

学位論文の関連論文の研究背景及び要旨

Role of heat shock factor 1 in conserving cholesterol transportation in
Leydig cell steroidogenesis via steroidogenic acute regulatory protein
(ライディッヒ細胞のステロイド合成における熱ショック転写因子 1 の役割 ;
StAR タンパク質を介するコレステロール輸送の保護)

岡 真太郎

山口大学医学系研究科泌尿器科学講座

平成 29 年 6 月 1 日

【目的】 雄性生殖細胞は熱ストレスによる障害を受けやすく、停留精巣や精索静脈瘤等における造精機能障害がしばしば問題となる。一方で、これらの疾患によるテストステロン合成への影響は少なく、ライディッヒ細胞は温熱ストレスに対して防御機構を有することが推測される。すべての細胞は、外界から受けるストレスに対する生体防御機構を有している。熱ストレスに対しては熱ショック転写因子 1 (heat shock factor 1:HSF1)が転写調節因子として広く知られている。HSF1 は分子シャペロンである熱ショックタンパク質 (heat shock protein:HSP)を誘導することにより、細胞を外界から受けるストレスから保護している。精巣においては、HSF1 が精子形成の品質管理に関与することが知られている。一方、ライディッヒ細胞では、酸化ストレス、小胞体ストレスや低酸素ストレス等に対するストレス適応機構が過去に報告されているが、HSF1 を介する熱ストレス応答とそのステロイド合成への関与は不明である。今回、我々は HSF1KO マウスを用いることにより、熱ストレス条件下のライディッヒ細胞における HSF1 のステロイド合成への関与を検討した。

【対象と方法】 HSF1KO マウスと WT マウスを用いて停留精巣モデルを作り、1-4 週間後に精巣を摘出した。ステロイド合成の律速段階であるミトコンドリア内へのコレステロール輸送を制御する steroidogenic acute regulatory protein (StAR)と translocator protein (TSPO)、精巣のステロイド合成酵素である CYP11A1、 3β -HSD、CYP17A1 の発現変化をウエスタンブロット法にて解析した。テストステロン合成能は、human chorionic gonadotropin (hCG)投与後に血清テストステロン濃度を ELISA 法にて測定することで評価した。また、Leydig 細胞における HSP110、HSP70、HSP60 および HSP27 の発現量を蛍光免疫染色法にて解析した。

【結果】 HSF1KO マウスと WT マウスのいずれも、停留精巣導入後に StAR タンパク質が減少した。WT マウスでは、術後 2 週目より StAR タンパク質の発現が徐々に改善し、術後 4 週目に正常レベルまで回復した。一方で、HSF1KO マウスでは StAR タンパク質は減少したままであった。術後 4 週目に、HSF1KO マウスの StAR タンパク質は 10%未満まで減少したが、StAR mRNA は減少しておらず、HSF1 は StAR タンパク質の翻訳後調節に関与している可能性が示唆された。その他のステロイド合成酵素の発現低下は認められなかった。停留精巣を導入した HSF1KO マウスのライディッヒ細胞では、オイルレッド O にて染色される脂肪滴が細胞質に大量に蓄積していた。StAR タンパク質が正常に発現しているマウスでは、hCG 刺激後において脂肪滴はステロイド合成に使用されるため減少した。一方、停留精巣モデルの HSF1KO マウスでは、脂肪滴の減少量が少なく、StAR タンパク質の低下がコレステロール輸送障害に関与することを示唆していた。また停留精巣を導入した HSF1KO マウスは、hCG 刺激後

の血清テストステロン値が有意に低下しており、StAR タンパク質の減少によるコレステロール輸送障害は、テストステロンの合成低下と関連していた。WT マウスでは、停留精巣によりライディッヒ細胞の細胞質 HSP110、HSP27 およびミトコンドリア HSP60 の発現が増加したが、HSF1KO マウスではこれらの HSP は誘導されなかった。以上の結果は、ライディッヒ細胞においては HSF1 がシャペロンの発現を調節することで熱ストレス条件下でのステロイド合成を維持することを示唆している。

【考察】本研究により、HSF1 はライディッヒ細胞におけるステロイド合成経路の律速段階である StAR タンパク質の安定化に関与することが示された。StAR タンパク質の機能異常はコレステロール取り込み障害によるステロイド合成障害を引き起こすことが知られており、ヒトでは StAR 遺伝子の異常が先天性副腎過形成の原因であることが知られている。ライディッヒ細胞の StAR タンパク質は、停留精巣下において非常に不安定であったが、この不安定性が熱ストレス下においてステロイド合成を抑制し、細胞の生存を優先している可能性がある。StAR タンパク質は前駆体である 37kDa のタンパク質として小胞体で合成され、プロセッシングを受けミトコンドリア外膜に結合し、コレステロール輸送を活性化する。この StAR タンパク質の翻訳後調節の過程において、ミトコンドリアの機能が重要な役割を担っていることが知られている。本検討では、停留精巣モデルで細胞質シャペロンと共にミトコンドリアシャペロンである HSP60 の発現量が増加しており、StAR タンパク質の翻訳後調節に関与する可能性が示唆された。

【まとめ】本研究により、HSF1 を介する熱ストレス応答がステロイド合成において重要な役割を担うことを明らかにした。今後は、Leydig 細胞株を用いて HSF1 をノックアウトして、HSF1 が StAR タンパク質の翻訳後調節を制御する分子メカニズムを解明する予定である。