

## 論文審査の結果の要旨

### Human C-terminally truncated ER $\alpha$ variants resulting from the use of alternative exons in the ligand-binding domain

#### 新規ヒト C 末端欠損型エストロゲン受容体 $\alpha$ 変異体の同定と 転写活性化機構の解明

日本医科大学大学院医学研究科 神経病態解析学分野  
大学院生 服部 裕次郎

Molecular and Cellular Endocrinology 425 (2016) 111-122 掲載

女性ホルモンであるエストロゲンは、女性特有の生理現象のみならず、現在は様々な機能を示す多機能ホルモンとしても認識されている。エストロゲンは核内受容体であるエストロゲン受容体 (ER) を介して標的遺伝子の遺伝子発現を調節することで作用を発揮する。ER の転写発現調節機構の解明は、標的部位のエストロゲン感受性や生理作用を検討するうえでも非常に重要である。申請者らの近年の研究からマウス ER $\alpha$  遺伝子において C 末端欠損型の受容体をコードする mRNA 変異体が生じることが明らかとなった。そこで申請者らは、ヒト ER $\alpha$  遺伝子でそのような変異体が存在するかを検討し、さらに、それら変異体の機能解析を行った。

3'-RACE 法を行い新規配列を含む複数の mRNA 変異体を同定し、これらの新規配列がヒト ER $\alpha$  遺伝子のイントロン領域に新規エクソンとして存在することを発見した。新規 mRNA 変異体は C 末端欠損型受容体をコードしており、既報告分を含め、新規エクソンの存在場所から、それぞれ CTERP-1、ERai45a、ERai45bL、ERai45bs、ERai45c、ER $\alpha$  $\Delta$ 5、ERai56、ER $\alpha$ Dup5、ERai67 と命名・整理した。また、RT-PCR を行い、これら変異体 mRNA が正常の組織・器官において幅広く存在していることを見出した。さらに新規の変異体はいずれも核内に局在し、C 末端欠損型 ER $\alpha$  の中にはエストロゲン応答配列を保持するプロモーターの恒常的活性化に関与するものが存在した。

一方、人工的に作成した C 末端欠損型変異体の解析から、C 末端側のリガンド結合領域に存在するヘリックス 3 までを欠損すると著明な恒常的活性化を示し、ヘリックス 5 までを欠損すると恒常的活性化を示すと共に、転写活性化補因子 p300 の存在下で著明な転写活性化の促進を示すことが判明した。これより、C 末端欠損型 ER $\alpha$  変異体はヘリックス 5 欠損に伴うリガンド依存性の消失と転写活性化能の抑制を解除することにより、恒常的活性化を示すことが示された。

本研究により、ヒト ER $\alpha$  遺伝子構造は従来考えられていたよりもはるかに複雑であり、多様な機能の mRNA・タンパク質変異体が生じることが明らかとなった。さらに、変異体の解析により、ER $\alpha$  タンパク質のリガンド結合領域に存在するヘリックス 5 領域以降の欠損が ER $\alpha$  の恒常的転写活性化に深く関与することが示唆され、ER $\alpha$  の機能を考える上で重要な所見を得た。

第二次審査では上記内容に加え、ヘリックス構造についての詳細、これまでに変異体に関する報告が殆どなかったことの考察、正常組織における変異体存在の意義、ER $\beta$  との関連、腫瘍を含む病態組織との関連、今後の具体的な展望、などについて広く質疑が行われたがいずれも適切な解答がなされた。

本研究は、ヒト ER $\alpha$  遺伝子において複数の新規エクソンを同定し、恒常的転写活性化を有する C 末端欠損型変異体が生じること、及び、その活性化の機構を解明した研究である。適切な実験系を用いた本研究で得られた結果はホルモン感受性腫瘍での非感受性化や悪性化などの機構の解明につながる可能性があり、今後の ER $\alpha$  研究の基盤となりうる可能性が示唆された。