

武末 吉広 氏の学位論文審査の要旨

論文題目

Regulation of growth hormone biosynthesis by Cdk5 regulatory subunit associated protein 1-like 1 (CDKAL1) in pituitary adenomas

(下垂体腺腫における CDKAL1 による成長ホルモン生合成の制御)

Cdk5 regulatory subunit associated protein 1-like 1 (CDKAL1) は、リジンに対応する tRNA の 37 位のアデノシンをチオメチル化修飾し、リジンコドンにおける正確な翻訳に必要である。CDKAL1 の活性低下により、チオメチル化修飾が低下すると、膵細胞におけるインスリン生合成が阻害され 2 型糖尿病の病因となると考えられている。これまで、2 型糖尿病と成長ホルモン (growth hormone, GH) 放出との関連が報告されており、本研究では、CDKAL1 が GH 生合成に重要であるか検討を行った。

GH 産生下垂体腺腫 (GH-producing pituitary adenomas, GHPAs) および非機能性下垂体腺腫 (non-functioning pituitary adenomas, NFPAs) の患者摘出標本から核酸を抽出し、CDKAL1 の遺伝子多型、mRNA 発現量、チオメチル化修飾量の解析を行い、さらに電子顕微鏡を用いて小胞体形態の観察を行った。また、ラット下垂体腺腫細胞株 GH3 を用い siRNA/shRNA による Cdkal1 抑制実験を行い、細胞内 GH 量を Western blotting 法により、細胞外 GH 量を培養上清の ELISA 法により測定した。また、GH3 細胞にカルシウム指示薬 Fluo-4 を加え、共焦点レーザー顕微鏡を用いたカルシウム動態の観察を行った。

CDKAL1 の遺伝子多型の出現頻度は、GHPAs と NFPAs 間で差は認められなかった。しかしながら、GHPAs では NFPAs に比べてチオメチル化修飾が減少しており、CDKAL1 の活性が抑制されていた。また小胞体の形態が顕著に障害され、小胞体ストレスに関連する遺伝子発現量が上昇していた。GH3 細胞において Cdkal1 の発現を抑制すると、GH 産生量の亢進が認められた。また、カルシウム恒常性に関連する小胞体タンパク質 Dnajc10 の発現減少と細胞質内カルシウムレベルの上昇、GH の転写因子 Pit-1 の発現上昇が認められた。

以上より、GH の過剰産生により小胞体ストレスが亢進し Cdkal1 の活性が低下し、その結果 GH の転写と分泌がさらに亢進するフィードバック機構の存在が GHPAs において示唆された。

審査では、1) 研究の目的と結果の位置づけについて、2) CDKAL1 と糖尿病の関連について、3) Western Blotting、GH 定量法やカルシウム指示薬添加実験など実験手技の詳細と得られたデータの解釈について、4) 患者試料における CDKAL1 の活性低下と細胞株の発現阻害実験を同一に扱うことの妥当性、5) CDKAL1 の活性低下のメカニズムと関連データの解釈について、5) CDKAL1 の活性低下による誤翻訳の増加と他の下垂体腺腫との関連、6) 今後の臨床応用の可能性、などについて幅広く質疑応答がなされ、申請者からは概ね適切な回答と考察がなされた。

本研究は、CDKAL1 の下垂体における GH 制御機構の一端を明らかにしたものであり、GHPAs における病態理解に貢献すると考えられ、学位授与に値すると評価された。

審査委員長 分子脳科学担当教授

吉本 和也