

1. **報告者氏名** 伊達木澄人
2. **所属施設名** (留学時) 国立成育医療研究センター研究所分子内分泌研究部  
(現在) 長崎大学病院小児科
3. **留学先の国及び地名** Baltimore, MD, USA
4. **留学先の施設及び所属(部門)の名称** Johns Hopkins University, Division of Pediatric Endocrinology
5. **指導者名(指導教官名)** Prof. Sally Radovick
6. **留学期間** 2010年9月28日～2012年9月28日
7. **留学の趣旨・目的** 研究
8. **研究課題** 優性阻害効果を有する POU1F1 遺伝子変異の下垂体機能低下症発症機序の解明

## 9. 研究内容・成果の要点

### <はじめに>

近年、下垂体前葉の発生・分化に関わる液体因子や転写因子群が同定され、これら諸因子の時間的・空間的相互作用による下垂体前葉の発生・分化課程が明らかにされてきた。さらにヒトにおいてこれらの一部の転写因子に対応する下垂体機能低下症症例が同定されている。POU1F1 は、下垂体発生分化の最終段階で働き、GH, PRL, TSH 産生細胞への分化に必須な転写因子である。その遺伝子異常症の臨床像は、GHとPRLは完全欠損で、TSH 分泌不全の程度には、症例間で差異が認められる。現在まで、30 を超える劣性遺伝形式をとる変異が報告されているが、優性阻害効果を有する変異もわずかながら報告されている。

### <研究の目的>

本研究の目的は、優性遺伝形式を有する POU1F1 変異 R271W と K216E の下垂体機能低下症発症機序を解明することである。

### <方法>

われわれは、これら二つの変異タンパクの DNA 結合能を明らかにするために、electrophoretic mobility shift assay (EMSA) を行った。ターゲットとするプローブ配列は以下のとおりである。GH-1 (5'-CTATACATTTATTCATGG-3')、GH-2(5'-CTTCTAAATTATCCATCA-3')、PRL-1P (5'-GATTATATATATTCATGA-3')、PRL-1D (5'-GCATTAATAAATGCATTT-3')。EMSA には、T7 TNT-coupled reticulocyte lysate system ならびに His-tagged protein expression and purification system にて得られた POU1F1 タンパクを使用した。

<結果>図、まとめ参照

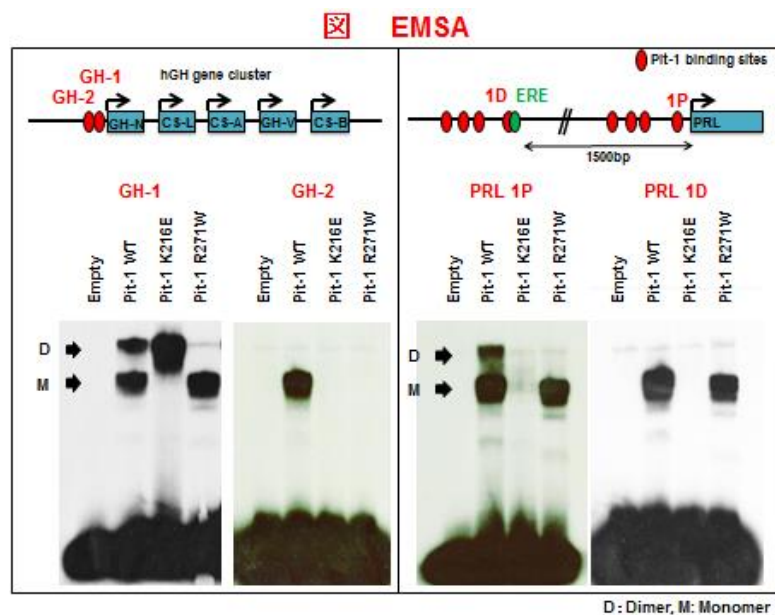
Wild-type POU1F1 は、既報告のとおり、GH-1、PRL-1P に、Dimer ならびに Monomer として結合していた。しかし、GH-2、PRL-1D には、Monomer としてのみ結合していた。R271W 変異タンパクは、GH-1、PRL-1P、PRL-1D に Monomer としてのみ結合しており、Dimer 形成能が障害されていた。一方、K216E 変異タンパクは、GH-1 に Dimer としてのみ過剰に結合していた。しかし、その他の領域には、monomer、dimer どちらとしても結合していなかった。

<結論>

これらの結果は、この二つの変異タンパクの DNA 結合能が、われわれが思っていた以上に、より複雑であることを示していた。さらなる発症メカニズムの解明のため、たんぱくの結晶化と構造解析を現在行っている。

10. まとめ(感想及びコメント)

Johns Hopkins 大学での留学生生活を終え、昨年秋に帰国しました。研究に没頭し、さまざまな国から集まった研究者のなかで過ごした 2 年間はとても貴重な経験でした。ラボの仲間だけでなく、日本全国から集まった留学生とその家族と知り合えたことも一生の財産です。また、自然豊かなのびのびとした環境で過ごせたこの 2 年間は家族のよい思い出となりました。私事ですが、日本とは異なる医療環境のなか、次女の出産、育児を経験する機会もありました。このような貴重な留学生活をご支援いただいた成長科学協会、関係者の皆様に深く感謝いたします。



Site	WT	K216E	R271W
GH-1	D+M	D	M
GH-2	M	-	-
PRL 1P	D+M	-	M
PRL 1D	M	-	M

D: Dimer; M: Monomer; -: no binding