

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08863

研究課題名（和文）性ホルモンが副腎皮質の細胞増殖に性差をもたらすメカニズムの解明

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanism establishing sex difference in adrenal cortex cell proliferation by sex hormones

研究代表者

馬場 崇 (Baba, Takashi)

九州大学・医学研究院・准教授

研究者番号：40435524

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）：副腎の発生、および機能発現のマスター因子であるAd4BPが、副腎皮質束状層細胞におけるグローバルな遺伝子発現に性差（メス>オス）を誘導することを明らかにした。また、Ad4BPが、発現する全ての遺伝子うち半数以上を直接制御することを明らかにした。副腎皮質束状層細胞の性差が内分泌系を介して他の器官に及ぼす影響について、特に骨格筋への影響に焦点を当てて検討を行った。その結果、Ad4BPは性ホルモンにตอบสนองして副腎におけるグローバルな遺伝子発現に性差をもたらし、その結果、グルココルチコイドの産生に性差が生まれ、グルココルチコイドの標的器官の一つである筋線維の太さに性差を誘導することが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

この研究の主な学術的意義は、副腎の発生と機能司る転写因子Ad4BPの発現量の性差が、副腎皮質束状層細胞における遺伝子発現に性差をもたらすことを明らかにした点です。この研究は、副腎の性差に関する新たな洞察を提供し、内分泌系と他の器官の関係性を理解する上で重要な役割を果たしています。特に、性ホルモンと副腎の相互作用がグルココルチコイドの産生や筋線維の太さに影響を与えることが示されたことは、生物学的な性差の理解に貢献します。これらの知見は、副腎機能や内分泌調節の研究において重要な基盤を提供し、将来的には新たな治療法や予防策の開発につながる可能性があります。

研究成果の概要（英文）：We have revealed that Ad4BP, a master regulator of adrenal development and function, induces sexual dimorphism (female > male) in global gene expression in the adrenocortical zona fasciculata cells. Furthermore, using CUT&RUN-seq, we have demonstrated that Ad4BP, as a transcription factor, directly controls over half of all genes expressed in the adrenocortical zona fasciculata cells.

We also investigated the impact of sexual dimorphism in global gene expression in adrenocortical zona fasciculata cells on other organs, particularly focusing on skeletal muscles. As a result, it was shown that heterozygous deficiency of Ad4BP leads to an increase in cross-sectional area of skeletal muscle fibers (thickening of muscle fibers). Based on these findings, sexual dimorphism in global gene expression in the adrenal glands in response to sex hormones confer sexual dimorphism in the production of glucocorticoids leading to sexual dimorphism in the thickness of muscle fibers.

研究分野：生殖内分泌学

キーワード：副腎 性ステロイド グルココルチコイド 性差

1. 研究開始当初の背景

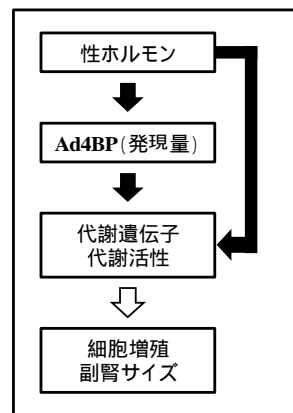
性ホルモンはその受容体である転写因子(男性ホルモン受容体: AR, 女性ホルモン受容体: ER α ならびに ER β)の活性化を通じ、全身の臓器や組織に構造的・機能的な性差を誘導する。例えば、骨格筋線維の収縮力の性差や副腎のサイズの性差(雌が雄よりも大きい)を制御すること等がマウス等を用いた実験で明らかにされている。副腎は腎臓上部に存在する臓器で、内部の髄質と外部の皮質に分けられる。サイズの性差が認められる副腎皮質では男性ホルモンが細胞分裂を抑制するとの報告がある。このような細胞増殖抑制活性に加え、性ホルモンは前立腺ガンや乳ガン細胞に対し増殖活性を発揮することも知られている。以上のように、性ホルモンが細胞増殖を制御することは広く認知されているものの、男性ホルモンが副腎皮質細胞の増殖を抑制するのに対し、前立腺ガン細胞の増殖を活性化するという逆方向の制御を行うことについての説明はなされていない。さらに、男性ホルモンが細胞周期関連遺伝子の発現を制御することは報告されているが、それが AR を介した直接的な制御であるか否かを含め、性ホルモンによる細胞増殖制御には不明な点が残されている。

2. 研究の目的

本研究の目的は、性ホルモンが副腎サイズに性差を誘導するメカニズムの解明である。我々は、代謝の統括的制御を担う転写因子 Ad4BP(SF-1/NR5A1)の副腎皮質における発現量が雄で低いという性差を示すこと、さらにこの性差が男性ホルモンによる Ad4BP の発現抑制により誘導されることを見出した。そしてこの結果をもとに、性ホルモンが Ad4BP の発現量の制御を通じその代謝制御に性差を与え、その結果副腎皮質の細胞増殖、ならびに副腎サイズに性差を誘導するのではないかと推測するに至った。そこで本研究では、副腎サイズの性差構築メカニズムを学術的問いと位置づけ、性ホルモンと Ad4BP による代謝と細胞増殖の制御という観点より、この問いを検討する。

3. 研究の方法

本研究では右図のように、①性ホルモンによる Ad4BP の発現制御、②Ad4BP による代謝関連の遺伝子発現、および代謝活性の制御、③性ホルモンによる代謝制御を明らかにする。以上の実験により、性ホルモンが Ad4BP の発現制御を介し、代謝を制御することで、副腎サイズに性差をもたらすことを明らかにする。以下の全ての計画において、雌雄の野生型、および Ad4BP ヘテロ欠損マウスから副腎皮質細胞を調製し実験に用いる。副腎皮質は機能が異なる3層から構成されている。本研究では、糖質コルチコイドを産生する束状層に焦点を当てる。Ad4BP ヘテロ欠損マウスでは Ad4BP タンパク質の発現量が野生型と比較しておよそ 50%に低下する。そこで、下の表に示す4群のサンプルを比較することで、Ad4BP の発現量が下記の各測定項目に及ぼす影響を明らかにする。



性	Ad4BP 遺伝型	Ad4BPの相対発現量 (雄野生型を100とする)
雌	野生型	200
	ヘテロ欠損	100
雄	野生型	100
	ヘテロ欠損	50

4. 研究成果

副腎の発生、および機能発現のマスター因子である Ad4BP が、副腎皮質束状層細胞におけるグローバルな遺伝子発現の性差(メス>オス)を誘導することを明らかにした。また、転写因子である Ad4BP が、副腎皮質束状層細胞で発現する全ての遺伝子うち半数以上を直接制御することを CUT&RUN-seq により明らかにした。また、グローバルな遺伝子発現を制御する際の仲介因子の同定を目指し、雄マウスを男性ホルモン作用阻害剤(フルタミド)で処理し、処理後経時的に副腎皮質束状層細胞を単離しトランスクリプトームを取得した。フルタミド処理直後に他の遺伝子に先駆けて発現変化する遺伝子を同定し仲介因子の候補とする計画であったが、そのような明確な発現変動を示す遺伝子は特定できなかった。男性ホルモンによる副腎皮質束状層細胞におけるグローバルな遺伝子発現制御のメカニズムの解明は今後明らかにすべき課題として残ることとなった。また上記に加え、副腎皮質束状層細胞におけるグローバルな遺伝子発現の性差が内分泌系

を介して他の器官に及ぼす影響について、特に骨格筋への影響に焦点を当てて検討を行った。雌雄の野生型、および Ad4BP ヘテロ欠損マウスの筋線維の断面積(CSA)の比較を行ったところ、元来 CSA は性差(雄>雌)を示すが、雌雄ともに Ad4BP ヘテロ欠損により CSA が大きくなることが明らかとなった。すなわち、Ad4BP のヘテロ欠損が誘導するグローバルな遺伝子発現の低下がグルココルチコイドの産生低下を引き起こし、その結果筋線維のタンパク質分解が抑制されることで CSA が大きくなることが強く示唆された。以上の結果から、Ad4BP は性ホルモンに応答して副腎におけるグローバルな遺伝子発現に性差をもたらす、その結果、グルココルチコイドの産生に性差が生まれ、グルココルチコイドの標的器官の一つである筋線維の大きさに性差を誘導することが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Inoue Miki, Baba Takashi, Takahashi Fumiya, Terao Miho, Yanai Shogo, Shima Yuichi, Saito Daisuke, Sugihara Kei, Miura Takashi, Takada Shuji, Suyama Mikita, Ohkawa Yasuyuki, Morohashi Ken-ichirou	4. 巻 5
2. 論文標題 Tmsb10 triggers fetal Leydig differentiation by suppressing the RAS/ERK pathway	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Communications Biology	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) 10.1038/s42003-022-03941-5	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 Christianto Antonius, Baba Takashi, Takahashi Fumiya, Inui Kai, Inoue Miki, Suyama Mikita, Ono Yusuke, Ohkawa Yasuyuki, Morohashi Ken-ichirou	4. 巻 4
2. 論文標題 Sex differences in metabolic pathways are regulated by Pfkfb3 and Pdk4 expression in rodent muscle	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communications Biology	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) 10.1038/s42003-021-02790-y	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 Fujisawa Yasuko, Ono Hiroyuki, Konno Alu, Yao Ikuko, Itoh Hiroaki, Baba Takashi, Morohashi Kenichirou, Katoh-Fukui Yuko, Miyado Mami, Fukami Maki, Ogata Tsutomu	4. 巻 6
2. 論文標題 Intrauterine Hyponutrition Reduces Fetal Testosterone Production and Postnatal Sperm Count in the Mouse	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of the Endocrine Society	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) 10.1210/jendso/bvac022	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 Han Soyun, Baba Takashi, Yanai Shogo, Byun Dong Jun, Morohashi Ken ichirou, Kim Jae Hong, Choi Man Ho	4. 巻 9
2. 論文標題 GC MS based metabolic signatures reveal comparative steroidogenic pathways between fetal and adult mouse testes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Andrology	6. 最初と最後の頁 400 ~ 406
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/andr.12893	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 該当する

1. 著者名 Morohashi Ken-ichirou, Inoue Miki, Baba Takashi	4. 巻 35
2. 論文標題 Coordination of Multiple Cellular Processes by NR5A1/Nr5a1	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Endocrinology and Metabolism	6. 最初と最後の頁 756 ~ 764
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3803/EnM.2020.402	査読の有無 無
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 Yanai Shogo, Baba Takashi, Inui Kai, Miyabayashi Kanako, Han Soyun, Inoue Miki, Takahashi Fumiya, Kanai Yoshiakira, Ohkawa Yasuyuki, Choi Man Ho, Morohashi Ken-ichirou	4. 巻 11
2. 論文標題 Gene expression and functional abnormalities in XX/Sry Leydig cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	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) 10.1038/s41598-020-80741-z	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 該当する

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 馬場崇
2. 発表標題 速筋線維におけるエネルギー代謝の性差とその制御メカニズム
3. 学会等名 馬場崇, Antonius Christiano, 諸橋憲一郎 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高橋史也, 馬場崇, Christiano Antonius, 柳井翔吾, 石渡 啓介, 中林 一彦, 秦 健一郎, 菊水健史, 諸橋憲一郎
2. 発表標題 骨格筋サイズは副腎の性差に依存する
3. 学会等名 第45回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高橋史也, 馬場崇, Christiano Antonius, 柳井翔吾, 石渡 啓介, 中林 一彦, 秦 健一郎, 菊水健史, 諸橋憲一郎
2. 発表標題 骨格筋サイズは副腎の性差に依存する
3. 学会等名 第30回日本ステロイドホルモン学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 馬場崇, Antonius Christiano, 高橋史也, 井上実紀, 諸橋憲一郎
2. 発表標題 速筋線維におけるエネルギー代謝の性差とその制御メカニズム
3. 学会等名 第30回日本ステロイドホルモン学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 馬場崇
2. 発表標題 核内受容体Ad4BP/SF-1によるステロイドホルモン合成の統括的制御機構の解明
3. 学会等名 第30回日本ステロイドホルモン学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 井上実紀, 馬場崇, 高橋史也, 柳井翔吾, 嶋雄一, 諸橋憲一郎
2. 発表標題 Tmsb10はRAS/ERK経路を抑制することで胎仔型ライディッヒ細胞の分化の引き金となる
3. 学会等名 第30回日本ステロイドホルモン学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高橋史也, 馬場崇, Christiano Antonius, 柳井翔吾, 石渡 啓介, 中林 一彦, 秦 健一郎, 諸橋憲一郎
2. 発表標題 Ad4BP/SF-1の発現量の性差によって誘導される細胞内代謝の性差
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 Antonius Christiano, Takashi Baba, Fumiya Takahashi, Kai Inui, Miki Inoue, Mikita Suyama, Yusuke Ono, Yasuyuki Ohkawa, Morohashi Ken-ichirou
2. 発表標題 Male-preferred glycolysis and female-preferred fatty acid utilization of skeletal muscle bestowed by Pfkfb3 and Pdk4
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 Miki Inoue, Takashi Baba, Fumiya Takahashi, Miho Terao, Shuji Takada, Ken-ichirou Morohashi
2. 発表標題 TMSB10 regulates fetal Leydig cell differentiation by activation of Hedgehog signal
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 馬場崇、井上実紀、諸橋憲一郎
2. 発表標題 ライディッヒ細胞の発生分化
3. 学会等名 第93回日本内分泌学会学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

九州大学 大学院医学研究院 分子生命科学系部門 性差生物学（分子生物学）講座 ホームページ
<https://www.med.kyushu-u.ac.jp/seisaseibutu/>
九州大学 大学院医学研究院 分子生命科学系部門 性差生物学講座（分子生物学）ホームページ
<https://www.med.kyushu-u.ac.jp/seisaseibutu/>
科研費 新学術領域研究 平成29-33年度 性スペクトラムー連続する表現型としての雌雄 ホームページ
<http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/sexspectrum/>

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
---------	---------