

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：32643

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2023

課題番号：19K11651

研究課題名(和文)糖質コルチコイド制御による、老化のコントロールを目指す研究

研究課題名(英文) Exploring Mechanisms of Age-Related Glucocorticoid Hypersecretion

研究代表者

安達 三美 (Adachi, Mimi)

帝京大学・医学部・教授

研究者番号：10323693

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)：加齢により、代謝異常や免疫能低下などの老化関連疾患が罹患しやすくなるが、糖質コルチコイド(Glucocorticoid: GC)の過剰分泌によって起こる病態と共通している。そこで、老化進行におけるGCの関与を明らかにするため、加齢によるGC産生系の変化について検討した。その結果、(1)高齢の雄マウスの副腎皮質において、GC分泌は、本来低く抑制される時間帯にも過剰に分泌され、日内変動が消失すること、(2)老化細胞除去薬は、副腎に蓄積した老化細胞の除去とともに、GCレベルを改善すること、(3)副腎皮質に蓄積した老化細胞から分泌されるIL1^βがGCの過剰分泌を引き起こすことを発見した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で発見した新規の糖質コルチコイド分泌メカニズムは、副腎皮質にとどまらず、受容体を有する多くの臓器組織に影響を及ぼすことが考えられる。したがって、GC分泌様式を若返らせることにより、GCの過分泌によって引き起こされ、また老化関連疾患でもある代謝異常などの疾患の発症および老化そのものを予防、または治療できることが期待できる。さらに広く成人疾患の治療戦略として波及することが期待される。また老化細胞がどのように、組織の老化を促進するかについて理解する上で、老化研究自体に大きな示唆を与えるものである。以上より、学術的、社会的な意義は大変大きいと思われる。

研究成果の概要(英文)：Recently, it has become clear that changes in an individual's function with aging are largely related to SASPs secreted by senescent cells that accumulate in various tissues. Glucocorticoids (GCs) play an important role in regulating metabolism and immune responses through glucocorticoid receptor (GR), which is present in many organ tissues. GC deregulation leads to various diseases such as metabolic and immune abnormalities, which are also common pathologies of aging-related diseases. However, the age-related changes in the secretion mechanisms of GCs were not obvious. In this study, we found that hypersecretion of GC is caused by the secretion of IL1^β, one of the SASPs, from senescent cells that accumulate in the adrenal cortex, resulting in the disappearance of GC diurnal oscillation in aged mice. The novel GC hypersecretory mechanism in aged adrenal cortex could be a potential target for new aging research.

研究分野：加齢医学

キーワード：老化 細胞老化 糖質コルチコイド SASP IL1^β SF1

1. 研究開始当初の背景

老化研究-老化現象や老化関連疾患の予防や治療の研究-は、医学研究において最も注目を集めている分野の一つである。近年、老化した個体の組織において、老化細胞が蓄積し、老化細胞が分泌する SASP (Senescence-associated secretory phenotype) 因子により細胞や組織の機能が低下し、多くの疾患が引き起こされることが明らかになってきた。しかしながら、現在明らかにされていることは限定的である。特に内分泌器官であり、全身組織に受容体が存在し、生存のためのホメオスタシスを広く制御する糖質コルチコイド (glucocorticoid: GC) を産生する副腎皮質の老化については、ほとんどわかっていない状況である。

本研究の代表者は当初、老化副腎皮質組織 (細胞) において GC 合成が上昇していることを見出した。副腎皮質から分泌されるステロイドホルモンの一つである GC は、視床下部-下垂体-副腎皮質系 (hypothalamus-pituitary-adrenal axis: HPA axis) によって制御されている。HPA axis は生体の恒常性を維持するうえで重要な役割を持つ。特にストレス応答の際に HPA axis が活性化されると視床下部から corticotropin releasing hormone (CRH) や vasopressin が産生・放出され、脳下垂体からの adrenocorticotrophic hormone (ACTH) 放出を促進する。その結果、副腎皮質から GC が分泌される (図 1)。HPA 軸は、厳密なフィードバック機構を有しており、糖質コルチコイドが過剰に産生されると、GC 受容体 (glucocorticoid receptor: GR) を介して、下垂体前葉の ACTH 産生細胞においてその産生・分泌が抑制される。同様に視床下部の CRH 産生細胞において、GR を介して CRH の産生・分泌も抑制される。この負のフィードバック機構によって、生体内の GC の量が適切にコントロールされている (図 1)。

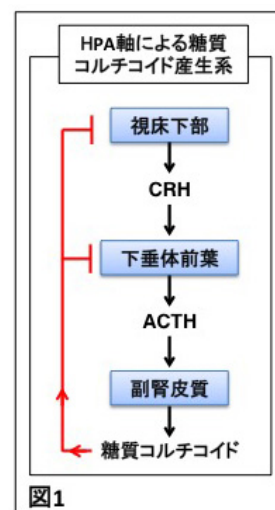


図1

GC は、糖新生や、抗免疫効果などの生理機能を持ち、分泌過多により耐糖能異常や免疫能低下などを引き起こすことで知られている。これらの病態は、老化によって引き起こされやすくなる老化関連疾患と共通している。また最近、加齢に伴う、うつ、不安、神経変性疾患、免疫、代謝性疾患の病理学的所見として、GC や CRH 量の著しい増加が認められるなどの報告がなされており、HPA axis、GC の老化における役割が、注目されつつある。GC 合成の適切なコントロールにより、予防や治療につながる事が期待できる。

研究代表者は、副腎皮質の老化における GC 分泌メカニズムの変化について研究してきた。以下の結果を得ていた。ヒト副腎皮質腫瘍細胞株 H295R 細胞に、細胞老化を惹起させたところ、ストレス因子として知られている GADD45A を介して GC 産生の亢進が起こることを見出し、細胞老化に伴う新規の GC 産生機構を明らかにした (Tamamori-Adachi et. al., *Scientific Reports* 2018)。しかし、*in vivo*、すなわち個体において、同様の機構が存在するかについてはわかっていなかった。

2. 研究の目的

マウス個体において、老化によって出現する HPA 非依存的な副腎皮質における GC 産生系のメカニズムが存在するか検討を行う。存在が確認されればそれを分子レベルで解明する。さらにその系を抑制することにより、老化の抑制、老化関連疾患治療にアプローチすることを本研究の目的とする。

3. 研究の方法

- (1) 4-7 ヶ月齢の若齢のマウス (young mouse: YM) と、24 ヶ月齢以上の高齢マウス (old mouse: OM) の比較
 - ① マウス GC であるコルチコステロン (CORT) 血中濃度の日内変動を解析する。
 - ② GC 産生を担う副腎皮質束状帯の解析: p16ink4 (p16), SA- β gal, gH2AX, 53BP1 などの細胞老化のマーカーと SASP 因子群、ステロイドホルモン産生制御に関与するステロイドホルモン産生酵素群について、遺伝子発現解析と免疫組織学的解析を行う。いずれも ZT0 に回収する。遺伝子発現解析は、副腎皮質の GC (CORT) 産生を担う束状帯をレーザーマイクロダイセクションにて単離したサンプルを用いて行う。
- (2) OM に老化細胞除去薬 (D: dasatinib + Q: quercetin) を投与し、加齢依存的に出現する高 GC に、老化細胞の蓄積が関与するか検討する。
- (3) 老化によって出現する新規 GC 産生の分子メカニズムを探索する。

4. 研究成果

(1) OM では、GC が一日中高分泌され、日内変動が消失する

YM と、OM で、CORT の 6 時間毎の血漿濃度の測定を行った。YM では、朝 (ZT0, 8:00AM) に低く、夜 (ZT12, 8:00PM) に高い日内変動を示したが、オスの OM では、一日中、YM の ZT12 と同程度の高い状態が持続し、日内変動の消失が認められた。ACTH は、一日中低く抑えられており、OM の高 CORT は、HPA 軸非依存的であることが示唆された。高齢のメスマウスでは、日内変動が維持されていた。以下、オスマウスを用いて、朝 (ZT0) にフォーカスして実験を行った。

(2) OM の副腎皮質には、老化細胞が蓄積する

- ① 遺伝子発現解析において、YM と比較して OM では、老化マーカーである p16 が顕著に増加した。また、SASP 因子群を比較したところ、主な SASP 因子である I11b のみ有意な上昇を認めたが、Tnfa や I16 など、他の因子は変化しなかった。
- ② 免疫組織学的解析において、OM では、副腎皮質束状帯の約 60~80%の細胞に、老化細胞のマーカーである p16、SA- β gal、gH2AX、53BP1 を発現する細胞が観察され、老化細胞

が蓄積することが示唆された。さらに約半数の細胞に、SASP 因子の IL1 β の強い発現が認められた。すなわち、OM では、GC 産生を担う副腎皮質束状帯において、老化細胞が蓄積することが明らかになった。

(3) OM では、ステロイド産生系が亢進する

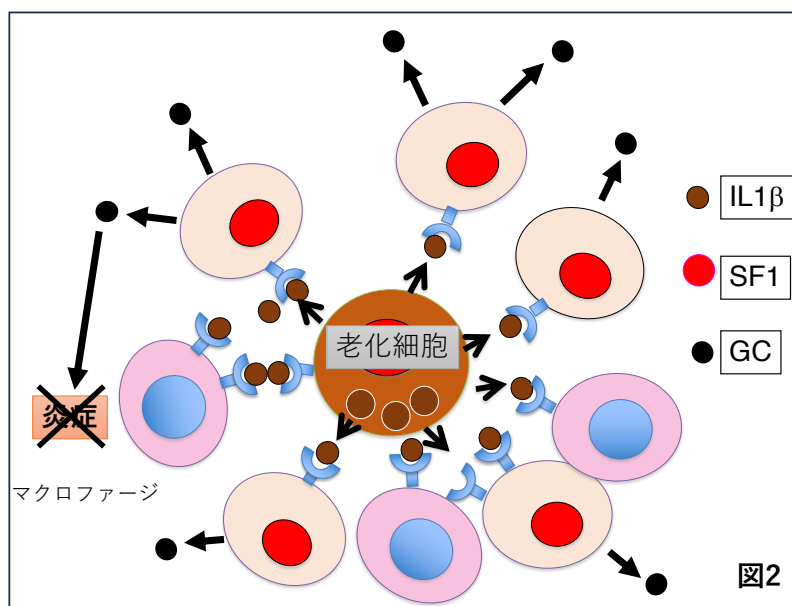
- ① 遺伝子発現解析において、YM と比較して OM では、ステロイド産生における最も重要な転写因子である Sf1/Ad4bp が明らかに亢進し、さらに SF1 のターゲットのステロイド産生系酵素である Cyp11a1, Star, Cyp11b1 の有意な発現上昇が認められた。
- ② 免疫組織学的解析において、SF1 を高発現する細胞が過半数認められ、ステロイド産生および分泌が SF1/Ad4BP (SF1) を介して誘導されることが示唆された。StAR を高発現する細胞も同様に認められた。

(4) 細胞老化除去により、GC 分泌攪乱が回復する

OM に 4 ヶ月間、老化細胞除去薬 (D + Q) を投与した。その結果、老化マーカー陽性の老化細胞がほとんど消失し、SF1 高発現細胞の減少と高血漿 GC の改善が認められ、日内変動も回復した。したがって、GC 分泌攪乱は、老化細胞の蓄積に起因することが明らかになった。

(5) IL1 β 阻害により、GC 分泌攪乱が回復する

分子メカニズムを掘り下げるため、主な SASP 因子である IL1 β 発現が上昇することに注目した。OM に約 2 ヶ月間、IL1 β の中和抗体を投与し、IL1 β の作用を阻害した。その結果、SF1 高発現細胞の減少と高血漿 GC の改善が認められ、日内変動も回復した。すなわち、高齢マウスでは、副腎皮質束状帯に蓄積した老化細胞が分泌する炎症性サイトカイン IL1 β が、周囲の副腎皮質細胞へ作用して、SF1 高発現を誘導し、GC 分泌を促進することが示された (図 2)。



以上により、加齢マウスの副腎皮質に蓄積した老化細胞に起因した、新規の GC 産生メカニズムが明らかになった。また、本研究結果は、老化細胞がどのように、組織の老化を促進するかについて理解する上で、老化研究自体に大きな示唆を与えるものである。本研究内容は、*Aging Cell* に 2024 年 5 月 20 日にオンライン掲載された (Okudara N, Tamamori-Adachi M, *et. al.* : Accumulation of senescent cells in the adrenal gland induces hypersecretion of corticosterone via IL1b secretion. *Aging Cell* 2024 May 20; e14206. doi: 10.1111/accel.14206. Online ahead of print.)。以上により、老化マウスにおける GC 分泌攪乱のメカニズムの一端は明らかになったが、加齢による GC 分泌攪乱が、個体の老化へ及ぼす影響については、未解明な状態である。今後明らかにしていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Okudaira N, Tamamori-Adachi M et. al.	4. 巻 -
2. 論文標題 Accumulation of senescent cells in the adrenal gland induces hypersecretion of corticosterone via IL1b secretion.	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Aging Cell	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/accel.14206.	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 Akimoto M, and Tamamori-Adachi M et. al.	4. 巻 120
2. 論文標題 Hypoxia induces downregulation of the tumor-suppressive sST2 in colorectal cancer cells via the HIF-nuclear IL-33-GATA3 pathway.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.	6. 最初と最後の頁 e2218033120
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2218033120.	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 Okudaira N, Ishizaka Y, Tamamori-Adachi M	4. 巻 12
2. 論文標題 Resveratrol blocks retrotransposition of LINE-1 through PPAR and sirtuin-6.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Sci. Rep.	6. 最初と最後の頁 7772
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-11761-0.	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 Akimoto M, and Tamamori-Adachi M et. al.	4. 巻 298
2. 論文標題 A novel LncRNA PTH-AS upregulates interferon-related DNA damage resistance signature genes and promotes metastasis in human breast cancer xenografts.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J. Biol. Chem.	6. 最初と最後の頁 102065
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jbc.2022.102065.	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 Kikuyama T, Susa T, Tamamori-Adachi M, et. al.	4. 巻 199
2. 論文標題 25(OH)D3 stimulates the expression of vitamin D target genes in renal tubular cells when Cyp27b1 is abrogated.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Steroid Biochem Mol Biol.	6. 最初と最後の頁 105593
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jsbmb.2020.105593	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34件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 秋元美穂、安達 (玉盛) 三美 et al.
2. 発表標題 低酸素下の大腸がん細胞における腫瘍抑制性sST2発現低下とその回復による腫瘍増殖と転移の抑制.
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 奥平准之、安達 (玉盛) 三美 et al.
2. 発表標題 老齢マウスのグルココルチコイド分泌過多の制御機構.
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 諏佐 崇生、安達 (玉盛) 三美 et al.
2. 発表標題 前立腺がん細胞においてアンドロゲン受容体に相互作用する阻害因子の同定とゲノム編集を利用した発現誘導系の試み.
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 秋元美穂、安達(玉盛)三美 et al.
2. 発表標題 可溶性インターロイキン - 3 3 受容体の大腸がん低酸素領域限定的な発現誘導による抗腫瘍および抗転移効果 .
3. 学会等名 第96回日本生化学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 奥平准之、安達(玉盛)三美 et al.
2. 発表標題 副腎の老化によるAd4BP/SF1の発現増加がグルココルチコイドの分泌過多を誘導する .
3. 学会等名 第96回日本生化学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 諏佐 崇生、安達(玉盛)三美 et al.
2. 発表標題 アンドロゲンシグナルに阻害作用を示すアンドロゲン受容体相互作用因子の同定とゲノム編集を利用した発現誘導系の試み .
3. 学会等名 第96回日本生化学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 久樹晴美、安達(玉盛)三美 et al.
2. 発表標題 サボシンD欠損マウスの多飲症は口渴中枢でのプロサボシンの増加に起因する .
3. 学会等名 第96回日本生化学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 秋元美穂、安達(玉盛)三美 et al.
2. 発表標題 Hypoxia-induced downregulation of sST2 in CRC cells: its molecular mechanisms and role in tumor growth and metastasis.
3. 学会等名 第82回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 奥平准之、安達(玉盛)三美 et al.
2. 発表標題 加齢に伴うマウスコルチコステロンの日内リズム破綻のメカニズムの解析
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 諏佐 崇生、安達(玉盛)三美 et al.
2. 発表標題 アンドロゲン受容体およびスプライシングバリエントに対するH0XC9阻害作用の解析
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 奥平准之、安達(玉盛)三美 et al.
2. 発表標題 副腎老化と糖質コルチコイド産生系の亢進機序
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小原 幸弘、安達(玉盛)三美 et al.
2. 発表標題 マウス肝臓では加齢に伴ってエネルギー代謝関連遺伝子発現がダイナミックに変化する
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 秋元美穂、安達(玉盛)三美 et al.
2. 発表標題 大腸がん低酸素領域限定的な可溶性IL-33受容体発現の回復は腫瘍の増殖と転移を抑制する
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 秋元美穂、安達(玉盛)三美 et al.
2. 発表標題 加齢に伴うマウスコルチコステロンの日内リズム破綻における時計遺伝子の関与
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 坪井栄希、安達(玉盛)三美 et al.
2. 発表標題 アンドロゲン受容体スプライシングバリエントに対するH0XC9阻害作用の解析
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 久樹晴美、安達(玉盛)三美 et al.
2. 発表標題 Saposin D欠損マウスの多飲症はプロサポシンの増加が原因か?
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 諏佐 崇生、安達(玉盛)三美 et al.
2. 発表標題 ヒト前立腺癌細胞にてDHTで抑制されるHOXC9はARの阻害因子として機能する
3. 学会等名 第95回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 奥平准之、安達三美ほか
2. 発表標題 加齢に伴うマウスコルチコステロン 濃度の変化と制御機構
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 久樹晴美、安達三美ほか
2. 発表標題 Saposin D欠損マウスが原発性多飲症を発症する原因は何か?
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 諏佐崇生、安達三美ほか
2. 発表標題 ヒト前立腺癌細胞にてHOXC9はARの阻害因子として機能する
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 奥平准之、安達三美ほか
2. 発表標題 老化細胞除去薬によるコルチコステロン濃度の制御
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 秋元美穂、安達三美ほか
2. 発表標題 低酸素下の大腸がん細胞における腫瘍抑制性sST2の発現低下のメカニズムと腫瘍増殖に及ぼす影響の解析
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 安達三美ほか
2. 発表標題 ライフイベントに備えた、基礎研究従事者のススメ
3. 学会等名 第86回日本泌尿器科学会東部総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 安達（玉盛）三美等
2. 発表標題 加齢による糖質コルチコイド分泌攪乱のメカニズムの解析
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 奥平准之、安達（玉盛）三美等
2. 発表標題 The change of steroidogenesis with aging in mouse adrenal gland
3. 学会等名 第43回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 諏佐崇生、安達（玉盛）三美等
2. 発表標題 HOXC遺伝子を軸としたビタミンD3によるヒト前立腺癌の抗増殖作用の分子機序
3. 学会等名 第93回 日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 諏佐崇生、安達（玉盛）三美等
2. 発表標題 HOXC遺伝子を軸としたビタミンD3によるヒト前立腺癌の抗増殖作用の分子機序
3. 学会等名 第43回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 秋元美穂、安達（玉盛）三美等
2. 発表標題 異所性副甲状腺ホルモン産生悪性線維性組織球腫で検出された新規lncRNAの解析
3. 学会等名 第43回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 久樹晴美、安達（玉盛）三美等
2. 発表標題 Saposin D-KOマウスの飲水行動とprogranulin
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 安達（玉盛）三美 et al.
2. 発表標題 時計関連遺伝子群が、糖質コルチコイド分泌攪乱に伴う諸組織の老化に緊密に関与する.
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 諏佐 崇生、安達（玉盛）三美 et al.
2. 発表標題 ヒト前立腺癌LNCaP細胞におけるDHTとビタミンD3によるHOXC遺伝子群の拮抗的な転写制御機構
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 久樹 晴美、安達(玉盛)三美 et al.
2. 発表標題 saposin D欠損マウスの過剰飲水行動を制御するタンパク質
3. 学会等名 第92回日本生化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 菊山 崇浩、安達(玉盛)三美 et al.
2. 発表標題 25(OH)D3は腎細胞においてビタミンD3活性を發揮する.
3. 学会等名 第62回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 諏佐 崇生、安達(玉盛)三美 et al.
2. 発表標題 5(OH)D3は腎細胞においてビタミンD3活性を發揮する.
3. 学会等名 第92回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2019年

〔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
---------	---------