REVIEW

卵巣におけるステロイドホルモン合成に関わる遺伝子群の転写調節機構

矢澤　隆志[1)]，梅澤　明弘[2)]，宮本　　薫[1)]

1）福井大学医学部分子生体情報学
2）国立成育医療センター研究所生殖医療部門

はじめに

卵巣は女性生殖腺として，性周期に応じて，ステロイドホルモンを産生する．脳下垂体から分泌されるFSHは，卵胞の発達とエストロジェン産生を促し，その後のLHサージにより排卵が起きる．排卵後に黄体が形成されると，卵巣からの主な産生ステロイドはプロジェステロンとなる．このような性周期によるホルモン産生の変化は，ステロイドホルモン産生関連の遺伝子群の発現が，ゴナドトロピンにより調節されていることによる．ここでは，卵巣におけるステロイドホルモン合成遺伝子群の転写調節についてSF-1/Ad4BPとLRH-1を中心に，私たちの成果を交えながら概説する．

SF-1/Ad4BPとLRH-1

哺乳類の主要なステロイドホルモン産生器官は，副腎と生殖腺である．両者は，中間中胚葉由来の生殖腺・副腎原基と呼ばれる共通の発生学的な起源をもつが，後に分岐し，それぞれのステロイドホルモン産生細胞へと分化する［1］．発生の起源と同じく，副腎と生殖腺のステロイドホルモン合成経路は，コレステロールがP450sccによりプレグネノロンに変換される過程で始まり，途中までは共通であるが，それぞれに発現するP450水酸化酵素や脱水素酵素により特有のステロイドホルモンが産生される．これらの現象に深く関わっているのが，転写因子のsteroidogenic factor-1（SF-1）/adrenal 4 binding protein（Ad4BP）/NR5A1である．SF-1は，核内受容体スーパーファミリーに属し，ステロイドホルモン合成系遺伝子全般のプロモーター領域に結合して転写を制御している［2，3］．そのノックアウトマウスでは，副腎と生殖腺が形成されないことから，これらの器官形成におけるマスターレギュレーターであることが証明されている［2-4］．また，私たちの研究により，SF-1は，非ステロイドホルモン産生細胞である幹細胞をステロイドホルモン産生細胞へと分化させる能力を有することが示されたことから，ステロイドホルモン産生のマスターレギュレーターとしても働くと考えられている［5-7］．

卵巣において，SF-1は，発生期の形態形成のみならず，器官形成後のステロイドホルモン産生にも重要な役割を果たしている．この事実と一致して，卵巣のSF-1タンパク質は，ステロイドホルモンを産生する莢膜細胞と顆粒膜細胞に発現しており，特に，後者における発現が強い（図１）．莢膜細胞において，SF-1は，SR-BI，StAR，CYP11A1，3β-HSD，CYP17といったアンドロジェン合成に必要な遺伝子群のプロモーター領域に結合して，その発現を制御することにより，アンドロジェン産生に必要不可欠であると考えられる［３］．顆粒膜細胞においても，SF-1は，プロジェステロン（SR-BI，StAR，CYP11A1，3β-HSD）やエストロジェン合成（CYP19）に関わる遺伝子群の発現に寄与している［３］．

また，顆粒膜細胞では，SF-1に加えて，同じ核内レセプターの5Aファミリーに属するLRH-1/NR5A2が，高いレベルで発現している（図１）．LRH-1は，SF-1と非常に似た構造をしており，SF-1と同じDNA配列を認識して，転写を活性化する［８］．これは，ステロイドホルモン産生系の遺伝子群の転写においても同様である［７］．LRH-1は，liver receptor homolog-1の名前が示すとおり，肝臓などの内胚葉系の器官における発現と役割（特に，胆汁酸代謝）がよく知られている［９］．また，最近になって，iPS細胞の作製において，山中の４因子の１つであるOct-3/4に代わりうるリプログラミング因子となることも報告されている［10］．卵巣におけるLRH-1の発現量は，肝臓よりもはるかに高く，顆粒膜細胞に局在している［11］．黄体化した顆粒膜細胞では，動物種を越えてLRH-1の発現量が高くなることが知られている［12，13］．特に，ヒトの顆粒膜細胞では，黄体化に伴いSF-1の発現がほとんど認められず，反対にLRH-1の発現は上昇する［14］．私たちは，LRH-1

連絡先：矢澤隆志，福井大学医学部分子生体情報学
〒910-1193　福井県吉田郡永平寺町松岡下合月23-3
TEL：0776-61-8316
FAX：0776-61-8102
E-mail : yazawa@u-fukui.ac.jp

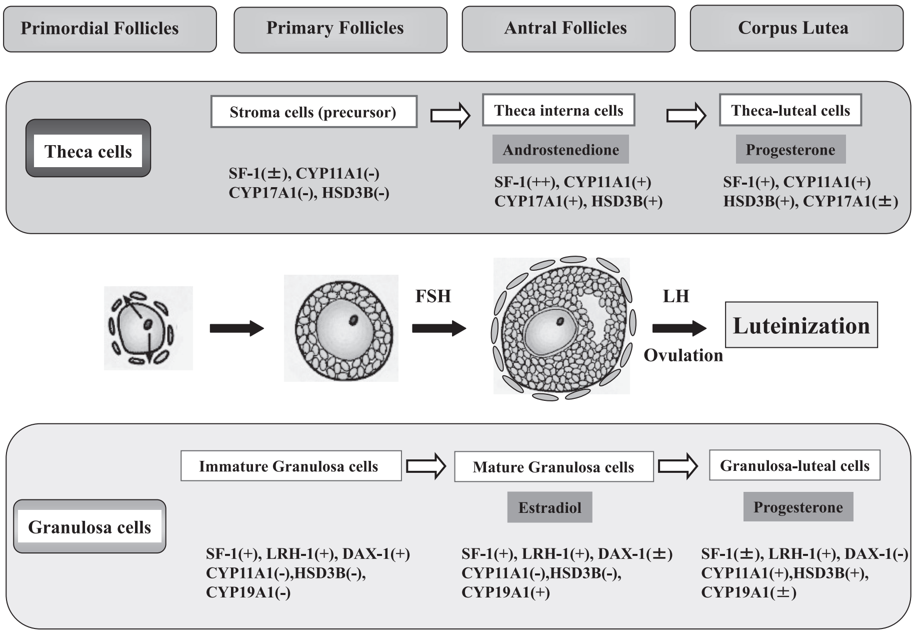

図1 卵胞発達の各ステージにおける莢膜細胞と顆粒膜細胞におけるステロイドホルモン産生と遺伝子群の発現パターン

が，SF-1が存在しない状況下でも，間葉系幹細胞をステロイドホルモン産生細胞へと分化させ，ステロイドホルモン産生のマスターレギュレーターとして機能することが示している［14］．よって，黄体化した顆粒膜細胞におけるプロジェステロン産生は，主にLRH-1によって制御されていると考えられる．この仮説を支持するように，黄体化後もSF-1の発現が残るマウスにおいても，顆粒膜細胞特異的なLRH-1のノックアウトにより，排卵が起きずにプロジェステロンの産生とそれに関わる遺伝子群（SR-BI，StAR，Cyp11a1，Hsd3b）の発現が著しく低下することが報告されている［15］．LRH-1のノックアウトでは，エストロジェン産生には影響がなく，むしろ，排卵刺激後も，Cyp19a1の発現やエストラジオール産生量が低下しなくなる．一方，SF-1の顆粒膜細胞特異的なノックアウトマウスでは，Cyp19a1の発現やエストラジオールの産生量が著しく低下することから［16］，エストロジェン産生とその酵素の発現調節に関しては，SF-1への依存性が大きいことが分かっている．

このように，NR5Aファミリーに属するSF-1とLRH-1は，ステロイドホルモン産生系遺伝子の転写を介して，卵巣におけるステロイドホルモン合成に中心的な役割を担っている．上記に述べたような，両転写因子の卵巣における発現部位や標的となる遺伝子の違いは，性周期によるステロイドホルモン産生の変化に大きく寄与しているものと考えられる．

DAX-1

ゴナドトロピン刺激は，cAMP/PKA経路を介して莢膜細胞や顆粒膜細胞のステロイドホルモン産生系の遺伝子発現を強く誘導し，ステロイドホルモン産生を上昇させることによることは，よく知られている．しかしながら，ステロイドホルモン産生系の遺伝子のプロモーター領域には，既存の遺伝子でみつかっているcAMP応答性配列のようなものは存在せず，SF-1やLRH-1の結合配列が，ゴナドトロピン/cAMP応答性を担っていることがほとんどである．しかしながらSF-1やLRH-1の発現量は，ゴナドトロピン刺激により大きく変化しない［12］．また，リン酸化など翻訳後修飾がSF-1やLRH-1の転写活性に影響を及ぼすことが報告されているものの［17］，ゴナドトロピン刺激による修飾と転写活性の関係は，今のところ明らかではない．

このようなゴナドトロピン刺激と，SF-1やLRH-1によるステロイドホルモン産生系遺伝子発現の間を介在していると考えられるのが，転写抑制因子のDAX-1である．DAX-1は，元々，ヒトの先天性副腎低形成と下垂体性生殖腺低形成を伴う疾患の原因遺伝子として同定された，DNA結合ドメインを有さない，特殊なオファーン核内受容体である［18］．DAX-1は，そのN末端に3つ存在するLXXLLモチーフによりSF-1やLRH-1を含む核内レセプターに結合して，その転写活性を抑制することが知られている［19］．DAX-1の組織分布や発現部

位は，SF-1とよく似ている．これは，少なくとも胎児期から新生児期にかけてDAX-1の発現がSF-1によって制御されていることによる［20］．卵巣においても，DAX-1はSF-1と同様に顆粒膜細胞と莢膜細胞に局在する．私たちは，顆粒膜細胞におけるDAX-1の発現が，FSH刺激により急激に低下し，これによりSF-1やLRH-1の転写活性は上昇し，ステロイドホルモン産生系の遺伝子を含む下流遺伝子の発現が誘導されることを見い出している［21］．一方，DAX-1の過剰発現は，FSH刺激によるステロイドホルモン産生を著しく抑制する［22］．よって，ゴナドトロピン刺激前の顆粒膜細胞において，DAX-1は，ステロイドホルモン産生関連遺伝子群の転写を抑制することにより，卵胞発達や黄体化を抑制していると考えられる．莢膜細胞においても，LHによりDAX-1の発現は低下し，アンドロジェン産生が上昇する．このような下垂体ホルモンによるDAX-1の発現低下とステロイドホルモン産生系遺伝子の発現上昇の相関は，精巣のライディッヒ細胞や副腎皮質の細胞でも示されていることから［23，24］，下垂体ホルモンによるステロイドホルモン産生系遺伝子の発現量の上昇に，共通のメカニズムであることが強く示唆される．ただし，DAX-1が発現しない細胞においても，ゴナドトロピンやACTHによるSF-1やLRH-1の転写活性化により下流遺伝子の発現やステロイドホルモン産生の上昇が起きることから，他の機構が存在することは間違いない．ゴナドトロピン/cAMP/PKA/NR5Aファミリーという系の他に，MAPKシグナルやその下流で働く転写因子のC/EBPβなども，卵巣におけるステロイドホルモン産生に重要な役割を果たすことが，近年，報告されている［25］．

PGC-1α

PGC-1αは，PPARγを含む核内レセプターの転写共役因子であり，肝臓における糖新生やインスリン感受性など代謝機能に深く関与していることがよく知られている［26-28］．私たちは，幹細胞からステロイドホルモン産生細胞を分化誘導する過程で，黄体化顆粒膜細胞様に分化したヒト臍帯血由来の間葉系幹細胞株におけるPGC-1αの発現が高かったことを端に，PGC-1αが顆粒膜細胞の黄体化やプロジェステロン産生に関わる因子であることを明らかにしている［11］．

PGC-1αは，卵巣で，顆粒膜細胞に発現しており，SF-1やLRH-1と共局在している．PGC-1αは，SF-1とLRH-1の非常に強力なコアクチベーターとして働き，既知のSF-1やLRH-1のコアクチベーター（SRC-1，p300）に比べても，著しく強い活性を有する．顆粒膜細胞での過剰発現は，StAR，CYP11A1や3β-HSDなどの発現を誘導し，プロジェステロン産生が亢進する．また，驚いたことに，PGC-1αは，SF-1とLRH-1の発現も誘導することから，PGC-1αは，単にSF-1やLRH-1のコアクチベーターとして働くだけではなく，これらの転写因子そのものを誘導することにより，プロジェステロン産生を亢進させると考えられる．PGC-1αの効果は，LRH-1の発現上昇において顕著であり，その発現はSF-1よりもはるかに高くなる．この結果は，黄体化した顆粒膜細胞においてLRH-1の発現が高いという事実と一致する．よって，PGC-1αは，顆粒膜細胞におけるNR5Aファミリーの発現に関しても，黄体化のパターンを誘導する因子であると考えられる．また，PGC-1αのSF-1やLRH-1に対するコアクチベーターとしての能力は，DAX-1によりほぼ完全に抑制される．よってナドトロピン非存在下では，PGC-1αの活性はDAX-1により抑制されており，プロジェステロン産生が抑制されていると考えられる．

おわりに

本稿では，私たちの成果も含めて，卵巣におけるステロイドホルモン産生系遺伝子の転写調節について，SF-1やLRH-1を中心に紹介した．これまでの研究により，SF-1やLRH-1が，卵巣のステロイドホルモン産生において果たす役割や，それぞれの標的遺伝子などは，はっきりしてきたものの，莢膜細胞と顆粒膜細胞における遺伝子発現パターンの違いや，同じDNA配列を認識するNR5Aファミリー間での標的遺伝子の違いを生み出す機構など，不明な点が多く残されている．またSF-1やLRH-1に加えて，GATAファミリー，途中に紹介したC/EBPβなど，他の転写因子が果たす役割も大きく，これらの因子間の関わりを解明することも課題の１つである．卵巣のステロイドホルモン産生の全容を解明するためには，今後さらなる研究と展開が必要であると考えられる．

引用文献

1．Morohashi K（1999）Gonadal and Extragonadal Functions of Ad4BP/SF-1 : Developmental Aspects. Trends Endocrinol Metab 10，169-173.

2．Parker KL, Schimmer P（1997）Steroidogenic factor 1： a key determinant of endocrine development and function. Endocr Rev 18，361-377.

3．Schimmer BP and White PC（2010）Minireview: steroidogenic factor 1： its roles in differentiation, development, and dis-

ease. Mol Endocrinol 24, 1322-1327.

4. Luo X, Ikeda Y, Parker KL (1994) A cell-specific nuclear receptor is essential for adrenal and gonadal development and sexual differentiation. Cell 77, 481-490.

5. Yazawa T, Mizutani T, Yamada K, Kawata H, Sekiguchi T, Yoshino M, Kajitani T, Shou Z, Umezawa A, Miyamoto K (2006) Differentiation of adult stem cells derived from bone marrow stroma into Leydig or adrenocortical cells. Endocinology 147, 4104-4111.

6. Yazawa T, Uesaka M, Inaoka Y, Mizutani T, Sekiguchi T, Kajitani T, Kitano T, Umezawa A, Miyamoto K (2008) Cyp 11b1 is induced in the murine gonad by luteinizing hormone/human chorionic gonadotropin and involved in the production of 11-ketotestosterone, a major fish androgen; conservation and evolution of androgen metabolic pathway. Endocrinology 149, 1786-1792.

7. Yazawa T, Kawabe S, Inaoka Y, Okada R, Mizutani T, Imamichi Y, Ju Y, Yamazaki Y, Usami Y, Kuribayashi M, Umezawa A, Miyamoto K (2011) Differentiation of mesenchymal stem cells and embryonic stem cells into steroidogenic cells using steroidogenic factor-1 and liver receptor homolog-1. Mol Cell Endocrinol 336, 127-132.

8. Falender AE, Lanz R, Malenfant D, Belanger L, Richards JS (2003) Differential expression of steroidogenic factor-1 and FTF/LRH-1 in the rodent ovary. Endocrinology 144, 3598-3610.

9. Fayard E, Auwerx J, Schoonjans K (2004) LRH-1: an orphan nuclear receptor involved in development, metabolism and steroidogenesis. Trends Cell Biol 4, 23-34.

10. Heng JC, Feng B, Han J, Jiang J, Kraus P, Ng JH, Orlov YL, Huss M, Yang L, Lufkin T, Lim B, Ng H (2010) The nuclear receptor Nr5a2 can replace Oct4 in the reprogramming of murine somatic cells to pluripotent cells. Cell Stem Cell 5, 167-174.

11. Yazawa T, Inaoka Y, Okada R, Mizutani T, Yamazaki Y, Usami Y, Kuribayashi M, Orisaka M, Umezawa A, Miyamoto K (2010) PPAR-gamma coactivator-1alpha regulates progesterone production in ovarian granulosa cells with SF-1 and LRH-1. Mol Endocrinol 24, 485-496.

12. Falender AE, Lanz R, Malenfant D, Belanger L, Richards JS (2003) Differential expression of steroidogenic factor-1 and FTF/LRH-1 in the rodent ovary. Endocrinology 144, 3598-3610.

13. Peng N, Kim JW, Rainey WE, Carr BR, Attia G (2003) The role of the orphan nuclear receptor, liver receptor homologue-1, in the regulation of human corpus luteum 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type II. J Clin Endocrinol Metab 88, 6020-6028.

14. Yazawa T, Inaoka Y, Mizutani T, Kuribayashi M, Umezawa A, Miyamoto K (2009) Liver Receptor Homolog-1 regulates the transcription of steroidogenic enzymes and induces the differentiation of mesenchymal stem cells into steroidogenic cells. Endocrinology 150, 3885-3893.

15. Duggavathi R, Volle DH, Mataki C, Antal MC, Messaddeq N, Auwerx J, Murphy BD, Schoonjans K (2008) Liver receptor homolog 1 is essential for ovulation. Genes Dev 22, 1871-1876.

16. Pelusi C, Ikeda Y, Zubair M, Parker KL (2008) Impaired follicle development and infertility in female mice lacking steroidogenic factor 1 in ovarian granulosa cells. Biol Reprod 79, 1074-1083.

17. Hammer GD, Krylova I, Zhang Y, Darimont BD, Simpson K, Weigel NL, Ingraham HA (1999) Phosphorylation of the nuclear receptor SF-1 modulates cofactor recruitment: integration of hormone signaling in reproduction and stress. Mol Cell 3, 521-526.

18. Iyer AK, McCabe ER (2004) Molecular mechanisms of DAX 1 action. Mol Genet Metab 83, 60-73.

19. Suzuki T, Kasahara M, Yoshioka H, Morohashi K, Umesono K (2003) LXXLL-related motifs in Dax-1 have target specificity for the orphan nuclear receptors Ad4BP/SF-1 and LRH-1. Mol Cell Biol 23, 238-249.

20. Hoyle C, Narvaez V, Alldus G, Lovell-Badge R, Swain A (2002) Dax1 expression is dependent on steroidogenic factor 1 in the developing gonad. Mol Endocrinol 16, 747-756.

21. Yazawa T, Mizutani T, Yamada K, Kawata H, Sekiguchi T, Yoshino M, Kajitani T, Shou Z, Miyamoto K (2003) Involvement of cyclic adenosine 5'-monophosphate response element-binding protein, steroidogenic factor 1, and Dax-1 in the regulation of gonadotropin-inducible ovarian transcription factor 1 gene expression by follicle-stimulating hormone in ovarian granulosa cells. Endocinology 144, 1920-1930.

22. Saxena D, Escamilla-Hernandez R, Little-Ihrig L, Zeleznik AJ (2007) Liver receptor homolog-1 and steroidogenic factor-1 have similar actions on rat granulosa cell steroidogenesis. Endocrinology 148, 726-734.

23. Jo Y, Stocco DM (2004) Regulation of steroidogenesis and steroidogenic acute regulatory protein in R2C cells by DAX-1 (dosage-sensitive sex reversal, adrenal hypoplasia congenita, critical region on the X chromosome, gene-1). Endocrinology 145, 5629-5637.

24. Ragazzon B, Lefrançois-Martinez AM, Val P, Sahut-Barnola I, Tournaire C, Chambon C, Gachancard-Bouya JL, Begue RJ, Veyssiere G, Martinez A (2006) Adrenocorticotropin-dependent changes in SF-1/DAX-1 ratio Influence steroidogenic genes expression in a novel model of glucocorticoid-producing adrenocortical cell lines derived from targeted tumorigenesis. Endocrinology 147, 1805-1818.

25. Fan HY, Liu Z, Shimada M, Sterneck E, Johnson PF, Hedrick SM, Richards JS (2009) MAPK3/1 (ERK1/2) in ovarian granulose cells are essential for female fertility. Science 324, 938-941.

26. Yoon JC, Puigserver P, Chen G, Donovan J, Wu Z, Rhee J, Adelmant G, Stafford J, Kahn CR, Granner DK, Newgard CB, Spiegelman BM (2001) Control of hepatic gluconeogenesis through the transcriptional coactivator PGC-1. Nature 413, 131-138.

27. Herzig S, Long F, Jhala US, Hedrick S, Quinn R, Bauer A, Rudolph D, Schutz G, Yoon C, Puigserver P, Spiegelman B, Montminy M (2001) CREB regulates hepatic gluconeogenesis through the coactivator PGC-1. Nature 413, 179-183.

28. Koo SH, Satoh H, Herzig S, Lee CH, Hedrick S, Kulkarni R, Evans RM, Olefsky J, Montminy M (2004) PGC-1 promotes insulin resistance in liver through PPAR-alpha-dependent induction of TRB-3. Nat Med 10, 530-534.