

Title	癌遺伝子AIB1 (Amplified in breast cancer 1) の細胞死抑制機構の解析
Author(s)	堀口, 喜久美
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45663">https://hdl.handle.net/11094/45663</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	堀 口 喜 久 美
博士の専攻分野の名称	博 士 (薬 学)
学位記番号	第 19433 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 薬学研究科生命情報環境科学専攻
学位論文名	癌遺伝子 AIB1 (Amplified in breast cancer 1) の細胞死抑制機構の解析
論文審査委員	(主査) 教授 西原 力 (副査) 教授 田中 慶一 教授 土井 健史 教授 花岡 文雄

#### 論 文 内 容 の 要 旨

AIB1 (ACTR/SRC-3/pCIP/RAC3/TRAM-1) は先にクローニングされた SRC-1 (NCoA-1)、TIF2 (SRC-2/GRIP1/NCoA2) と高いホモロジーをもつ p160 ファミリー核内受容体転写共役因子である。AIB1 はヒストンアセチル化酵素 (HAT) をもつ PCAF、CBP/p300 と複合体を形成し、ER、PR などの核内ホルモン受容体や、NF- $\kappa$ B、STAT、AP-1 などの転写共役因子として機能することが報告されている。さらに、AIB1 は乳癌や子宮癌細胞において mRNA の増幅が確認されている。乳癌、肝細胞癌、初期胃癌において AIB1 タンパク質の過剰発現が認められていることから、AIB1 の発現制御機構が癌化のメカニズムに関与することが予想されるが、その分子機構については詳細に明らかにされていない。

本研究では、ER、PR 非依存的であるニトリ B リンパ細胞株である DT40 細胞を用いて AIB1 欠損細胞を作製し AIB1 欠損細胞と野生株と比較することによって ER、PR 非依存的癌化における AIB1 の機能を解析した。

癌細胞では細胞増殖を促進するシグナル伝達のネットワークがしばしば脱制御されて、細胞死と細胞増殖のバランスに破綻をきたすことが知られている。本研究では、まず始めに細胞外シグナルや細胞内シグナルの応答伝達経路における AIB1 の関与について、AIB1 欠損細胞と野生株における増殖変化の検討を行なった。標準的な培養条件と血清を除去した培養条件での細胞数を測定した結果、標準的な培養条件では野生株と欠損株においてはほとんど差がみられなかったが、血清非存在下では野生株は増殖傾向を示したが、ヘテロ、ホモ欠損細胞は著しい細胞数の低下を示した。この結果より AIB1 が細胞内シグナル伝達経路による細胞増殖の促進の活性化に関与していることを明らかにした。

さらに、血清非存在下での AIB1 欠損細胞はアポトーシスを誘導していることより、ストレスに対するアポトーシスの感受性の抑制に AIB が関与していることを明らかにした。

また、細胞周期の制御における AIB1 の関与について、標準培地および血清非存在下で AIB1 欠損細胞と野生株の細胞周期解析を行った結果、血清非存在下で野生株は S 期の細胞の割合が欠損細胞に比較して顕著に高く、細胞周期の進行が促進していた。このことから、AIB1 が細胞内ストレスの誘導される血清非存在下で細胞周期の進行に関与していることを明らかにした。

次に、ストレス状況下において細胞生存と細胞死の制御に関与しているシグナル伝達経路に関して検討した結果、

AIB1 はストレス状況下で細胞生存シグナル伝達を誘導する Akt キナーゼの活性化および転写因子 NF- $\kappa$ B のサブユニット p65 の活性化に関与する可能性が示唆された。また細胞死シグナル伝達のための c-Jun および JNK のリン酸化レベルを AIB1 が抑制していることを明らかにした。

細胞内ストレス応答に対して Akt/NF- $\kappa$ B 経路を介する AIB1 の誘導が Akt、RSK2 等の細胞生存に関与する因子の発現上昇に重要であり、核内において、AIB1 は Akt と相互作用し NF- $\kappa$ B の転写を活性化するため AIB1 は Akt にリン酸化されることを明らかにした。

さらに、本研究では、細胞周期の重要な制御メカニズムを担っている細胞分裂期について癌化を誘導する AIB1 の分子機構について検討した。その結果、新たな知見が得られた。AIB1 は細胞分裂期に発現量が増加し過剰にリン酸化され、細胞内局在を変化させ、染色体の分配に関係している可能性を示した。また、AIB1 欠損細胞において、微小管重合阻害剤によって、細胞分裂期の染色体分配と細胞質分裂の異常が生じ、多重細胞やアポトーシスが誘導された一方、AIB1 野生株においては正常に染色体分配が行われ、アポトーシスが回避されたことから、DNA の修復に AIB1 が関与する可能性が明らかになった。また本研究において Akt に直接リン酸化される GSK3 に AIB1 が分裂期特異的にリン酸化されることを最近明らかにした。これらのことから、AIB1 は癌細胞の細胞死抑制機構において、Akt/GSK3 の経路によりリン酸化されることによって NF- $\kappa$ B の転写活性化を強めるための転写共役因子として機能し、ストレス状況下での細胞死を抑制し、増殖に移行するための DNA 合成期や染色体分裂期の進行促進に強く関与していることを明らかにした。

AIB1 は乳癌の治療薬であるタモキシフェンの ER アンタゴニスト活性を低下させることが明らかにされている。また、術後の経過が芳しくないタモキシフェン耐性の増殖の著しい乳癌細胞において、EGF 受容体ファミリーである HER-2 受容体の発現や DNA 合成期である S 期の高い割合が核内受容体非依存的に AIB1 の発現と相関していることが報告されている。これらのことから、AIB1 は ER 陰性乳癌の治療における標的分子の候補になり得る可能性が考えられる。本研究では AIB1 は癌細胞の増殖に関与する転写や翻訳調節、細胞周期など情報伝達系に作用することを明らかにした。特に AIB1 が癌抑制遺伝子 p53 の変異した癌細胞の細胞死抑制機構に機能し、細胞増殖に移行するための DNA 合成期や染色体分裂期の進行促進に強く関与していることを明らかにした。これらの結果から、本研究は抗エストロゲン剤に耐性をもった増殖異常をきたしている細胞に対して正常な細胞応答に変換する一つの方法として AIB1 の発現を制御することによって細胞増殖を回避することが可能であることを示した。

## 論文審査の結果の要旨

堀口君は、核内転写共役因子である AIB1 のストレス応答シグナルにおける役割について検討し、以下のような知見を得た。すなわち、ストレス応答シグナルが活性化されたガン細胞において AIB1 の発現が増加すること、AIB1 は Akt/PKB キナーゼによってリン酸化を受け、NF- $\kappa$ B の転写活性化を強めること、ストレス応答性細胞死の誘導とシグナル伝達経路の JNK の活性化を抑制すること、DNA 複製期および細胞分裂期に発現量が増加すること、分裂期では過剰にリン酸化され、細胞内局在を変えて染色体の分配に関与すること、AIB1 欠損細胞では、微小管重合阻害剤によって細胞分裂期の染色体分配や細胞質分裂が異常となり、多重細胞や細胞死が誘導されることなどを明らかにした。これらから、AIB1 はリン酸化を受けることによって NF- $\kappa$ B の転写活性化能を高めることにより、ストレス状況下での細胞死を抑制し、ガン細胞の細胞死抑制に関与すること、および、AIB1 の分裂期特異的なリン酸化や細胞内局在が明らかになり、AIB1 が DNA の複製や染色体分裂に強く関与することを示した。

以上の成果は、AIB1 のストレス応答シグナル経路における役割検討から生命維持現象の分子機構の一端を明らかにしたものであり、学術的に高く評価され、博士（薬学）学位論文として充分価値あるものと認められる。