

Title	Regulation of Expression and Physiological Function of Type 3 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Isozyme Hsd3b6(Abstract_要旨)
Author(s)	Yarimizu, Daisuke
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2019-03-25
URL	https://doi.org/10.14989/doctor.k21719
Right	学位規則第9条第2項により要約公開; 許諾条件により要約は2020-03-25に公開; 許諾条件により要旨は2019-06-25に公開
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	none

京都大学	博士 (薬科学)	氏名	鑑水 大介
論文題目	Regulation of Expression and Physiological Function of Type VI 3 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Isozyme Hsd3b6 (VI型 3 β -水酸化ステロイド脱水素酵素 Hsd3b6 の発現制御と生理機能の解明)		
(論文内容の要旨)			
<p>The enzyme 3β-hydroxysteroid dehydrogenase/isomerase (3β-HSD) is essential for the biosynthesis of all active steroid hormones, such as those secreted from the adrenal gland, testis, ovary, skin, and placenta. The 3β-HSD enzymes exist in multiple isoforms in humans and rodents with different tissue specificity. The mouse has two isoforms in the adrenal: one (Hsd3b1) is ubiquitous in the cortex, but the other (Hsd3b6) is specific to the zona glomerulosa (ZG), where aldosterone is produced [1]. Both genes are evolutionally conserved in humans, with the genes named <i>HSD3B1</i> and <i>HSD3B2</i> being a candidate counterpart of the mouse <i>Hsd3b6</i> and <i>Hsd3b1</i>, respectively. As such, HSD3B1 corresponds to the ZG-specific 3β-HSD isozyme in human adrenal gland [2]. Angiotensin II (AngII) and potassium (K⁺) are the major physiological regulators of aldosterone synthesis. AngII stimulates expression of <i>HSD3B1</i> via the orphan nuclear receptors NGFIB and NURR1 in human adrenocortical H295R cells [3]. However, it remains unknown whether K⁺ stimulation similarly activates this NGFIB/NURR1 pathway. Here I examined K⁺ sensitivity of <i>HSD3B1</i> in H295R cells (chapter 1). Furthermore, I extended my research to understanding the roles of this enzyme in other tissues. I found that Hsd3b6 is expressed in the meibomian glands of mouse eyelid. I explored the physiological function and regulatory mechanisms of this enzyme in the meibomian glands (chapter 2).</p> <p>Chapter 1: Stimulus-selective induction of the orphan nuclear receptor NGFIB underlies different influences of angiotensin II and potassium on the human adrenal gland zona glomerulosa-specific 3β-HSD isoform gene expression in adrenocortical H295R cells</p> <p>I show that K⁺ stimulation lacks the ability to induce <i>HSD3B1</i> expression in human adrenocortical H295R cells. Both AngII and K⁺ were able to enhance transcription of the aldosterone synthase gene (<i>CYP11B2</i>). Promoter analysis revealed that although both AngII and K⁺ activate transcription from the Ca²⁺/cAMP response element (CRE) located in the <i>CYP11B2</i> promoter, the orphan nuclear receptor NGFIB-responsive element (NBRE) located in the <i>HSD3B1</i> promoter fails to respond to K⁺, being only able to enhance transcription after AngII treatment. I found that induction of <i>de novo</i> protein synthesis of NGFIB occurs only after AngII treatment. This sharply contrasts with the phosphorylation that occurs in response to both AngII and K⁺ on the CREB/ATF family transcription factor ATF2. Chromatin immunoprecipitation assay confirmed that the NGFIB protein occupies the <i>HSD3B1</i> promoter only after AngII, while ATF2 binds to the <i>CYP11B2</i> promoter in response to both AngII and K⁺. These data provide evidence that signals from AngII and K⁺ can be uncoupled in the regulation of <i>HSD3B1</i> in the human adrenocortical H295R cells [4].</p>			

Chapter 2: Circadian clock-regulated 3 β -HSD activity in the meibomian glands

It is well known that malfunction of the circadian clock is linked to the pathogenesis of a wide variety of diseases. Meibomian glands are holocrine glands embedded in the eyelid and secrete lipid onto the ocular surface tear film. However, the molecular mechanisms by which circadian clock contributes to the meibomian gland function are poorly understood. By performing immunohistochemistry using Hsd3b6 subtype-specific antibody, I found Hsd3b6 is specifically expressed in acinar epithelial cells of the meibomian gland. Notably, consistent with the expression of this enzyme, I found that the meibomian glands exhibit intra-tissue 3 β -HSD enzymatic activity, suggesting that Hsd3b6 contributes to the local steroid production within the meibomian glands. Moreover, I provide evidence that 3 β -HSD enzymatic activity oscillates in a circadian fashion in the meibomian gland. These findings suggest that malfunction of circadian clock-regulated 3 β -HSD activity may underlie meibomian gland dysfunction.

References

- [1] Doi *et al.*, *Nat Med* **16**, 67–74, 2010
- [2] Doi *et al.*, *J Clin Endocrinol Metab* **99**, E257–62, 2014
- [3] Yarimizu *et al.*, *Mol Cell Biol* **34**, 3880–94, 2014
- [4] Yarimizu *et al.*, *Endocrine J* **62**, 765–776, 2015

(論文審査の結果の要旨)

3β-水酸化ステロイド脱水素酵素 (3β-HSD) は生体内で産生される全てのステロイドホルモンの合成に必須の酵素である。ヒトおよびマウスの3β-HSD酵素ファミリーには構造のよく似た複数のサブタイプが存在し、それぞれが組織特異的な発現を示す。3β-HSD酵素の発現制御の仕組みを知ることは組織ごとに異なるステロイド産生制御のメカニズムを理解する上で不可欠であるが、特有の組織において各サブタイプの酵素活性や発現がどのように制御されているのか、その時間依存的あるいは刺激依存的な調節メカニズムは大部分が不明であった。このような中、申請者は、ヒト・マウスが共通に有する3β-HSD酵素サブタイプヒトHSD3B1/マウスHsd3b6に着目し、本論文において、その発現・活性制御の分子機構を明らかにした。第一章では、ヒトの副腎ステロイド産生細胞株H295Rを実験材料に用い、*HSD3B1*の発現がアンジオテンシンII (AngII) には急速に応答して上昇するが、カリウム (K⁺) 刺激には全く応じないことを見出した。AngIIとK⁺はともに副腎で産生されるアルドステロンの合成を増強する重要な生理活性物質である。申請者は、背後の分子メカニズムを調査し、AngIIによる*HSD3B1*の誘導には核内受容体NGFIBの新規合成が必要である一方、NGFIB蛋白質はK⁺では誘導されないため*HSD3B1*はK⁺刺激に応答しないことを明らかにした。つまり、*HSD3B1*の発現制御には刺激選択性があり、その制御を核内受容体のNGFIBが司ることを示した。一方、第二章では、マウスの眼瞼組織を用いて、Hsd3b6が眼瞼のステロイド産生器官であるマイボーム腺に強く発現することを示し、マイボーム腺局所の3β-HSD酵素活性には顕著な日内リズムが存在することを見出した。このように、本論文は、ヒト・マウスが共通に有する特異な3β-HSD酵素サブタイプの組織特異的な活性調節メカニズムの存在を明らかにした。近年、注目されるマイボーム腺障害あるいはアルドステロンを原因とした高血圧症の解明、治療に向けた新たな側面を開く研究成果であるといえる。よって、本論文は博士(薬科学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成31年2月22日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。なお、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当分の間当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

要旨公表可能日： 2019年 6月 25日以降