

# 下垂体由来の成長因子やホルモンによる下垂体細胞の増殖制御

高橋 純夫

岡山大学大学院自然科学研究科高次生物科学講座生体統御学分野

## はじめに

下垂体前葉細胞機能は、視床下部ホルモンや下垂体ホルモンの標的器官から分泌される末梢ホルモンによって制御されている。その一方、下垂体内には、下垂体由来の成長因子等による局所的な制御機構、すなわち「下垂体内制御機構」があると考えられる [1, 2]。下垂体内制御機構は、視床下部・標的器官系による中軸的制御機構とは独立に機能するのではなく、相互に情報を交換し協調的に下垂体機能の制御に関与している。本稿では、下垂体内制御機構の事例として、下垂体由来の成長因子やホルモンによるプロラクチン産生細胞の増殖制御機構について紹介する。

## 前葉細胞の増殖様式

下垂体の器官形成ならびに下垂体前葉細胞の分化機構については多数の報告がなされている [3]。各前葉ホルモン産生細胞においてはDNA合成期にある細胞や分裂中期の細胞が検出できるので、前葉ホルモン産生細胞に分化した細胞が細胞分裂することが分かる [4, 5]。したがって、下垂体形成期に前葉ホルモン産生細胞がはじめて出現した後は、それぞれの前葉ホルモン産生細胞が分裂して、各細胞集団は拡大していくと考えられる。その一方、ある種の下垂体腫瘍細胞においては、成長ホルモン産生細胞が分裂を経ずにプロラクチン産生細胞に転換することが知られているので [6-8]、分化転換により他種のホルモン産生細胞に転換する様式も存在すると考えられる。

## 発情ホルモンによるプロラクチン産生細胞の増殖

プロラクチン産生細胞は、前葉ホルモン産生細胞の中

連絡先：高橋純夫，岡山大学大学院自然科学研究科高次生物科学講座生体統御学分野（理学部生物学科）

〒700-8530 岡山市津島中3-1-1

TEL: 086-251-7866

FAX: 086-251-7876

E-mail: stakaha@cc.okayama-u.ac.jp

でも細胞増殖が他の細胞に比べて盛んであり、個体の生理状況に応じて細胞分裂頻度が著しく変動する。マウスやラットにおいては、発情周期に応じてDNA合成や細胞分裂するプロラクチン産生細胞の割合が変動し、発情期にはS期細胞の著明な増加が認められる [4, 9]。この発情期のプロラクチン産生細胞の増殖は、卵巣摘出により低下し、かつ発情ホルモン投与により回復する。また、動物実験においては、発情ホルモン投与により下垂体腫瘍が誘発されることはよく知られている事実である。こういった知見により、発情ホルモンがプロラクチン産生細胞の増殖促進因子であると考えられてきた。その一方、さまざまな細胞種を使った解析結果から、発情ホルモンの細胞増殖作用は、成長因子を介する間接作用であると考えられている。下垂体前葉における発情ホルモンによるプロラクチン産生細胞の増殖促進作用においても、下垂体前葉細胞において産生される成長因子が関与すると考えられる。下垂体由来の多数の成長因子やサイトカインのなかで、どの因子が発情ホルモンの増殖促進作用を仲介する生理的な因子であるのだろうか。われわれはこれまでに下垂体前葉で産生されるinsulin-like growth factor-I (IGF-I) やtransforming growth factor- $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ) がプロラクチン産生細胞の増殖や機能制御に関与することを明らかにしてきた [2]。その一方、下垂体で産生されるTGF- $\beta$ ファミリーに属する成長因子がプロラクチン産生細胞の増殖に関与することも他の研究グループにより報告されてきた。本稿では、主にTGF- $\alpha$ とTGF- $\beta$ 系によるプロラクチン産生細胞の増殖制御について紹介していく。

## TGF- $\alpha$ によるプロラクチン産生細胞の増殖

TGF- $\alpha$ は、epidermal growth factor (EGF)ファミリーに属する成長因子である。マウス下垂体においてはTGF- $\alpha$ は、成長ホルモン産生細胞で産生されることを明らかにした [10]。マウス下垂体前葉細胞の初代培養系においてTGF- $\alpha$ を投与すると、プロラクチン産生細胞のDNA合成が促進された [11]。その一方、発情ホルモン投与によりプロラクチン産生細胞のDNA合成、

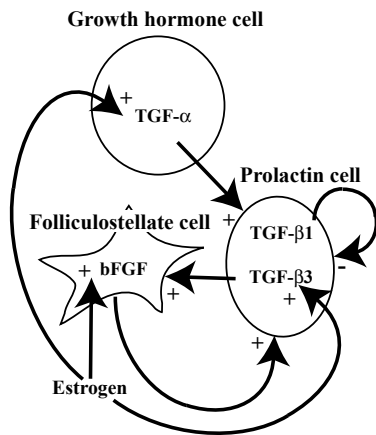
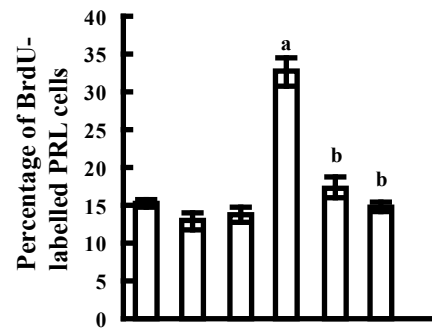


図1 TGF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 1およびTGF- $\beta$ 3によるプロラクチン産生細胞の増殖制御機構。TGF- $\alpha$ はプロラクチン産生細胞のDNA合成を促進し、TGF- $\beta$ 1は抑制する。TGF- $\beta$ 3は濾胞星状細胞におけるbFGFの産生を促進する。bFGFは、プロラクチン産生細胞のDNA合成を促進する。発情ホルモンは、TGF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 3及びbFGFの産生を促進し、TGF- $\beta$ 1の産生は抑制する。

TGF- $\alpha$  mRNA産生およびEGF受容体mRNA産生が促進されることや、抗TGF- $\alpha$ 抗体の投与により発情ホルモン投与によるDNA合成促進効果が抑制された [11]。以上の結果より、われわれは、TGF- $\alpha$ は発情ホルモンのプロラクチン細胞増殖効果の仲介因子であると考えた。すなわち、成長ホルモン産生細胞において、発情ホルモンによりTGF- $\alpha$ の産生が高まり、このTGF- $\alpha$ がプロラクチン産生細胞に作用しDNA合成を促進することになる (図1)。プロラクチン産生細胞におけるTGF- $\alpha$ のシグナル伝達経路をPD0980509およびLY294002の阻害剤を用いて解析したところ、MAP kinase系およびPI3-kinase系を介していることが分かった (図2)。

### TGF- $\beta$ によるプロラクチン産生細胞の増殖

TGF- $\beta$ 1、- $\beta$ 2および- $\beta$ 3は哺乳類で発現しているが、プロラクチン産生細胞の増殖制御に関係するのはTGF- $\beta$ 1とTGF- $\beta$ 3である。TGF- $\beta$ によるプロラクチン細胞の増殖制御機構はSarkarらによって研究がすすめられてきている。TGF- $\beta$ 1は、プロラクチン遺伝子の転写とプロラクチン産生細胞の増殖を抑制する [12, 13]。このTGF- $\beta$ 1の増殖抑制は、p15およびp27を介したG1期の細胞周期の進行阻止に由来することが報告されている [14]。ラット下垂体においてはTGF- $\beta$ 1はプロラクチン産生細胞で産生され、その合成は発情ホルモンによって抑制される [15]。したがって、



TGF- $\alpha$ (10 ng/ml)	-	-	-	+	+	+
PD098059 ( $10^{-8}$ M)	-	+	-	-	+	-
LY294002 ( $10^{-8}$ M)	-	-	+	-	-	+

図2 TGF- $\alpha$ 投与によるマウス下垂体前葉プロラクチン産生細胞 (PRL cell) のDNA合成に及ぼす効果。DNA合成は、bromodeoxyuridine (BrdU)の核への取込みにより検出した。MAP-kinase阻害剤PD098059およびPI3-kinase阻害剤LY294002は、TGF- $\alpha$ のDNA合成促進効果を抑制した。a :  $P < 0.05$ , 対照群と比較。b :  $P < 0.05$ , TGF- $\alpha$ 投与群と比較。

発情ホルモンレベルが低いときには、TGF- $\beta$ 1が自己分泌的に作用して、プロラクチン産生細胞のDNA合成を抑制していると考えられる。

TGF- $\beta$ 3は、ラット下垂体ではプロラクチン産生細胞で合成され、プロラクチン産生細胞の増殖を促進する [16]。TGF- $\beta$ 3の合成は、発情ホルモンによって促進される。さらに発情ホルモンによるプロラクチン産生細胞の増殖は抗TGF- $\beta$ 3抗体によって抑制されるので [16]、発情ホルモン効果は、TGF- $\beta$ 3によって仲介されることが分かる。しかしながら、プロラクチン産生細胞の増殖には、TGF- $\beta$ 3がプロラクチン産生細胞に直接作用するのではなく、濾胞星状細胞 (folliculostellate cell, FS細胞) で産生されるbasic fibroblast growth factor (bFGF)が関与することが分かってきた [17, 18]。すなわち、発情ホルモンは、プロラクチン産生細胞のTGF- $\beta$ 3発現を高める。ついで、TGF- $\beta$ 3はFS細胞に作用してbFGFの産生を高め、このbFGFがプロラクチン産生細胞に直接作用してDNA合成を促進すると考えられている (図1)。bFGF作用の発現には発情ホルモンが必要であり、TGF- $\beta$ 3と発情ホルモンのクロストークにはPKCおよびMAP kinase p44/42系が関与している [19]。

### 中葉ホルモン $\alpha$ -メラノサイト刺激ホルモンによるプロラクチン産生細胞の増殖

発情ホルモンによるプロラクチン分泌の増加には、下

垂体中・後葉が存在することが必要であり [20], 中・後葉に発情ホルモン依存性のプロラクチン分泌促進因子が存在することが提唱されてきた. また, 哺乳中のラットにおける吸飲刺激によるプロラクチン分泌の増加は  $\alpha$ -メラノサイト刺激ホルモン ( $\alpha$ -MSH) によることが報告されている [21]. そこで, われわれはプロラクチン分泌ならびにプロラクチン産生細胞の増殖に及ぼす中葉ホルモンである  $\alpha$ -MSHの効果を検討した. マウス下垂体初代前葉細胞系に  $\alpha$ -MSHを投与したところ, プロラクチン分泌が亢進するとともに, プロラクチン産生細胞のDNA合成も促進された [22, 23].  $\alpha$ -MSHの受容体であるメラノコルチン3受容体(MC3-R)は, マウス下垂体ではプロラクチン産生細胞に発現し, その発現は発情ホルモンにより促進されていた [24]. さらに, 発情ホルモン投与により中葉においては,  $\alpha$ -MSHのプロホルモンであるプロオピオメラノコルチン (POMC) 遺伝子の転写が促進され,  $\alpha$ -MSHの産生が高まることが推察された. さらに, プロラクチン分泌の亢進している哺乳中のマウスにおいて, 中葉のPOMC mRNA発現が高まっていた [24]. われわれの得た知見は, これまでの報告と併せて, 中葉  $\alpha$ -MSHがプロラクチン産生細胞機能の制御因子であり, 発情ホルモン作用を仲介する働きを担う可能性を示すものである. なお, 中葉  $\alpha$ -MSHは, 中葉から前葉に流れる血管系 [25] を介して輸送されると考えられる.

### その他の成長因子によるプロラクチン産生細胞の増殖

ラットやマウス下垂体においてはさまざまな成長因子が産生されている. 成長ホルモン産生細胞においては, EGF, IGF-Iやtumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) などが産生され, プロラクチン産生細胞においては, nerve growth factor (NGF), galanin や vasoactive intestinal peptide (VIP) などが産生されている. calcitoninは, 生殖腺刺激ホルモン産生細胞で産生される. これらの因子の受容体は, すべてプロラクチン産生細胞で検出されるので, 傍分泌的にプロラクチン産生細胞の機能制御に関与することが可能である. 事実, EGF, bFGF, IGF-Iおよびgalaninはプロラクチン産生細胞のDNA合成を促進し, TNF- $\alpha$  およびcalcitoninは抑制することが報告されている (図3) [2].

### まとめ

本稿では, TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$  ファミリーの成長因子

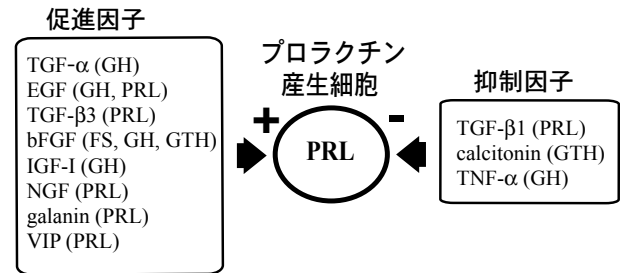


図3 ラットやマウス下垂体におけるプロラクチン産生細胞の増殖を制御する成長因子. 成長因子の括弧内の名称は, 産生する細胞名を略記している (GH, 成長ホルモン産生細胞; PRL, プロラクチン産生細胞; FS, 濾胞星状細胞; GTH, 生殖腺刺激ホルモン産生細胞). 詳細は総説 [1, 2] を参照.

および  $\alpha$ -MSHによるプロラクチン産生細胞の増殖制御について紹介した. TGF- $\alpha$  は成長ホルモン産生細胞で産生され, プロラクチン産生細胞に傍分泌的に作用する. TGF- $\beta$ 3はプロラクチン産生細胞で産生され, その後FS細胞に作用しbFGFを介してプロラクチン産生細胞の増殖を促進する. このようにプロラクチン産生細胞の増殖制御において, 増殖に対する第1段階刺激となる発情ホルモンは, プロラクチン産生細胞またはそれ以外の細胞において第2段階刺激または第3段階刺激となる成長因子の産生を高め, 間接的にプロラクチン産生細胞の増殖を促進することが分かってきた. このことは, 発情ホルモンによるプロラクチン産生細胞の増殖には, 成長ホルモン産生細胞もしくはFS細胞が共存することが必要であることを示している. 下垂体細胞にとって近傍の下垂体細胞の存在が, 細胞増殖や機能制御に必須であるのである. また, 発情ホルモンは, cyclin D等の発現を直接制御することが知られている [26]. 今後, 発情ホルモンと成長因子による制御系とのクロストークを解析する必要がある.

### 引用文献

1. Schwartz J (2000) Intercellular communication in the anterior pituitary. *Endocr Rev* 21, 488-513.
2. Takahashi, S (2004) Intrapituitary regulatory system of proliferation of mammotrophs in the pituitary gland. *Zool Sci* 21, 601-611.
3. Olson LE, Dasen JS, Ju BG, Tollkuhn J, Rosenfeld MG (2003) Paired-like repression/activation in pituitary development. *Recent Prog Horm Res* 58, 249-261.
4. Takahashi S, Okazaki K, Kawashima S (1984) Mitotic activity of prolactin cells in the pituitary glands of male and female rats of different ages. *Cell Tissue Res* 235, 497-502.
5. Oomizu S, Takahashi S (1996) Insulin stimulates the proliferation of mouse anterior pituitary cells in vitro. *Biomed Res*

- 17, 365-371.
6. Goda H, Sakai T, Kurosumi M, Inoue K (1998) Prolactin-producing cells differentiate from G0/G1-arrested somatotrophs in vitro: an analysis of cell cycle phases and mammotroph differentiation. *Endocr J* 45, 725-735.
  7. Takeya T, Takeuchi S, Takahashi S (2000) Epidermal growth factor, insulin, and estrogen stimulate development of prolactin-secreting cells in cultures of GH3 cells. *Cell Tissue Res* 299, 237-243.
  8. Takeya T, Takeuchi S, Takahashi S (2002) Induction of mammotroph development by a combination of epidermal growth factor, insulin, and estradiol-17 $\beta$  in rat pituitary tumor GH3 cells. *Zool Sci* 19, 789-795.
  9. Oishi Y, Okuda M, Takahashi H, Fujii T, Morii S (1993) Cellular proliferation in the anterior pituitary gland of normal adult rats: influence of sex, estrous cycle, and circadian change. *Anat Rec* 235, 111-120.
  10. Sharma S, Oomizu S, Takeya T, Masui T, Takeuchi S, Takahashi S (2003) Gene Expression and the Physiological Role of Transforming Growth Factor- $\alpha$  in the Mouse Pituitary. *Zool Sci* 20, 83-89.
  11. Oomizu S, Honda J, Takeuchi S, Takeya T, Masui T, Takahashi S (2000) Transforming growth factor- $\alpha$  stimulates proliferation of mammotrophs and corticotrophs in the mouse pituitary. *J Endocrinol* 165, 493-501.
  12. Sarkar DK, Kim KH, Minami S (1992) Transforming growth factor-beta 1 messenger RNA and protein expression in the pituitary gland: its action on prolactin secretion and lactotropic growth. *Mol Endocrinol* 6, 1825-1833.
  13. Abraham EJ, Faught WJ, Frawley LS (1998) Transforming growth factor  $\beta$  1 is a paracrine inhibitor of prolactin gene expression. *Endocrinology* 139, 5174-5181.
  14. Frost SJ, Simpson DJ, Farrell WE (2001) Decreased proliferation and cell cycle arrest in neoplastic rat pituitary cells is associated with transforming growth factor-beta1-induced expression of p15/INK4B. *Mol Cell Endocrinol* 176, 29-37.
  15. Burns G, Sarkar DK (1993) Transforming growth factor  $\beta$  1-like immunoreactivity in the pituitary gland of the rat: effect of estrogen. *Endocrinology* 133, 1444-1449.
  16. Hentges S, Pastorcic M, De A, Boyadjieva N, Sarkar DK (2000) Opposing actions of two transforming growth factor- $\beta$  isoforms on anterior lactotropic cell proliferation. *Endocrinology* 141, 1528-1535.
  17. Hentges S, Boyadjieva N, Sarkar DK (2000) Transforming growth factor- $\beta$  3 stimulates lactotrope cell growth by increasing basic fibroblast growth factor from folliculo-stellate cells. *Endocrinology* 141, 859-867.
  18. Oomizu S, Chaturvedi K, Sarkar DK (2004) Folliculostellate cells determine the susceptibility of lactotropes to estradiol's mitogenic action. *Endocrinology* 145, 1473-1480.
  19. Chaturvedi K, Sarkar DK (2004) Involvement of protein kinase C-dependent mitogen-activated protein kinase p44/42 signaling pathway for cross-talk between estradiol and transforming growth factor- $\beta$  3 in increasing basic fibroblast growth factor in folliculostellate cells. *Endocrinology* 145, 706-715.
  20. Murai I, Ben-Jonathan N (1990) Acute stimulation of prolactin release by estradiol: mediation by the posterior pituitary. *Endocrinology* 126, 3179-3184.
  21. Hill JB, Nagy GM, Frawley LS (1991) Suckling unmasks the stimulatory effect of dopamine on prolactin release: possible role for alpha-melanocyte-stimulating hormone as a mammotrope responsiveness factor. *Endocrinology* 129, 843-847.
  22. Morooka Y, Oomizu S, Takeuchi S, Takahashi S (1998) Augmentation of prolactin release by  $\alpha$ -melanocyte stimulating hormone is possibly mediated by melanocortin 3-receptors in the mouse anterior pituitary cells. *Zool Sci* 15, 567-572.
  23. Matsumura R, Takagi C, Takeya T, Okuda K, Takeuchi S, Takahashi S (2003)  $\alpha$ -Melanocyte-stimulating hormone stimulates prolactin secretion through melanocortin-3 receptors expressed in mammotropes in the mouse pituitary. *Neuroendocrinology* 78, 96-104.
  24. Matsumura R, Takeuchi S, Takahashi S (2004) Effects of estrogen on melanocortin-3 receptor mRNA expression in mouse pituitary glands in vivo and in vitro. *Neuroendocrinology* 80, 143-151.
  25. Murakami T, Ohtsuka A, Taguchi T, Kikuta A, Ohtani O (1985) Blood vascular bed of the rat pituitary intermediate lobe, with special reference to its development and portal drainage into the anterior lobe. A scanning electron microscope study of vascular casts. *Arch Histol Jpn* 48, 69-87.
  26. Liu M-M, Albanese C, Anderson CM, Hilty K, Webb P, Uht RM, PriceRichard H Jr, Pestell RG, Kushner PJ (2002) Opposing action of estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$  on cyclin D1 gene expression. *J Biol Chem* 277, 24353-24360.