

ヒト男性ホルモンレセプター遺伝子疾患における発症メカニズムの解明

●武山 健一

東京大学分子細胞生物学研究所

〈研究の目的と進め方〉

多くの性分化異常症や成長障害は、性ステロイドホルモンの内分泌代謝異常による遺伝的疾患から生じることが主要因の一つとして理解されている。そのため、これら代謝異常を補うホルモン療法が施行されているが、原因遺伝子とその発症機序には不明な点が多いのが現状である。中でも男性ステロイドホルモンであるアンドロゲンは細胞分化、増殖により神経や生殖器官の分化誘導を厳密に制御するが、その作用機構の破綻によって多くの疾患が発症することが知られている。近年、アンドロゲンの作用機序はリガンド依存的な転写制御因子である核内レセプター、アンドロゲンレセプター(AR)を介した標的遺伝子の転写制御により発揮することが明らかとなり、様々な疾患の遺伝的要因として取り上げられている。AR変異体の多くは、アンドロゲン不応症(睾丸性女性化症)を引き起こすが、異なる機能領域の変異により球脊髄性筋萎縮症(SBMA)や前立腺癌を亢進する疾患が生じる。すなわち多彩な遺伝子疾患が一分子から発症し、AR機能領域依存的に症状が現れるといえるが、その発症の分子メカニズムは不明な点が多い。本研究では疾患発症における遺伝的要因と病態の分子基盤を確立するため、モデル生物の作出に取り組み、その表現型の解析ならびに標的遺伝子の探索により分子基盤が構築できると考えた。

〈研究開始時の研究計画〉

AR変異体のモデル個体は遺伝子欠損マウス及び遺伝子導入ショウジョウバエにて試みる。アンドロゲン不応症モデルはAR遺伝子完全欠損マウス、アンドロゲン抵抗性前立腺癌モデルはAR遺伝子点変異置換マウスを作出する。一方、球脊髄性筋萎縮症(SBMA)モデルはポリグルタミンリピート異常型AR過剰発現ショウジョウバエを作出する。

(1) AR遺伝子完全欠損型マウスの作出-X染色体上に位置し伴性劣性遺伝形式をもつARの遺伝子欠損マウスの作出はCre-loxPシステムを用いるが、既に完全欠損型雄マウスを作出し、その表現型(睾丸性女性化症)を確認する。本研究では、生殖器の分化や骨代謝、性行動に着目した表現系を観察するとともに、直接的な作用とエストロゲンに代謝変換したアンドロゲン作用とを分離する。(2) AR遺伝子点変異置換マウスの作出-アンドロゲン抵抗性を示すある種の進行性前立腺癌のモデルマウスにはARの点変異体(AR T877A)が認められる。そこでAR T877Aノックインマウスを作出後、前立腺癌における表現型を解析する。

(3) 球脊髄性筋萎縮症モデル型ショウジョウバエの作出-ヒトARをショウジョウバエに導入し、リガンド依存的な転写制御系を構築する。更にポリグルタミンリピート異常型のARを導入し、過剰発現により球脊髄性筋萎縮症モデル型ショウジョウバエを作出する。このショウジョウバエの表現型を観察し、転写活性と神経変性機構を分離した発症メカニズムの解明に迫る。

〈研究期間の成果〉

1) AR遺伝子完全欠損型マウスの作出

ARKO雄マウスはいわゆる完全欠損型(ホモ型)であり、その表現系は睾丸性女性化症を呈していた。また生殖器の分化や骨代謝、性行動を観察した。その結果、生殖器分化異常、骨代謝亢進、雄性行動の消失が認められた。一方、雌ARKOマウスは際だつ表現型はないものの、産子数が低下し胎盤異常が明らかとなった。

2) AR遺伝子点変異置換マウスの作出

ARの点変異置換した相同組み替えベクターを構築し、ES細胞をマウス個体に戻す過程まで進行した。

3) 球脊髄性筋萎縮症モデル型ショウジョウバエの作出

ヒトARをショウジョウバエに導入し、リガンド依存的な転写制御系の構築に成功した。またポリグルタミンリピート異常型のARをショウジョウバエ複眼に導入し、過剰発現により球脊髄性筋萎縮症モデル型ショウジョウバエを作出した。その結果、複眼における神経変性はリガンドであるアンドロゲン投与により誘導されることが判明した。またAR転写活性は阻害されないことから、神経変性誘導は転写制御機構の破綻ではなく、独立した機構で誘導されることを意味している。これらの結果をまとめると、アンドロゲン依存的な神経変性誘導はSBMA発症が男性特異的かつ、late onsetで生じる原因の一つであることを強く示唆した。

〈国内外での成果の位置づけ〉

我々はこれら全ての変異体に着目した遺伝子欠損マウスおよび遺伝子導入ショウジョウバエの作出を取り組み、これら表現型の解析を遂行し、世界に先駆け成果を報告した。このような多彩にわたるAR遺伝子疾患モデル生物の網羅的な解析は、国内外を問わず先駆的な位置づけであると同時に、これらの疾患の予防、診断、治療に大きく貢献できる重要な課題であると判断する。

〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

研究開始時の研究計画は全て達成できたと判断する。予想外の困難としてマウス表現型は明確なものの、表現型を裏付ける分子機構を解明することが困難であった。当初からマイクロアレイ等を利用して標的遺伝子の同定を試み、組織ごとのプロファイルを作製することが後の解析に有効であると考えられる。

〈今後の課題〉

(1) Cre-loxPシステムを利用し種々の組織解析を行う。全身性のARKOマウスは内分泌代謝に異常をきたすため、今回顕著な表現型が認められた骨組織、脂肪組織特異的な遺伝子欠損を試みる。

(2) アンドロゲン依存性前立腺癌がART877A点変異により増悪することを最近確認することに成功した。このマウスを用い、癌化を制御するARの標的遺伝子の検索を試みる。

(3) 公表リスト0602101800に示すようにSBMAモデルショ

ウジョウバエを利用し、神経変性を抑制化する化合物のスクリーニングを継続すると共に、ショウジョウバエの分子遺伝学的なアプローチにより神経変性の分子メカニズムを探る。

以上、AR1分子が多彩な生理作用を制御することを遺伝学的に証明した。特定遺伝子疾患の原因遺伝子変異体の解析は、このような単一遺伝子の様々なモデル個体を作り出し網羅的な表現型解析を行うことが、疾患発症における遺伝的要因と病態の分子基盤の構築に非常に重要であると考えられる。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

1)論文

1.0602101800

Furutani, T., Takeyama, K., Tanabe, M., Koutoku, H., Ito, S., Taniguchi, N., Suzuki, E., Kudoh, M., Shibasaki, M., Shikama, H. and Kato, S., Human expanded polyglutamine androgen receptor mutants in neurodegeneration as a novel ligand target. *J Pharmacol Exp Ther.* 315. 545-552. (2005)

2.0602101813

Matsumoto, T., Takeyama, K., Sato, T. and Kato, S., Androgen receptor functions from reverse genetic models. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 85. 95-99. (2003)

3.0602101740

Takeyama, K., Ito, S., Yamamoto, A., Tanimoto, H., Furutani, T., Kanuka, H., Miura, M., Tabata, T. and Kato, S., Androgen-dependent neurodegeneration by polyglutamine-expanded human androgen receptor in *Drosophila*. *Neuron.* 35. 855-864. (2002)