

審査の結果の要旨

氏名 青木 一郎

多細胞生物の細胞数は増殖速度と細胞死の頻度を調節することで厳密に制御されている。この制御が崩壊すると組織が過形成して腫瘍を形成したり、逆に組織が萎縮して神経変性疾患等を引き起こしたりする。

本研究で注目した転写因子 E2F は増殖と細胞死を制御する鍵となる因子である。E2F ファミリーには現在 E2F1 から E2F8 までの因子が存在することが知られているが、E2F1-3 が活性型、E2F4-8 が抑制型と分類されている。E2F の機能としてはまず細胞の増殖を促進することが挙げられる。細胞周期の G1 後期において E2F は DNA 合成や細胞周期の進行に関わる遺伝子を転写活性化することで細胞周期を S 期へ進行させる。ところが、活性型 E2F のうち E2F1 は増殖を促進する一方でアポトーシスを誘導する。E2F1 が増殖を促進するにもかかわらず、E2F1 ノックアウトマウスは予想に反して様々な組織でがんを発症すること、E2F1 を欠損した細胞はアポトーシスを起こしにくいこと、さらに E2F1 はアポトーシスを促進する様々な遺伝子を転写活性化することが報告されている。

このように、E2F は増殖を促進する一方で細胞死を誘導する能力もっており、多細胞生物の恒常性を維持するのに重要な因子であると考えられている。本研究では多様な機能を持つ E2F の活性を制御するメカニズムを調べることを目的とした。

序章では、転写因子 E2F について研究の背景、既往の研究および本研究の意義について述べた。

第1章では、NEDD8 化による E2F の活性制御について解析した。NEDD8 とはユビキチン様タンパク質ファミリーの一つで、ユビキチン化と同様に E1, E2, E3 の酵素群によって基質のリシン残基に付加される。NEDD8 化の基質としては細胞周期の進行に重要なユビキチン化酵素複合体である SCF 複合体の構成因子 Cullin が最もよく研究されている。Cullin の NEDD8 化は Cullin に劇的な構造変化をもたらす、また Cullin と共役因子との相互作用に影響する。そして Cullin の NEDD8 化は SCF 複合体のユビキチン化活性に決定的に必要である。他にも、主要ながん抑制遺伝子である p53 やそのファミリーである p73 といった転写因子が NEDD8 化の基質として報告されている。NEDD8 化は p53 や p73 の活性を負に制御す

る。本研究では E2F ファミリーのメンバーが NEDD8 化されることを示した。E2F1 の NEDD8 化はアポトーシスを誘導する p73 などの標的遺伝子に対する E2F1 の活性を特異的に抑制することを示唆する結果を得た。これらの結果から E2F1 の NEDD8 化は E2F1 の増殖促進因子としての働きとアポトーシス誘導因子としての働きを切り替える分子的なスイッチとしてはたらく可能性が示唆された。

第2章では、主要ながん抑制遺伝子である p14ARF による E2F1 の活性制御について解析した。ARF による主要ながん抑制メカニズムは p53 経路の活性化だと考えられていた。ARF は p53 のユビキチンリガーゼである Mdm2 と直接結合して Mdm2 の p53 に対する抑制作用を阻害することで、p53 を安定化および活性化することが示されている。しかしながら、がんにおいて p53 と ARF 両方の機能喪失が起こっている場合があることなどから ARF のがん抑制作用の少なくとも一部は p53 非依存的であると考えられている。ARF が細胞周期を停止する際の、p53 以外のターゲットの一つとして転写因子 E2F が報告されているが、そのメカニズムはよくわかっていなかった。本研究では、ARF と Mdm2 が協調して E2F1 のユビキチン化を促進することを示唆した。この結果から、代表的ながん遺伝子である Mdm2 も状況によってはがん抑制にはたらく可能性があることが示唆された。したがって、現在 Mdm2 の阻害剤ががん治療に使用されつつあるが、状況を見極めた慎重な運用が必要であると考えられる。

以上のように申請者は、細胞の生と死の分岐点に位置する非常に重要な分子である E2F の活性制御に関して研究を行い、前半では E2F に関する新たな翻訳後修飾である NEDD8 化を見出し、この修飾が E2F に対して標的に対する指向性を与える可能性を示した。また、後半ではがん抑制因子である ARF が E2F の活性を抑制するメカニズムとして、ARF は Mdm2 の活性を利用して E2F のユビキチン化を促進することを示した。ほとんどのがんにおいては p53 経路が不活性化しているが、E2F1 は p53 非依存的に細胞死を誘導できることからがん治療の有用な標的となりうる。このため、本研究の成果はがんに対する新たな薬剤標的を提案し、実際に薬剤を創成する上で医学・薬学・工学分野に貢献するものである。また、細胞の生死の選択はがん以外の系でもあらゆる細胞にとって決定的に重要である。そのため、このメカニズムに迫った本研究は、細胞増殖のコントロールが重要な再生医療・組織工学分野にも貢献できると考えられる。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。