

主 論 文 要 旨

報 告 番 号	Ⓐ 乙 第	号	氏 名	有 安 大 典
主 論 文 題 名				
Endoplasmic Reticulum Stress and Apoptosis Contribute to the Pathogenesis of Dominantly Inherited Isolated GH Deficiency Due to <i>GH1</i> Gene Splice Site Mutations (GH1遺伝子スプライスサイト変異による優性遺伝性成長ホルモン単独欠損症の病態には小胞体ストレスおよびアポトーシスが寄与する)				
(内 容 の 要 旨)				
GH1遺伝子は成長ホルモン（以下GH）をコードする。GH1遺伝子ヘテロ欠失患者の身長が正常であるため、血液中GH濃度を正常範囲内に保つためには1アリの野生型GH1遺伝子で十分であると推察される。GH1遺伝子イントロン3スプライスサイトヘテロ接合性変異による優性遺伝性GH単独欠損症（以下本症）では、変異型アリルから120塩基対のエクソン3がインフレームに欠失した変異型GH（以下del32-71 GH）が産生される。1アリの野生型GH1遺伝子が存在するにも関わらず患者がGH分泌不全を呈するため、変異型アリルによる優性阻害効果が提唱されているがその詳細は不明である。 del32-71 GHは異常な立体構造のため小胞体に局在することが知られている。そこで私は、del32-71 GHによる小胞体ストレス及びGH産生細胞のアポトーシスが、本症のGH分泌不全に関与するという仮説を立てた。その仮説を立証するため、ラット下垂体由来GH4C1細胞（内因性ラットGHなし）を用いて、CMVプロモーター下に発現する野生型GHと、テトラサイクリン誘導型プロモーター下に発現するdel32-71 GHの二重安定発現株を樹立した。 得られた23個のクローンを用いてdel32-71 GHを誘導したところ、20クローンで培養上清中野生型GH濃度が有意に減少し、del32-71 GHによる優性阻害効果が再現されたと考えた。野生型GH濃度の減少幅が大きい5クローン（T19, T57, T70, T73, T80）を選択し、以下の検証を行った。 del32-71 GHの誘導前後で小胞体ストレス応答遺伝子の発現をリアルタイムRT-PCRで検証したところ、T70を除く4クローンにおいて、小胞体ストレス応答の主要経路を担う遺伝子（GADD34、CHOP、BiP、GRP94、XBP1）の活性化を認めた。また、T80の電子顕微鏡像においてdel32-71 GHの誘導により小胞体の増殖、膨化を認めた。このことからdel32-71 GHの誘導により小胞体ストレスが惹起されることが明らかになった。 またT70を除く4クローンでcaspase-3がdel32-71 GHの誘導により活性化し、この現象が小胞体ストレス応答遺伝子の一つであるXBP1遺伝子の過剰発現により完全に救済された。さらに、T19でdel32-71 GHの誘導によりアポトーシスの特徴であるヌクレオソーム単位のDNA断片化を認めた。以上のデータから、del32-71 GHによる小胞体ストレスがアポトーシスを起こすことが確認できた。 本研究は、本症のGH分泌不全には関与しないと従来考えられていたdel32-71 GHによる小胞体ストレスを、内因性ラットGHがなく、ヒト野生型GHおよびヒトdel32-71 GHが共存する系で証明した、初めての報告である。マウス内在性Gh遺伝子をヒト野生型GH1遺伝子および変異型GH1遺伝子に置換したモデルマウス作製により、本症におけるdel32-71 GHの優性阻害効果の詳細が今後明らかになると思われる。				