

氏名（本籍）	上村 盛弥（秋田県）
専攻分野の名称	博士（理学）
学位記番号	理博甲 第 8 号
学位授与の日付	令和 3 年 3 月 22 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	理工学研究科 総合理工学専攻
学位論文題目 （英文）	ヒト全長芳香族炭化水素受容体（AhR）の精製と生化学的性質 Purification and biochemical properties of human full-length aryl hydrocarbon receptor (AhR)
論文審査委員	(主査) 教授 涌井 秀樹 (副査) 教授 疋田 正喜 (副査) 教授 尾高 雅文 (副査) 教授 藤原 憲秀

## 論文内容の要旨

生体が生命活動を営むためには、変動する外界の環境に適応し、生体内の恒常性を維持しなければならない。そのためには、生体を構成する細胞間での情報伝達ネットワークによる調節機構が重要である。この系では、細胞膜、細胞質、または核内に存在する受容体が中心的な役割を演じ、ホルモンなどの情報伝達分子をリガンドとして特異的に結合し、細胞の応答反応を初期の段階で調節している。

核内受容体である芳香族炭化水素受容体 (aryl hydrocarbon receptor: AhR) は、ダイオキシンなどの有害な環境物質をリガンドとするが、本来の内因性リガンドについては不明な点が多い。これまでオーファン受容体として、主にドメイン構造別に機能が研究されてきたが、全長AhRの発現・精製の成功例はない。全長AhRの発現・精製は、AhRの研究分野での大きな課題となっている。

本論文では、様々な工夫を加えながらヒト全長AhRの発現系を構築し、機能を保持したAhRの精製法を確立した。更に、精製したAhRを用いて生化学的な解析を行い、新たな視点からのAhRの特性を明らかにしている。

本論文は、以下の4章で構成されている。

第1章では、受容体の分類について概説し、先行研究で解明されてきたAhRの構造と活性化機構の特徴についてまとめた上で、AhRに関する今後の研究課題を述べている。

第2章は本論文の中核をなし、ヒト全長AhRの発現・精製法の詳細について記載し、得られた結果を提示している。従来の発現方法に工夫を加えた点は、以下の通りである。(1) 構造安定性の高いGST融合蛋白質として発現させたこと、(2) 低温での酵素処理でGSTの切断が可能な酵素認識アミノ酸配列を挿入したこと、(3) 毒性の高い蛋白質発現が可能な大腸菌株を選択したこと、(4) 低温培養による発現誘導を行ったことである。得られた研究結果をまとめると、以下の通りである。(1) 精製したヒト全長AhRは、特異抗体との反応性を示すこと、(2) 精製したAhRは、既知のリガンドとの結合性を有すること、(3) 精製したAhRは、HSP90, XAP2, p23との既知の複合体形成能を有することである。更に、(4) リガンド存在下でのAhRのCDスペクトル測定結果からAhRの構造変化の予測を示し、(5) AhRとリガンド間の相互作用を分子モデルとして提示している(この図は、2020年9月に論文掲載された「The Journal of Biochemistry」の表紙絵に採用された)。

第3章は、所属研究室での先行研究を基盤として進められた研究内容であり、以下のような結果を得た。(1) 臨床で頻用されている抗癌剤 cisplatin が AhR に結合すること、(2) cisplatin は AhR を活性化しうること、(3) cisplatin 存在下でも、AhR-HSP90-ZAP2-p23 複合体は維持されることである。これらの研究結果から、AhR-分子シャペロン複合体の構造・機能モデルを提唱し、今後の研究課題について言及している。

第4章では、得られた研究結果をまとめ、AhRの構造と機能に関する新知見と生物学的意義について考察を加えている。また、最近の研究報告から、多種多様なリガンドがAhRに結合しうることや、免疫調節や発癌におけるAhRの重要な役割も示唆されてきており、今後の研究課題についても総括している。

## 論文審査結果の要旨

本論文では以上のように、ヒト全長 AhR の発現・精製法を初めて確立し、精製した AhR が機能を保持していることを確認した。このことは、AhR の研究史での画期的な成果である。更に、既知のリガンドとは性質の異なる抗癌剤 cisplatin が、AhR の新規リガンドとなりうることも示した。AhR の高次構造の解析や、新規リガンドの発見に繋がる研究として高く評価でき、博士(理学)の学位論文として十分に価値があるものと認められる。

[主論文公開誌]

Biochemical properties of human full-length aryl hydrocarbon receptor (AhR). The Journal of Biochemistry 168: 285-294, 2020