

氏名(本籍)	かど た しん いち 門 田 伸 一 (愛媛県)		
学位の種類	博 士 (医 学)		
学位記番号	博 甲 第 5913 号		
学位授与年月日	平成 23 年 7 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	人間総合科学研究科		
学位論文題目	INHAT 複合体関連因子による ISG 転写制御機構		
主査	筑波大学教授	博士(医学)	渋谷 彰
副査	筑波大学教授	薬学博士	金保安 則
副査	筑波大学准教授	博士(人間・環境学)	森川 一也
副査	筑波大学助教	博士(薬学)	鈴木 裕之

論文の内容の要旨

(目的)

I 型 IFN (interferon) は IFN 情報伝達経路を介して IFN 誘導性遺伝子 (IFN-stimulated genes:ISGs) の転写を誘導することで宿主細胞にウイルスに対する抵抗性を獲得させる。ところで、IFN 情報伝達経路において HAT 活性および HDAC 活性の両方が ISG の転写に必須であることが報告されている。しかしながら、これら 2 つの機構の IFN 情報伝達経路における機能的役割については明らかとされておらず、ISG 転写機構には未だ明らかとされていない制御機構があるものと推測される。INHAT (inhibitor of acetyltransferase) 複合体は HAT によるヒストンのアセチル化を抑制し、転写の制御に関与することが報告されている。本論文は INHAT 複合体の主要因子である pp32 の ISG 転写制御機構における機能解析を行うことで、ISG 転写機構における新規の制御機構を明らかとすることを目的とした。さらに INHAT 複合体に含まれる因子である TAF- β /SET、また pp32 と同じく Anp32 family に属する Anp32B/APRIL に関して、ISG 転写機構との関連性の検討を行った。

(対象と方法)

INHAT 複合体の主要因子である pp32 に着目し、ISG 転写機構との関連について検討を行った。まず Flag タグを融合させた pp32 発現ベクターを作製し、STAT との相互作用を検討して IFN 情報伝達経路との関与を模索した。ついで pp32 に対する siRNA を用いることで ISG 転写機構における pp32 の影響の有無について検討を行った。さらに STAT の活性化機構、核内移行および ISG プロモーターへの結合に対する pp32 の関与を ChIP 法等を用いて検討した。また、pp32 の欠損変異体を作製することで pp32 による ISG 転写の制御機構について考察した。また、pp32 の IFN 依存的な動態を観察することで pp32 の ISG 転写機構における時空間的な制御について考察を行った。

さらに INHAT 複合体に含まれる因子である TAF- β /SET、また pp32 と同じく Anp32 family に属する Anp32B/APRIL において、それぞれに対する siRNA を用いて、ISG 転写機構との関連性について検討を行った。

(結果)

siRNA により作製した pp32 ノックダウン (KD) 細胞を用いた実験から、pp32 は ISG 転写機構を正に制

御する機能を有することが明らかとなった。また pp32 は IFN 依存的にリン酸化によって活性化された STAT と相互作用を行う。さらに、pp32 は IFN 非依存的に核内に局在する。pp32 KD 細胞において STAT および Pol II の ISG プロモーターへの結合が抑制され、さらに IFN 依存的な ISG プロモーター上のヒストンのアセチル化修飾が抑制された。STAT と相互作用しない pp32 欠損変異体は、pp32 KD による ISG 転写の抑制を回復する活性を示さなかった。pp32 は IFN 依存的に一過的に ISG プロモーター上にリクルートされ、時間と共に徐々に ISG プロモーター上から外れる。

pp32 と同じく INHAT 複合体の主要因子である TAF-I β /SET、さらに pp32 と同じく Anp32 ファミリーに属する ANP32B に関して、それらの KD 細胞を用いた ISG 転写活性の検討を行った。その結果 TAF-I β /SET および ANP32B は、pp32 と同様に ISG 転写機構に関与することが明らかとなった。

(考察)

pp32 は IFN 依存的に核内において STAT と相互作用し、ISG 転写の制御を行うことが示唆された。また、pp32 の STAT との相互作用は、pp32 による ISG 転写の制御に必要であることが示唆された。pp32 欠損変異体の実験結果より、pp32 の ISG 転写の制御は STAT を含む転写複合体を標的としていることが示唆された。IFN 依存的な pp32 の ISG プロモーターでの挙動から、pp32 は ISG 転写機構の初期段階において、転写複合体の ISG プロモーターへのリクルート、または転写因子複合体の形成の制御を行うことが示唆された。また、TAF-I β /SET および ANP32B も ISG 転写機構の制御に関与することが示唆されたことから、pp32、TAF-I β /SET および ANP32B は協調して ISG 転写機構を制御する可能性が示唆された。

(結論)

pp32 による新規の ISG 転写機構を明らかにし、さらに INHAT 複合体関連因子による新規の転写制御機構を示唆した。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は pp32 による IFN 誘導性遺伝子の転写機構を明らかにし、INHAT 複合体関連因子による新規の転写制御機構を示唆したもので、その学術的価値は高い。

平成 23 年 6 月 9 日、博士（医学）学位論文審査専門委員会において審査委員全員出席のもとに最終試験を行い、論文について説明をもとめ、関連事項について質疑応答を行った結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。