

（様式6-A） A. 雑誌発表論文による学位申請の場合

増井和美 氏から学位申請のため提出された論文の審査要旨

題目 Interaction of silencing mediator for retinoid and thyroid receptors with steroid and xenobiotic receptor on multidrug resistance 1 promoter  
(Steroid and xenobiotic受容体(SXR)を介する多剤耐性遺伝子MDR1の転写に及ぼす転写共役因子SMRTの作用)  
Life Sciences 92: 911-915, 2013  
Kazumi Hirooka-Masui, Ronny Lesmana, Toshiharu Iwasaki, Ming Xu, Kaori Hayasaka, Mizuki Haraguchi, Akira Takeshita, Noriaki Shimokawa, Koujirou Yamamoto, Noriyuki Koibuchi

論文の要旨及び判定理由

【背景・目的】 Steroid and xenobiotic受容体(SXR)は、代謝酵素cytochrome P450(CYP)3A4やP糖タンパクの発現を制御する核内受容体であり、標的遺伝子のプロモーター領域にあるxenobiotic-responsive enhancer modules (XREMs)に作用して転写を調節する。P糖タンパクは多剤耐性遺伝子(multidrug resistance 1; MDR1)にコードされ、薬物・異物排出ポンプ作用を持ち細胞内の薬物濃度に影響を与えることが知られている。SXRにはnuclear receptor corepressor(NCoR)、及びsilencing mediator for retinoid and thyroid receptors (SMRT)等多くの転写共役因子が作用し転写制御をしているが、SXRによる転写制御に対するSMRT及びNCoRの作用は十分に解明されていない。そこで、本研究ではMDR1プロモーターにおけるSXRを介する転写調節に対するSMRT及びNCoRの影響を解析した。

【方法・結果】 MDR1プロモーター上のSXRを介する転写におけるSMRT及びNCoRの作用を解析するため、大腸癌由来のLS174T細胞を用いてレポータージーンアッセイを行った。リファンピシン ( $10^5$  M) 存在下でSXRによる転写活性がSMRTにより抑制されたが、NCoRではリファンピシンの有無に関わらず有意差は認められなかった。LS174T細胞における内因性のMDR1 mRNAの発現に対するSMRT及びNCoRの影響を検討するため、半定量的 RT-PCR法を用いて解析した。SXRによりMDR1 mRNA発現量はリファンピシン依存性に増強した。SMRTを遺伝子導入するとリファンピシン添加によるMDR1 mRNA発現量は減弱したが、NCoRではMDR1 mRNAの発現に有意差はなかった。MDR1プロモーターにおけるSMRT-SXRの相互作用を解析するため、腎線維芽細胞由来のCV-1細胞を用いてmammalian one-hybrid アッセイを行った。MDR1プロモーター上でSXRはSMRTとリファンピシン非存在下で結合し、リファンピシン存在下でさらに結合が増すことが示唆された。SXRとNCoR間では変化に有意差は認められなかった。

SMRTとSXRの結合を検討するため、胎児腎由来のHEK293細胞を用いて免疫沈降法にて解析したところ、リファンピシンの有無に関わらずSXRとSMRTの結合が認められた。

【結論】 本研究結果において、LS174T細胞においてリファンピシン存在下でNCoRではなくSMRTがSXRに結合することにより、SXRを介するMDR1遺伝子の転写が抑制されることが示された。本研究によりSMRTはSXRによる標的遺伝子の過剰発現を抑制する機能を持つことが示され、P糖タンパクが関わる薬物代謝や薬物耐性の機序解明への寄与が認められることから、博士（医学）の学位に値するものと判定した。

（平成25年5月9日）

審査委員

主査 群馬大学教授 (医学系研究科)  
生化学分野担任 和 泉 孝 志 印

副査 群馬大学教授 (医学系研究科)  
病態総合外科学分野担任 桑 野 博 行 印

副査 群馬大学教授 (医学系研究科)  
麻酔神経科学分野担任 齋 藤 繁 印

参考論文

1. Activation of aromatase expression by retinoic acid receptor-related orphan receptor (ROR) alpha in breast cancer cells: identification of a novel ROR response element.

(乳癌細胞におけるレチノイン酸受容体関連オーファン受容体(ROR)アルファによるアロマターゼ発現の活性化: 新規ROR応答配列の同定)

The Journal of Biological Chemistry 284: 17711-17719, 2009

Odawara H, Iwasaki T, Horiguchi J, Rokutanda N, Hirooka K, Miyazaki W, Koibuchi Y, Shimokawa N, Iino Y, Takeyoshi I, Koibuchi N

（様式6, 2頁目）

最終試験の結果の要旨

薬物代謝の生理的意義についておよびCYP3A4とMDR1発現制御について

試問し満足すべき解答を得た。

（試験年月日 平成25年5月9日）

試験委員

群馬大学教授（医学系研究科）

応用生理学分野担任

鯉淵 典之

印

群馬大学教授（医学系研究科）

臨床薬理学分野担任

山本 康次郎

印

試験科目

主専攻分野

応用生理学

A

副専攻分野

臨床薬理学

A