

令和 6 年 6 月 16 日現在

機関番号：34104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2023

課題番号：19K09007

研究課題名(和文) POMCを軸とする内分泌ネガティブフィードバック機構の分子機序の解明

研究課題名(英文) Molecular mechanisms of negative feedback regulation of hypothalamo-pituitary-adrenal axis

研究代表者

岩崎 泰正 (Iwasaki, Yasumasa)

鈴鹿医療科学大学・保健衛生学部・教授

研究者番号：30303613

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：視床下部・下垂体・副腎(HPA)軸におけるグルココルチコイド(GC)ネガティブフィードバック調節機構の分子機序を解明する目的で、in vitroの系を用いた分子生物学的解析を行った。その結果、FKBP4, FKBP5およびHDAC6はGC受容体(GR)とGCとの親和性を修飾することにより、またGDF15はGC依存性に発現が誘導され視床下部・下垂体の両方でCRHやPOMCの発現を調節することにより、いずれもHPA系の調節に関与することが明らかとなった。HPA軸のネガティブフィードバック調節では、多数の因子による複雑かつ緻密な調節が行われている可能性が示唆される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

視床下部・下垂体・副腎軸によるストレスホルモン分泌制御機構の解明は、ストレス過多の社会における重要な研究領域である。今回の研究で対象となった生理活性物質は、今後の抗ストレス薬の治療標的となる可能性があり、創薬への応用が期待される。

研究成果の概要(英文)：We investigated the molecular mechanisms underlying the negative feedback regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis using hypothalamic and pituitary cells in vitro. We found that FKBP4 and 5, as well as HDAC6 regulate binding affinity between glucocorticoid hormone receptor and its chaperone molecule (HSP90), whereas GDF15 is induced by glucocorticoid and involved in both CRH and POMC gene transcription. These bioactive molecules may be future targets for the development of anti-stress medicine.

研究分野：内分泌学

キーワード：プロオピオメラノコルチン ストレス ネガティブフィードバック グルココルチコイド 下垂体

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

研究成果の概要 (和文)

視床下部・下垂体・副腎 (HPA) 軸におけるグルココルチコイド (GC) ネガティブフィードバック調節機構の分子機序を解明する目的で、*in vitro* の系を用いた分子生物学的解析を行った。その結果、FKBP4,FKBP5 および HDAC6 は GC 受容体 (GR) と GC との親和性を修飾することにより、また GDF15 は GC 依存性に発現が誘導され視床下部・下垂体の両方で CRH や POMC の発現を調節することにより、いずれも HPA 系の調節に関与することが明らかとなった。HPA 軸のネガティブフィードバック調節では、多数の因子による複雑かつ緻密な調節が行われている可能性が示唆される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

視床下部・下垂体・副腎軸によるストレスホルモン分泌制御機構の解明は、ストレス過多の社会における重要な研究領域である。今回の研究で対象となった生理活性物質は、今後の抗ストレス薬の治療標的となる可能性があり、創薬への応用が期待される。

We investigated the molecular mechanisms underlying the negative feedback regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis using hypothalamic and pituitary cells *in vitro*. We found that FKBP4 and 5, as well as HDAC6 regulate binding affinity between glucocorticoid hormone receptor and its chaperone molecule (HSP90), whereas GDF15 is induced by glucocorticoid and involved in both CRH and POMC gene transcription. These bioactive molecules may be future targets for the development of anti-stress medicine.

研究分野：内分泌学

キーワード：プロオピオメラノコルチン ストレス ネガティブフィードバック グルココルチコイド 下垂体

1. 研究開始当初の背景

視床下部・下垂体・副腎系におけるネガティブフィードバック調節は、内分泌系を象徴する代表的な制御機構として古くから知られている。我々は、ACTH 産生腺腫細胞においてネガティブフィードバック調節が減弱ないし消失する分子機序を、2006年に報告した (Endocrinology 2006; 147: 769-772)。しかし健常状態におけるネガティブフィードバック調節の分子機序の詳細はまだ完全には明らかにされていない。

2. 研究の目的

視床下部・下垂体・副腎系におけるネガティブフィードバック調節の分子機序解明に焦点を当てた今回の研究では、GC 受容体 (GR) およびシャペロン蛋白 (HSP90) と相互作用する可能性の高い分子のうち HDAC6 に、また GC で誘導される分子として GDF15 に焦点を当て、それらが視床下部・下垂体・副腎系におけるネガティブフィードバック調節に関与しているか否かを、主として *in vitro* の系を用いて解析した。

3. 研究の方法

下垂体由来 POMC 発現 AtT20 細胞ならびに視床下部由来 CRH 産生 4B 細胞を用いた *in vitro* の系を用いた。POMC 発現の変動は、TaqMan probe を用いた real-time PCR 法により解析した。

4. 研究成果

(1) 視床下部・下垂体・副腎系のネガティブフィードバック調節における FK506 結合蛋白の役割

下垂体 ACTH 産生細胞では複数の FK506 結合蛋白 (FKBPs) が発現し、GR への核移行を制御している。今回我々は AtT20 細胞において代表的な GC であるデキサメタゾン (dex) が FKBP4 および FKBP5 の発現に対する影響を検討した。その結果、dex は FKBP4 に対しては抑制効果を、FKBP5 に対しては顕著な発現誘導効果を発揮することが明らかとなった。また dex による POMC 転写抑制は siFKBP4 で部分的に解除され、siFKBP5 では逆に更に増強されたことから、FKBPs が GC による POMC 抑制性転写制御に深く関与していることが明らかとなった (Int J Mol Sci 2021; 22:5724)。

(2) 視床下部・下垂体・副腎系のネガティブフィードバック調節における HDAC6 の役割

下垂体 ACTH 産生細胞において GR はシャペロン蛋白 HSP90 と結合しているが、その結合能は HSP90 のアセチル化状態によって変化する。ヒストン脱アセチル化酵素 (HDACs) のうち HDAC6 は HSP90 を脱アセチル化し、シャペロン機能を強化することが明らかにされている。このため今回の実験では HDAC6 の特異的な阻害薬である tubastatin A を用いて検討を行った。その結果、同薬剤の存在下では POMC 遺伝子転写は著明に抑制された。また dex による POMC 転写抑制を更に増強する方向に作用した。これらの結果より、HDAC6 は HSP90 を脱アセチル化することで GR を細胞質に留め置く方向に作用しているものと推察され、同分子が GR のアセチル化状態を調節することにより、GC によるネガティブフィードバックに関与している可能性が示唆された (Endocrine Journal 2022;69:1053-1060)。なお、興味深いことに tubastatin A は ACTH 産生細胞の増殖も抑制したことから、クッシング腺腫の治療薬としても有望と考えられる。

(3) 視床下部・下垂体・副腎系のネガティブフィードバック調節における GDF15 の役割

GDF15 はストレス依存性サイトカインとして近年注目を集めている調節因子である。GDF15 遺伝子は GC によって誘導されることから、我々は下垂体 ACTH 産生細胞における GDF15 の発現と GC の効果を検討した、その結果、GDF15 遺伝子は AtT20 細胞に発現し、また GDF15 の受容体 GFRAL も発現していることが明らかとなった。また外因性 GDF15 は GFRAL を介して POMC 遺伝子の発現を抑制した。この GDF15 の作用を siGDF15 で消去した条件下では、dex による POMC 遺伝子転写抑制が部分的に解除された。これらの結果より、GDF15 は下垂体 ACTH 産生細胞で産生されるオートクリン/パラクリン因子であること、同因子が GC による POMC 発現へのネガティブフィードバック調節に部分的に関与している可能性が示唆された (Peptides 2022; 155:170841)。

一方、視床下部由来 4B 細胞を用いた検討では、外因性 GDF15 は GFRAL を介して CRH 遺伝子発現および転写活性を促進した (Peptides 2023; 170:171112)。GDF15 は種々の末梢組織でストレスおよび GC 依存性に産生されるため、産生された GDF15 は末梢血由来で視床下部 CRH 発現を促進する一方、下垂体レベルでは POMC 発現抑制を介して CRH 作用を遮断し、視床下部・下垂体・副腎系軸を適切なレベルに維持するという新たなフィードバック調節機序の存在が明らかとなった。

引用文献：なし

5. 主な発表論文等

1. Kageyama K, Iwasaki Y, et al. Differential Effects of Fkbp4 and Fkbp5 on Regulation of the Proopiomelanocortin Gene in Murine AtT-20 Corticotroph Cells. *Int J Mol Sci* 2021;22:5724.
2. Kageyama K, Iwasaki Y, et al. Growth differentiation factor-15 modulates adrenocorticotrophic hormone synthesis in murine AtT-20 corticotroph cells. *Peptides* 2022;155:170841.
3. Hagiwara R, Kageyama K, Iwasaki Y, et al. Effects of tubastatin A on adrenocorticotrophic hormone synthesis and proliferation of AtT-20 corticotroph tumor cells. *Endocr J* 2022;69:1053-1060.
4. Tasso M, Kageyama K, Iwasaki Y, et al. Growth differentiation factor-15 stimulates the synthesis of corticotropin-releasing factor in hypothalamic 4B cells. *Peptides* 2023;170:171112.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kageyama K, Iwasaki Y, et al.	4. 巻 155
2. 論文標題 Growth differentiation factor-15 modulates adrenocorticotrophic hormone synthesis in murine AtT-20 corticotroph cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Peptides	6. 最初と最後の頁 170841
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.peptides.2022.170841	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hagiwara R, Kageyama K, Iwasaki Y, et al.	4. 巻 69
2. 論文標題 Effects of tubastatin A on adrenocorticotrophic hormone synthesis and proliferation of AtT-20 corticotroph tumor cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Endocrine Journal	6. 最初と最後の頁 1053-1060
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1507/endocrj.EJ21-0778	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kageyama K, Iwasaki Y, et al.	4. 巻 22
2. 論文標題 Hypothalamic Regulation of Corticotropin-Releasing Factor under Stress and Stress Resilience.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 12242-12255
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms222212242	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Tasso M, Kageyama K, Iwasaki Y, et al.	4. 巻 170
2. 論文標題 rowth differentiation factor-15 stimulates the synthesis of corticotropin-releasing factor in hypothalamic 4B cells.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Peptides	6. 最初と最後の頁 171112
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.peptides.2023.171112	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------