

Fig.1 Activin 刺激 (-) を 1.0 とした場合の、activin 刺激による relative PRL promoter activity を示す。(\*, P<0.05)

(B) 変異型 Igsf1 は activin 刺激による PRL promoter 活性化に影響を与えない。(Fig.2)

MOCK との比較では、Igsf1 のトランスフェクションそのものにより、PRL promoter-luciferase 活性の低下を認めた。一方で、野生型と変異型 Igsf1 による PRL promoter-luciferase 活性の差は認められなかった。

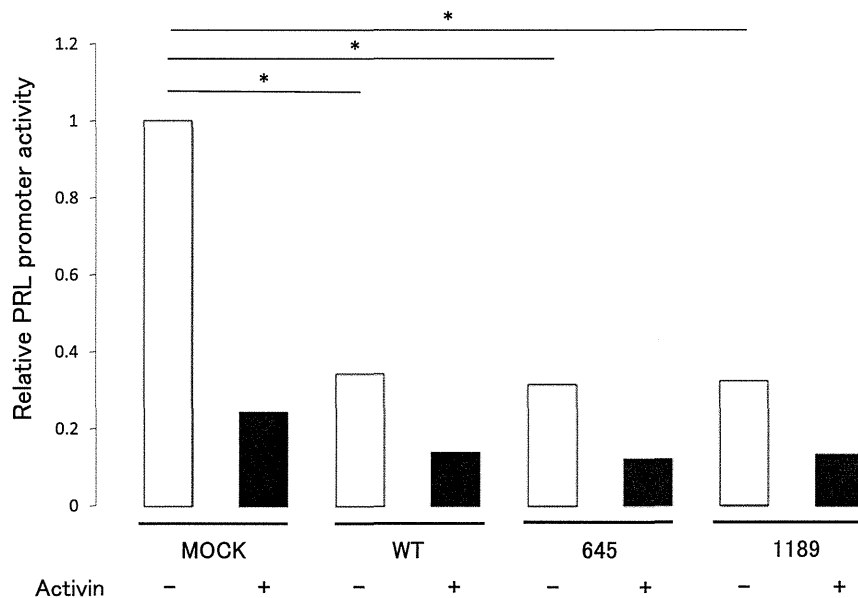


Fig.2 MOCK の Activin 刺激 (-) を 1.0 とした場合の、変異型もしくは野生型 Igsf1 の relative PRL promoter activity を示す。(WT, Igsf1 (wild type); 645, Igsf1 (p.Q645X); 1189, Igsf1 (p.Q1189X); \*, P<0.05)

2-2 TGFβ-betaglycan シグナル伝達における IGSF1 の効果についての検討

(A) 変異型 Igsf1 では、野生型 Igsf1 と比較して TGFβ 刺激による smad 活性が低い。(Fig.3)

変異型 Igsf1 では野生型 Igsf1 に比べて有意に smad 活性は低値であった。

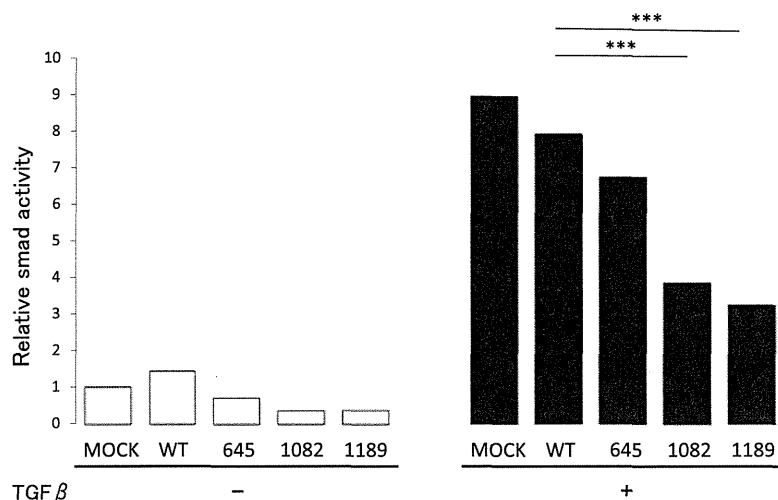


Fig.3 MOCK の TGFβ 刺激 (-) を 1.0 とした場合の、変異型もしくは野生型 Igsf1 の relative smad activity を示す。(WT, Igsf1 (wild type); 645, Igsf1 (p.Q645X), 1082, Igsf1 (p.V1082E); 1189, Igsf1 (p.Q1189X); \*\*\*, P<0.0001)

(B) Igsf1 は、Activin/inhibin による smad 活性化に影響を与えない。(Fig.4)

野生型 Igsf1 と変異型 Igsf1 とでは、inhibin による smad 抑制の差は認めなかった。

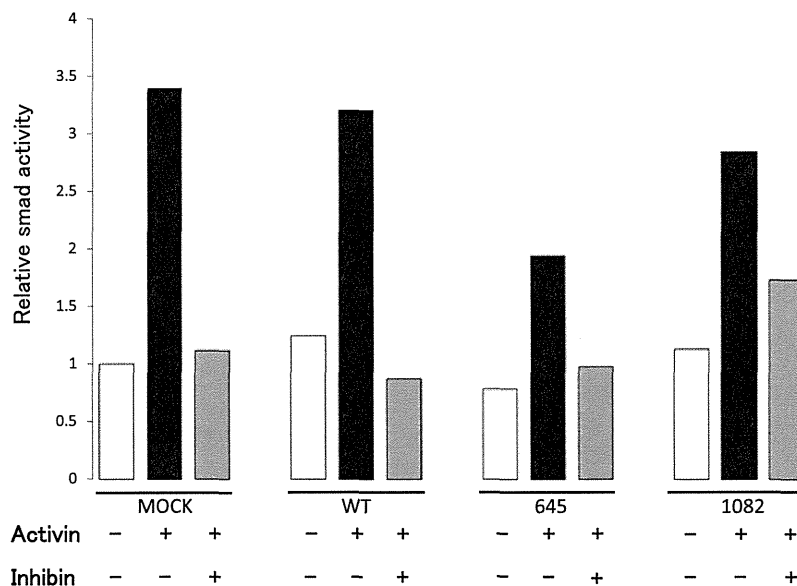


Fig.4 MOCK の activin 刺激 (-)、Inhibin 刺激 (-) を 1.0 とした場合の、変異型もしくは野生型 Igsf1 の relative smad activity を示す。(WT, Igsf1 (wild type); 645, Igsf1 (p.Q645X), 1182, Igsf1 (p.V1082E))

## 考案

- ① 今回変異を同定した3症例のうち2症例は新生児 TSH スクリーニング（札幌市における FT4/TSH 同時測定）で発見されていた CH-C であった。CH-C の発見契機として TSH/FT4 同時測定の有用性が再確認された。
- ② 過去には、IGSF1 が inhibin の co-receptor との報告（6-8）もある。しかし、Igsf1 欠損マウスでは妊孕性、LH、FSH の分泌が正常（3）であり、また IGSF1 と inhibin は直接結合しないという報告（9）もあることから、現在では IGSF1 は inhibin の co-receptor ではないと考えられている。

今回我々の *in vitro* の解析でも IGSF1 が inhibin の作用を媒介することは証明できなかったが、TGF  $\beta$  のシグナル伝達系に参与する可能性が示唆された。下垂体前葉における TSH 産生細胞である thyrotrope に関しては不明な点が多く、今後は TGF  $\beta$ -smad を介した thyrotrope の増殖の検討を行うことにより、IGSF1 異常による CH-C の病態を解明できる可能性がある。

## 参考文献

1. Tajima T, Nakamura A, Ishizu K. A novel mutation of IGSF1 in a Japanese patient of congenital central hypothyroidism without macroorchidism. *Endocr J*. 2013;60(2):245-9.
2. Nakamura A, Bak B, Silander TL, Lam J, Hotsubo T, Yorifuji T, et al. Three novel IGSF1 mutations in four Japanese patients with X-linked congenital central hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013 Oct;98(10):E1682-91.
3. Sun Y, Bak B, Schoenmakers N, van Trotsenburg AS, Oostdijk W, Voshol P, et al. Loss-of-function mutations in IGSF1 cause an X-linked syndrome of central hypothyroidism and testicular enlargement. *Nat Genet*. 2012 Dec;44(12):1375-81.
4. Barakat B, Itman C, Mendis SH, Loveland KL. Activins and inhibins in mammalian testis development: new models, new insights. *Mol Cell Endocrinol*. 2012 Aug 15;359(1-2):66-77.
5. Tamura N, Irahara M, Kuwahara A, Ushigoe K, Sugino H, Aono T. Effect of activin on production and secretion of prolactin and growth hormone in cultured rat GH3 cells. *Eur J Endocrinol*. 2000 May;142(5):506-11.
6. Chapman SC, Bernard DJ, Jelen J, Woodruff TK. Properties of inhibin binding to betaglycan, InhBP/p120 and the activin type II receptors. *Mol Cell Endocrinol*. 2002 Oct 31;196(1-2):79-93.
7. Chapman SC, Woodruff TK. Modulation of activin signal transduction by inhibin B and inhibin-binding protein (INHBP). *Mol Endocrinol*. 2001 Apr;15(4):668-79.
8. Chong H, Pangas SA, Bernard DJ, Wang E, Gitch J, Chen W, et al. Structure and expression of a membrane component of the inhibin receptor system. *Endocrinology*. 2000 Jul;141(7):2600-7.
9. Bernard DJ, Burns KH, Haupt B, Matzuk MM, Woodruff TK. Normal Reproductive Function in InhBP/p120-Deficient Mice. *Mol Cell Biol*. 2003;23(14):4882-91.



