

学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	病態制御科学領域内分泌内科学教育研究分野 氏名 牧田 興志
<p>(論文題目)</p> <p><i>O</i>-linked β-<i>N</i>-Acetylglucosamine transferase is involved in pro-opiomelanocortin gene expression in mouse pituitary corticotrope AtT-20 cells</p> <p>(<i>O</i>-linked β-<i>N</i>-acetylglucosamine transferase はマウス副腎皮質刺激ホルモン産生下垂体細胞である AtT-20 細胞において pro-opiomelanocortin 遺伝子発現に関与している)</p>	
<p>(内容の要旨)</p> <p>下垂体 pro-opiomelanocortin (<i>POMC</i>)遺伝子は副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)の合成に必要な前駆蛋白をコードしている。視床下部副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン(CRH)は <i>Pomc</i> 転写を活性化させ、ACTH 分泌を促進する。ACTH は副腎皮質を刺激し、グルココルチコイド(GC)の合成分泌を促進する。GC は下垂体 ACTH 産生細胞と視床下部のホルモン合成に対して負に作用し、CRH、ACTH を抑制することで体内の GC レベルを適切に維持している(ネガティブフィードバック)。ACTH 産生下垂体腫瘍が原因であるクッシング病は、このネガティブフィードバック機構に抵抗性を示し、慢性的な高 GC 血症を呈する。これにより高血圧、耐糖能異常、脂質異常症、骨粗鬆症など多彩な合併症を引き起こす。さらには免疫不全や血栓症のリスクを増加させ、放置すれば致死的ともなる。クッシング病の治療の第一選択は手術切除であるが、何らかの理由で完解が得られない場合にはそれ以外の治療選択肢が必要となってくる。現在、薬物治療としてカベルゴリンやソマトスタチンアナログ製剤が ACTH 産生抑制目的に使用されているが、効果は限定的である。以上から <i>POMC</i> 転写に関わる分子機構の解明はクッシング病の薬物治療の発展に重要である。</p> <p>核内や細胞質の様々な蛋白がそのセリン/スレオニン残基に <i>O</i>-linked β-<i>N</i>-acetylglucosamine (O-GlcNAc)修飾を受けることが知られている。O-GlcNAc 修飾は転写や翻訳、細胞周期、神経機能などの多くの制御経路で重要な役割を担っている。RNA polymerase II (Pol II)の C-terminal domain (CTD)の O-GlcNAc 修飾が GC による遺伝子転写抑制に関与するとされている。また、GC はグルココルチコイド受容体(GR)に結合し、NF-κB に直接結合することによってそれらの転写活性を阻害し、標的遺伝子の転写を抑制して抗炎症作用を発現することが知られているが、この作用に O-GlcNAc 修飾が関与するという報告もある。加えて我々は以前、<i>Pomc</i> のサイトカインによる転写促進機構に NF-κB が関与していることを示している。そこでマウス副腎皮質刺激ホルモン産生下垂体細胞である AtT-20 細胞を用いて、GC による <i>Pomc</i> 遺伝子の転写抑制への O-GlcNAc 修飾の関与を検討することを目的とした研究を進めた。O-GlcNAc transferase (OGT)と GC が <i>Pomc</i> プロモーター活性に与える影響についてレポーターアッセイを用いて検討した結果、OGT と合成 GC である dexamethasone (DEX)は <i>Pomc</i> プロモーター活性を抑制し、両者の使用は相加効果を示した。RNA 干渉を用いて OGT ノックダウンが <i>Pomc</i> 発現に与える影響を検討したところ、OGT ノックダウンは <i>Pomc</i> の基礎発現レベルに有意な変化を与えなかったが、DEX による <i>Pomc</i> 発現抑制効果を低下させた。OGT 阻害剤を使用した場合も同様に DEX による <i>Pomc</i> 発現抑制の減弱が確認された。続いて GR と Pol II の <i>Pomc</i> locus へのリクルートメントが OGT によって変化する可能性について ChIP アッセイを用いて評価した。DEX により GR のリクルートメントは増加し、Pol II のリクルートメントは減少した。OGT 阻害剤の前投与により GR リクルートメントは減少し、GC</p>	

による PolII リクルートメント抑制効果は減弱した。本研究では AtT-20 細胞において OGT は *Pomc* 転写抑制機構に不可欠であり、GC による *Pomc* 発現抑制の維持に関与していることが示唆された。今後、OGT が PolIII や GR、あるいは *Pomc* 転写調節因子複合体にどのような修飾を加えて制御しているのかを解析するとともに、OGT の効果を増強させる因子の探索や *in vivo* でその検討がなされることで、クッシング病の薬物治療の選択肢が増えることが期待される。