

プロゲステロンのノンゲノミック作用に関する最近の話題

慶應義塾大学医学部産婦人科学教室

丸山哲夫

はじめに

ステロイドホルモン受容体は、リガンドであるステロイドホルモンに依存して核内で機能する転写因子であり、リガンドによるさまざまな標的遺伝子の転写活性および遺伝子発現を調節します。しかし一方でステロイドホルモンは、転写調節や新たな蛋白合成を介さないで、細胞膜や細胞質内において作用することが知られており、ノンゲノミック作用といわれています。たとえば、アフリカツメガエルの卵成熟、精子の先体反応、ある種の神経伝達物質の受容体活性化などが挙げられます。

いくつかの研究は、従来の核内・細胞質内のステロイドホルモン受容体に加えて、細胞膜上にも受容体が存在する可能性を指摘していますが、遺伝子クローニングなどによるその本体の解明は未だになされていません。一方、ステロイドホルモン受容体は、予め細胞膜や細胞質内に存在している機能分子とリガンド依存性に相互作用をすることにより、リガンドからのシグナルを短時間に核内へ伝えていくという分子メカニズムが考えられています。たとえば、エストロゲン受容体（ER）は、insulin-like growth factor 受容体やPI3キナーゼのp85サブユニットなどの膜・細胞質に存在するシグナル伝達分子と会合することが知られています。

エストロゲンは生殖系以外にも多様な組織・臓器に影響を及ぼしますが、プロゲステロンは比較的生殖現象に特化した作用を有する点でユニークなホルモンであり、その作用を担う分子メカニズムについては興味深いところです。

最近、プロゲステロン受容体（PR）が、膜シグナル伝達分子であるc-Srcを代表とするSrcファミリーチロシンキナーゼ（SFK）と相互作用し、SFKを活性化することによりその下流分子へとシグナルを伝えていくという報告がされました。私たちは、全く違う視点からプロゲステロン依存性現象である子宮内膜脱落膜化の分子メカニズムにc-Srcが関与することを報告してきましたが、PRとSFK間の直接相互作用を示した最近の報告

は、私たちの研究結果と合致する点があるだけでなく、今後の私たちの研究の方向性を示してくれる知見でもあります。本稿では、私たちの研究成果も含めてプロゲステロンのノンゲノミック作用についてのトピックを紹介したいと思います。

プロゲステロンはプロゲステロン受容体とSFKの相互作用介してノンゲノミック作用を発揮する

PRには完全長のPR-BとN末端が短いPR-Aが存在しますが、BoonyaratanakornkitらはPR-BとSFKが直接会合することを報告しました（Molecular Cell, 2002）。その会合ドメインとして、PR-B側はアミノ酸配列で421-428番目に相当するprolineの豊富な領域が、またSFK側ではSH3（src homology 3）ドメインであることを示しました。PR-BとSFKはリガンド存在下でのみ会合し、ERも含め他のステロイドホルモン受容体や甲状腺ホルモン受容体は、SFKのSH3とは会合しないことを示しました。またこの会合は、c-Srcおよびその下流分子であるMAPキナーゼの活性化を短時間に誘導するために必要であること、またPRの細胞増殖阻害作用において上述のPR-Bのproline豊富領域が重要であることを示しました。一般にSFKは、自身のもつリン酸化チロシン残基とSH2およびSH3ドメインが分子間内相互作用することによりclosed conformationを呈します。このため、キナーゼ活性領域が分子表面に露出できない不活性化状態になっています。ここに、SFKのリン酸化状態の変化が生じる、あるいはSH3ドメインに別の分子が会合することで、分子間内相互作用が消失しますと、SFKはopen conformationをとり、活性化します。PR-Bは後者のメカニズム、すなわちPR-Bが、SH3ドメインとの会合を通じてSH3ドメインを分子間内相互作用から解放することにより、SFKを活性化することを明らかにしました。

このようにしてPR-Bは、細胞質内ではSFKの活性化因子として、核内では従来から知られているリガンド依存性の転写因子として機能する、というモデルを彼ら

は提唱しています。

子宮内膜脱落膜化における c-Src の活性化とその意義

私たちは、プロゲステロン依存性現象であり妊娠の成立・維持に必須の子宮内膜脱落膜化に関して、その分子メカニズムの解明を研究テーマの1つとしています。これまで私たちは、シグナル伝達経路における蛋白翻訳後修飾に着目して、酸化還元 (reduction-oxidation, redox) 反応を司る redox 制御分子やコアヒストンのアセチル化が、脱落膜化の分子メカニズムの一端を担っていることを明らかにしてきました。

一方、チロシンリン酸化の側面からアプローチしたところ、脱落膜化に伴っていくつかの蛋白のチロシンリン酸化状態が変化することを見出しました。その状態変化を引き起こす責任キナーゼあるいはフォスファターゼを同定するべく解析を進めたところ、SFK の代表である c-Src がその候補キナーゼとして浮上してきました。すなわち、脱落膜化に伴って Src は活性化し、それは in vitro の脱落膜化モデルだけでなく、ヒトおよびマウス双方の in vivo 脱落膜化でも認められました。その生物学的意義を検証するために、in vitro 脱落膜モデルにおいて、Src 阻害剤を用いて検討したところ、われわれの予想に反して、Src は逆に活性化しただけでなく、脱落膜化も促進されました。この Src の逆説的活性化については、現在そのメカニズムについて検討中ではありますが、Src 活性化と脱落膜化が正の相関を示したことから、Src の脱落膜化における役割がより確かなものと考えられました。私たちはさらに、Src ノックアウトマウスを用いて正常な脱落膜化が起きるか否かを検討しまし

たところ、野生型マウスではホルモン処理および機械的刺激により脱落膜化 (脱落膜腫形成) を誘導することができましたが、ノックアウトマウスではほとんど誘導することができないことがわかりました。

現在のテーマとしては、Src の脱落膜化依存性活性化の調節メカニズムを解明すること、さらに、阻害剤を用いた実験結果から期待されることとして、c-Src を中心とする SFK を標的にした新しい脱落膜化制御療法の開発です。前述の Boonyaratanakornkit らによって異なるアプローチで明らかにされた c-Src とプロゲステロンの密接な関係が、本研究を進めていくうえで重要なヒントになるのではないかと考えています。

最後に

体外受精や顕微授精の導入により、卵管機能障害や受精障害は解決された感はあります。しかし、それらの生殖補助医療の進歩と普及にもかかわらず、妊娠率が頭打ちとなっている事実からも、着床障害が不妊症の原因として大きくクローズアップされてきています。着床障害の克服は不妊治療の重要な課題であり、着床機構の解明は単に学問的興味に留まるものではありません。特に、着床過程において重要な役割を果たす脱落膜化のメカニズムの解明は、脱落膜化の制御を標的にした着床障害に対する新しい薬剤や治療法、さらには新しい避妊法の開発、内膜由来疾患に対するホルモン療法の adjuvant や従来のホルモン療法に取って代わる新しいシグナル分子標的治療の開発に貢献するのではないかと私たちは期待しています。