

下垂体インスリン様成長因子 I の生理的意義について

-下垂体内制御機構について-

高橋純夫・本多淳一・真鍋芳江・松村龍成・竹内 栄

岡山大学理学部生物学科生体制御科学講座

はじめに

哺乳類の下垂体細胞の増殖や機能発現は、視床下部ホルモンや下垂体ホルモンの標的器官から分泌される末梢ホルモンによって制御されている。下垂体の発生過程においては、間脳底部ならびに口陥の外胚葉から分泌される因子により、下垂体の形態形成や細胞分化が制御されていることがわかってきた。さらに、下垂体細胞によって産生される成長因子やサイトカインが、下垂体細胞の増殖や機能制御に関与している可能性が示されてきた(総説 Schwarzl, 2000)。すなわち、視床下部・標的器官系による下垂体機能の中軸的制御機構の他に、下垂体由来の成長因子等による局所的な制御機構、すなわち「下垂体内制御機構」があると考えられる。当然ながら視床下部・標的器官系による制御機構が、下垂体機能の制御において中心的役割をはたすことは間違いないが、「下垂体内制御機構」も重要なはたらきを担っていると考えられる。この「下垂体内制御機構」は、視床下部・標的器官系による中軸的制御機構とは独立に機能するのではなく、相互に情報を交換し協調的に下垂体機能の制御にあたっていると思われる。本稿では哺乳類の下垂体で発現しているインスリン様成長因子 I (IGF-I)に着目し、前葉ホルモンの一つである副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) 産生細胞のホルモン産生の制御機構に注目することにより、マウス下垂体における「下垂体内制御機構」の実例を紹介していきたい。

IGF-I は、様々な組織で発現し、傍分泌的に作用して細胞分化や増殖を制御することが知られている。下垂体においても IGF-I が産生され、その受容体である IGF 1 型受容体 (IGF-R) が発現している。マウス下垂体前葉においては、成長ホルモン (GH) 産生細胞に IGF-I mRNA が *in situ* hybridization 法により検出できた (Honda *et al.*, 1998)。また、IGF-R mRNA も ACTH 産生細胞の一部に発現していることが観察された (Honda *et al.*, 1998)。IGF-I は、多くの組織において、GH によって発現が促進される。IGF-I

の下垂体における生理的意義を明らかにするためには、下垂体の IGF-I の発現制御に関わる因子を明らかにすることが必要である。そこで、マウス下垂体前葉細胞における IGF-I mRNA の発現の変化を解析した。あわせて、IGF-I による下垂体前葉細胞に対する作用については、GH ならびにプロオピオメラノコルチン (POMC) の遺伝子発現に注目した。なお、POMC は ACTH のプロホルモンとなるホルモン前駆体タンパク質である。

材料と方法

2ヶ月齢の ICR 系雄マウスから下垂体前葉を採取した。下垂体前葉細胞を Dulbecco 改変の Eagle 培地と Ham の F12 培地を 1 対 1 に混合した培養液を用いて無血清的に培養した (Oomizu *et al.*, 1998)。競合的 RT-PCR 法により IGF-I mRNA の定量をおこなった (Honda *et al.*, 2003)。GH 受容体 mRNA 発現細胞は *in situ* hybridization と免疫組織化学を併用して同定をおこなった (Honda *et al.*, 2000)。

結果

下垂体前葉細胞における IGF-I mRNA の発現量の変化

マウス下垂体の初代培養系を用いて、GH, ACTH, 成長ホルモン放出ホルモン (GHRH), 副腎皮質ホルモンとして dexamethasone (DEX) および estradiol-17 β (E2) による IGF-I mRNA 発現に及ぼす効果を調べた。IGF-I mRNA 量は競合的 RT-PCR 法により解析した (図 1)。それぞれのホルモンを 1 日間作用させたところ、GH により有意に IGF-I mRNA 量が増加した。その一方、DEX では有意に IGF-I mRNA 量は減少した。ACTH, GHRH や E2 処理では IGF-I mRNA 量に変化は検出できなかった。以上の結果から、GH が下垂体前葉細胞の IGF-I の産生を促進し、副腎皮質ホルモンは抑制することが示された。

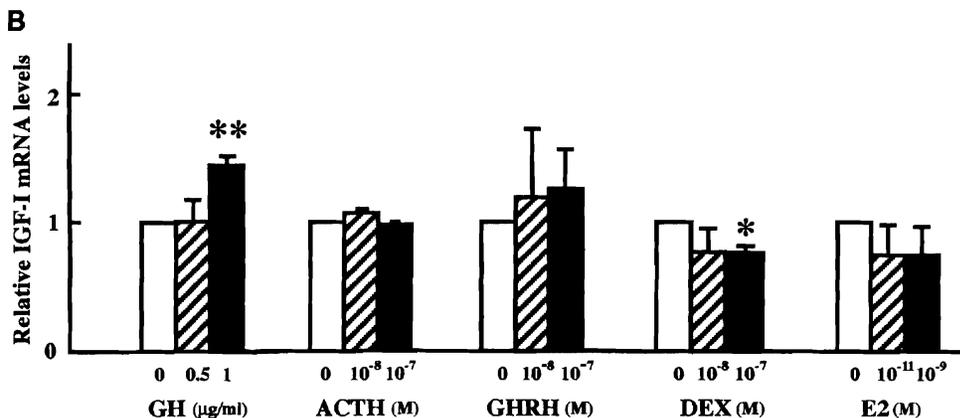
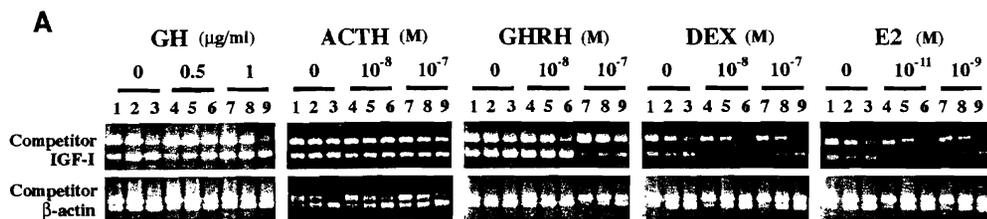


図1 下垂体前葉細胞における IGF-I mRNA の発現の変化
*P<0.05, **P<0.01; 対照群に対して有意の差

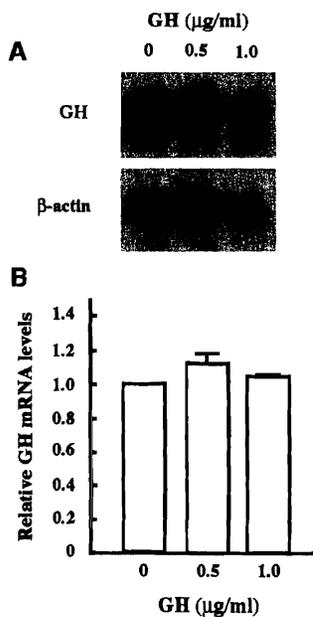


図2 下垂体前葉細胞における GH 投与による GH mRNA の発現の変化

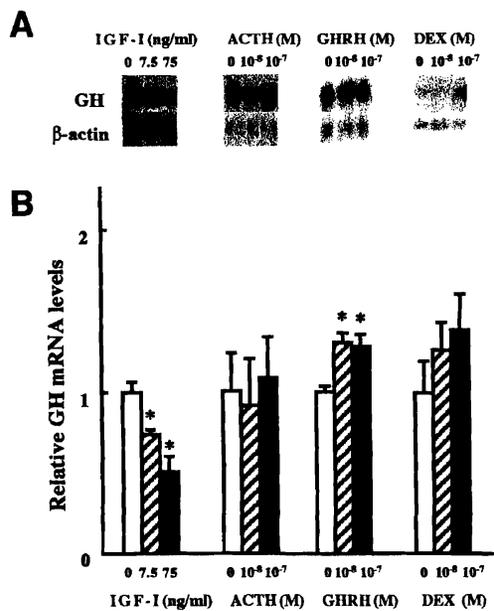


図3 下垂体前葉細胞における IGF-I 投与による GH mRNA の発現の変化
*P<0.05; 対照群に対して有意の差

下垂体前葉細胞における GH mRNA 量の変化

GH 投与 (1 日間) による GH mRNA の産生に及ぼす影響をノーザン解析により調べたが、GH mRNA 量に変化は認められなかった (図 2)。続いて IGF-I, ACTH, GHRH および DEX 投与による GH mRNA の産生に及ぼす影響を調べた。IGF-I 投与により、

GH mRNA 量は有意に減少した (図 3)。また、GHRH 投与により GH mRNA 量は有意に増加した。以上の結果から、IGF-I は下垂体前葉細胞の GH の産生を抑制し、GHRH は促進することが示された。

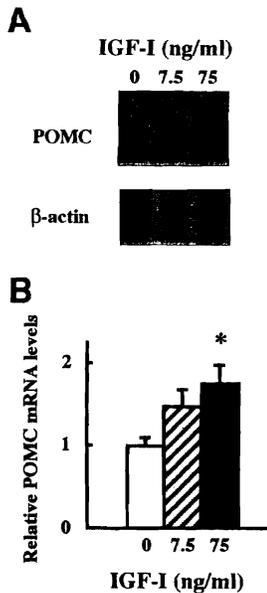


図4 下垂体前葉細胞における IGF-I 投与による POMC mRNA の発現の変化
* $P < 0.05$; 対照群に対して有意の差

下垂体前葉細胞における POMC mRNA 量の変化

IGF-I および GH 投与による POMC mRNA の産生に及ぼす影響をノーザン解析により調べた。IGF-I 投与 (1 日間、図 4) および GH 投与 (4 日間、図 5) により POMC mRNA 量は有意に増加した。以上の結果から、IGF-I および GH はともに POMC の産生を促進することが示された。

下垂体前葉細胞における GH 受容体 mRNA の発現

マウス下垂体前葉における GH の標的細胞を明らかにするために、GH 受容体 mRNA の発現細胞を *in situ* hybridization により解析した。あわせて、前葉ホルモンの産生細胞を免疫組織化学的に解析し、GH 受容体 mRNA の発現細胞の細胞種を同定した。GH 受容体 mRNA は、前葉細胞の 50% 程度の細胞に発現していたが、中葉や後葉には発現細胞は検出できなかった。前葉においては、ほとんどの GH 産生細胞と、一部のプロラクチン産生細胞と濾胞刺激ホルモン産生細胞に GH 受容体 mRNA が検出できた。使用したマウス GH 受容体 cDNA プロブ (pmghr1-1) は、GH 結合タンパク質 mRNA も認識することがノーザン解析で明らかになっているので、*in situ* hybridization により同定された GH 受容体 mRNA 発現細胞は、GH 結合タンパク質 mRNA を発現する可能性も考えられる。

考察

下垂体において IGF-I が産生され、IGF-I 受容体ならびに IGF-I 結合タンパク質が存在するこ

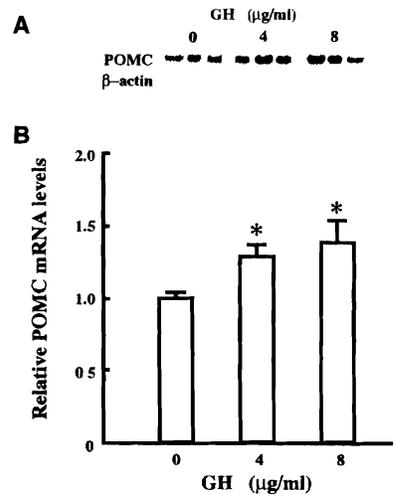


図5 下垂体前葉細胞における GH 投与による POMC mRNA の発現の変化
* $P < 0.05$; 対照群に対して有意の差

とから、下垂体由来の IGF-I が下垂体内で何らかの役割を担っていることは以前より推定されていた。我々は、マウス下垂体前葉において、GH 産生細胞が IGF-I を産生することや、IGF-I の受容体が発現していることは既に報告してきた (Honda *et al.*, 1998)。さらに、IGF-I 投与により ACTH 産生細胞の DNA 合成が高まることを報告している (Oomizu *et al.*, 1998)。本研究により、GH 産生細胞には、GH 受容体 mRNA が検出され、GH 受容体を発現していることが示された。したがって、下垂体前葉細胞で産生、分泌された GH は、自己分泌のまたは傍分泌的に GH 細胞に作用し、IGF-I の産生を促進することが考えられる。GH 投与によって GH mRNA 量には変化はなく、GH の産生には GH は直接には制御しないと考えられる。しかしながら、IGF-I 投与により GH mRNA 量は低下したことから、IGF-I は GH の産生を抑制することがわかった。GH は IGF-I の産生・分泌を高めることにより、間接的に GH の産生を抑制することが推察される。

IGF-I 投与は、POMC mRNA 発現を高めた。下垂体前葉においては POMC からプロセッシングにより ACTH が生成されるので、IGF-I により ACTH の産生が高まることが示唆される。GH 投与によっても POMC mRNA 発現は高められたが、ACTH 産生細胞には GH 受容体は発現しない。したがって、この GH の POMC 発現促進効果は間接的作用であると考えられる。GH が IGF-I の産生を促進するので、GH の POMC の産生促進作用は、GH により産生が高まる IGF-I を介する可能性が示唆される。このように下垂体 IGF-I は GH 遺伝子の発現の抑

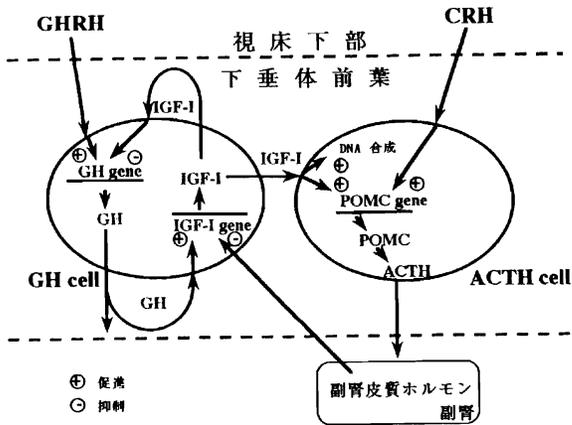


図6 下垂体前葉におけるGH産生細胞とACTH産生細胞の相互作用機構

制因子として、また POMC 遺伝子の発現の促進因子としてはたらいっていると考えられる。

下垂体 GH 産生細胞における IGF-I の産生が、肝臓などの IGF-I と同様に GH によって促進されることが明らかになった。子宮においては発情ホルモンにより IGF-I の産生が高まることが知られている。しかしながら、下垂体においては発情ホルモンによる IGF-I の発現の促進効果は認められず、IGF-I 遺伝子の転写制御機構に組織による違いがあることが推察される。

下垂体 GH 産生細胞由来の IGF-I が、GH 産生細胞自体のみならず ACTH 産生細胞の機能を制御する可能性が示された。マウス下垂体においては GH が IGF-I の産生を促進し、DEX が抑制した。GH により産生が高まった IGF-I が、GH の発現を抑制すると考えられ、従来から提唱されてきた GH の自己分泌制御機構に、GH 産生細胞由来の IGF-I が関与していることが示唆される。また、IGF-I は、POMC、すなわち ACTH の発現を高め、ついで ACTH は副腎皮質ホルモンの産生を高める。さらに、分泌の高まった副腎皮質ホルモンは下垂体 IGF-I の産生を抑えることになる。このように GH 細胞は IGF-I を介して ACTH 産生細胞の機能を制御する一方、ACTH 細胞は、副腎皮質ホルモンにより間接的に GH 細胞機能を制御していることが推察される (図 6)。

まとめ

本稿では、GH 産生細胞と ACTH 産生細胞間に、IGF-I を介する細胞間情報伝達機構が存在している可能性を示した。我々は、GH 産生細胞に存在する transforming growth factor α (TGF- α)

が、前葉ホルモンの一つであるプロラクチンの産生細胞の DNA 合成・細胞分裂を促進することも明らかにしてきた (Oomizu *et al.*, 2000; Takahashi *et al.*, 2002; Sharma *et al.*, 2003)。この例も、GH 産生細胞とプロラクチン産生細胞間に、TGF- α を介する細胞間情報伝達機構の存在を示唆するものであると考えている。このように、下垂体で産生される IGF-I や TGF- α のような成長因子が、自己分泌的または傍分泌的に作用して前葉細胞の増殖や機能を制御し、「下垂体内制御機構」の情報伝達分子の役割を果たしていると考えられる。

引用文献

- Honda, J., Takeuchi, S., Fukamachi, H. and Takahashi, S. Insulin-like growth factor-I and its receptor in mouse pituitary glands. *Zool. Sci.*, 15: 573-579 (1998)
- Honda, J., Oomizu, S., Kiuchi, Y., Komatsu, N., Takeuchi, S. and Takahashi, S. Identification of epidermal growth factor mRNA-expressing cells in the mouse anterior pituitary. *Neuroendocrinology*, 71: 155-162 (2000)
- Honda, J., Manabe, Y., Matsumura, R., Takeuchi, S., Takahashi, S. Insulin-like growth factor-I regulates proopiomelanocortin and growth hormone gene expression in the mouse pituitary gland. *J. Endocrinol.*, 178: 71-82 (2003)
- Oomizu, S., Takeuchi, S. and Takahashi, S. Stimulatory effects of insulin-like growth factor I on proliferation of mouse pituitary cells in serum-free culture. *J. Endocrinol.*, 157: 53-62 (1998)
- Oomizu, S., Honda, J., Takeuchi, S., Kakeya, T., Masui, T. and Takahashi, S. Transforming growth factor- α stimulates proliferation of mammothrophs and corticotrophs in the mouse pituitary. *J. Endocrinol.*, 165:493-501 (2000)
- Schwartz, J. Intercellular communication in the anterior pituitary. *Endoc. Rev.*, 21: 488-513 (2000)
- Sharma, S., Oomizu, S., Kakeya, T., Masui, T., Takeuchi, S. and Takahashi, S. Gene expression and the physiological role of transforming growth factor- α in the mouse pituitary. *Zool. Sci.*, 20: 83-89 (2003)
- Takahashi, S., Sharma, S., Oomizu, S., Honda, J. and Takeuchi, S. Intrapituitary regulatory system of mammothrophs in the mouse. *Arch. Physiol. Biochem.*, 110: 34-41 (2002)