する一方で RHA をはじめとする特異的な直接相互作用因子による転写制御を受け、これがリガンド識別という特異性を示す上での分子基盤につながることを明らかとしている。

これは AF-1 特異的な転写制御機構がリガンド選択性をはじめとする核内ステロイド受容体の組織特異性に重要な役割を持つことの分子基盤を示したものである。

本論文は組織特異的な核内ステロイド受容体の転写制御機構に関して、核内ステロイド受容体自体の発現量及び立体構造変化、さらには特異的な転写共役因子を介する AF-1 転写制御の重要性を明らかにしたものであり、得られた知見については今後ステロイドホルモンの多様性の仕組みの解明及び、病態の解明・薬剤の開発に貢献されるものと期待される。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。