

## [課程-2]

### 審査の結果の要旨

氏名 小山 哲

本研究は本邦においてその発生頻度が増加傾向にある乳癌の病態におおきく関与しているとされているエストロゲンに焦点をあて、エストロゲンをリガンドとする核内受容体エストロゲンレセプター (ER)  $\beta$  と乳癌抑制遺伝子の候補とされる DBC1 との相互作用を検討した。その結果を下記に記す。

1. 免疫沈降により ER $\beta$  と DBC1 とは乳癌細胞株 MDA-MB-231 細胞内において複合体を形成することが示された。
2. 蛍光免疫染色により ER $\beta$  と DBC1 とは乳癌細胞株 T-47D 細胞内において共存することが示された。
3. GST-pull down アッセイにより ER $\beta$  と DBC1 はリガンドの有無に関係なく直接的に結合することが示された。結合部位の検索では ER $\beta$  の AF-1 および AF-2 とが、DBC1 のアミノ基末端と結合していることが示された。ER のサブタイプである ER $\alpha$  もリガンドの有無に関係なく DBC1 と結合し、DBC1 のアミノ基末端と AF-1,2 において結合していたが、AF-1 における結合は ER $\beta$  と比べ弱く、違いがみられた。
4. ルシフェラーゼアッセイにより DBC1 は ER $\alpha$  のエストロゲン依存的転写活性化能に影響を与えないことが示された。
5. 同じくルシフェラーゼアッセイにより DBC1 は ER $\beta$  のエストロゲン依存的転写活性化能を抑制することが示された。このことは ER $\beta$  により発現が抑制される細胞死抑制因子 Bcl-2 が DBC1 のノックダウンにより ER $\beta$  のリガンド依存的に増加したことからも、実際の細胞内において機能していることが示された。
6. DBC1 と ER $\beta$  の相互作用が細胞死に与える影響を FACS 解析による細胞死率測定によって検討したところ、内在性 DBC1 をノックダウンした MDA-MB-231 細胞においては、ER $\beta$  のリガンド処理により細胞死に有意な増加がみられ、ER $\beta$  のもつ細胞死促進作用が顕在化したものと考えられた。

以上、本論文は DBC1 と ER $\beta$  は細胞内で複合体を形成し、DBC1 は ER $\beta$  のエストロゲン依存的転写活性化能を抑制するという新規事実を明らかにした。

DBC1 と ER $\beta$ の複合体は乳癌細胞の増殖や細胞死に影響を与えているものと思われ、今後更なる DBC1 の機能解析が進むことにより乳癌の病態解明に貢献することが期待でき、学位の授与に値するものと考えられる。