



Title	The carboxy-terminal fragment of proHB-EGF reverses Bc16-mediated gene repression
Author(s)	衣笠, 由美
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/48935
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	きぬ 衣 笠 由 美
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 2 1 4 8 6 号
学位授与年月日	平成 19 年 6 月 20 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学位論文名	The carboxy-terminal fragment of proHB-EGF reverses Bcl6-mediated gene repression (HB-EGF カルボキシル末端断片は、Bcl6 による転写抑制を解除する)
論文審査委員	(主査) 教授 堀 正二 (副査) 教授 宮崎 純一 教授 米田 悦啓

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

ヘパリン結合性 EGF 様増殖因子 (heparin-binding EGF-like growth factor, HB-EGF) は、I 型膜タンパク質であり、メタロプロテアーゼ等による切断によって、遊離型 HB-EGF と膜貫通ドメインと細胞内ドメインを含むカルボキシル末端断片 (HB-EGF carboxy-terminal fragment; HB-EGF-CTF) を産生する。この HB-EGF-CTF が、細胞膜から核近傍へと移行し、転写抑制因子 promyelocytic leukemia zinc finger (PLZF) と結合し、細胞周期をコントロールすることが報告されている (Nanba et al., 2003)。

本研究では、新たな HB-EGF-CTF 結合因子としての候補であり、PLZF と同様、アミノ末端に BTB ドメイン、カルボキシル末端に zinc finger ドメインをもち、PLZF とヘテロ二量体を形成することが報告されている転写抑制因子 B-cell lymphoma 6 (Bcl6) の機能に HB-EGF-CTF が与える影響を解析することを目的とした。

[方法ならびに結果]

HB-EGF-CTF が Bcl6 と結合することを免疫沈降法およびプルダウンアッセイにより見出した。数種類の Bcl6 欠失変異体を用いることにより、HB-EGF-CTF は主に、Bcl6 の zinc finger ドメインに結合することを明らかにした。Zinc finger ドメインは DNA との結合部位である為、Bcl6 の転写抑制能に HB-EGF-CTF が影響を与えるのではないかと考え、Bcl6 の標的遺伝子の一つである cyclin D2 遺伝子のプロモーターを用いたルシフェラーゼアッセイを行った。その結果、HB-EGF-CTF の産生により cyclin D2 の転写抑制が解除された。また、HB-EGF 変異体を用いることで、この転写抑制の解除には、HB-EGF が切断されること、HB-EGF カルボキシル末端断片が必要であることを見出した。以上は、ヒト線維芽肉腫細胞 HT1080 に遺伝子導入し行った実験結果である。

次に、内在的に HB-EGF、Bcl6、cyclin D2 を発現しているヒト大腸癌細胞 LoVo において種々の実験を行った。その結果、HB-EGF-CTF と Bcl6 の結合を免疫沈降法により確認し、また、HB-EGF-CTF の産生により cyclin D2 タンパク質の産生は増加した。さらに、HB-EGF-CTF の産生により、cyclin D2 プロモーター上に結合していた Bcl6 が解離するというクロマチン免疫沈降法により明らかにした。

[総 括]

本研究により、HB-EGF-CTF は、転写抑制因子 Bcl6 に結合し、その転写抑制を解除することが明らかとなった。

これまでに、心肥大において HB-EGF の切断が亢進していること (Asakurra et al., 2002)、また、cyclin D2 の発現が増加していること (Zhong et al., 2006) が報告されている。本研究の結果は、心肥大における HB-EGF の切断亢進と cyclin D2 の発現増加を矛盾なくつなげることができる。つまり、HB-EGF の切断亢進により HB-EGF-CTF が増加し、Bcl6 による cyclin D2 の転写抑制を解除し、cyclin D2 の発現が増加する、という一連の新しいシグナル伝達が考えられる。

論文審査の結果の要旨

ヘパリン結合性 EGF 様増殖因子 (heparin binding EGF-like growth factor, HB-EGF) は、メタロプロテアーゼ等による切断によって、遊離型 HB-EGF と膜貫通ドメインと細胞内ドメインを含むカルボキシル末端断片 (HB-EGF carboxy-terminal fragment ; HB-EGF-CTF) を産生する。この HB-EGF-CTF が、細胞膜から核近傍へと移行し、転写抑制因子 promyelocytic leukemia zinc finger (PLZF) と結合し、細胞周期をコントロールすることが報告されている。本研究では、新たな HB-EGF-CTF 結合因子の候補である転写抑制因子 B-cell lymphoma 6 (Bcl6) に HB-EGF-CTF が結合すること、また結合により cyclinD2 プロモーター上に結合していた Bcl6 が解離し、その転写抑制を解除することを明らかにした。これまで、心肥大において HB-EGF の切断が亢進していること、また、cyclin D2 の発現が増加していることが報告されている。本研究の結果は、これらを矛盾なくつなげることができる。つまり、HB-EGF の切断亢進により HB-EGF-CTF が増加し、Bcl6 による cyclin D2 の転写抑制を解除し、cyclin D2 の発現が増加する、という一連の新しいシグナル伝達が考えられ、心肥大発症の一機序となり得ることを示唆しており、学位の授与に値すると考えられる。