

ステロイド産生細胞再生研究の現状

福岡大学医学部内分泌糖尿病内科
柳瀬 敏彦, 田中 智子

はじめに

副腎・性腺の発生, 分化機構の研究の進展を踏まえて, 本稿では再生医療に向けたステロイド産生細胞, 組織への分化再生研究の現状について, 自験成績も交え紹介する。

副腎・性腺分化機構の概略

副腎, 性腺は同一起原の細胞である未分化副腎・生殖腺細胞から発生し, 後に副腎原基と性腺原基に分離する。この副腎原基は胎児副腎へと分化する。一方, 未分化性腺は以下の性決定機構に従い, 精巣, 卵巣へと分化する。ヒトの性決定は一般に性決定因子である SRY (sex-determining region Y) をもつ Y 染色体の存在の有無によって決定される。SRY は下流の SF-1 (steroidogenic factor-1; Ad4-binding protein, Ad4BP と呼ばれる) をはじめとするいくつかの遺伝子群の発現誘導により精巣形成を促し, 最終的に男性の表現型を形成する。一方, 例外はあるが SRY をもたない個人は未分化性腺が精巣に分化できずに, 女性の表現型を呈する。SF-1 は当初, ステロイド合成酵素の普遍的転写調節因子として同定されたが, その遺伝子破壊マウスでは副腎, 性腺の無形成と下垂体ゴナドトロフの LH- β , FSH- β の発現欠如を認めることから, 視床下部-下垂体-副腎・性腺系の発生, 分化の必須因子と考えられている [1, 2]。重要なことに SF-1 は, 上記性分化カスケード全体の流れをコントロールするマスターレギュレーターとして作用している。Wnt 4, Cited 2, PBX-1, M33, Fgf 9, Dhh, Gata4 などの諸因子はその遺伝子改変マウスで種々の性分化障害を認めることから, 副腎や性腺の発達に関与する因子と考えられているが, ヒトにおける意義は明確ではない [1, 2]。

副腎クローン化細胞からの副腎再生の試み

ウシ副腎皮質細胞のあるクローン化細胞を重症複合免疫不全マウスに移植したところ副腎形成を認め, 短期ではあるが副腎摘出後の副腎機能を代償し得たことが報告されている [3, 4]。多分化能を秘めた副腎幹細胞が副

腎に存在しているという確証は現時点ではないが, 移植副腎細胞は移植部位における血管新生を促し細胞増殖が加速されることにより副腎組織が形成されていくようである。副腎摘出ラットに副腎皮質細胞を層別化して腎皮膜下に自家移植した試みでは, 球状層の細胞移植は組織学的に球状層と束状態の細胞に類似した細胞から構成される新生副腎皮質組織を形成するが, 束状層の細胞を移植しても球状層の細胞再生は起こらないとされており, 副腎 zonation の観点からも大変, 興味深い。なお, 移植副腎細胞は多くの場合, 腎皮膜下に移植され良好な副腎組織再生を示しているが, コラーゲンゲルを使用すれば皮下への移植も可能であるという。また, 副腎細胞あるいは組織の自己移植では神経支配はないものと考えられてきたが, 実際には神経の reinnervation が起こっており, ステロイド産生能の回復度と相関するとの報告がある [5]。

ES 細胞からのステロイド産生細胞の再生

ES (embryonic stem) 細胞に SF-1 を恒常的に発現させることにより cAMP 及びレチノイン酸依存性に P450 scc が誘導され, progesterone が産生されることが報告されている [6]。しかしながら, そのステロイド産生は progesterone のみに留まり, またミトコンドリア外膜透過性外来コレステロール基質の添加を必要としたことから, de novo のステロイド合成ではなかった。しかしながら, この結果は SF-1 がステロイド産生細胞への分化にきわめて重要であることを示す。

間葉系幹細胞からのステロイド産生細胞の再生

近年, 骨髄細胞は造血系・間葉系細胞群への再生能を有することが示されているが, ステロイド産生細胞への分化再生については明らかではなかった。われわれは, ウシ SF-1 をもつアデノウイルス (Adx-SF-1) を作製し, マウス長期培養骨髄細胞へ感染させたところ, 多様なステロイドが産生されることが明らかになった [7]。Adx-bSF-1 感染骨髄細胞は progesterone, deoxycorticosterone, corticosterone, 17 α -hydroxyprogesterone, 11-deoxycortisol, dehydroepiandrosterone, Δ 4-androstenedi-

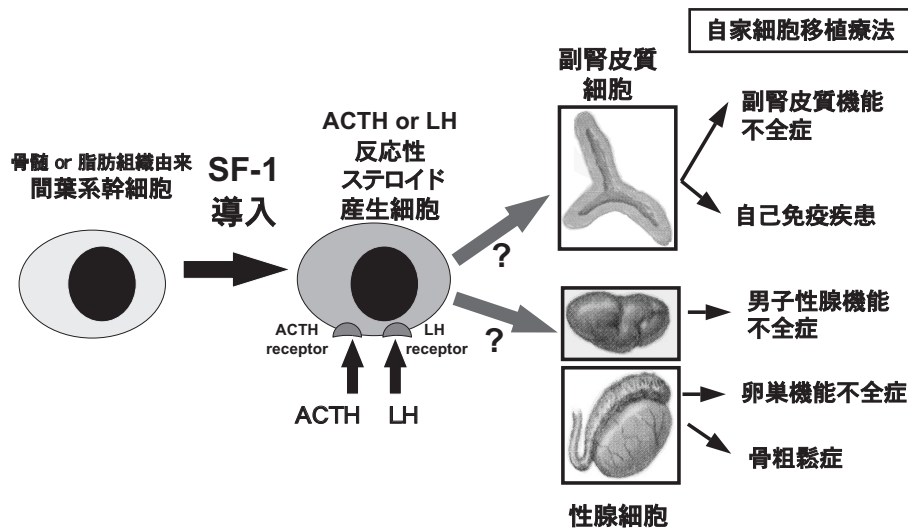


図1 再生ステロイド産生細胞の将来展望

one および testosterone を産生したが、コントロールの Adx-LacZ 感染細胞ではステロイド産生を認めなかった。上記ステロイド産生細胞では、StAR, P450_{sc}, 3 β -HSD, P450_{c11}, P450_{c17} および 17 β -HSD type 3 の mRNA 発現を認めた。ACTH 受容体はコントロール細胞でもすでに発現していたことから、ACTH 反応性を検討したところ、ACTH は Adx-bSF-1 感染骨髄細胞のステロイド産生を用量依存性に増加させ、同時に関連ステロイド酵素の発現も誘導した。このことは、この細胞が生体内で生理的 ACTH の調節下にステロイドを産生する可能性を示唆している。Adx-bSF-1 感染による骨髄細胞のステロイド産生能は、少なくとも 112 日間続いた。アデノウイルスの半減期の短さを考慮すると予想外の長期産生能であったが、内因性 SF-1 の発現を確認することができなかった。SF-1 はステロイド産生の開始には必要であるが、維持にはそれほど重要でない可能性も考えられる。

われわれが示したマウス骨髄細胞でのステロイド産生は、副腎と性腺のステロイド産生パターンが混合した特異なプロフィールを示した。このような混合型のステロイド産生プロフィールはヒト骨髄間葉系幹細胞に SF-1 を導入した場合にも再現されたが、ヒトではマウスの細胞と異なり、SF-1 による ACTH 受容体、LH 受容体の顕著な発現誘導とより明確な ACT, LH (hCG) に対するステロイド産生の反応性を認めた [8]。SF-1 発現をマーカーとした研究によれば、胎児の未分化副腎皮質と性腺は副腎・性腺共通原基を起原とする [9] ことから、SF

-1 導入間葉系細胞が混合型ステロイド産生プロフィールを示す点は、ステロイド産生細胞分化の観点からも興味深い。われわれはまた、同一個体マウスの脂肪組織と骨髄組織からそれぞれ間葉系幹細胞を調整し、SF-1 遺伝子を導入したところ、脂肪由来間葉系細胞においても骨髄由来同様、ステロイド産生能を認めた [10]。一般に脂肪組織は骨髄に比べ、その採取が比較的容易であるため、自家細胞移植としての間葉系幹細胞の供給源としては、将来より有望ともいえる。ステロイド産生細胞への分化能を示した両細胞系の表面マーカーには差異を認めなかった。大変興味深いことに、SF-1 遺伝子発現効率を上げていくと、骨髄由来間葉系細胞は副腎系ステロイドよりも性腺系ステロイド産生性が強く、一方、脂肪由来間葉系細胞はその逆のパターンを呈し、同じ間葉系幹細胞でも由来組織によってステロイド産生 lineage が異なることが示された [10]。上記所見は副腎あるいは性腺特異的細胞形質を獲得するためのスイッチング機構の 1 つとして、SF-1 発現量が関与する可能性を示唆する。事実、SF-1 遺伝子破壊マウスのヘテロ型では副腎低形成を認めるのに対し、性腺サイズは影響を受けない事実や SF-1 遺伝子破壊マウスの SF-1 過剰発現マウスによるレスキュー実験の成績 [11] から副腎形成には性腺形成に比べて相対的に多量の SF-1 の発現を必要とする可能性が示唆されている。しかしながら、ヒト SF-1 異常症 (ヘテロ型変異) では副腎機能はむしろ正常で、性腺系の障害の方が強く出る表現型が多く [12]、副腎と性腺

形成における SF-1 の遺伝子効果はマウスとヒトで必ずしも同一ではないことも銘記しておく必要がある。

おわりに

われわれが示した SF-1 誘導性ステロイド産生骨髄細胞モデルは、自家細胞移植が可能で、倫理的問題も少ない点からステロイド産生不全症に対する新たな治療法の可能性を提供する (図 1)。一方、外因性の遺伝子導入なしで、このようなステロイド産生細胞の創出が可能になれば、より理想的である。われわれはマウス骨髄間葉系細胞に脱メチル化処理をすることにより、SF-1 が 500 倍にも誘導されることを確認したが、副腎 Y1 細胞の発現量には遠く及ばず、ステロイド産生細胞の誘導には至らなかった [13]。今後、SF-1 遺伝子の誘導因子の探索も有望と思われる。

引用文献

1. Hammer GD, Parker KL, Schimmer BP (2005) Minireview: transcriptional regulation of adrenocortical development. *Endocrinol* 146, 1018-1024.
2. Yanase T, Gondo S, Okabe T, Tanaka T, Shirohzu H, Fan W, Oba K, Morinaga H, Nomura M, Ohe K, Nawata H (2006) Differentiation and regeneration of adrenal tissues: An initial step toward regeneration therapy for steroid insufficiency. *Endocr J* 53, 449-459.
3. Thomas M, Northrup SR, Hornsby PJ (1997) Adrenocortical tissue formed by transplantation of normal clones of bovine adrenocortical cells in scid mice replaces the essential functions of the animals' adrenal glands. *Nat Med* 3, 978-983.
4. Thomas M, Wang X, Hornsby PJ (2002) Human adrenocortical cell xenotransplantation: model of cotransplantation of human adrenocortical cells and 3T3 cells in scid mice to form vascularized functional tissue and prevent adrenal insufficiency. *Xenotransplantation* 9, 58-67.
5. Ulrich-Lai YM, Engeland WC (2000) Rat adrenal transplants are reinnervated: an invalid model of denervated adrenal cortical tissue. *J Neuroendocrinol* 12, 881-893.
6. Crawford P, Sadovsky Y, Milbrandt J (1997) Nuclear receptor Steroidogenic factor 1 directs embryonic stem cells toward the steroidogenic lineage. *Mol Cell Biol* 17, 3997-4006.
7. Gondo S, Yanase T, Okabe T, Tanaka T, Morinaga H, Nomura M, Goto K, Nawata H (2004) SF-1/Ad4BP Transforms primary long-term cultured bone marrow cells into ACTH-responsive steroidogenic cells. *Genes Cells* 9, 1239-1247.
8. Tanaka T, Gondo S, Okabe T, Ohe K, Shirohzu H, Morinaga H, Nomura M, Tani K, Takayanagi R, Nawata H, Yanase T (2007) Steroidogenic factor 1/adrenal 4 binding protein transforms human bone marrow mesenchymal cells into steroidogenic cells. *J Mol Endocrinol* 39, 343-350.
9. Hatano O, Takakusu A, Nomura M, Morohashi K (1996) Identical origin of adrenal cortex and gonad revealed by expression profiles of Ad4BP/SF-1. *Genes Cells* 1, 663-671.
10. Gondo S, Okabe T, Tanaka T, Morinaga H, Nomura M, Takayanagi R, Nawata H, Yanase T (2008) Adipose tissue-derived and bone marrow-derived mesenchymal cells develop into different lineage of steroidogenic cells by forced expression of steroidogenic factor 1. *Endocrinology* 149, 4717-4725.
11. Fatchiyah, Zubair M, Shima Y, Oka S, Ishihara S, Fukui-Katoh Y, Morohashi K (2006) Differential gene dosage effects of Ad4BP/SF-1 on target tissue development. *Biochem Biophys Res Commun* 341, 1036-1045.
12. Hasegawa T, Fukami M, Sato N, Katsumata N, Sasaki G, Fukutani K, Morohashi K, Ogata T (2004) Testicular dysgenesis without adrenal insufficiency in a 46, XY patient with a heterozygous inactive mutation of steroidogenic factor-1. *J Clin Endocrinol Metab* 89, 5930-5935.
13. Shirohzu H, Okabe T, Gondo S, Tanaka T, Ohe K, Morinaga H, Kawate H, Nomura M, Takayanagi R, Nawata H, Yanase T (2008) Methylation of a conserved intronic CpG island of mouse SF-1 is associated with cell-specific expression of SF-1 in a culture system but not with tissue-specific expression. *Biochem Biophys Res Commun* 369, 862-867.