

## アルドステロン過剰合成における小胞体ストレス応答活性化機構の解明と創薬標的分子の探索

沖 健司

広島大学大学院医歯薬保健学研究院 分子内科学

### 【研究の背景】

アルドステロンは、副腎皮質球状帯の小胞体やミトコンドリアにおいて、コレステロールを基質として合成され、アルドステロン過剰により高血圧をきたす<sup>1,2)</sup>。小胞体は、蛋白の高次構造の形成に必要な分子シャペロンを担い、高次構造の異常なタンパク質が蓄積する状態を小胞体ストレスと呼び、ホルモン合成が促進される状態で小胞体ストレスが高まる。つまり、アルドステロン合成が促進される状態において、小胞体は細胞内小器官の中でも大きな役割を果たしている。以上より、「アルドステロン過剰合成時に小胞体シャペロンや小胞体ストレス応答が亢進している」と考えられる。

### 【目 的】

小胞体機能を介したアルドステロン合成制御機構の解明を行い、高血圧の病態解析ならびに治療制御に繋げることを目的とする。

### 【方 法】

非機能性副腎腫瘍(NFA) 5 例とアルドステロン産生腫瘍(APA) 19 例の腫瘍組織からマイクロアレイ解析を行い、小胞体に発現する遺伝子を抽出し、NFA 群と APA 群で比較検討した。得られた候補遺伝子は、13 例の NFA と 48 例の APA 腫瘍組織において qPCR や免疫組織化学で発現解析を行った。副腎皮質癌細胞株(HAC15)に対し、候補遺伝子の遺伝子操作により機能解析を行った。

### 【結 果】

NFA 群と比較し、APA で 2 倍以上発現の変化がみられた 16 遺伝子のうち、分子シャペロンを担う X が 13.6 倍と最も強く発現が変化していた。qPCR 解析でも X は APA で有意に発現上昇し、免疫染色では APA 及びアルドステロン産生細胞塊(APCC)に X は特異的に発現していた。Angiotensin-II(A-II), Forskolin, Ca 刺激, KCNJ5 mutation を HAC15 に投与または導入し、X 遺伝子発現レベルを検討したが、X 発現は上昇しなかった。HAC15 に X を過剰発現させると、CYP11B2 の mRNA 発現量に変化は認めなかったものの、CYP11B2 蛋白発現量は増加し、上清中のアルドステロン値の上昇を認めた。HAC15 に X をノックダウンで、アルドステロン合成量は変化しなかった。

### 【考 察】

A-II, Forskolin, Ca 刺激, KCNJ5 mutation が X 発現を変化させなかったが、アルドステロン合成を促進するような細胞内シグナルの活性化では、X の発現調節は受けていないと思われる。APCC や APA で発現しており、APCC や APA に分化する過程で、X の発現量が決定される可能性がある。X を高発現させることにより、アルドステロンを合成できるような機構を持ち合わせているものと考えられる。

X を抑制することで、A-II 刺激や KCNJ5 mutation によるアルドステロン合成に変化がみられなかった。天然体の構造は基質のアミノ酸配列によって行われ、シャペロンはあくまでネイティブ構造の形成がなされやすい環境、または機会を提供する

だけである。よって、X が不在環境においても、アルドステロン合成酵素の高次構造は形成されると考えることができる。一方で、分子シャペロンに関わる蛋白は、HSP など含めて多く知られており、X 抑制により、他の分子が代償性に増加している可能性がある。実際に、X を抑制した細胞において、蛋白凝集能が変わっておらず、分子シャペロンが代償されていることを示唆する。

#### 【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究において、アルドステロン合成に関わる分子シャペロン因子 X を同定した。X を含めた分子シャペロンを標的にしたアルドステロン合成機構の解明は、本研究が世界で初めてである。分子シャペロンに関わる因子は、その他にも複数同定されており、アルドステロン合成制御に関わる因子を同定し、創薬の標的因子を同定できる可能性がある。

#### 【参考・引用文献】

1. Diagram of the pathway of human steroidogenesis. WikiJourna of Medicine. 1(1) 2014. doi: 10.15347/wjm/2014.005
2. The role of adrenal steroidogenesis in arterial hypertension. Endocr Dev. 2008. doi: 10.1159/000134830.