

氏名	すずき たいが 鈴木 大河
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第2421号
学位授与の日付	平成14年1月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科病理系専攻
学位論文題目	Segmentation gene product Fushi tarazu is an LXXLL motif- dependent coactivator for orphan receptor FTZ-F1 分節化遺伝子産物 Fushi tarazu はリガンド未同定核内受容体 FTZ-F1 に作用する LXXLL モチーフ依存性の転写活性化共役因子である
論文調査委員	(主査) 教授 成宮 周 教授 西川 伸一 教授 影山 龍一郎

論文内容の要旨

糖質コルチコイド受容体遺伝子の同定を端緒とし相次いで発見された核内受容体は、低分子リガンドによる活性調節を受ける転写因子であり、ヒトでは約50種の遺伝子の存在が知られている。受容体タンパクはほとんどの場合2つの保存された機能構造、すなわち DNA 結合ドメインおよびリガンド結合ドメインを含むが、実際にリガンドが同定されたものはそれらの半数にみえない。リガンド未同定の受容体は「オーファンレセプター」と総称され、生理的役割や分子レベルの機能についてはリガンドが既知のものと比較して理解が大きく遅れていた。以上の背景から申請者は、タンパク=タンパク間相互作用が低分子リガンドに代わりオーファンレセプターの機能を調節する、との仮説をたてその実証をめざした。主論文の研究において解析したオーファンレセプターはショウジョウバエ FTZ-F1 である。FTZ-F1 は分節化遺伝子 *fushi tarazu* (*ftz*) のシスエレメント結合因子として同定され、'97年には FTZ タンパクと FTZ-F1 がリガンドの添加なしで直接相互作用することが報告された。FTZ-F1 は初期胚全体に均等な発現分布をしめし、同時期に FTZ は体軸の前後方向にならぶ7本の縞状に発現する。分布の差異にかかわらず *ftz-f1* 変異体の表現型は *ftz* 変異体のそれと多くの共通性があり、両者の相互作用の生理的重要性が示唆された。すでに50アミノ酸の範囲にしばられていた FTZ 上の相互作用領域に、申請者は LXXLL モチーフ様の配列をみいだしその重要性を検討した。LXXLL モチーフとは、リガンド結合型の受容体と結合し転写活性化を促進する共役因子群「コアクチベーター」にみいだされる、リガンド結合ドメイン結合配列である。この配列の機能を失わせる変異を FTZ に導入したところ、FTZ-F1 との相互作用が失われた。FTZ-F1 はリガンド結合ドメインのみで FTZ と相互作用したが、リガンド結合ドメインの一部(たとえば AF-2 コアとよばれる保存領域)を欠いたタンパクは相互作用しなかった。リガンド結合型の核内受容体では LXXLL モチーフとの相互作用に重要なアミノ酸がすでに知られているが、FTZ-F1 上の対応する部位に変異を加えたところ、相互作用が著しく損なわれた。これらの性質はリガンド結合型受容体とコアクチベーターの相互作用がしめすそれと同様であり、FTZ-F1 と FTZ は、核内受容体=コアクチベーター間相互作用と類似した様式で相互作用すると結論づけられた。ハエ初期胚をもちいた解析により、生体内での相互作用の重要性を検討した。*ftz* 変異体のレスキューおよび FTZ の強制発現による効果のいずれにも、LXXLL モチーフが必須であった。*ftz-f1* 変異体において野生型 FTZ-F1 を共発現させた場合、FTZ の強制発現による効果が観察されたが、AF-2 コア欠失型 FTZ-F1 では観察されなかった。ハエ S2 細胞株において FTZ-F1 と FTZ を共発現させると、FTZ-F1 の DNA 結合に依存した転写活性化が観察され、両者の相互作用は活性化に必須であった。FTZ はそれ自身 DNA 結合性の転写因子であるが、FTZ の DNA 結合能はこの場合不要であった。以上の結果から、FTZ は低分子リガンドの作用によらず FTZ-F1 の活性を正に制御する新しい範疇のコアクチベーターであると考えられた。FTZ-F1 を進化的に最も古くから存在する受容体と位置づけた過去の報告を考慮すると、タンパク=タンパク間相互作用による調節機構が、低分子リガンドによるそれに先行して存在していたことが示唆された。

論文審査の結果の要旨

リガンド未同定核内受容体（オーファンレセプター）の多くは、リガンド非依存性に転写を調節すると予想される。本研究は、その分子機構を探る目的で、ハエ初期胚に発現するオーファンレセプター FTZ-F1 と分節化遺伝子産物 Fushi tarazu (FTZ) の相互作用を解析した。

エストロゲン受容体などの核内受容体はリガンド依存性に転写活性化共役因子と結合するが、この結合に必要な受容体側の配列が FTZ-E1 に、共役因子側の配列（LXXLL モチーフ）が FTZ に保存されている。サル CV-1 細胞を用いて相互作用を解析したところ、FTZ と FTZ-F1 はそれぞれの保存配列を介して強力に結合した。すなわち、両因子は核内受容体＝共役因子間相互作用と類似した相互作用をリガンド非依存性に行った。

次に、ハエ初期胚を用いて強制発現を行ったところ、FTZ によって下流遺伝子の発現が変化した。LXXLL モチーフ変異体では変化しなかった。また、FTZ と結合できない FTZ-F1 変異体は *ftz-f1* 変異株をレスキューしなかった。したがって、FTZ=FTZ-F1 相互作用は生理的にも重要であった。

さらに、ハエ S2 細胞では、FTZ-F1 と FTZ をともに導入した場合のみ転写を活性化し、この活性化に FTZ の DNA 結合能は不要であった。これらの結果から、FTZ は FTZ-F1 の特異的転写活性化共役因子として機能することが明らかになった。

以上の研究は、ハエ初期胚における遺伝子発現調節機構の解明に貢献し、生化学および発生学の進歩に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成13年11月15日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。