



ゾウギンザメからミネラルコルチコイド受容体の単離に成功

～発現解析によって生殖器官での発現量が多いことを発見～

ポイント

- ・ゾウギンザメからミネラルコルチコイド受容体の単離に成功し、生殖器官で発現量が多いことを発見。
- ・ヒトでは同受容体の働きを阻害するプロゲステロンやスピロラクトンがゾウギンザメの受容体を活性化。
- ・プロゲステロンが同受容体の原始的なリガンドで、生殖器官で新たな機能を果たす可能性を示唆。

概要

北海道大学大学院理学研究院の勝 義直教授、東京大学大気海洋研究所の兵藤 晋教授・高木 互 助教、セントクラウド州立大学（米国）の Satomi Kohno 博士、シンガポール科学技術研究所（シンガポール）の Byrappa Venkatesh 博士、カリフォルニア大学サンディエゴ校（米国）の Michael E. Baker 博士らの国際共同研究グループは、軟骨魚類であるゾウギンザメ（図1）から、体液の浸透圧調節に重要な役割を果たすミネラルコルチコイド受容体の単離に成功し、発現解析から生殖器官で発現量が多いことを発見しました。

ミネラルコルチコイド受容体は、ヒトではアルドステロンというステロイドホルモンを受容し、腎臓においてナトリウムの再吸収促進やリン酸の排泄などを促すことにより、体液の浸透圧調節に深く関わっています。しかし、真骨魚類はミネラルコルチコイド受容体を発現していますが、アルドステロンは生体内で合成していません。真骨魚類のミネラルコルチコイド受容体の生体内でのリガンド*¹は不明で、また、ミネラルコルチコイド受容体の生物進化の過程でホルモン応答性や生体内機能がどのように変化してきたのかなど、不明な点が多く残されています。

本研究では、脊椎動物の進化の過程で無顎類*²の次に分岐した軟骨魚類であるゾウギンザメのミネラルコルチコイド受容体を単離し、ホルモン特異性、濃度依存性を調べました。その結果、ゾウギンザメのミネラルコルチコイド受容体は哺乳類（ヒト）のミネラルコルチコイド受容体とは異なり、生殖器官で作用する黄体ホルモンであるプロゲステロン（図2）やヒトのミネラルコルチコイド受容体のアンタゴニスト*³であるスピロラクトン*⁴に応答して転写*⁵活性を高めることが判明しました。さらに、遺伝子発現の解析によって生殖器官でミネラルコルチコイド受容体の発現量が多いことがわかりました。

アルドステロンを合成しない動物である軟骨魚類と硬骨魚類のミネラルコルチコイド受容体が、プロゲステロンに反応を示すという結果は、ミネラルコルチコイド受容体の本来のリガンドがプロゲステロンである可能性を物語っています。さらに、生殖器官でミネラルコルチコイド受容体が多く発現しているという結果は、同受容体の生殖器官での新たな機能を有することを示唆しています。

本研究成果は、ミネラルコルチコイド受容体の分子進化や機能の全貌を理解する上で非常に重要な知見を提供します。

なお、本研究成果は、日本時間 2019 年 6 月 5 日（水）午前 3 時（米国東部夏時間 2019 年 6 月 4 日（火）午後 2 時）公開の *Science Signaling* 誌に掲載されました。

【背景】

ヒトの内分泌制御を司るステロイドホルモンは、主に生殖腺から分泌される性ステロイドと、副腎で生合成される副腎ステロイドに大別されます。これらステロイドホルモンは、遺伝子の転写を制御する作用を持つ受容体と結合することで生理機能を発揮します。

ヒトの副腎ステロイドの受容体は、グルココルチコイド受容体とミネラルコルチコイド受容体の2種類が判明しています。これらは生体内の恒常性を維持するために多彩な生理機能を有しており、疾患との関連も報告されています。このうち、体液の浸透圧調節に深く関わっているのがミネラルコルチコイド受容体であり、そのリガンドはアルドステロンというステロイドホルモンです。

このミネラルコルチコイド受容体が生物進化のどの段階から出現したのか、また、ヒトが持つミネラルコルチコイド受容体の生理機能がいつ獲得されたのかなど、ミネラルコルチコイド受容体の分子進化・生体内機能に関連する多くの謎は未解明のまま残っています。

研究グループは、2018年、スピロラクトンやプロゲステロンはヒトのミネラルコルチコイド受容体に対してはホルモンの働きを阻害（アンタゴニスト作用）しますが、真骨魚類であるゼブラフィッシュの受容体はスピロラクトンやプロゲステロンによって逆に転写活性が誘導されることを発見し、論文発表をしています（Science Signaling, 10, eaao1520, 2018年）。今回、軟骨魚類であるゾウギンザメからミネラルコルチコイド受容体の単離を行い、受容体のホルモン応答性と遺伝子発現を詳細に調べることで、新たな知見を見出すことができました。

【研究手法】

軟骨魚類であるゾウギンザメからミネラルコルチコイド受容体のcDNAを単離し、副腎ステロイド、プロゲステロン、スピロラクトンに対する応答性を調べました。また、培養細胞を用いたレポーター遺伝子アッセイ^{*6}によってホルモン応答の種特異性とリガンド特異性を解析しました。さらに、RNA-seq^{*7}のデータベースを解析し、受容体遺伝子の発現を分析しました。

【研究成果】

研究グループは、軟骨魚類であるゾウギンザメからミネラルコルチコイド受容体のcDNAを単離することに成功しました。アミノ酸配列を他の生物種の受容体と比較したところ、DNAと結合する領域は90%以上、ステロイドと結合する領域は60%以上の相同性を示すことがわかりました。次に、様々なステロイドに対する応答性を調べたところ、調べた全ての副腎ステロイドに反応して、転写活性を高めることがわかりました。また、ヒトのミネラルコルチコイド受容体に対しては、アンタゴニスト活性を持つプロゲステロンやスピロラクトンによっても転写反応が誘導されることが確認されました。さらに、ミネラルコルチコイド受容体の遺伝子発現をRNA-seqのデータベースを解析することにより、腎臓を含む様々な器官での発現を確認し、さらに卵巣や精巣などの生殖器官で高い発現量を示すことを明らかにしました。

【今後への期待】

軟骨魚類のミネラルコルチコイド受容体のホルモン応答性が、真骨魚類の受容体と非常によく似ているという結果と生殖器官での高い発現量から、原始的なミネラルコルチコイド受容体はプロゲステロンをリガンドとして生殖器官で機能を果たしているという、これまで考えられていない新たな機能の可能性を示唆しています。そして、生物の進化の過程でステロイドホルモンの生合成経路が確立し、受容体とリガンドの組み合わせが変化したことを物語っています。研究グループは、既に軟骨魚類で

あるゾウギンザメから、別のタイプの副腎ステロイド受容体であるグルココルチコイド受容体と黄体ホルモンの受容体であるプロゲステロン受容体 cDNA の単離に成功しており、ホルモン応答性及び受容体間の比較解析を進めています。

今回の研究成果は、生物進化におけるステロイドホルモンとその受容体による内分泌制御機構の確立の解明に大きく寄与するものです。今後さらに多くの生物の受容体を解析することでその全貌が明らかになることが望まれます。

また、ヒトのステロイドホルモン受容体は多くの疾患とも関連しており、ステロイドホルモン受容体の分子進化の解明は、関連疾患の治療や創薬開発にも繋がることが期待されます。

論文情報

論文名 Transcriptional activation of elephant shark mineralocorticoid receptor by corticosteroids, progesterone and spironolactone (副腎ステロイド、プロゲステロンおよびスピロノラクトンによるゾウギンザメのミネラルコルチコイド受容体の転写活性化)

著者名 勝 義直¹, Satomi Konho², 岡 香織^{3,*}, Xiaozhi Lin³, 小竹純可³, Nisha E. Pillai⁴, 高木 互⁵, 兵藤 晋⁵, Byrappa Venkatesh⁴, Michael E. Baker⁶ (¹北海道大学大学院理学研究院, ²セントクラウド州立大学, ³北海道大学大学院生命科学院, ⁴シンガポール科学技術研究所, ⁵東京大学大学大気海洋研究所, 現: 熊本大学大学院生命科学研究部, ⁶カリフォルニア大学サンディエゴ校, *現: 熊本大学大学院生命科学研究部)

雑誌名 *Science Signaling* (アメリカ科学振興協会が発行する Science の姉妹誌)

D O I 10.1126/scisignal.aar2668

公表日 日本時間 2019 年 6 月 5 日 (水) 午前 3 時 (米国東部夏時間 2019 年 6 月 4 日 (火) 午後 2 時) (オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院理学研究院 教授 勝 義直 (かつよしなお)

T E L 011-706-4908 F A X 011-706-4851 メール ykatsu@sci.hokudai.ac.jp

U R L <https://www.repdev-katsu.jp/index.html>

配信元

北海道大学総務企画部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール kouhou@jimu.hokudai.ac.jp

東京大学大気海洋研究所広報室 (〒277-8564 千葉県柏市柏の葉 5-1-5)

T E L / F A X 04-7136-6430 メール kouhou@aori.u-tokyo.ac.jp

【参考図】



図 1. ゾウギンザメ (*Callorhynchus milii*)

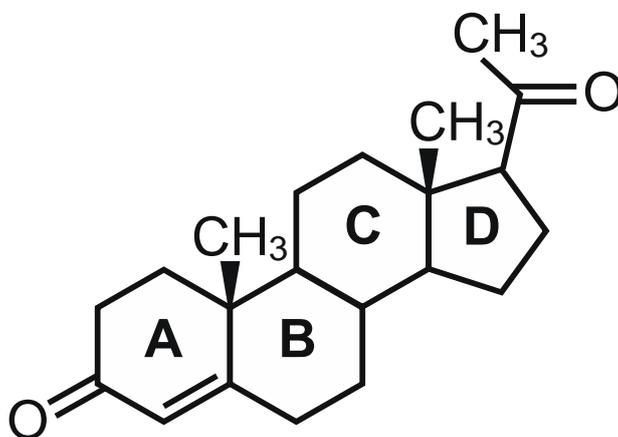


図 2. プロゲステロンの構造

【用語解説】

- *1 リガンド … ホルモンのように特定の受容体に特異的に結合する物質。
- *2 無顎類 … 脊椎動物の中で顎を持たない最も原始的な動物であり、現存しているのはヤツメウナギ類とヌタウナギ類のみである。
- *3 アンタゴニスト … 生体内の受容体タンパクに作用してホルモンの働きを阻害する薬。
- *4 スピロノラクトン … カリウム保持性利尿薬。ミネラルコルチコイド受容体のアンタゴニスト作用を持つ。
- *5 転写 … DNA を基に RNA が合成されること。
- *6 レポーター遺伝子アッセイ … ホルモンなどの働きを標的遺伝子の活性化を指標として検出する方法。
- *7 RNA-seq … 細胞や組織の中の mRNA の配列を解読して、発現量を定量する手法。