

[別 紙 2]

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者氏名 陳 淑婷
(ちえん しゅうちん)

申請者は、『前立腺癌における新規アンドロゲン受容体転写共役因子群の精製及び機能解析』についての論文審査発表を行った。

男性ホルモンであるアンドロゲンは細胞分化や増殖を介し、生殖器官の発育機能維持、脂質/骨組織における代謝調節など多彩な生理作用を発揮する脂溶性ホルモンである。このような性ホルモン依存的細胞増殖作用は、核内レセプタースーパーファミリーに属するリガンド依存的転写制御因子、アンドロゲン受容体 (AR) を介した標的遺伝子の転写制御により発揮されると考えられている。AR の転写活性化制御には、様々なクラスの **co-regulator** の必要性が明らかとなってきた。これらの多くは AR を介して標的遺伝子周辺のクロマチン環境に適切な修飾を施すことで、転写制御を行う。一方で、これらの制御に加え、ユビキチンシステムなどによる AR (or AR 複合体) 自身の“翻訳後修飾”の重要性が示唆されつつある。しかしながら、このような転写制御における AR 自身の“質的/量的制御機構”の詳細は依然不明な点が多く、今後、これらの機能を担う **co-regulator** 群の実体を明らかにすることは、新たなアンドロゲン作用機序の解明に必要があると考えられる。また、近年ゲノムワイドな解析手法の導入により、これらの因子群と AR、及び標的遺伝子群との関係を俯瞰的に捉えることが可能となってきた。本論文は、AR 抗体カラムを用いたアフニティー精製系を作製し、内在性 AR の相互作用因子群の精製、同定を行い、同定された因子と標的遺伝子群との関係をゲノムワイドな解析により検討することで、新たな AR 転写制御機構の分子機構の一端を明らかにしていくことを目的としている。

本論文では、AR 転写制御機構の一端を解明するため、抗 AR 抗体カラムアフニティー精製系により前立腺癌細胞株 22Rv1 を用いた内在性 AR の相互作用因子群の精製、同定を行い、脱ユビキチン化酵素 USP7 を新たに取得できたことを示した。

この結果は、AR と USP7 はアンドロゲン依存的相互作用することを免疫沈降より確認した。また、*in vivo* ユビキチン化アッセイにより、アンドロゲン依存性 AR のユビキチン化に対する USP7 の影響を検討し、USP7 の過剰発現により、AR タンパクのアンドロゲン依存的脱ユビキチン化すること、さらに、USP7 はアンドロゲン依存的 AR タンパクの安定性に機能することも見出した。以上の結果から、USP7 は新たな AR ユビキチン化制御因子であることを明らかにした。

続いて、USP7 が AR の転写制御機構にどのように作用するか詳細な解析の結果について示した。まず、始めに USP7 が、AR 結合領域に結合するかについて、ChIP または、AR との re-ChIP 解析により検証することにより、USP7 が PSA や FKBP5 などの代表的な標的遺伝子のアンドロゲン応答配列にリガンド依存的に結合することを示した。また、USP7 のノックダウンと過剰発現により、AR の転写活性化能に対する影響を検討し、USP7 はコリプレッサーとして AR の転写活性化能を抑制することについても示した。以上の結果から、USP7 が新規 AR 転写共役因子であることを証明した。

さらに、USP7 依存的な AR 標的遺伝子群を調べるために網羅的な解析手法である RNA-seq 解析を行った。この解析結果から、アンドロゲンにより発現が増加した遺伝子のうち約 54% は、USP7 ノックダウンにより発現が抑制されること、逆にアンドロゲンより発現量が減少した遺伝子のうち約 28% は、USP7 ノックダウンによりその発現抑制が緩和されることが、判明した。このことは、USP7 がコアクチベーターとして働く一方で、コリプレッサーとしても機能することを示していた。

本論文において申請者は、アンドロゲンの分子作用機構を明らかにするべく、AR 抗体カラムを用いたアフィニティー精製系を導入し、新たな AR 結合因子、脱ユビキチン化酵素 USP7 を得た。さらに、USP7 が、アンドロゲン依存的な AR を脱ユビキチン化し、タンパクを安定化して、アンドロゲン応答標的遺伝子発現を制御する機構を詳細に解析し、新たな AR の遺伝子発現調節メカニズムの一端を解明した。また、ゲノムワイドな解析手法の導入により、USP7 依存的な AR 標的遺伝子群を調べることで、USP7 はコアクチベーターであり、コリプレッサーにも機能することを示し、これからの研究の展望についても興味ある知見についても明らかにしており、USP7 のアンドロゲンの生理作用特に細胞周期の制御に重要な役割を担うことも明らかにした。以上より、申請者は、本論文で、AR の転写制御機構の新たなメカニズムの一端を明らかにしたことを示し、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。