

博士論文審査結果の要旨

学位申請者 粥川成優

主論文 1編

MRGBP promotes AR-mediated transactivation of KLK3 and TMPRSS2 via acetylation of histone H2A.Z in prostate cancer cells.

BBA – Gene Regulatory Mechanisms 1861;794-802, 2018

審査結果の要旨

アンドロゲンレセプター(AR)は標的遺伝子の発現制御により前立腺癌細胞の増殖を促進することが知られている。申請者は以前に申請者たちの研究室で行ったショウジョウバエを用いた *in vivo* スクリーニングによって前立腺癌細胞の増殖促進因子の一つと同定された MRG binding protein(MRGBP)が AR の転写活性を促進することを見出し、前立腺癌の増悪メカニズムの一端を明らかにした。

まず申請者たちは前立腺癌由来細胞である LNCaP と C4-2B において MRGBP をノックダウンすることにより、ジヒドロテストステロン(DHT:アンドロゲンの一種)依存的な細胞増殖が抑制されることを確認した。また MRGBP ノックダウン細胞では AR の標的遺伝子である KLK3 や TMPRSS2 の発現が減弱しており、MRGBP が AR の転写活性を促進する可能性が示唆された。そこで MRGBP が AR の標的遺伝子にリクルートメントされるか否かを検討するため抗 MRGBP 抗体を用いた ChIP assay を行った。その結果、MRGBP は LNCaP 細胞において DHT 依存的に KLK3 および TMPRSS2 遺伝子上の AR 結合領域近傍に結合した。次に前立腺癌細胞における MRGBP の相互作用因子の同定を試み、DHT の有無にかかわらず MRG15 と TRRAP/TIP60 を見出した。MRG15 は lysine36-methylated ヒストン H3 と結合することが知られているが、GST pull-down を行った結果、新たに H3K4me1 や H3K4me3 とも結合することが判明した。さらに H3K4me1, H3K4me3 および MRG15 レベルは MRGBP が結合する AR 結合領域で DHT 依存的に増加することが ChIP assay により示された。これらのリクルートメントは AR のノックダウンするにより有意に減少することから、DHT/AR は標的遺伝子において活性型クロマチンマーカである H3K4 のメチル化を誘導し、MRG15 と MRGBP のリクルートメントを促すと考えられた。同様にヒストンアセチル化酵素である TIP60 も DHT 依存的に AR 標的遺伝子上にリクルートされた。DHT 存在下、同じ遺伝子領域でヒストンバリエント H2A.Z のアセチル化の亢進が見られた。TIP60 のリクルートメントと H2A.Z のアセチル化レベルは MRGBP のノックダウンにより減弱した。従って MRGBP が AR 標的遺伝子上に TIP60 を呼び込み、H2A.Z のアセチル化を促すことが示唆された。実際に MRGBP 複合体は *in vitro* アセチル化アッセイにより H2A.Z をアセチル化することが示された。アセチル化ヒストン H2A.Z はヌクレオソームリモデリングを誘導することが知られており、ヌクレオソームリモデリングの結果、標的遺伝子への AR の結合が亢進されると推測される。すなわち MRGBP はエピゲノム制御を介して AR のリクルートメントを促すことで AR の転写活性化を亢進すると考えられた。

以上が本論文の要旨であるが、悪性度の高いアンドロゲン抵抗性前立腺癌では低アンドロゲン条件下で AR の転写活性が亢進することが知られており、MRGBP を介した AR リクルートメント促進がアンドロゲン抵抗性前立腺癌細胞の増殖促進にも寄与していると推測され、医学上価値ある研究と認める。

令和 元年 12月 19日

審査委員 教授 橋本直哉 ㊦

審査委員 教授 田口哲也 ㊦

審査委員 教授 松田修 ㊦