

[別紙2]

審査の結果の要旨

氏名 冲永 寛子

本研究は成長ホルモンの分泌及び転写の調節機構を明らかにするため、ヒト GH 産生下垂体腺腫細胞とラット下垂体前葉細胞の cell line である GH₃ 細胞を用いて機構の解明を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. ヒト GH 産生下垂体腺腫細胞の TRH 刺激試験における GH 奇異性分泌について、TRH による $[Ca^{2+}]_i$ の上昇反応を解析し、 IP_3 を介する小胞体からの Ca^{2+} 放出と電位依存性 Ca^{2+} チャンネルからの Ca^{2+} 流入であることが示された。これらの $[Ca^{2+}]_i$ を引き起こす因子のうち、主に電位依存性 Ca^{2+} チャンネルからの Ca^{2+} 流入が GH 分泌を促していた。
2. EYFP とラット GH の融合蛋白をラット GH₃ 細胞に導入し、stable cell line を樹立した。この細胞において共焦点レーザー顕微鏡を用いて GH 顆粒を可視化した。 $[Ca^{2+}]_i$ の上昇と連動し、顆粒放出が生じたことを生きた細胞において real time で観察し、 $[Ca^{2+}]_i$ の変化と顆粒の変化を同時に記録することが可能となった。ヒト GH 産生下垂体腺腫細胞と同様に、分泌には電位依存性 Ca^{2+} チャンネルが主に関与し、TRH によって GH 顆粒が分泌されることも確認した。
3. ラット Gh1 遺伝子のプロモーターを luciferase 遺伝子に結合したプラスミドをラット GH₃ 細胞に一過性に導入した。この細胞において、luciferase assay を用いて、GH 分

泌で重要であった電位依存性 Ca^{2+} チャンネルからの Ca^{2+} 流入はそれのみでは GH 転写を活性化しないことが明らかとなり、この点において神経細胞とは異なっていた。

luciferase assay を用いて、PKA や MEK, ERK を介するリン酸化経路が GH 転写に重要であることが明らかとなった。また、TRH によって GH 転写は活性化され、その経路には CaMKII はあまり重要ではなく、PKA や MEK, ERK を介するリン酸化経路が重要であることが明らかとなった。また、電位依存性 Ca^{2+} チャンネルも TRH による GH の転写活性の経路に関与していることが推測された。

以上、本論文は、成長ホルモンの分泌及び転写の調節機構について、まずこれまで不明であったヒト GH 産生下垂体腺腫細胞における TRH 刺激試験による GH の奇異性分泌機構を明らかにした。次にラット下垂体前葉細胞の cell line である GH₃細胞を用いてその変化を実際に可視化し、さらに分泌刺激が転写の刺激となりうるかについて明らかとし、その経路についても一部示した。本研究は成長ホルモンの分泌と転写について多方面から検討しており、これまで詳しく知られていなかった TRH 刺激試験による GH の奇異性分泌機構解明に特に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。