

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 岡田 麻衣子

エストロゲンは広範な臓器を標的として生理作用を発揮する主要な女性ホルモンである。中でも、女性生殖器の発達・成熟は主要なエストロゲンの生理作用の一つである。これは、エストロゲン依存的に標的組織の細胞増殖が促進することに起因することが知られている。エストロゲンの生理作用は、エストロゲン受容体 (ER) の転写機能を介して発揮されと考えられている。しかしながら、このような ER の転写機能だけでは説明のつかないエストロゲンの生理作用が存在することから、未知の ER 機能が存在する可能性が示唆されている。また、生体内の細胞は細胞周期の進行を繰り返すことで増殖するが、エストロゲンによる細胞周期制御機構及びその分子機構の詳細は依然不明なままである。本研究では、細胞周期制御の観点から、新たな ER $\alpha$  共役因子群・複合体群を生化学的に同定することで、エストロゲン依存的な細胞増殖の分子機構の解明を試みている。

第二章では、各細胞周期における ER $\alpha$  の転写機能を明らかにし、細胞周期制御機構における新たなエストロゲンの作用点及び ER $\alpha$  の機能の探索を試みている。その結果、エストロゲン依存的な ER $\alpha$  の転写活性化能が M 期において低下することが示された。また、生化学的手法を用いて、M 期の ER $\alpha$  の転写活性化能を抑制する因子群として、NuRD 複合体構成因子群の同定に成功した。また、転写機能が低下しているにも関わらず ER $\alpha$  は細胞内に存在することから、M 期において未知のエストロゲン-ER $\alpha$  機能が存在する可能性が示唆された。

第三章では、M 期における新規エストロゲン-ER $\alpha$  機能の探索・解析を行った。その結果、エストロゲンが ER $\alpha$  を介して M/G1 期移行を促進すること、M/G1 期移行を担う Cyclin B1 のタンパク分解を促進することを見出した。さらに、*in vitro* の実験により、ER $\alpha$  複合体が M 期特異的に Cyclin B1 を基質とするユビキチンリガーゼとして機能することを見出した。最後に、抗 ER $\alpha$  抗体カラムを用いたアフィニティー精製系を確立し、内在性の M 期 ER $\alpha$  相互作用因子群を精製・同定した。その結果、M 期 ER $\alpha$  ユビキチンリガーゼ複合体構成因子群の候補因子として、

機能未知 HECT 型ユビキチンリガーゼ UBE3C 及び脱リン酸化酵素 PP2A 複合体構成因子群の同定に成功した。以上より本章では、ER $\alpha$ のタンパク分解機能を介した、エストロゲンの新たな細胞周期促進作用機構を明らかにした。

第四章では、M 期 ER $\alpha$ ユビキチンリガーゼ複合体を分子レベルで解析し、エストロゲンの細胞増殖促進作用における機能の解明を試みている。まず、第三章で同定した UBE3C が M 期において、ER $\alpha$ を主要構成因子とする複合体を形成することが示された。さらにこの複合体形成が M 期特異的であることを見出した。また、M 期 ER $\alpha$ 相互作用因子として同定した、新規脱リン酸化酵素 PR130 型 PP2A が、UBE3C/ER $\alpha$ の M 期特異的な複合体形成を規定する可能性を見出した。続いて、エストロゲン依存的な Cyclin B1 タンパクの分解における UBE3C/ER $\alpha$ 複合体の機能を解析した。その結果、UBE3C/ER $\alpha$ 複合体は、Cyclin B1 を基質とするユビキチンリガーゼであること、UBE3C がユビキチンリガーゼ活性を担う活性中心因子であることを見出した。さらに、この複合体において ER $\alpha$ が Cyclin B1 を認識する基質認識サブユニットとして機能することが示された。最後に、UBE3C/ER $\alpha$ 複合体がエストロゲン依存的な M 期/G1 期移行の促進及びエストロゲン依存的な細胞増殖促進を担うことを明らかにした。

本論文では、ER $\alpha$ が細胞周期特異的に異なる複合体を形成することで、転写機能及びタンパク分解機能という、性質の異なる二つの機能を発揮することを初めて見出した。また、この両機能において、ER $\alpha$ はエストロゲン依存的な標的タンパク特異性を規定する役割を担うことが新たに示唆された。さらに、UBE3C/ER $\alpha$ 複合体を同定し、複合体として機能する HECT 型ユビキチンリガーゼを初めて見出した。また、この複合体が ER $\alpha$ を基質認識サブユニットとすることで、エストロゲン依存性を獲得した新たなクラスのユビキチンリガーゼであることを明らかにした。最後に、エストロゲン依存的な細胞周期制御及び細胞増殖制御において、UBE3C/ER $\alpha$ 複合体のタンパク分解機能が重要である可能性を見出した。

以上、本研究は細胞周期依存的なエストロゲン受容体機能を介した、女性ホルモンの細胞増殖促進作用の分子機構の一端を明らかにした。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のあるものと認めた。