

[課程 -2]

審査の結果の要旨

氏名 佐藤潤一郎

本研究は、偽性副甲状腺機能低下症 Ia 型 (Pseudohypoparathyroidism Type-Ia: PHP-Ia) に新生児期下痢症を合併する家族性発症症例で新たに発見された、Gs $\alpha$ 上のグアニンヌクレオチド結合部位に存在する AVDT 残基に重複を有する $\alpha$ s-AVDT 変異体の解析を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. Sf9 細胞/バキュロウイルス系を用いて作成した精製 G 蛋白質による解析の結果、 $\alpha$ s-AVDT は、不安定であるとともに活性型変異であることが明らかとなった。そのメカニズムとして、蛋白質の変成失活速度が上昇する一方、GTP 結合による活性化の亢進と不活性化の軽度の抑制により活性型変異体となることが示された。

2. 蛋白質としての不安定性により、機能喪失を生じ、PHP-Ia を生じると推測された。Gs を欠損する cyc-細胞に本変異 Gs を発現させた安定株では、野生型 Gs に比して発現量がきわめて少ないことが明らかとなった。さらに、活性型変異体である特性からわずかな **constitutive activity** を示したが、共役する  $\beta$  アドレナリン受容体の刺激によって、活性は増強されず、むしろ抑制されることが明らかとなった。

3. 本変異体は、検討した複数の培養細胞でおもに細胞質に存在した。一方で、小腸粘膜上皮由来の 2 種類の培養細胞では、主に細胞膜に存在し、これに伴って、cAMP 産生が増強されていた。すなわち、コレラと類似のメカニズムによって、新生児期下痢症を惹起する可能性を示唆していた。さらに、この局在の細胞特異性は、他の代表的な Gs 活性型変異体である gsp 変異体、およびコレラ毒素によって活性化された野生型 Gs でも観察された。

4. この細胞特異的な局在の差異の原因は、Gs の活性化にともなう、細胞膜への局在シグナルである Gs $\alpha$ のパルミチン酸化の低下が、小腸粘膜細胞では抑制されていることによると推定された。

5. 事実、脱パルミチン酸化を担うエステラーゼの過剰発現により、小腸粘膜細胞での上記特性は抑制された。

以上、本論文は、偽性副甲状腺機能低下症 Ia 型に新生児期下痢症を合併する非典型 PHP-Ia 家系において、PHP-Ia は $\alpha$ s-AVDT の不安定性を原因とし、合併する下痢症は小腸粘膜細胞での活性化増強の特性によると推定されることを明らかにした。まれな内分泌疾患における G 蛋白質変異体の分子メカニズムを解明した本研究は、病態発現機構の解明に貢献するとともに、G 蛋白質を含む蛋白質の細胞膜局在シグナルであるパルミチン酸化が、細胞特異的に G $\alpha$  の局在と活性を制御する可能性を示し、細胞特異的なシグナル調節機構の解明とパルミチン酸化を標的とする治療法開発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。