

論文審査の要旨及び担当者

報告番号	① 乙 第 号	氏 名	有 安 大 典
論文審査担当者	主 査 小児科学	長谷川 奉 延	
	分子生物学	塩 見 春 彦	ゲノム医学 工 藤 純
	ゲノム医学	小 崎 健次郎	
学力確認担当者：		審査委員長：塩見 春彦	試問日：平成28年 1月29日
(論文審査の要旨)			
<p>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及びアポトーシスが寄与する)</p>			
<p>優性遺伝性成長ホルモンGH1遺伝子異常症では、変異型アリのGH1遺伝子イントロン3スプライス部位に変異があり、エクソン3を欠く変異型GH（以下Δ3 GH）が細胞内で産生される。本症におけるΔ3 GHの優性阻害効果解明のため研究を行った。<i>In vitro</i>で本症の優性阻害効果に小胞体ストレス及びアポトーシスが関与する可能性を明らかにし、<i>In vivo</i>では病態を正確に再現するモデルマウス作出に成功し、優性阻害効果がmRNAレベルで起こることを明らかにした。</p> <p>審査では、<i>in vitro</i>の研究で得られた表現型がΔ3 GHの誘導ではなく、ドキシサイクリンの添加及び除去により生じた可能性を指摘された。野生型GHのみの安定発現株を用いて、ドキシサイクリンの有無で結果が同じであったと回答された。また、<i>In vivo</i>の研究で、マウス<i>Gh</i>遺伝子にエクソン3をスキップさせる遺伝子変異を入れずにヒトGH1遺伝子をノックインした理由を問われた。既にヒト野生型GHとヒトΔ3 GHのタンパク相互作用が関与すると言われているため、ヒト野生型GHとヒトΔ3 GHが共存するマウスを作出すべきと考えたと回答された。マウスGHとヒトGHのアミノ酸配列の相同性を問われた。75%の一致率であることを確認した。モデルマウスでΔ3 GHが小胞体に局在するかと質問された。Δ3 GHを特異的に認識する抗体はないが、既に作出済みであるタグ付きΔ3 GHをマウス<i>Gh</i>遺伝子座に挿入した改変マウスを用いて検討可能であると回答された。成長ホルモン放出ホルモン受容体遺伝子 (<i>Ghrhr</i>) 以外の遺伝子の発現低下を確認したか質問された。今後mRNAアレイ解析を行う方針と回答された。<i>Ghrhr</i> mRNAが低下する理由を問われた。小胞体ストレスセンサーの1つであるInositol requiring 1 (IRE1) による<i>Ghrhr</i> mRNA分解の可能性が回答された。GH産生細胞の単離が可能か質問された。既に作出した<i>Ghrhr</i>遺伝子座にSV40 largeT抗原をノックインしたマウスの腫瘍形成能を確認しているため、GH産生細胞の単離が可能になるであろうと回答された。代替案として、<i>in vitro</i>の研究で作製したΔ3 GH安定発現株にGHRHRを安定発現させるべきであるとコメントされた。GH欠損症以外のヒト疾患で遺伝様式に劣性と優性の両方を有する疾患の研究に本研究の成果が応用できるか問われた。内在性マウス遺伝子をヒト遺伝子に置換する本研究の方法論は、他のヒト遺伝性疾患の病態を正確に再現するモデルマウスの作出に応用可能であると回答された。</p>			
<p>以上、本研究には検討すべき課題を残すものの、病態を正確に再現するモデル動物を初めて作製できた点、優性阻害効果が通説とは異なるmRNAレベルであることを初めて見出した点で有意義な研究であると評価された。</p>			