

氏 名 (本籍)	近 藤 恵 美 子
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 第 3 3 8 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 18 年 3 月 1 日
学 位 授 与 の 条 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
最 終 学 歴	昭 和 43 年 3 月 9 日 宮 城 県 衛 生 検 査 技 師 学 校 卒 業
学 位 論 文 題 目	メチル CpG 結合蛋白 4 (MBD 4) の転写抑制活性に関する研究

(主 査)

論 文 審 査 委 員	教 授 堀 井 明	教 授 安 井 明
	教 授 小 野 哲 也	

## 論文内容要旨

DNA のメチル化、ヒストンの修飾をはじめとするエピジェネティックな変化は、遺伝子塩基配列の変化を伴わずに選択的に遺伝子発現を調節し、さまざまな生命現象に寄与している。例えば、最近では、メチル CpG (mCpG) 配列を介したエピジェネティックなサイレンシングがゲノムインプリンティングや X 染色体の不活性化、癌の発生、進展などに関与することが明らかとなっている。

メチル CpG 結合ドメイン (MBD) 蛋白はゲノム中の mCpG 配列を認識、結合し、ヒストン修飾酵素、クロマチン再構築因子の複合体をリクルートすることによって遺伝子発現を抑制する。現在知られている MBD 蛋白には MBD1, MBD2, MBD3, MBD4, MeCP2 の 5 種類があり、MBD4 を除く 4 種類は転写抑制に関与することが知られている。しかしながら、MBD4 は C 末にチミングリコシラーゼ活性をもち、DNA ミスマッチ修復 (MMR) 蛋白である hMLH1 と相互作用することから、これまで主に DNA 修復に関与する分子と考えられてきた。

今回の研究では MBD4 が他の MBD 蛋白同様、mCpG 配列を介して転写を抑制する活性があることを見出した。MBD4 の転写抑制は HDAC 阻害剤であるトリコスタチン A (TSA) で解除されることから HDAC 依存性であり、また、MBD4 の中央に位置し転写抑制活性を示す 3 つの領域がコリプレッサーである Sin3A や HDAC1 と直接、結合することを示した。さらにクロマチン免疫沈降 (ChIP) アッセイにより MBD4 が多くの癌細胞で不活性化されている *p16*, および *hMLH1* 遺伝子の高度メチル化プロモーター領域に特異的に結合していることを明らかにした。これらの結果は MBD4 が癌におけるエピジェネティックなサイレンシングに関与する重要な構成分子の 1 つであることを示唆した。

## 審査結果の要旨

本研究は、メチル CpG 結合タンパク MBD4 の機能を解析したものである。これまで、MBD4 はもっぱら DNA 修復に関与する分子と考えられてきたが、他の MBD タンパク同様、メチル CpG 配列を介して転写を抑制する活性があることを見出し、報告したものである。

本研究では、MBD4 の転写抑制活性が HDAC 阻害剤であるトリコスタチン A (TSA) で解除され、MBD4 の転写抑制活性を示す 3 領域が Sin3A や HDAC1 と、直接、結合することを示した。さらに、クロマチン免疫沈降 (ChIP) 法により MBD4 が *p16*, *hMLH1* 両遺伝子のプロモーター領域内の高度にメチル化された領域に特異的に結合することを明らかにした。これらの結果は MBD4 タンパクが癌におけるエピジェネティックなサイレンシングに関与する重要な構成分子の 1 つであることを示唆した。

エピジェネティックな変化は遺伝子の発現調節を通じて広く生命活動に影響を及ぼすメカニズムである。インプリンティング、X 染色体の不活性化、がんの発生、進展などで極めて重要な役割を果たすことが判明し、近年、大きく注目されている。本研究では、これまで明らかになっていなかった MBD4 タンパクの一側面を明らかにしたものである。

よって、本論文は博士 (医学) の学位論文として合格と認める。