

氏 名 谷内 秀輔

授与した学位 博士

専攻分野の名称 理学

学位授与番号 博甲第4429号

学位授与の日付 平成23年 9月30日

学位授与の要件 自然科学研究科 バイオサイエンス専攻

(学位規則第5条第1項該当)

学位論文の題目 Expression and possible physiological roles of Pit-1 in extrapituitary tissues in vertebrates

(脊椎動物の下垂体外組織における Pit-1 の発現と生理学的役割)

論文審査委員 准教授 竹内 栄 教授 高橋 純夫 教授 坂本 竜哉

学位論文内容の要旨

Pit-1 (POU1F1/GHF-1) は、哺乳類の下垂体における成長ホルモン (GH) , プロラクチン (PRL) , 甲状腺刺激ホルモン β サブユニット (TSH β) の遺伝子発現制御, および, これら下垂体ホルモンの産生細胞の増殖・分化に重要な役割を果たす下垂体特異的転写因子として同定された。哺乳類の Pit-1 には選択的スプライシングに起因する複数種のバリエーションが知られており, それぞれ異なる転写活性化能をもつ。近年, Pit-1, および Pit-1 による発現制御を受ける下垂体ホルモン (GH,PRL,TSH) がニワトリの様々な下垂体外組織に発現することが報告された。しかし, Pit-1 が下垂体ホルモンの下垂体外組織発現に関与しているのか否かについては不明であった。

本研究では転写因子 Pit-1 の生理学的役割の全貌を解明するため, ニワトリの神経性網膜に発現する Pit-1 と下垂体ホルモンの発現との関係を解析した。さらに, ニワトリの下垂体外組織に発現する主要なバリエーション Pit-1w のげっ歯類における存在を調べ, マウスにおける Pit-1w の下垂体外組織における生理学的役割を検討した。

1. ニワトリの神経性網膜に発現する Pit-1w

ニワトリ神経性網膜の組織発生過程で発現する Pit-1 バリエーションと下垂体ホルモンの発現を RT-PCR 法により解析した。その結果, 鳥類特異的バリエーションとされてきた Pit-1w が主要なバリエーションとして 12 日齢胚以降で相当量検出され, 下垂体での主要なバリエーションである Pit-1 α は殆ど検出されなかった。一方, 下垂体ホルモンでは, GH, PRL はまれにごく微量検出される程度で, TSH β は全ての時期で検出されたが, Pit-1 の発現パターンとの相関は認められなかった。レポーター解析の結果, ニワトリ Pit-1w は PRL のプロモーター活性を僅かに増加させたが, GH と TSH β のプロモーター活性に影響を及ぼさないことがわかった。これらのことから, ニワトリの神経性網膜で発現する Pit-1w は下垂体ホルモンの発現制御への関与の可能性は低く, 他の遺伝子発現に関わっている可能性が考えられた。

2. マウスの精巣に発現する Pit-1w

比較ゲノム学的手法および分子生物学的手法を用い, マウスとラットの下垂体に発現する Pit-1w を同定した。RT-PCR 解析により, マウスにおける Pit-1w mRNA の組織分布を調べたところ, 精巣を含む広範な下垂体外組織での発現が検出された。RT-PCR およびウエスタンブロット解析の結果, Pit-1w はマウスの精巣で主要なバリエーションとして発現することがわかった。マウスの精巣発達過程で, Pit-1w mRNA は精子形成が始まる 3 週齢以降から検出され, その発現パターンは PRL mRNA と一致した。レポーター解析の結果, マウス Pit-1w は PRL のプロモーター活性を増加させることがわかった。また, 組織化学的解析から, Pit-1 は精原細胞, 精母細胞, 精子細胞に発現することが明らかになった。以上から, マウスの精巣において Pit-1w は PRL の発現制御を介して精子形成に関与する可能性が示唆された。

本研究により, Pit-1w は下垂体外組織における下垂体ホルモン遺伝子の発現制御に関与するとともに, 下垂体ホルモン遺伝子の発現制御以外の機能をもつ可能性が示された。

論文審査結果の要旨

転写因子 Pit-1 は、哺乳類の下垂体における成長ホルモン（GH）、プロラクチン（PRL）、甲状腺刺激ホルモンβサブユニット（TSHβ）の遺伝子発現を制御する下垂体特異的転写因子として同定された。哺乳類の Pit-1 には選択的スプライシングに起因する複数種のバリエーションが知られており、それぞれ異なる転写活性化能をもつ。近年、Pit-1、および Pit-1 による発現制御を受ける上記下垂体ホルモン遺伝子が哺乳類や鳥類の様々な下垂体外組織に発現することが分かってきたが、Pit-1 の下垂体外組織における生理学的役割については不明な点が多く残されていた。

本研究では Pit-1 の下垂体外組織における生理機能を解明するため、ニワトリの下垂体外組織に発現する Pit-1 バリエーションの同定、それらの発現と下垂体ホルモン遺伝子の発現との相関解析、およびプロモーター解析により、Pit-1 が下垂体ホルモンの下垂体外発現に関与するか否かを検討した。その結果、ニワトリ下垂体外組織に発現する主要な Pit-1 バリエーションは鳥類特異的バリエーションとされてきた Pit-1w であり、ニワトリ Pit-1w は PRL のプロモーター活性を僅かに上げるが、GH と TSHβ のプロモーター活性に影響を及ぼさないことが分かった。Pit-1w は胚期神経性網膜でも主要なバリエーションとして発現するが、PRL は殆ど検出されず、Pit-1w の発現量変化との相関も認められなかった。このことから、ニワトリの胚期神経性網膜に発現する Pit-1w は下垂体ホルモンの発現制御以外に働いている可能性が示唆された。また、哺乳類の Pit-1w としてマウス Pit-1w を初めて同定した。マウス Pit-1w はニワトリ Pit-1w と同様に様々な下垂体外組織に主要な Pit-1 バリエーションとして発現していることが分かった。精巣では Pit-1w は精子形成が始まる3週齢以降から検出され、その発現パターンは PRL と一致した。レポーター解析の結果、マウス Pit-1w は PRL のプロモーター活性を増加させることが分かった。また、組織化学的解析から、Pit-1 は精原細胞、精母細胞、精子細胞に発現することが明らかになった。このことから、マウス Pit-1w は PRL の発現制御を介して精子形成に関与する可能性が初めて示唆された。

本研究成果は、内分泌学・生殖生物学の基礎分野・応用分野に重要な新知見を与える有用なものであり、学術上の貢献が大きいと評価されることから、博士の学位に値すると結論された。