

論文審査の結果の要旨

ジテルペノイド酸は、癌細胞を分化誘導する作用を有し、新たな抗腫瘍薬として研究されている。その作用機序として、レチノイドの応答配列を介して標的遺伝子の転写を制御するゲノミック作用が考えられていたが、近年、それを介さないノンゲノミック作用の存在も注目されている。著者は、より副作用の少ない **geranylgeranoic acid (GGA)** などのジテルペノイド酸の開発を目指しており、そのノンゲノミック作用の有無と作用機序を解明するために、2種類の腫瘍細胞（肝癌細胞と神経芽腫細胞）を用いて本研究を行った。

はじめに、ヒト肝癌細胞において GGA が **cyclin D1**（遺伝子名 **CCND1**）の細胞内含量を急激に減少させることを示した。GGA は、(1) 細胞内 **CCND1 mRNA** 量の減少は誘導せず、タンパク分解機構の抑制条件下でも細胞内 **cyclin D1** 量を減少させ、翻訳抑制条件下ではその効果が消失した。(2) しかもこの作用は添加後 30 分以内に観察されることから、レチノイドの応答配列を介さない、翻訳の抑制制御を介した、ノンゲノミック作用によるものと考えられた。また、GGA による **cyclin D1** の翻訳抑制調節は、結果的に癌細胞に終末分化（細胞周期の停止）を誘導する可能性が示唆された。

次に、GGA が、神経芽腫細胞に対して、(1) 細胞増殖の抑制、細胞塊の消失と神経様突起の伸展、および神経細胞の分化マーカーである **neurotrophic tyrosine kinase, receptor, type 2 (NTRK2)** 遺伝子の発現を誘導して神経細胞への分化を誘導することを示した。その際、(2) **retinoic acid receptor, beta (RARβ)** 遺伝子を **knockdown** しても GGA の **NTRK2** 発現誘導効果が抑制されなかったこと、**NTRK2** 遺伝子のプロモーターを組換えたレポーターアッセイでは GGA によるプロモーター活性の調節が観察されなかったことなどから、GGA の **NTRK2** 遺伝子の発現誘導がノンゲノミック作用である可能性が強く示唆された。

さらに、GGA の **NTRK2** 遺伝子発現に対するノンゲノミック作用の分子機構の解析を行い、(1) GGA は **NTRK2** 遺伝子上流のヒストン **H3K4** ジメチル・トリメチル化を亢進させ、クロマチンを転写因子が結合しやすい開放構造に導くこと、そのメカニズムの一つとしてヒストン脱メチル化酵素 **KDM1A** を直接阻害することを示した。一方、(2) GGA 処理によって速やかに転写抑制因子 **MeCP2** タンパクのリン酸化が誘導されること、**MeCP2** 標的遺伝子の一つである受容体型チロシンキナーゼ **ret proto-oncogene (RET)** 遺伝子の発現が上昇すること、**RET** 阻害剤によって GGA の **NTRK2** 遺伝子発現誘導作用が消失することを明らかにした。これらのことから、GGA は、ヒストン脱メチル化酵素の阻害によるクロマチン構造の変化と、シグナル伝達を介した転写抑制因子のリン酸化による転写抑制機構の解除の、2つの独立したメカニズムにより、**NTRK2** 遺伝子の発現を高い状態に維持する可能性が示唆された。

以上、本論文は、GGA による **CCND1** 遺伝子の翻訳抑制や、ヒストン **H3K4** メチル化亢進によるクロマチン構造の変化、**MeCP2** 転写抑制因子のリン酸化による転写抑制の解除などのノンゲノミックな作用によって、肝癌細胞や神経芽腫細胞などの腫瘍細胞の分化を誘導する可能性を初めて明らかにした。悪性腫瘍の新たな治療法に関する示唆に富む貴重な知見であり、細胞生化学の発展におおいに寄与する業績であることを認める。以上より、本研究は博士の学位（栄養学）の授与に値するものとする。