

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17512

研究課題名（和文）副腎皮質におけるBMPシステムの役割と血圧調整への作用

研究課題名（英文）Role of the BMP system and effect on blood pressure regulation in the adrenal cortex

研究代表者

原 孝行（Hara, Takayuki）

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：20794340

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000 円

研究成果の概要（和文）：血圧調整には副腎皮質ホルモンであるアルドステロン・コルチゾールが重要な役割を果たしている。我々は骨形成蛋白（BMP）が副腎皮質ホルモン合成に関与することを報告してきた。一方、BMP-9は糖尿病など生活習慣病との関連が報告されているが、副腎皮質での作用は十分に知られていない。本研究ではヒト副腎細胞であるNCI-H295Rを用いてBMP-9による副腎皮質ホルモン合成への作用を検討した。BMP-9はBMP受容体（ALK-1/BMPRII）を介してcAMP-PKA経路を抑制することで副腎皮質ステロイド産生を抑制することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究でBMP-9がアルドステロンやコルチゾールといった副腎皮質ホルモン合成に作用することが示された。アルドステロンやコルチゾールは体内での血圧変動に強く関与する。BMP-9の血中濃度と糖尿病や脂質異常症など生活習慣病との関連性は既に報告されており、BMP-9を中心に副腎皮質におけるBMPシステムの役割をさらに明らかにすることで、特にメタボリックシンドローム・肥満患者における高血圧に対する新たな治療戦略の選択肢となる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Adrenal hormones aldosterone and cortisol play an important role in blood pressure regulation. We have reported that bone morphogenetic proteins (BMPs) are involved in corticosteroid production. BMP-9 has been reported to be associated with lifestyle-related diseases. However, the effect of BMP-9 on adrenocorticosteroid production has remained unknown. In this study, we investigated the role of BMP-9 in the regulation of adrenocorticosteroid production using human adrenocortical H295R cells. BMP-9 inhibits corticosteroid production by suppressing the cAMP-PKA pathway via BMP receptors.

研究分野：内分泌学

キーワード：アルドステロン コルチゾール 副腎皮質ステロイド合成 骨形成蛋白(BMP)

1. 研究開始当初の背景

高血圧は日本国内で約 4000 万と最も多い生活習慣病であり、脳卒中・心疾患・腎疾患などの高血圧合併症を予防するために早期からの治療介入が重要である。アルドステロンは腎の遠位尿細管・集合管のミネラルコルコイド受容体に結合し、電解質・細胞外液量を調節するという古典的作用に加え、心筋リモデリングや血管の線維化や腎障害の進展など心・腎・血管系への直接的な組織傷害作用が明らかとなり、心不全や脳卒中、高血圧、腎不全等の「リスクホルモン」としての作用も注目されている。さらに、近年ではメタボリックシンドロームが注目されるようになったが、肥満による血圧上昇の原因としてレニン・アンジオテンシン・アルドステロン(RA)系の亢進、アルドステロン過剰が影響しているとされ、アルドステロン過剰がインスリン抵抗性の増悪の要因となるなど、さらなる生活習慣病の増悪へとつながる。従って Ang II だけでなく、アルドステロンを制御することが高血圧およびその合併症予防の観点からも大変重要である。

副腎皮質ホルモン産生と BMP システム

アルドステロンは副腎皮質球状層において、コレステロールを基質して合成され、主な合成・分泌の調節因子として Ang II、K 及び ACTH が知られているが、さらに局所での種々の autocrine/paracrine factor により制御されている (Endocr Rev 19:101, 1998)。我々は副腎皮質細胞内に TGF- β スーパーファミリー細胞増殖因子である骨形成蛋白: Bone Morphogenetic Protein-6 (BMP-6) や Activin のリガンド・受容体および結合蛋白を含む機能的 BMP システムが存在することを証明した (Endocrinology 145: 639, 2004)。BMP は組織特異的な 1 型・2 型受容体から成立しており、Smad1/5/8 シグナルにより核内へ情報伝達する。細胞外では結合蛋白、細胞内では抑制 Smad6/7 や種々の調節因子によりシグナル強度が巧みに調節されている。我々の検討では、卵巣ステロイド調節 (Endocrinology 148:337, 2007, Biol Reprod 74:1073, 2006)、甲状腺 TSH 受容体制御 (BBRC 327: 1124, 2005) などでも組織特異的な生理活性を有している。副腎皮質においては、アルドステロン合成能を有する副腎皮質細胞株: H295R 細胞を用いた検討で、副腎皮質に存在する BMP-6 が Ang II によるアルドステロン産生を刺激し、一方、Activin は ACTH によるアルドステロン産生を促進することを明らかにした (Endocrinology 147: 2681, 2006、Endocrinology 149: 2816, 2008)。

循環因子: BMP-9 とステロイドホルモン合成

BMP-9 は胎児期では脊髄や体節間膜で、成体期では肝臓や内皮細胞、造血組織、骨軟部組織に発現し、他の BMP ファミリーと比べ高濃度 (2~12 ng/ml) で血液中に存在する血中循環因子であることが知られている。BMP-9 は他の BMP と同様に細胞増殖や分化及びアポトーシス等に関連するとされるが、ホルモン産生への生理的な作用は明らかとなっていない点が多い。我々はラット卵巣顆粒膜初代培養細胞において、BMP-9 が BMP 受容体 (ALK-1/BMPRII) を介して FSH により誘導されたプロゲステロン合成を濃度反応性に抑制することを示した (JSMB 147:85, 2015)。しかし、BMP-9 による内分泌調節作用、特に副腎への作用について検討された研究報告は未だ行われていない。本研究で副腎皮質での BMP システムをさらに解明すべく、BMP-9 による副腎皮質ホルモン分泌への影響とその詳細な分子機序を検討する。

2. 研究の目的

本研究では副腎皮質における BMP システムの役割やその詳細な機序を明らかにすることを目的としており、特に BMP-9 の作用を中心に検討する。BMP-9 は循環因子「Endocrine factor」としての作用も注目され、近年では、2 型糖尿病の患者における循環 BMP-9 値の低下がインスリン抵抗性の増悪に関与する (Clin Sci 131:3, 2017)。また、メタボリックシンドローム患者では BMP-9 の血中濃度が低下している (Sci Rep 7:1 17529, 2017) など BMP-9 の血中濃度と糖尿病およびメタボリックシンドロームとの関連が報告されている。また、BMP-9 が貧血や肺高血圧治療へ応用できる可能性 (Nat Med 21:777, 2015) も示されており、今後、BMP 関連の薬剤の開発も期待できる。

肥満患者の高血圧の原因として、RA 系の亢進が一因と考えられており、実臨床でも RA 系をターゲットとした治療薬: アンジオテンシン変換酵素阻害薬 (ACEI)、アンジオテンシン受容体拮抗薬 (ARB)、ミネラルコルチコイド受容体拮抗薬 (MRB) が多く用いられている。今回、BMP-9 と血圧調整に強く関与する副腎皮質ホルモンとの関連を検討することで、高血圧の原因や病態への BMP の影響を解明する糸口となることを目的とした。

3. 研究の方法

副腎皮質細胞を用いて、BMP-9 による副腎皮質ホルモン合成への作用とその機序

アルドステロン、コルチゾール産生能を有する副腎皮質細胞株: NCI-H295R 細胞を用い、副腎

皮質ホルモン測定やホルモン合成酵素発現の定量化、受容体発現や細胞内シグナル伝達経路を検討した。

濃度勾配をつけた BMP-9 を H295R 細胞培養液に添加し、副腎皮質ステロイドの基礎分泌および forskolin および dibutyryl-cAMP、Ang II、KCl 刺激によるホルモン値を測定した。ステロイド合成酵素 (StAR、CYP11B1、CYP11B2) の mRNA 発現レベルの変化 (リアルタイム PCR) を検討した。細胞内シグナル阻害実験や細胞内 key molecule のリン酸化の変化 (ウエスタンブロッティングおよびリアルタイム PCR 法)、細胞内・外の cAMP レベルの変化等を酵素免疫測定法 (EIA) を用いて検討した。BMP の機能的受容体の確認: BMP・アクチビンリガンド、BMP 結合蛋白 (Noggin・Follistatin) や受容体拮抗薬および型受容体細胞外ドメインの添加、型受容体の遺伝子導入 BMP-9 による受容体 Smad (Smad1/5/8、Smad2/3) および抑制性 Smad6/7 の発現変化、受容体 Smad のリン酸化及び核内移行への影響をリアルタイム PCR 法で検討した。

4. 研究成果

本研究では副腎皮質における BMP-9 の役割について検討した。BMP-9 はヒト副腎皮質細胞株 NCI-H295R でのコルチゾールおよびアルドステロンの基礎分泌には影響を与えず、また、高カリウム状態でのホルモン産生には有意な変化を与えなかったが、一方、BMP-9 は AngII によるコルチゾール分泌に弱い抑制作用を示し、さらに forskolin および dibutyryl-cAMP で誘導されるステロイド合成酵素 (StAR・CYP11B2、CYP17) の mRNA レベルを減弱し、cAMP を低下させることで、コルチゾールおよびアルドステロン分泌を抑制した。また、副腎皮質での細胞内シグナル伝達として BMP-9 は Smad1/5/8 のリン酸化を介すること、さらに BMP 受容体 ECD 蛋白を用いた検討から BMP-9 の副腎皮質における受容体として ALK-1/BMPRII が機能することが示された。以上より BMP-9 は副腎皮質において BMP 受容体 (ALK-1/BMPRII) を介して cAMP-PKA 経路を抑制することで副腎皮質ステロイド産生を抑制することが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Morimoto Eisaku, Inagaki Kenichi, Komatsubara Motoshi, Terasaka Tomohiro, Itoh Yoshihiko, Fujisawa Satoshi, Sasaki Erika, Nishiyama Yuki, Hara Takayuki, Wada Jun	4. 巻 6
2. 論文標題 Effects of Wnt- β -Catenin Signaling and Sclerostin on the Phenotypes of Rat Pheochromocytoma PC12 Cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of the Endocrine Society	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1210/jendso/bvac121	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7件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 森本 栄作、稲垣 兼一、伊藤 慶彦、寺坂 友博、佐々木 恵里佳、藤澤 諭、西山 悠紀、原 孝行、越智 可奈子、三好 智子、和田 淳	
2. 発表標題 褐色細胞腫 / パラグングリオーマにおけるカテコラミン合成、細胞増殖に対するWnt- β カテニンシグナルの影響：PC12細胞を用いた検討	
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 寺坂友博、藤澤諭、西山悠紀、森本栄作、小松原基志、原孝行、越智可奈子、Mark A. Lawson、稲垣兼一、和田淳	
2. 発表標題 下垂体ゴナドトロプL β T2細胞においてRNA結合タンパクZFP36の発現がERKのリン酸化を制御する	
3. 学会等名 第94回日本内分泌学会学術総会	
4. 発表年 2021年	

1. 発表者名 宮崎貴裕、寺坂友博、藤澤諭、伊藤慶彦、森本栄作、原孝行、Mark A. Lawson、稲垣兼一、和田淳	
2. 発表標題 ゴナドトロプL β T2細胞におけるGnRH刺激ZFP36発現のPKC-MAPK-ERKパスウェイの関与とゴナドトロピン発現調節機構について	
3. 学会等名 第47回日本神経内分泌学会学術集会	
4. 発表年 2021年	

1. 発表者名 原孝行、稲垣兼一、佐々木恵里佳、伊藤慶彦、藤澤諭、西山悠紀、森本栄作、寺坂友博、越智可奈子、三好智子、和田淳
2. 発表標題 Calcitonin上昇を認めたPPGL合併偽性副甲状腺機能低下症の1例
3. 学会等名 第31回臨床内分泌代謝Update
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小松原基志、瀬隆宏、岩田菜穂子、藤澤諭、原孝行、当真貴志雄、稲垣兼一、和田淳、大塚文男
2. 発表標題 インクレチンの副腎髄質カテコラミン合成への影響とBMP-4の関与
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 森本栄作、稲垣兼一、小松原基志、藤澤諭、西山悠紀、寺坂友博、原孝行、当真貴志雄、越智可奈子、三好智子、大塚文男、和田淳
2. 発表標題 カテコラミン産生に対するWntシグナルの影響：PC12細胞を用いた検討
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 藤澤諭、小松原基志、森本栄作、西山悠紀、寺坂友博、原孝行、当真貴志雄、越智可奈子、稲垣兼一、和田淳、大塚文男
2. 発表標題 コルチコトロフ細胞におけるorexinの影響とBMP-4の関与
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

〔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
---------	---------