



Title	下垂体副腎皮質刺激ホルモン産生細胞におけるニューロメジンBの発現と細胞増殖における影響の検討 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	亀田, 啓
Description	配架番号 : 2080
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11208号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/55822
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Hiraku_Kameda_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 亀田 啓

	主査	教授	筒井	裕之
審査担当者	副査	教授	渥美	達也
	副査	教授	岩永	敏彦
	副査	教授	櫻木	範明

学 位 論 文 題 名

下垂体副腎皮質刺激ホルモン産生細胞におけるニューロメジン B の発現と
細胞増殖における影響の検討
(Expression and proliferative activity of neuromedin B in pituitary
adrenocorticotropin-producing cells)

学位申請者亀田啓の学位論文審査会は、平成 26 年 2 月 14 日午後 16 時 30 分より医学部 5-1 セミナー室において行われた。まず主査筒井裕之教授より副査渥美達也教授が天候の都合上参加できないが、予定通り審査会を行うことが述べられた。続いて学位申請者はスライドを用いながら約 30 分に渡って学位論文内容の発表を行った。

発表では Cushing 病に対する有効な薬物療法がないことが臨床上の問題点であることを説明し、視床下部下垂体副腎軸の調節因子を探索することで Cushing 病の治療標的となる分子を見出すことが本研究の目的であると述べた。次いで実験内容を 2 部に分け報告した。第 1 部ではメラノコルチン 2 受容体 (MC2R) KO マウスの下垂体を解析することで HPA 軸の調節因子を見出すことを目的として MC2RKO マウスの下垂体の DNA マイクロアレイ解析を行い、ニューロメジン B (NMB) の遺伝子発現が増加していたことを述べた。次いで組織免疫染色の結果から下垂体における NMB 上昇は ACTH 産生細胞において認められることを述べた。MC2RKO マウスの下垂体における NMB の発現上昇はコルチコステロンの投与によって低下した。C57BL/6J マウスの下垂体前葉細胞を単離し、CRH ならびにデキサメサゾン (DEX) を投与したところ NMB の遺伝子発現は CRH で上昇し、DEX で低下した。第一部の実験の結果から原発性副腎不全の状態において下垂体 ACTH 産生細胞に NMB が発現していることが証明され、また NMB はヒト大腸癌細胞を始めとする腫瘍細胞にも発現が報告されていることから ACTH 産生腫瘍の増殖にも関与する可能性を考えられると述べた。第 2 部の実験は NMB が下垂体

ACTH 産生細胞の増殖に与える影響を調べる目的で行われ、まずマウス ACTH 産生下垂体癌の細胞株である AtT-20/D16v-F2 に NMB ならびにその受容体 (NMBR) が発現しているかを核酸電気泳動ならびに免疫染色で検討し、いずれも発現していることを示した。MTT アッセイを用いた AtT-20/D16v-F2 の細胞増殖実験では、NMBR 拮抗薬の投与は細胞増殖ならびにプロオピオメラノコルチンの遺伝子発現を抑制した。次いでヒトの下垂体腺腫サンプルを用いた検討では ACTH 産生下垂体腺腫において NMB ならびに NMBR の発現が非機能性腺腫と比較して増加していることがリアルタイム PCR 法と組織免疫染色で証明されたと述べた。以上の研究から学位申請者は NMB が下垂体 ACTH 産生細胞と ACTH 産生下垂体腺腫に発現しており細胞増殖への関与が考えられることから Cushing 病の治療標的として可能性がある結論した。

その後副査岩永敏彦教授からラットにおける NMB 発現の報告と今回の研究結果との差異について質問があり、本研究において NMB が発現するのは副腎不全の状態においてのみであり、通常の状態では TSH 産生細胞に発現している可能性が考えられるとの返答があった。続いて細胞実験での NMBR 抗体を用いた染色像で膜ではなく細胞質に顆粒状に染色像が見られることについての質問があり、免疫染色について検討を行うとの返答があった。次に副査櫻木範明教授より NMBR の構造について質問があり、学位申請者より 7 回膜貫通 G 蛋白共役型受容体であるとの返答があった。NMB の生理的な意義についての質問があり、副腎不全の状態において何らかの代償的な役割を持っていると考えられるが今後検討を進める予定であるとの返答があった。MC2RKO マウスは致死性ではないのかとの質問があり、C57BL/6 系統にバッククロスして作成されたマウスは出生後早期に死亡するが、Balb/c 系と混合した背景とすることで多くが生存できるようになり、今回の実験では後者を使用したとの返答があった。最後に主査筒井裕之教授より NMB の調節において CRH を抑制することで NMB は低下するのかとの質問があり、コルチコステロンのペレット投与がそれにあたると思われるが、CRH 受容体拮抗薬を用いた実験は行っていないとの返答があった。NMB の増殖に関わる細胞内シグナルはわかっているのかとの質問があり、Gq 蛋白から PI3 系を介して下流のシグナルを変化させ、その下流に ERK などの細胞増殖に関与する因子があるため細胞増殖をきたしているとの返答があった。

この論文は NMB の下垂体 ACTH 産生細胞における発現を初めて明らかにし、また下垂体腺腫の増殖との関連についても検討を進めており高く評価され、今後の下垂体疾患の治療法の発展に寄与することが期待される。

審査委員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士 (医学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。