

Bone Morphogenetic Protein の多機能性と内分泌調節

大塚 文男

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 総合内科学

キーワード：骨形成蛋白, BMP, 成長因子, 内分泌

Multifunctional BMP and its endocrine regulation

Fumio Otsuka

Department of General Medicine, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

はじめに

我々はいままで、骨形成蛋白 (bone morphogenetic protein: BMP) の作用や生理的意義について、卵巣・下垂体・副腎・骨・甲状腺・乳腺などの内分泌腺を中心に探索してきた (以下のレビュー論文を参照¹⁻⁹⁾)。BMP は、TGF- β , inhibin/activin, Vgl, ミューラー管抑制因子 (MIS/AMH) などを含む TGF- β スーパーファミリーに属し、初期胚の器官形成や中胚葉誘導に重要な役割を果たしている。元来 BMP は骨化を促す物質として1965年に Urist らにより発見された。その後、1988年の Wozney らによる BMP-2, -3, -4 のクローニングに続き BMP-5, -6, -7 が同定され、1998年には異なる2つの研究室から growth differentiation factor (GDF)-9 と高い相同性をもつ BMP-15 (GDF-9B) がクローニングされた。

30種以上からなる BMP 分子群は、TGF- β スーパーファミリーのなかで最も大きいサブグループである。なかでも BMP-15 は X 染色体にコードされ、卵巣の卵

母細胞に特異的に発現していることが分かり、我々はまず卵巣における BMP-15 の機能解析から着手した。この BMP-15 の卵巣における研究の過程で、BMP が骨のみならず種々の内分泌組織において autocrine/paracrine 機序で組織特有の作用を発揮することが明らかとなった。以下、我々が研究を進めてきた卵巣・下垂体・副腎を中心に、BMP による多様な生理活性と作用メカニズム、その応用性について述べる。

卵巣 BMP システムによる卵巣成長の支持作用

骨化を促す蛋白として命名された BMP は、胚発生と中胚葉分化に必要な分子群でもあり、BMP リガンドや受容体サブタイプのノックアウトマウスの多くは胎生致死となる。そのため BMP の生殖内分泌機能に関する探求は当初困難であった。我々は、まず卵母細胞特異的に発現する活性型 BMP-15 蛋白を作成した。ラット顆粒膜細胞の初代培養を用いた検討によって、BMP-15 が卵巣刺激ホルモン (FSH) 受容体の発現を抑制して黄体ホルモン (progesterone: P4) の合成を制御すること、卵母細胞との細胞間コミュニケーションを介して顆粒膜細胞の増殖に寄与すること、そして BMP-15 の受容体が ALK-6/BMPRII であり細胞内シグナルとして Smad1/5/8 経路を活性化することを

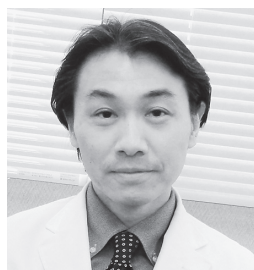
平成25年5月受理

〒700-8558 岡山市北区鹿田町2-5-1

電話：086-235-7342 FAX：086-235-7345

E-mail：fumiotsu@md.okayama-u.ac.jp

◆ プロフィール ◆



福岡県北九州市出身、1986年小倉高等学校卒業。1992年岡山大学医学部医学科卒業後、第三内科入局、呉共済病院にて内科研修。1998年岡山大学大学院医学研究科修了の後、1999年より3年間米国 UCSD 医学部生殖内分泌教室に研究留学。GnRH の発見でノーベル賞を受賞した Roger Guillemin 博士の研究室で Molecular Biology を立ち上げた S. Shimasaki 博士に師事し、BMP を始めとする成長因子に関する基礎研究に従事。2003年より岡山大学医学部・歯学部附属病院助手、2005年より岡山大学大学院医歯薬学総合研究科助手、2007年より岡山大学大学院医歯薬学総合研究科助教を経て、2009年岡山大学病院内分泌センター准教授、2011年同センター長、2012年より岡山大学大学院医歯薬学総合研究科総合内科学教授、2013年より岡山大学病院卒後臨床研修センター医科部門長併任。日本内科学会総合内科専門医・指導医・評議員、日本内分泌学会専門医・指導医・教育責任者・評議員、日本甲状腺学会専門医、日本リウマチ学会専門医

見出した。さらに卵母細胞由来の BMP-15 が homodimer としてのみならず分子相同性の高い GDF-9 と heterodimer を形成することを証明した¹⁻³⁾。

我々の BMP-15 の研究に先立ち、BMP-15 と同様に卵母細胞特異的な発現が認められる GDF-9 については、米国ベイラー医科大学の Dr. Matzuk らにより精力的な研究が行われ、GDF-9 欠損マウスで卵胞発育が早期から中断することが証明されていた。一方、ニュージーランドの研究グループは自然発症的に卵巣不全を生ずるヒツジ (FecXI, FecXH) において、BMP-15 成熟蛋白に変異の存在を発見し、ホモ体変異で不妊・ヘテロ体で多産という BMP-15 の多寡による特異的な生殖表現型に参与することを明らかにした。その後、BMP-15 受容体である BMP 1 型受容体 (ALK-6) の遺伝子変異が、多産のヒツジ (FecB) の成因であることも発見され、BMP-15 関連遺伝子の変異ヒツジの形質と我々の生理活性データを統合することで、BMP-15 の生殖内分泌における重要性が浮き彫りとなった。さらに 2004 年に報告された卵巣不全のイタリア人姉妹を皮切りに、ヒトにおける BMP-15 変異や遺伝子多型による生殖機能の異常が各国より報告され、この分子の卵巣機能調節における意義が一層明確となった。興味深いことに、ヒトとマウスでは BMP-15 プロ蛋白から成熟蛋白へのプロセッシング機構や分泌機序に相違が

あり、BMP-15 は特にヒトやヒツジなどの少排卵動物の生殖に必須で、排卵数の種差にも関連していることが暗示された^{6,7)}。

卵母細胞由来の BMP-15 をはじめ、卵胞に発現する BMP リガンド (BMP-2, -4, -6, -7, -15, GDF-9 など) は共通して FSH の刺激下で卵胞顆粒膜細胞による P4 産生を抑制する作用をもつことから、正常な卵巣では未成熟な排卵を抑制する黄体化抑制因子 (luteinizing inhibitor) として作動していると考えられる (図 1)。一方で、estradiol (E2) 産生に対してはリガンドにより異なる作用をもつ。BMP-6, -15 は直接 E2 産生には影響しないが、BMP-2, -4, -7 は FSH 受容体シグナル下流の MAPK を調節して E2 産生を促し、この系は卵母細胞の存在で増幅される。BMP-15 と同じく卵から分泌される fibroblast growth factor (FGF)-8 も MAPK を介して E2 抑制に寄与しており、顆粒膜細胞の増殖に必須の kit ligand (KL)/c-kit ループが卵から FGF-8 を介して E2 合成を抑制する。さらに顆粒膜細胞での KL 発現は BMP-15 により促進される。つまり、図 1 に示すように卵胞の BMP 分子群は、構成する卵母細胞・顆粒膜細胞・莢膜細胞の間で機能的ネットワークを形成し、卵胞発育や卵巣ステロイド合成を巧みに調節していると考えられる^{7,9)}。内分泌の病態における場面では、この卵胞 BMP シ

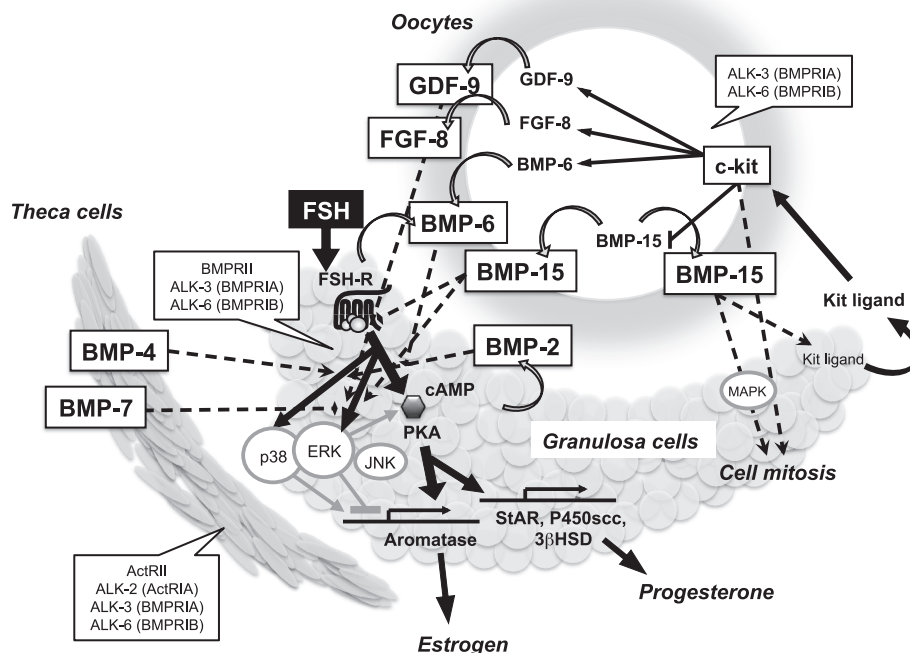


図 1 卵巣顆粒膜細胞の機能調節に寄与する BMP

システムが生殖機能への影響を緩和する因子として作動するようである。例えば、高プロラクチン（PRL）状態に晒された卵胞では、早期のP4増加により未成熟な排卵を生ずる可能性があるが、それを回避するために卵巣に内在するBMPシステムが活性化され、PRL作用を抑制するというフィードバック機構が示された。また成長ホルモン（GH）の分泌不全状態では、GHおよびIGF-I作用の低下により内因性BMP活性が増強する結果、FSH受容体発現の抑制と顆粒膜細胞の増殖が亢進し、閉鎖卵胞の増加と健常卵胞の減少が生ずる可能性がある。GHはゴナドトロピンと協調して卵胞成長を支持するが、卵巣ではIGF-IとBMP分子間の拮抗作用を通じて、卵胞ステロイド分泌の恒常性が維持されていることが示された。このように、卵を中心に形成されるBMPを介した卵胞細胞間コミュニケーションの存在と、生殖内分泌におけるBMPの新たな役割が明らかとなった⁹⁾。

下垂体BMPシステムによる内分泌調節と下垂体腫瘍における意義

BMP分子は卵巣機能の調節以外に、下垂体の発生・分化においても重要な因子である。ラット下垂体初代培養を用いた実験により、BMPは下垂体前葉ゴナドトロープでのFSH転写・分泌を促進することが明らかとなった。さらに、ヒトのゴナドトロピン産生性下垂体腺腫では、BMP/activinの結合蛋白であるfollistatinの発現レベルが非機能性腺腫と比べて減弱していることが確認された。これらの結果から、内因性BMP/activin作用が発生起源を同じくすると考えられる非機能性腺腫とゴナドトロピン産生腺腫のFSH産生能の決定付けに参与することが想定された。また、視床下部ではBMP-2、-4がGnRHニューロンに発現するestrogen receptor (ER)のgenome作用を減弱して、E2によるGnRHへの負のフィードバックを抑制することが示された。BMP受容体シグナルSmad1/5/8は、ERシグナルとクロストークするという我々の知見を踏まえ、下垂体・視床下部のERと新たなゴナドトロピン分泌因子kisspeptin・抑制因子GnIHの関係に着目して、BMPによるゴナドトロピン分泌調節機序の解明を目指して研究を進めている^{2,8)}。

また、下垂体腫瘍の発育・進展のメカニズムと薬物作用機序との関連を解明して有効な下垂体腫瘍の内科治療法の開発を目指すべく、下垂体に内在する種々の

成長因子に着目して基礎研究を行ってきた。術後の残存腫瘍や下垂体ホルモン産生過剰に対して薬物療法が選択されるが、クッシング病や薬物反応性に乏しい難治性先端巨大症では腫瘍の増殖抑制と内分泌活性の制御に苦慮しているのが現状である。GH産生性下垂体腺腫（先端巨大症）の薬物治療において、dopamine作動薬（DA）およびsomatostatin作動薬（SSA）の奏効性は臨床的に認識されている。しかし一方で、これらの薬剤を併用した場合に、GH抑制効果が減弱する症例があることも知られている。我々はGH産生下垂体腫瘍モデルを用いた検討により、DAとSSAの両者併用による耐性（GH抑制効果の減弱）の発生に、BMP-4が関与することを提唱した。つまり下垂体に内在するBMP-4はGH分泌を促進するが、DAはこのBMP-4作用を抑制する。しかし、高濃度のSSA存在下では、このDAによるBMP-4抑制効果が減弱する現象を確認した。さらに、臨床において有効な薬剤がなく問題となるのが副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）を過剰産生するクッシング病である。我々は、クッシング病の下垂体腫瘍で発現が減少しているBMP-4が、ACTH産生細胞においてACTH前駆体遺伝子POMCの発現を抑制し、ACTH分泌を制御することを確認した。そしてSSAがBMP-4受容体（ALK-3/BMPRII）の発現増加とBMPシグナルの抑制分子であるSmad6/7の発現抑制を介して、BMP-4によるACTH抑制を強化することを明らかにした。下垂体腫瘍の薬物治療において内在するBMP-4の発現を調節するという視点からアプローチし、BMP-4を薬物奏効性の指標として応用したいと考えている^{8,9)}。

副腎に発現するBMP-6とアルドステロン分泌への関与

我々は、副腎皮質にも機能的BMP/activinシステムが内在することを確認した。アルドステロン産生能を有するヒト副腎皮質細胞を用いた検討から、副腎皮質に発現するBMP-6がアンジオテンシンII（Ang II）によるアルドステロン産生を刺激し、一方でactivinはACTHによるアルドステロン産生を促進するという分泌機序を明らかにした。BMP-6は副腎皮質において、Ang IIにより活性化されるMAPK経路のリン酸化を促してアルドステロン合成酵素遺伝子CYP11B2の転写を誘導し、アルドステロンの産生を増強することを示した。臨床の場ではレニン・アンジオテンシン系を抑制する降圧薬としてアンジオテンシン変換酵素

阻害薬 (ACEI) や Ang II 受容体拮抗薬 (ARB) を使用するが、これらの長期投与により理論上抑制されるはずのアルドステロンの抑制効果が減弱して循環レベルが再上昇するブレイクスルー現象が生じうる。アルドステロンは直接的に腎や心血管障害などの臓器障害を惹起するため、ブレイクスルーを回避したいが、この発生メカニズムの詳細は不明であった。アルドステロンの主な合成・分泌の調節因子として、Ang II, カリウム (K) 及び ACTH が知られているが、さらに副腎局所に存在する種々の因子によって制御されていると考えられている。我々は、副腎細胞の培養系で ARB によるブレイクスルーを再現し、BMP-6 シグナルを抑制した場合にはこの現象が見られないことから、この機序に BMP-6 の作用増強が関与する可能性を提案した。ラットを用いて内因性 BMP-6 阻害によるアルドステロン産生能の変化を *in vivo* で検証したところ、BMP-6-KLH ハプテン投与による BMP-6 抑制モデルでは、尿中アルドステロン分泌量の減少と副腎での CYP11B2 発現レベルの低下を認めた。これらの結果を通じて、内因性の BMP-6 が副腎皮質におけるアルドステロンの産生・分泌を促進していることが示唆された^{4,9)}。

おわりに

骨形成蛋白である BMP は、分化誘導作用における多機能性から、body morphogenetic protein とも呼ばれる¹⁰⁾。BMP は分化の調節のみならず、分化した組織においても様々な作用を発揮する。種々の内分泌組織において、autocrine/paracrine 機序でもたらされる組織特有の活性は、臨床応用にも繋がる可能性がある。例えば、卵巣では卵発育を促進し卵胞閉鎖や閉経を調節しうる可能性、女性ホルモンとは異なる避妊薬や骨粗鬆症治療薬としての創薬の可能性など、BMP を内分泌調節ツールへと応用できるかもしれない。また下垂体腫瘍では薬剤応答性の指標として BMP-4 に、副腎ではアルドステロン分泌能の指標として BMP-6 に着目して研究を展開したい。全身的に BMP システムとして捕らえ、臨床へ応用できる新たなシーズへの発展に期待して研究を続けたいと考えている (図 2)。

謝 辞

今回、岡山医学会雑誌に寄稿させていただく機会を賜りました事を、編集長に加藤教授および関係各位の方々へ、心より感

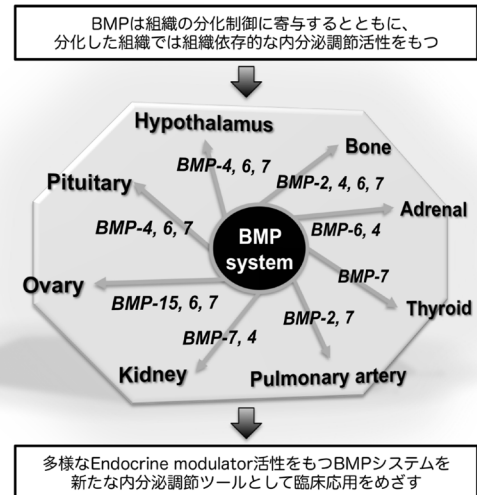


図 2 組織・臓器別に多彩な作用をもつ BMP 分子群

謝申し上げます。

文 献

- 1) Shimasaki S, Moore RK, Erickson GF, Otsuka F : The role of bone morphogenetic proteins in ovarian function. *Reprod Suppl* (2003) 61, 323-337.
- 2) Shimasaki S, Moore RK, Otsuka F, Erickson GF : The bone morphogenetic protein system in mammalian reproduction. *Endocr Rev* (2004) 25, 72-101.
- 3) Shimasaki S, Moore RK, Erickson GF, Otsuka F : Ovarian bone morphogenetic proteins in female reproduction. *Int Congr Ser* (2004) 1266, 241-247.
- 4) Otani H, Otsuka F, Inagaki K, Suzuki J, Makino H : Roles of bone morphogenetic protein-6 in aldosterone regulation by adrenocortical cells. *Acta Med Okayama* (2010) 64, 213-218.
- 5) Otsuka F : Multiple endocrine regulation by bone morphogenetic protein system. *Endocr J* (2010) 57, 3-14.
- 6) Otsuka F, McTavish KJ, Shimasaki S : Integral role of *gdf-9* and *bmp-15* in ovarian function. *Mol Reprod Dev* (2011) 78, 9-21.
- 7) Otsuka F, Inagaki K : Unique bioactivities of bone morphogenetic proteins in regulation of reproductive endocrine functions. *Reprod Med Biol* (2011) 10, 131-142.
- 8) Otsuka F, Tsukamoto N, Miyoshi T, Iwasaki Y, Makino H : *Bmp* action in the pituitary : Its possible role in modulating somatostatin sensitivity in pituitary tumor cells. *Mol Cell Endocrinol* (2012) 349, 105-110.
- 9) Otsuka F : Multifunctional bone morphogenetic protein system in endocrinology. *Acta Med Okayama* (2013) 67, 75-86.
- 10) Wagner DO, Sieber C, Bhushan R, Borgermann JH, Graf D, Knaus P : *Bmps* : From bone to body morphogenetic proteins. *Sci Signal* (2010) 3, mr1.