

## 6. 変異グルココルチコイド受容体の機能解析

谷口義典<sup>1</sup>、岩崎泰正<sup>1</sup>、次田誠<sup>1</sup>、田口崇文<sup>1</sup>、西山充<sup>1</sup>、高尾俊弘<sup>2</sup>、寺田典生<sup>1</sup>

<sup>1</sup>高知大学医学部内分泌代謝腎臓内科, <sup>2</sup>同看護学科地域看護学

【目的】Human glucocorticoid receptor (GR) には野生型 (GR $\alpha$ ) の他に、造血器系腫瘍や関節リウマチ、ステロイド抵抗性喘息など慢性炎症性疾患などで報告されてきた GR $\beta$ 、P をはじめ、A、B、 $\gamma$ 、 $\Delta$ 313-338 など複数の isoform の存在が知られている。GR $\beta$  は GR $\alpha$  の機能に dominant negative に作用する (Mol Endocrinol 2005) ことや、GR $\alpha$ :GR $\beta$  比がステロイド抵抗性の指標となること (Ann N.Y Acad Sci 2006)、などが報告されている。一方、GR $\beta$  の dominant negative 効果については否定的な報告 (Gut 2007, Neuromuscul Disord 2007) もある。他の isoform (P、A、B、 $\gamma$ 、 $\Delta$ 313-338) については詳細な機能解析はまだ行われていない。今回我々は、glucocorticoid による転写誘導ないし抑制作用における各変異 GR の影響を検討した。

【方法】ヒト野生型 (GR $\alpha$ )、およびN端側変異 (GR-B,  $\Delta$ 313-338)、C端側変異 (GR $\beta$ , P, A)、DNA 結合領域の変異 (GR $\gamma$ )を有する各変異 GR の発現ベクターを作成した。これらを内因性 GR を有さないヒト神経細胞株 BE(2)C、大腸細胞株 T84 に一過性に導入した後、デキサメサゾン (Dex)による①trans-activation、②cis-repression、③trans-repression 作用を、①GRE, NMDA1, ENaC, ② CRH, CRE, ③ NF $\kappa$ B, AP1, ICAM1, MCP1 各エレメントないしプロモーターを有するレポーター遺伝子を用いて評価した。一方、GR $\beta$  の GR $\alpha$  機能に対する dominant negative 効果に関しても、それぞれの系を用いて検討した。また他の変異 GR (P, A,  $\gamma$ , B,  $\Delta$ 313-338) の dominant negative 効果の有無についても解析した。

【結果】1)GR $\alpha$  の存在下で Dex は GRE, NMDA1, ENaC 依存性転写を促進、刺激時の CRH, NF $\kappa$ B 依存性転写を抑制した。2)C 端側変異 GR ( $\beta$ , P, A) の存在下では転写誘導・抑制の両効果とも消失した。3)N 端側変異 GR (B,  $\Delta$ 313-338) では前者で転写誘導・抑制効果が消失しているのに対し、後者では保たれていた。4)DNA binding domain の変異 GR $\gamma$  では転写誘導・抑制の両効果とも保たれていた。5)興味深い事に転写抑制面では、変異 GR の中で GR $\beta$  のみ(ただし GR $\gamma$  は trans-repression のみ)が、GR $\alpha$  機能に対する dominant negative 効果を有し、一方、転写誘導面では、いずれの変異 GR も dominant negative 効果は認めなかった。

【結論】C 端側の変異 GR では受容体としての機能が喪失しているのに対し、N 端側の変異 GR では変異の部位により転写機能に及ぼす影響が異なることが示唆された。変異 GR の中で、GR $\beta$  は転写抑制作用選択的に GR $\alpha$  機能に対する dominant negative 効果を示し、免疫抑制作用におけるステロイド抵抗性出現との関連が示唆された。

今後は GFP などを使用し抵抗性関与分子の細胞内動態の解析や dominant negative 効果を改善する薬剤の探索を行っていく必要がある。