

平成 21 年 4 月 15 日現在

研究種目： 基盤研究(C)
 研究期間： 2007～2008
 課題番号： 19590177
 研究課題名(和文) 甲状腺における性ステロイド産生とその生理学的意義の分子形態学的解明
 研究課題名(英文) Molecular and morphological analysis on the physiological significance of sex steroid synthesis in the thyroid gland.
 研究代表者
 鶴尾 吉宏 (TSURUO YOSHIHIRO)
 和歌山県立医科大学・医学部・教授
 研究者番号： 90207449

研究成果の概要：

甲状腺ホルモン(サイロキシン：T4、トリヨードサイロニン：T3)とカルシトニンの甲状腺での合成と分泌は、他のステロイド標的器官と同様に、生殖腺から分泌され血行性に到達する性ステロイドによって調節されるものと信じられていた。しかし我々は今回の研究で甲状腺内に性ステロイド代謝酵素が発現することを確認し、甲状腺ホルモンが甲状腺内で合成される性ステロイドによって機能調節される可能性を見出した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2008年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野： 医歯薬学

科研費の分科・細目： 基礎医学・解剖学一般(含組織学・発生学)

キーワード： ステロイド代謝酵素

1. 研究開始当初の背景

甲状腺では、サイロキシン(T4)とトリヨードサイロニン(T3)という2つの甲状腺ホルモンが甲状腺濾胞上皮細胞から、またカルシトニンが傍濾胞細胞(C細胞)から分泌される。甲状腺ホルモンは、基礎代謝を高め、エネルギー代謝を促進し、身体の成長や脳の神経細胞の発達には必須のホルモンで

あり、胎児期に欠乏した場合には重篤な知能低下を起こす。また、カルシトニンは、骨代謝に関与する。このように、これら2種類のホルモンは、生体機能の調節に重要な役割を果たしている。

甲状腺ホルモン(T4、T3)は、2つのチロシンがエーテル結合し、各々ヨウ素が4個、3個結合した特殊な化学構造であり、摂

取したヨードを貯留するための濾胞という特殊な組織構造をもつ甲状腺でのみ合成される。この甲状腺ホルモンの合成・分泌は、視床下部-下垂体-甲状腺系による制御機構が知られ、視床下部の甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン (TRH) と下垂体の甲状腺刺激ホルモン (TSH) によって促進される。また、カルシトニンは、C 細胞で合成されるペプチドホルモンであり、カルシウム代謝に関与し、血中のカルシウム濃度の上昇によって分泌が促進され、血中カルシウム濃度を下げるように作用する。

甲状腺ホルモンおよびカルシトニンの甲状腺における合成・分泌は、血中の性ステロイド濃度によっても変化することが知られており、甲状腺濾胞上皮細胞およびC細胞には性ステロイドに対する受容体が存在することから、性ステロイドが甲状腺ホルモンおよびカルシトニンに対して重要な調節因子として作用することが示唆されている。しかし、甲状腺に作用する性ステロイドは、他のステロイド標的器官の場合と同様に、精巣あるいは卵巣から分泌されたものであり、これが血行性に甲状腺に到達して作用するとこれまで信じられていた。つまり、化学構造によってホルモンは3つのグループに分けられるが、このうち甲状腺には、アミノ酸誘導体である甲状腺ホルモンと、ペプチドホルモンであるカルシトニンが発現しているが、もう一つのホルモンである性ステロイドは、甲状腺内では合成されていないと考えられていた。

ところが、最近、我々は、ステロイド代謝酵素に関する一連の研究過程で、甲状腺においても性ステロイド産生に関与する酵素が発現していることを見出した。これまで、甲状腺内での性ステロイドの産生については、エストロゲン合成酵素であるアロマターゼが、癌化したヒト甲状腺で確認されている以外は、正常ではごく僅かな発現が認められ

たとの一例の報告があるだけである (J Clin Endocrinol Metab 83: 3702-3709, 1998)。このように、甲状腺ホルモン (T₄、T₃) がアミノ酸誘導体という特殊な化学構造をもつホルモンであり、また濾胞構造という特殊な組織構造をもつ甲状腺でのみ合成されていることから、甲状腺内でのステロイド産生についての研究はほとんど進められていないのが現状である。したがって、C細胞で合成されるカルシトニンなどのペプチドホルモンの他に、甲状腺内で性ステロイドが産生されていることを示唆する我々の結果は、これまで考えられていなかった驚くべき発見である。

予備実験において、我々は、ラット甲状腺を用いて、甲状腺濾胞上皮細胞とC細胞にアンドロゲン代謝に関与する、アロマターゼ、5 α -リダクターゼ、3 α -ヒドロキシステロイド・デヒドロゲナーゼ (3 α -HSD) などの性ステロイド代謝酵素が発現することをすでに確認した。

我々は、これまでに、ラット胃の壁細胞にエストロゲン合成酵素であるアロマターゼが存在し、門脈血中に女性ホルモンであるエストラジオールが多量に分泌されていること、また、このエストロゲンが門脈を介して肝臓に到達した後、肝臓のエストロゲン受容体に結合して、全身循環血にはほとんど流出しないことを見出し、胃 肝臓連関による新しい生体調節機構を提唱している (Endocrinology 143:3162-3170, 2002)。また、これまであまり調べられていなかったリンパ組織でのステロイド代謝酵素の発現についても、我々は研究を現在進めており、リンパ節、胸腺、脾臓などのリンパ組織において各種のステロイド代謝酵素が発現することを確認している。

そこで、本研究では甲状腺ホルモンが甲状腺内で合成される性ステロイドによって機能調節される可能性について検討した。

2. 研究の目的

甲状腺ホルモン(サイロキシン:T₄、トリヨードサイロニン:T₃)とカルシトニンの甲状腺での合成と分泌は、他のステロイド標的器官と同様に、生殖腺から分泌され血行性に到達する性ステロイドによって調節されるものと信じられていた。しかし我々は一連の研究過程で甲状腺内に性ステロイド代謝酵素が発現することを見出した。そこで、本研究では甲状腺ホルモンが甲状腺内で合成される性ステロイドによって機能調節される可能性を調べるために性ステロイド代謝酵素の甲状腺における発現を実験動物を用いて次の項目に注目して形態学的に調べた。

1. 甲状腺において性ステロイド代謝酵素が存在し、性ステロイドが産生されていることを明らかにするために、性ステロイド代謝酵素の発現を生化学的および組織学的に解析し、さらに甲状腺で合成される性ステロイドの存在を確認する。また、性ステロイドが原材料となるコレステロールから *de novo* 合成されるのか、または血中のステロイドを利用して合成されているのかを知るため、ステロイドの代謝経路についても同様に検討する。

2. 甲状腺でのステロイド代謝酵素の発現について、胎仔期からの発達過程における変化、および、オスとメスの間に性差があるかどうかを調べる。

このように、これまでほとんどその存在を知られることの無かった甲状腺における性ステロイド産生について、ステロイド代謝酵素の存在とその生体機能の調節に果たす機能的役割を明らかにすることが本研究の目的である。

3. 研究の方法

実験動物として Wistar 系ラットを用いた。実験には生後 2 週から 11 週までの雌雄動物と授乳中の雌動物を用いた。動物は麻酔後 4%PFA にて灌流固定し、取り出した甲状

腺を同固定液にて一晚浸漬固定した。10 μm 厚の凍結切片を作製し、ステロイド代謝酵素に対する特異抗体を用いて ABC 法などによって免疫染色を行った。使用した抗体は、アロマターゼ、5 α -リダクターゼ、P450_{scc}、3 β -HSD、CYP17、3 α -HSD などに対するものである。

4. 研究成果

Wistar 系のラットの甲状腺濾胞上皮細胞と C 細胞に、アンドロゲン代謝に関与するアロマターゼと 5 α -リダクターゼの発現を免疫組織化学的に検出した。生後 2 週から 11 週までの雌雄動物と授乳中の雌動物において、アロマターゼは生後 2 週からの雌雄で濾胞上皮細胞と C 細胞に同程度に発現し、成熟に伴って C 細胞の免疫染色性が増加した。C 細胞の免疫染色性は授乳中の雌で増強した。5 α -リダクターゼも同様に濾胞上皮細胞と C 細胞に同程度に認められたが、免疫染色性は成熟経過に伴い低下した。両酵素とも免疫染色性は雌の方が強かった。これら以外のステロイド代謝酵素についても免疫組織学的に検討を加えて、P450_{scc}、3 β -HSD、CYP17、3 α -HSD などが濾胞上皮細胞と C 細胞に発現し、各々の酵素が特徴的な発現パターンを示すことを確認した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 4 件)

1. Ueda K, Ueyama T, Yoshida K, Kimura H, Ito T, Shimizu Y, Oka M, Tsuruo Y, Ichinose M: Adaptive HNE-Nrf2-HO1 pathway against oxidative stress is associated with acute gastric mucosal lesions. *Am J Physiol* 295: G460-G469, 2008 査読有
2. Ueyama T, Kasamatsu K, Hano T, Tsuruo Y, Ishikura F: Catecholamines and

estrogen are involved in the pathogenesis of emotional stress-induced acute heart attack. Ann NY Acad Sci 1148: 479-480, 2008 査読有

3. 上山敬司, 鶴尾吉宏, 石蔵文信: エストロゲンは心血管系と神経系とに作用し、情動的ストレスとカテコラミンで誘発される急性心不全を改善する. 自律神経 45: 98-100, 2008 査読無
4. Ueyama T, Ishikura F, Matsuda A, Asanuma T, Ueda K, Ichinose M, Kasamatsu K, Hano T, Akasaka T, Tsuruo Y, Morimoto K, Beppu S. Chronic estrogen supplementation following ovariectomy improves the emotional stress-induced cardiovascular responses by indirect action on the nervous system and by direct action on the heart. Circ J 71: 565-573, 2007 査読有

〔学会発表〕(計 6 件)

1. 上山敬司, 鶴尾吉宏: たこつぼ心筋症モデルにおける、ヘムオキシゲナーゼの増加. 第 61 回日本自律神経学会総会, 2008. 11.7. 横浜
2. 上田和樹, 上山敬司, 岡政志, 鶴尾吉宏, 一瀬雅夫: Polaprezinc による HO-1 誘導作用. 第 50 回日本消化器病学会, 2008. 10.1. 東京
3. 上山敬司, 伊藤隆雄, 鶴尾吉宏: 情動的ストレス誘発心不全におけるヘムオキシゲナーゼの増加. 第 113 回日本解学会総会, 2008. 3.29. 大分
4. Ueyama T, Tsuruo Y. Estrogen modulates the emotional stress- and catecholamine-induced acute heart failure. 5th congress of the international society for autonomic neuroscience, 2007.10.5-8, Kyoto,

Japan

5. Ueyama T, Tsuruo Y, Akashi YJ. Surge of catecholamines and reduction of estrogen trigger the emotional stress-induced acute cardiac dysfunction in human and in rat. Satellite symposium of 5th congress of the international society for autonomic neuroscience, 2007.10.3, Wakayama, Japan
6. Ueyama T, Tsuruo Y, Ishikura F. Catecholamine and estrogen are involved in the pathogenesis of stress-induced acute heart attack. 9th symposium on catecholamines and other neurotransmitters in stress, 2007.6.16-21, Smolenice Castle, Slovakia

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鶴尾 吉宏 (TSURUO YOSHIHIRO)
和歌山県立医科大学・医学部・教授
研究者番号: 90207449

(2) 研究分担者

上山 敬司 (UEYAMA TAKASHI)
和歌山県立医科大学・医学部・准教授
研究者番号: 50264875
伊藤 隆雄 (ITO TAKAO)
和歌山県立医科大学・医学部・助教
研究者番号: 30315931

(3) 連携研究者