

氏名(本籍)	たて いし ゆき よ 立石幸代(鹿児島県)
学位の種類	博士(学術)
学位記番号	博甲第3740号
学位授与年月日	平成17年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目	ユビキチンリガーゼCHIPによるエストロゲンレセプター $\alpha$ の分解機構の解析

主査	筑波大学教授	農学博士	馬場	忠
副査	筑波大学教授	博士(薬学)	柳澤	純
副査	筑波大学教授	農学博士	深水	昭吉
副査	筑波大学教授	農学博士	小林	達彦

### 論文の内容の要旨

女性ホルモンの一種であるエストロゲンは、女性生殖器の発達や機能維持、脂質や骨代謝経路の調節などに加えて、乳ガンや子宮体ガンの増悪にも関与することが知られている。このようなエストロゲンの生体内における作用は、エストロゲンレセプター $\alpha$ および $\beta$ (ER $\alpha$ , ER $\beta$ )を介して発揮される。ERは核内レセプターファミリーに属し、エストロゲンと結合して標的遺伝子の転写を活性化する。近年、ER $\alpha$ の転写活性化には、エストロゲン依存的なER $\alpha$ のユビキチン化と分解が必要であることが明らかにされてきている。

本研究においては、エストロゲン非存在下においても、ER $\alpha$ がユビキチン-プロテアソーム系を介してユビキチン化された後に分解されることを見出した。さらに、ドメイン欠損変異体の解析により、エストロゲン非依存的なER $\alpha$ のユビキチン化には、エストロゲン依存的なユビキチン化に必要とされるAD領域が必要ではないことを明らかにした。これらの結果より、ER $\alpha$ にはエストロゲンとの結合の有無によって異なるユビキチンリガーゼが結合しユビキチン化を行うのではないかと考えられた。

そこで、ER $\alpha$ に結合するタンパク質の精製を行ったところ、エストロゲン非存在下特異的に Carboxyl terminus of Hsc70-interacting protein (CHIP) が得られた。CHIPは、N末端側に Heat shock protein との結合に必要とされるTPRドメインを有し、C末端側にユビキチンリガーゼの機能ドメインであるU-boxドメインをもつユビキチンリガーゼである。CHIPは、Hsp70やHsc70などのシャペロンタンパク質と複合体を形成してリガンドの結合していないER $\alpha$ と結合し、エストロゲン非依存的なER $\alpha$ の分解を促進することが明らかになった。さらに、エストロゲン非存在下において、温度感受性ER $\alpha$ 変異体が野生型ER $\alpha$ よりも速やかに分解されること、および、温度感受性ER $\alpha$ 変異体は優先的にCHIPと結合することから、CHIPはミスフォールドしたER $\alpha$ を選択的に認識しユビキチン化することが示唆された。これらのことは、CHIP欠損マウス胎児繊維芽細胞を用いた実験においても確認された。野生型細胞では、エストロゲン非存在下でミスフォールドしたER $\alpha$ が分解していたが、CHIPを欠損することによって分解が起こらなくなっていた。一方、エストロゲン存在下においては、CHIP欠損細胞においても野生型と同様にER $\alpha$ の分解がみられた。

以上の結果より、ER $\alpha$ は、シャペロンタンパク質によって正常にフォールディングするが、フォールディングに支障をきたしたER $\alpha$ はCHIPに認識され、ユビキチン-プロテアソーム系によって分解されることが明らかになった。このように、CHIPは品質管理リガーゼとして生体内の異常タンパク質の分解に関与していると考えられる。

## 審査の結果の要旨

核内レセプターに属するエストロゲンレセプター (ER $\alpha$ ) は、リガンドであるエストロゲンと結合して標的遺伝子の転写を活性化する。ER $\alpha$ は乳癌や子宮癌の増悪に関与することも知られており、ER $\alpha$ の転写調節機構の解明は重要な研究課題である。本研究では、ER $\alpha$ の分解機構に着目し、その解析をおもに分子生物学的手法を用いて行っている。その結果、ER $\alpha$ にはこれまでに報告されているエストロゲン依存的な分解に加えて、エストロゲン非存在下における分解機構も存在することを明らかにした。さらに、エストロゲン非依存的な分解を担うユビキチンリガーゼとしてCHIPを同定したCHIPは、ミスフォールドしたER $\alpha$ を優先的に分解することから、エストロゲン非依存的な分解機構によってER $\alpha$ の品質管理が行われていることが示唆された。

以上のことより、これまで明確になっていなかったエストロゲン非依存的なER $\alpha$ の分解機構について、明確にした点は十分に評価できる。しかし、他の核内レセプターにおいても普遍的な最終結論を得るまでには至っておらず、今後に残された課題も少なからずある。結論として、研究自体は非常に注意深く行われており、十分な信頼性を有しており、当該研究分野の発展に貢献したと判断できる。

よって、著者は博士(学術)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。