

## 博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	佐藤 勇也
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博 (医) 第 778 号
学位授与の日付	平成 29 年 9 月 20 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名	Prolactin upregulates female-predominant P450 gene expressions and downregulates male-predominant gene expressions in mouse liver. (プロラクチンはマウス肝臓においてメス優位 P450 遺伝子の発現を上昇させ、オス優位遺伝子の発現を低下させる)
論文審査委員	主査 教授 河内 裕 副査 准教授 後藤 眞 副査 教授 成田 一衛

### 博士論文の要旨

#### 背景と目的

プロラクチンは下垂体前葉から分泌されるポリペプチドホルモンで乳腺発達や泌乳に関わることが知られているが、その他に、免疫に関わる作用や浸透圧調整に関わる作用など多彩な生理機能を持つことが近年明らかとなっている。プロラクチンの血清濃度は生理的に妊娠中や授乳中に上昇することが知られているが、妊娠・授乳中には生体の薬物代謝能が変化することが知られている。

Cytochrome P450 (P450) は様々な基質の酸化を行い、肝臓においてはステロイドホルモンの生合成や外来物質の代謝排泄などに関わる薬物代謝酵素であり、その発現は妊娠や出産によって変化することが知られている。これまでの研究では、成長ホルモンや性ホルモンによって肝臓の P450 の発現や酵素活性が変化することが報告されているが、現在までに肝臓における P450 の発現に対するプロラクチンの影響は明らかになっていない。さらに、P450 の発現には、生理的状态においても P450 の各分子種によって性差があることが以前から知られており、薬物代謝の性差に影響する一因として考えられてきた。そこで申請者は、P450 を含めた性別優位性のある遺伝子の肝臓での発現とプロラクチンとの関係について明らかにすることを本研究の目的とした。

#### 方法

申請者は、マウスプロラクチンの cDNA を pCAGGS ベクターに組み込み、マウスプロラクチンの発現ベクターを作製した。オス・メスマウス双方に尾静脈よりハイドロダイナミック法によって発現ベクターを投与し、肝細胞へプロラクチン遺伝子を導入することで、プロラクチンを高発現させて、実験的に高プロラクチン血症を誘導した。遺伝子導入後に肝臓から全 RNA を抽出し、逆転写 PCR 法でマウスプロラクチン mRNA の肝臓での発現を確認するとともに、血清中のマウスプロラクチン値を ELISA 法で定量して、導入遺伝子の発現を確認した。マウス肝臓でのプロラクチン受容体の発現をウエスタンブロット法で確認し、発現ベクター導入による高プロラクチン血症によってプロラクチン受容体の下流の転写因子である Signal

Transducer and Activator of Transcription 5 (STAT-5)のリン酸化が亢進することをウエスタンブロット法で確認した。高プロラクチン血症状態のマウスの肝臓から抽出した全 RNA を用いて、P450 をはじめとする性別優位性のある各遺伝子の発現量の変化をリアルタイム PCR 法で検討した。さらに肝臓の遺伝子発現に性差をもたらす既知のホルモンである成長ホルモンとテストステロンの定量を行った。

#### 結果

発現ベクターの投与によって高プロラクチン血症が誘導された。高プロラクチン血症マウスでは肝臓での STAT-5 のリン酸化が亢進した。高プロラクチン血症となったメスマウスの肝臓において、メスマウス優位に発現するとされる P450 遺伝子である *Cyp3a16*、*Cyp3a41*、*Cyp3a44*、*Cyp2b9* の mRNA 発現が有意に増加した。さらに高プロラクチン血症メスマウスにおいて、メスマウス有意の遺伝子である *Prolactin receptor* 遺伝子の発現が上昇した。一方で、高プロラクチン血症オスマウスの肝臓において、オスマウス有意に発現するとされる P450 遺伝子である *Cyp2d9*、*Cyp7b1* の mRNA 発現が有意に低下した。また、高プロラクチン血症オスマウスにおいて、オスマウス有意の遺伝子である *Mup1* の発現が有意に低下した。発現に性別優位性がないとされている *Cyp3a11*、*Cyp3a13*、*Cyp3a25* などの P450 遺伝子の発現は、高プロラクチン血症による変化は認められなかった。高プロラクチン血症のオスマウス・メスマウスのいずれも成長ホルモンやテストステロンの血清値には変化を認めなかった。

#### 考察

高プロラクチン血症によって、メスマウス肝臓においてはメス優位な P450 遺伝子の発現が上昇し、オスマウス肝臓においてはオス優位な P450 遺伝子の発現が低下することが明らかとなった。プロラクチンは P450 の発現の変化を通して肝臓の薬物代謝に影響する可能性が考えられた。さらに P450 以外の性別優位性のある肝臓の遺伝子においても、P450 と同様にメス優位の遺伝子はプロラクチンにより上昇し、オス優位の遺伝子はプロラクチンにより低下した。肝臓での遺伝子発現に影響するとされる既知のホルモンである成長ホルモンやテストステロンの値は、高プロラクチン血症によって変化をしなかったことから、プロラクチン自体が肝臓での遺伝子発現を調節する新たな因子であると考えられた。

プロラクチンは、妊娠や授乳期において、肝臓での P450 遺伝子の発現を変化させることによって、ステロイド代謝や外来物質の代謝排泄に影響を与えている可能性が推察された。

#### 審査結果の要旨

プロラクチンは乳腺発達や泌乳に関わる他に、免疫反応や浸透圧調整に関わる作用など多彩な機能を持つ。Cytochrome P450 (P450) は様々な基質の酸化を行い、肝臓においては薬物代謝酵素であり、その発現は妊娠や出産によって変化する。現在までに肝臓における P450 の発現に対するプロラクチンの影響は明らかではなく、また生理的状态においても P450 の各分子種によって性差があることが知られており、薬物代謝の性差に影響する一因として考えられてきた。そこで申請者は、性別優位性のある遺伝子の肝臓での発現とプロラクチンとの関係について明らかにすることを目的とし、肝細胞にプロラクチン遺伝子を導入することで、高プロラクチン血症マウスを作成し解析した。

高プロラクチン血症によって、メスマウス肝臓においてはメス優位な P450 遺伝子の発現が上昇し、オスマウス肝臓においてはオス優位な P450 遺伝子の発現が低下した。さらに他の性別優位性のある遺伝子においても、同様にメス優位の遺伝子はプロラクチンにより上昇し、オス優位の遺伝子は低下した。成長ホルモンやテストステロンの値は、高プロラクチン血症によって変化をしなかったことから、プロラクチン

自体が肝臓での遺伝子発現を調節する新たな因子であると考えられた。プロラクチンは、妊娠や授乳期において、肝臓での P450 遺伝子の発現を変化させることによって、ステロイド代謝や外来物質の代謝排泄に影響を与えている可能性が推察された。

本論文は、プロラクチンが肝臓での遺伝子発現を調節する新たな因子であることを示した点に学位論文としての価値を認める。