

カレントレビュー

1. 内分泌

a. エストロゲンレセプターに関する研究の進歩

Recent Advance in Research of Estrogen Receptor

井 上 聡

Satoshi INOUE

はじめに

エストロゲンは性ホルモンとして、女性の二次性徴や生殖機能に必須なステロイドホルモンであり、脳神経や免疫組織、血管、脂質・骨代謝などにおいて多彩な生理的作用を及ぼしている。また、エストロゲンは乳癌、動脈硬化症、骨粗鬆症などの疾患の病因に深く関与していることが明らかになっている。

エストロゲンの生殖機能にとどまらない多様な生理的機能は、エストロゲンレセプター(ER)を介して引き起こされる。ERは細胞質で作られると核に移行し、細胞内に移動したエストロゲンリガンド(17 β -エストラジオールなど)と効率よく結合されるよう、リガンドに対する高親和性を有する。リガンドと結合したERは二量体にて、ゲノムDNA上のエストロゲン応答配列(estrogen responsive element: ERE)に結合し、標的遺伝子の転写を活性化する。すなわちERはリガンド依存性の転写因子である。

ERは80年代後半に同定され、構造・機能や共役因子が次々と明らかにされてきた。さらに近年、新たなER(ER β)が同定され、エストロゲン研究は新しい展開をみせている。従来のERはER α と呼ばれるようになった。ER α については遺伝子欠損マウスの作成や機能的レセプター欠損症の症例から、生殖機能のみならず骨代謝における重要性が分かってきた。ER β についても1998年に遺伝子欠損マウスが発表され、今後のさらなる解析が期待される。

本稿では、まずERの構造と機能、ERとその共役因子群を介した転写制御機構、ER下流の応答遺伝子とその生理的機能について述べ、次にモデル動物の解析やレセプター異常症から明らかになってきたERの生理的機能に関する最近の知見について概説する。

エストロゲンレセプターの構造と機能

ERは、ステロイドホルモン・レチノイン酸・甲状腺ホルモン・ビタミンDレセプターなどととも核内レセプタースーパーファミリー¹⁾に属しており、リガンド誘導性転写制御因子である。エストロゲンがERのC端側にあるリガンド結合ドメイン(LBD)に結合すると、ERは、中央に存在するDNA結合ドメイン(DBD)を介してゲノム上のEREと二量体にて結合し、

東京大学医学部附属病院老年病科
〒113-8655 東京都文京区本郷7-3-1
Department of Geriatric Medicine, University of
Tokyo Hospital, Tokyo

Key words : Estrogen · Estrogen receptor ·
Target gene · Genetics

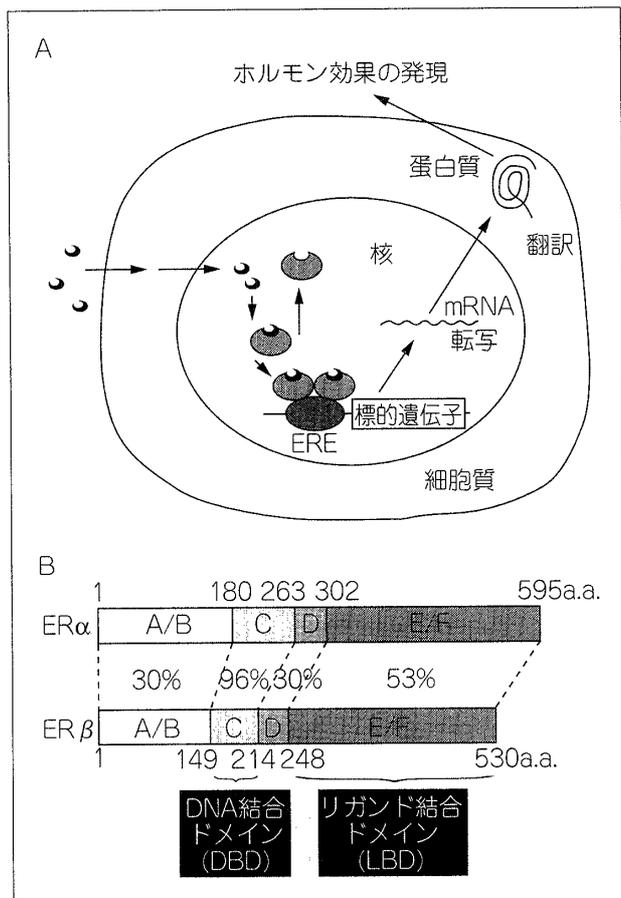


図1 エストロゲン作用機構のモデル(A), ER α とER β の構造の比較(B)

A) ○: エストロゲン, ●: エストロゲンレセプター(ER α , ER β). B) ER α とER β を比較すると, DNA結合ドメインのホモロジーは高いが, ほかの部分のホモロジーはさして高くない. ER: エストロゲンレセプター. ERE: エストロゲン応答配列, a.a.: アミノ配残基

近傍の標的遺伝子の転写を調節すると考えられている(図1A)²⁾. 現在までにエストロゲンの標的遺伝子として, ビテロゲニン, オブアルブミン, プロゲステロンレセプター, プロラクチン, ラクトフェリン, pS2などが知られている. 筆者らはEREをゲノム上に同定することにより, 新規エストロゲン応答遺伝子efp(estrogen-responsive finger protein)³⁾⁴⁾をはじめ, 複数の応答遺伝子を同定している. これらはいずれも遺伝子の近傍にEREをもっており, ERはエストロゲン応答性に標的細胞核内で転写制御を行

う.

1996年以降, スウェーデン, オランダ, 筆者ら, カナダの各グループが, 新規ER(ER β)をラット, ヒト, マウスで相次いで同定し, 従来知られていたERはER α と呼ばれ, 区別されるようになった.

筆者らが単離したヒトER β ⁵⁾のアミノ酸構造をER α と比較すると, ER β ではA/B領域とE/F領域が短くなっており, ホモロジーとしてはC領域(DBD)で96%と非常によく保存されており, 一方E領域(LBD)では53%であった(図1B). 構造からも推測されるように, ER β もER α 同様のリガンド(17 β -エストラジオール)に対する高い結合能(Kd値は0.4nM), リガンド特異性を有し, EREを介する転写活性も17 β -エストラジオールの添加により上昇し, タモキシフェンにより抑制される⁶⁾. すなわち, ER β もER α 同様に, リガンド依存的に標的遺伝子の転写を調節すると考えられる. 一方, ER α とER β のリガンド特異性は, 各種エストロゲン様物質に対し必ずしも同一でないことも判明している.

ラットER β は前立腺や卵巣で多く発現しており, 膀胱, 肺, 子宮, 精巣, 脳, 動脈においても発現していることが確認された. 子宮, 視床下部や下垂体など, ER α が多く発現している部位でのER β の発現は必ずしも多くなく, 逆にER β は前立腺に多く発現している点が特徴的である. 筆者らは最近ER β に対する抗体を作成し, 卵巣や子宮におけるER β の蛋白レベルでの発現をER α の発現との比較で報告した⁷⁾. その発現はin situ hybridization法によるmRNAレベルの観察と同様に組織内局在性が認められる. ラットER β は, 卵巣においてgranulosa cellにて多く発現しており, thecal cellで少なく, また性周期でその発現量が調節されていた. 子宮の特にluminal epithelium cellにおいてはER α の発現のほうが著明であっ

た。

ヒト ER β については ER α が第6染色体に位置するのと異なり, FISH (fluorescence in situ hybridization) による解析から14q23に位置することが明らかになった⁹⁾。またラット ER β の臓器発現と異なり, ヒトでは精巣の発現量が多く, 前立腺ではむしろ少ない。

ER β の生理的機能については今後の解析が待たれるが, ER α との類似性を有する一方で, 構造の相違性から生じる生理的作用の相違も考えられる。核内レセプターで広く共通に認められる二つの転写活性化ドメイン AF-1, AF-2⁹⁾ に関して, ER β は ER α に比べて AF-1すなわち図1BのA/B領域が短くなっており, ホモロジーもそれほど高くない。したがって, これらの領域の解析を進めることで, ER α と ER β の転写制御機構や作用の相違に迫れるものと考えられる。また ER α と ER β 間でのクロストークの存在⁵⁾も注目される。ER α に対する応答遺伝子や共役因子に対して, ER β についてアイソフォーム特異的な応答遺伝子や共役因子の存在が考えられ, 現在検討が進んでいる。

ER と共役因子群を介した転写制御機構

ER α を含む核内レセプターが転写制御因子として機能するには, 基本転写因子群とともに種々の共役因子の存在が重要であることが最近の研究の進歩から明らかになってきた¹⁰⁾。これら共役因子は転写制御に果たす役割から, coactivator と corepressor に大別される。現時点まで知られている共役因子は AF-2へ結合するものが中心であり, AF-1へ結合するものはほとんど知られていない。

ER α の coactivator としては, 1994年に AF-2 に結合する160kDa (p160) と140kDa (p140) の二つの蛋白が同定された¹¹⁾¹²⁾。これら蛋白の AF-2 への結合能はリガンド依存的であり, リガンド結合によるレセプター構造の変化が AF-2 の活性化に必要であることが示唆された。160kDa 蛋白はその後の解析で, プロゲステロンレセプターに結合する因子として同定された steroid receptor coactivator-1 (SRC-1) の splicing variant であることが判明した¹³⁾。

同時に, それまでプロテインキナーゼ A (PKA) などによってリン酸化される転写因子

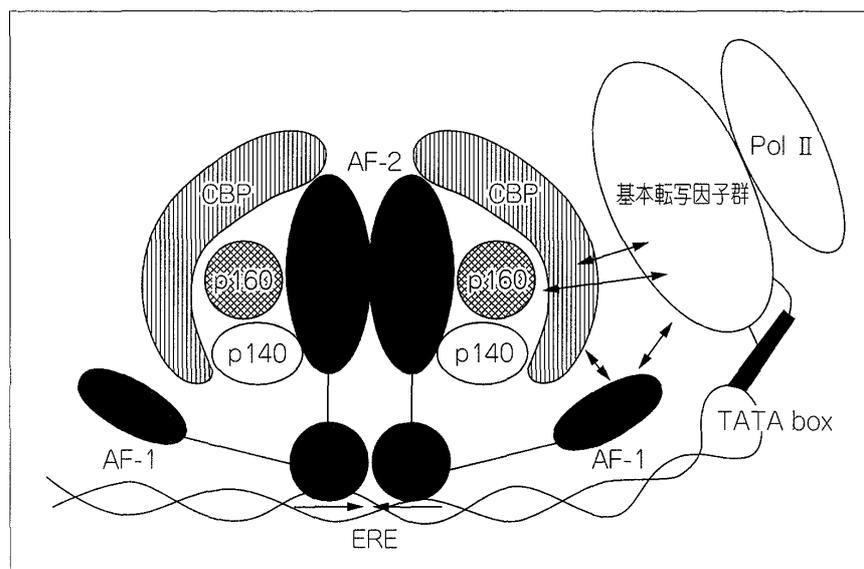


図2 ER 共役因子群と基本転写因子群との結合

cAMP response element-binding protein (CREB) の共因子として知られており、また AP-1などに結合して転写制御に関与していることが明らかになってきた CREB binding protein (CBP) が、核内レセプターの AF-2にも結合することが見出された¹³⁾¹⁴⁾。しかも CBP, p160, p140が複合体を形成し、核内レセプターと基本転写因子群との間に介在することで、各々のレセプター特異的な転写活性化が基本転写因子群と密接に関与

している可能性が示された(図2)。さらにこれまで、核内レセプターによって AP-1活性が抑制されると考えられてきたが、CBP が過剰発現することで核内レセプターによる AP-1活性の抑制が解かれ、その結果 AP-1を介した転写活性化が誘導される可能性も打ち出された。また、CREB や AP-1自体のリン酸化も、標的細胞核内でのリガンド依存的転写活性化に影響を及ぼす可能性もありうる。

表1 エストロゲンで誘導される遺伝子群 (文献20より改変)

種類	遺伝子	誘導のみられる臓器あるいは細胞	発現までの時間 (h)	
核内因子	c-fos	子宮	1~4	P
	c-jun	子宮	1~4	P
	c-myc	子宮, ヒト乳癌細胞株	0.5~4	P
	RAR α 1	ヒト乳癌細胞株		
増殖因子	プロゲステロンレセプター (PR)	子宮, 乳腺	24	
	TNF α	子宮		
	IGF1	子宮, 骨組織	2~4	P
	EGF	子宮内膜		
	VGEF	子宮, 血管内皮細胞	2	P
	HB-EGF	子宮	2~3	P
	EGF レセプター	子宮	1~3	P
	HGF	卵巣		
	TGF- β 3	骨組織		
	雌性蛋白質	ビテロゲン	アフリカツメガエル肝臓	3~6
オブアルブミン		ニワトリ輸卵管		
下垂体ホルモン	プロラクチン	下垂体		P
	オキシトシン	下垂体		
ミルク蛋白質	ラクトフェリン	子宮, 膣	6~24	
細胞周期関連因子	サイクリン D1, D3	ヒト乳癌細胞株, 子宮	8~10	
癌抑制因子	BRCA1	ヒト乳癌細胞株	12~24	
	pS2	ヒト乳癌細胞株	3	P
アポ蛋白質	Apo-VLDLII	ニワトリ肝臓		
細胞外基質	α I (1) procollagen	ヒト骨芽細胞	12	
酵素	cyclooxygenase-1 (cox-1)	胎児肺動脈由来血管内皮細胞	24	
	脳型 creatine kinase	子宮	0.5	P
	カテプシン D	ヒト乳癌細胞株		
その他	内皮型 nitric oxide 合成酵素	血管内皮, 子宮上皮細胞		
	ウテログロビン	子宮内膜		
	efp	子宮, ヒト乳癌細胞	2~8	P
	EBAG 9	ヒト乳癌細胞	6	P

P: primary responsive gene (一次的応答遺伝子). 網掛け: ERE (エストロゲン応答配列) が遺伝子の近傍に位置し, 機能的であることが示されているもの

このように, growth factor やペプチドホルモンなどの細胞膜レセプターを介した情報伝達機構と, 核内レセプターが, AF-2を介してクロストークしている以外に, ER α の AF-1をmitogen-activated protein kinase (MAPK)が直接リン酸化する経路も発見されており¹⁵⁾, 核内レセプターはさまざまな経路により複雑に制御されているといえよう. MAPKによるER α のAF-1のリン酸化にはPQLSPのアミノ酸配列が重要であり, このうちのセリンがリン酸化される. このモチーフはER β にも保存されており, ER β においてもMAPKによるAF-1のリン酸化が引き起こされることが示唆される.

ER α のAF-2に結合する共役因子としてはそのほかにAIB1¹⁶⁾TIF2¹⁷⁾をはじめとして数多くのものが同定されてきている¹⁸⁾. これら核内レセプターのAF-2に結合する共役因子の多くにはLXXLLという共通モチーフが存在し, このモチーフを介して結合することが最近明らかにされてきた¹⁹⁾.

核内レセプターの一つであるレチノイン酸レセプターなどでは, 転写を抑制するcorepressorとしての共役因子群(SMRT, N-CoR)が同定さ

れているが, ERについてもcorepressorが存在するかもしれない. 今後ER α 共役因子の詳細な解析, 新たな機能の共役因子の同定およびER β に対する共役因子の同定により, ERの転写制御機構や生理的機能が解明されていくことが期待される.

エストロゲンレセプターの下流応答遺伝子とその生理的機能

エストロゲンをはじめとした核内レセプターのファミリーは, リガンド依存性の転写因子であり, それぞれの応答配列の近傍に位置するさまざまな下流応答遺伝子を調節することにより, 多彩な機能を起こすと考えられる. エストロゲン刺激で誘導される既知の遺伝子を表1に示したが²⁰⁾, これらはERに直接誘導される一次的応答遺伝子群とさらにその下流に位置する二次的, 三次的応答遺伝子群に分けられる(図3).

一次的応答遺伝子群の代表としてはビテロゲニンがよく知られている. ビテロゲニンは, エストロゲン応答配列をその近傍にもち, この配列は機能的であり, エストロゲン刺激に対して

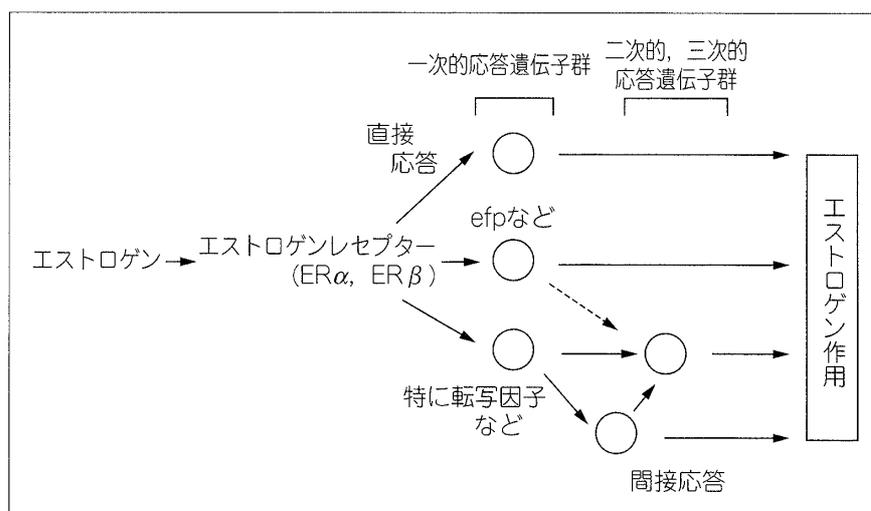


図3 エストロゲン下流応答遺伝子の階層的な遺伝子発現
エストロゲンレセプターの直下で直接誘導される一次的応答遺伝子群と, その結果として次に誘導されてくる二次的, 三次的応答遺伝子群に大別される.

表2 GBS クローニング法により同定されたエストロゲン応答遺伝子

遺伝子	発現部位	構造	機能
EFP	子宮, 乳腺	RING フィンガー	細胞増殖
EBAG 9 NR2D	乳癌, 子宮癌 脳	1 回膜貫通蛋白 NMDA レセプター	増殖抑制 脳高次機能
COX7RP	各組織	酵素 サブユニット	細胞呼吸?
EREG 1	脳	7 回膜貫通蛋白	チャンネル

迅速に誘導されること, またサイクロヘキサミドなどの蛋白質合成阻害剤にてその誘導性が抑制されないことなどが明らかになっている。

そのほかに一次的応答遺伝子として, プロラクチン, pS2, c-fos などがこの範疇に属すると考えられる。HB-EGF や EGF レセプターもこの群に入ると考えられるが, 明らかなエストロゲン応答配列はみつかっておらず, AP-1 などのクロストークがその誘導性に重要とされている場合もある。

最近, BRCA1 やサイクリン D1 などエストロゲンで誘導される二次的あるいは一次的応答遺伝子であることが報告されており, これら遺伝子は, エストロゲンと乳腺上皮の増殖や乳癌との関係, 子宮内膜の増殖作用との関係で注目されている。

筆者らは ERE をゲノム上に同定するゲノム結合部位 (GBS) クローニング法を用いて未知の一次的エストロゲン応答遺伝子を探索している, その結果得られた新しいエストロゲン応答遺伝子を表2にまとめた。たとえば, 最近見出したエストロゲン応答遺伝子の一つ NR2D は, 興奮性グルタミン酸レセプターである NMDA (N-methyl-D-aspartate) レセプターのサブユニットである²¹⁾。特定の神経核には ER α もしくは ER β が発現していることがわかっているが, 性行動や記憶, 感情に対するエストロゲン作用が, 中枢神経系の ER から下流の NMDA

レセプターなどを介して引き起こされる可能性が考えられ, 興味深い。また, RING フィンガーモチーフをもつエストロゲン下流応答遺伝子 efp の発現部位は, 子宮の内膜細胞, 乳腺の上皮細胞, 卵巣の顆粒膜細胞において ER α の発現部位と一致している。また, efp の発現誘導が, 17 β -エストラジオールにより刺激された子宮において, 2時間後をピークとする迅速な応答性を示したことから, 一次的応答遺伝子として, ある特定のエストロゲン作用を媒介している可能性が示唆されている⁴⁾。筆者らはさらに efp 遺伝子欠損マウスを作成し, エストロゲン作用との関連性について解析中である (癌研究会細胞生物部野田研究室との共同研究による)。変異 efp ホモ接合体マウスは成長障害をきたすことなく発育するが, 雌マウスでは子宮低形成およびエストロゲン低応答性が認められ, efp が子宮内膜に対しエストロゲン依存性に増殖促進の方向へに制御していることが想定される。一方, EBAG9²²⁾ はむしろ, 増殖抑制に関与しており同じエストロゲン応答遺伝子群でもその働き, 発現様式, 誘導のされ方はさまざまである。このようにエストロゲン応答遺伝子を同定しその機能を調べることにより, エストロゲン作用の機構とその多様性, 組織特異性を知ることができる (図4)。

エストロゲン関連遺伝子の変異による形質発現

従来より ER α は受精卵の着床や発育に重要であると考えられており, また ER 遺伝子が異常である変異動物もみつかっていなかったため, ER 遺伝子の異常は致死的であると考えられていた。しかし, 1993年に Korach et al. によって発表された ER α 遺伝子欠損マウス²³⁾は致死的ではなく発育し, 不妊で性行動異常を伴っていた。雌マウスでは子宮のエストロゲンへの反応性が低下しており, 卵巣は嚢胞状で出血がみ

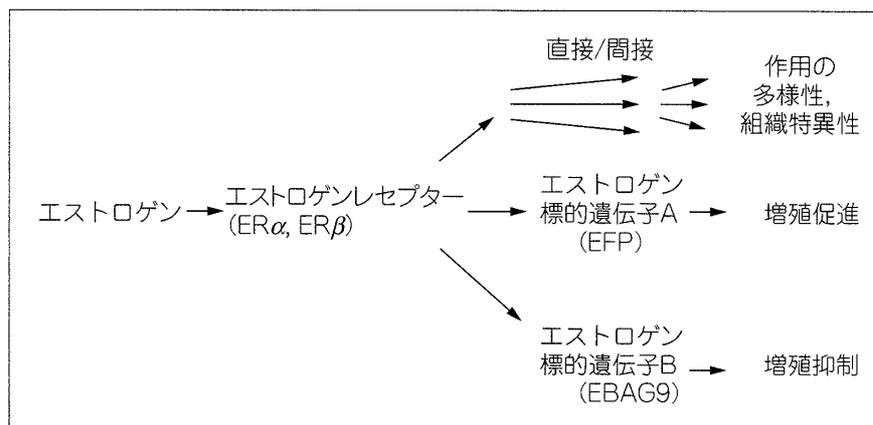


図4 エストロゲン標的遺伝子とエストロゲン作用機構のモデル
新しいエストロゲン応答遺伝子を同定し機能を調べることによりエストロゲン作用の機構とその多様性, 組織特異性を解析できる。

られ, 雄マウスでは精巢の異常が認められた。骨量については, 雄マウスでは低下が認められ, 雌マウスでは低下するものもしくは上昇するとの報告があり, 一定した見解は得られていない。雌マウスの性行動異常だけでなく, 雄マウスにおいても性行動異常や精子形成不全が認められている。

ER α 遺伝子欠損マウスの発表と同時期に, ER α 遺伝子の変異をホモ接合体でもつ男性の1症例が報告され²⁴⁾, 臨床症状に遺伝子欠損マウスの表現型と類似性が認められた。この症例では, ER α の157番目のアミノ酸である Arg のコドン CGA が Stop コドン (TGA) に変異しており, A/B 領域の途中までしか蛋白が合成されず, 機能的 ER α が欠損していた。臨床症状としては, 骨端線の閉鎖不全による高身長, 骨量の低下, 精子数の減少などがあげられた。骨量については, 年齢相当女性の平均値より3.1SDも低下していわゆる骨粗鬆症を呈しており, 骨代謝回転は高回転型であることが示唆された。血中ホルモン濃度は, エストラジオール・エストロンで上昇が認められ, テストステロンは正常, FSH(卵胞刺激ホルモン), LH(黄体形成ホルモン)は上昇していた。この患者は骨粗鬆症に対するエストロゲン療法に反応せず, 血中エストラ

ジオール値がさらに上昇するだけであった。この患者は, さらに冠状動脈にカルシウム石灰化所見が認められ, 脂質代謝異常の有無について検討したところ, 全コレステロール値(130mg/dL), LDL(97mg/dL), HDL(34mg/dL), アポ蛋白 A-I(91.7mg/dL), リポ蛋白(a)(4.1nmol/L)であり, これらはいずれも比較的 low値を示した。トルグリセリド(97mg/dL)とプレ- β -1-HDLコレステロール(61 μ g/mL)については正常値であった²⁵⁾。女性における冠状動脈硬化は閉経前には少なく, 閉経後増加することから, エストロゲンとの関連が以前から示唆されてきたが, この症例にみられるように機能的エストロゲンレセプターの欠損によって男性においても冠状動脈硬化が起こりうるということが強く示唆され, 大変興味深い。

一方, アロマターゼ欠損症の家系が近年報告されており, ER α 欠損症および ER α 欠損マウスの形質と類似性が認められている。アロマターゼは, 性ステロイドホルモン生合成経路の最終段階であるアンドロゲンよりエストロゲンを生成する反応を触媒する律速酵素であり, チトクローム P450系の一つである CYP-19遺伝子の産物である。アロマターゼ欠損症として, 現在までに女性5例と男性2例が報告されてお

表3 各種エストロゲン関連遺伝子の変異における表現型

性別	ER α 遺伝子欠損マウス ²³⁾	ヒトER α 遺伝子欠損症 ^{24) 25)}	ER β 遺伝子欠損マウス ³¹⁾	アロマターゼ遺伝子欠損マウス ²⁹⁾	ヒトアロマターゼ欠損症 ^{26) ~28)}
♀	不妊・性周期欠如・性行動異常 卵巣過形成(多嚢胞性出血性) 子宮・乳腺低形成 高骨密度・骨端線閉鎖不全 血中E2 ↑↑ 血中LH値 ↑	(未発見)	繁殖能(+) 性行動正常 卵巣機能低下 乳腺形成・乳分泌正常 (骨・血管系:未解析)	不妊・外性器發育不全 卵巣過形成・子宮低形成・黄体欠如 雄性化傾向(テストステロン上昇) 鈍い毛皮 血中エストロゲン値 ↓↓ 血中LH, FSH値 ↑ (骨・血管系:記載なし)	不妊・無月経 多嚢胞性卵巣 低骨密度 骨端線閉鎖不全・高身長 インスリン抵抗性?
♂	不妊・精子形成障害 低骨密度 骨端線閉鎖不全 血中E2 ↑↑ 血中LH値 ↑	精子数減少・精子低運動性 低骨密度 骨端線閉鎖不全・高身長 冠動脈石灰化 血中脂質減少	繁殖能(+) 老年期:前立腺・膀胱肥大化 (骨・血管系:未解析)	繁殖能(+) 前立腺肥大化 鈍い毛皮 血中エストロゲン値 ↓↓ 血中LH値 ↑ (骨・血管系:記載なし)	精子数減少? 低骨密度 骨端線閉鎖不全・高身長 インスリン抵抗性 血中脂質異常

り、CYP-19遺伝子変異としては6パターンに分けられる²⁶⁾。そのうち五つは1アミノ酸置換であり、二つについては第9エクソンにおける置換でいずれも男性症例からみつかったものであり、三つについては第10エクソンにおける置換である。残る1パターンは第6と第7エクソンの間で1塩基変異があって蛋白は途中までしか作られず、C末に29アミノ酸の挿入がある。本症の男性2例については、1例は375番目のアミノ酸がアルギニンからシステインへ置換したもの(R375C)²⁷⁾、もう1例は365番目のアミノ酸がアルギニンからグルタミンに置換したもの(R365Q)²⁸⁾で、それぞれの遺伝子変異はホモ接合性に起こっていた。いずれの症例においても、アロマターゼ活性の低下による血中エストロゲン値の著しい低下を認め、骨端線閉鎖不全による高身長および骨量の減少傾向を呈していた。心血管系症状としては、ER α 欠損症でみられたような動脈硬化所見は認められていない。性機能については、R365Qの症例では精子低形成を認め不妊症であるが、R375Cの症例については

検査拒否のため詳細は明らかでないものの、少なくとも睾丸は正常サイズであった。精子形成に関するエストロゲン作用については、環境因子などの要素も大きく影響するため、今後の症例の蓄積が待たれるところである。

アロマターゼ欠損マウス²⁹⁾も1998年に報告され、雌ではアンドロゲン過剰による雄性化傾向や子宮低形成、卵巣の過形成を伴う不妊症をきたしたが、雄では精子形成は正常であった。このマウスの特徴としては鈍い毛皮と真皮へのコラーゲン沈着の皮膚症状があり、この症状はER α 欠損マウスでは認められていない。全般的には、アロマターゼ欠損マウスの異常はER α 欠損マウスの表現型と比較すると軽度であり、その原因としては、食事から外来性にエストロゲンがある程度摂取可能であるか、あるいはvariant型の存在による代償機構がありうるのかもしれない。

筆者らは、ER α とER β 両方のシグナルを阻害するドミナントネガティブ体を見出し³⁰⁾、これを発現させたトランスジェニックラットを作

成することにより、特に骨代謝に対するERの役割を検討した(埼玉医科大学第二生化学教室, 東大医学部老年病学教室, ワイエスニューテクノロジー研究所の共同研究). このドミナントネガティブ体は, ER α のC末が欠失した変異体であり, この遺伝子を発現させた細胞系においてレポーターアッセイによるER α /ER β の転写活性への影響を解析したところ, ER α のみならずER β のシグナルをも阻害することが判明した. このER変異体発現ユニットをラットの受精卵に導入しトランスジェニックラットを作成し, 各種臓器での発現が認められた. これらラットのうち, 雌を6カ月齢においてSham手術群, 卵巣摘除群, 卵巣摘除後エストロゲン補充群に分けて処置し骨量を測定したところ, Sham手術群, 卵巣摘除群では, トランスジェニックラット群と野生ラット群において有意な差が認められなかった. 一方, 卵巣摘除後エストロゲン補充群においては野生群でエストロゲン補充が骨量減少を予防できるのに対して, トランスジェニックラット群において骨量減少を予防できなかった. すなわち, トランスジェニックラットにおいてER α とER β 両方のシグナルを阻害すると, 骨量を指標にしてエストロゲン補充に抵抗性を示すことを示した. 興味深いことにER α / β の作用を阻害してもSham手術群, 卵巣摘除群では骨量に有意な差はみられず, これはER以外の経路で代償されている可能性が示唆される.

1998年末にはER β 遺伝子欠損マウス³¹⁾も発表された. このマウスにおいても変異ホモ接合体でも発育し, 繁殖力はある, 性行動も正常であった. 若い雄マウスでは目立った異常はないものの, 年取った雄マウスにおいては, 前立腺と膀胱に過形成が認められた. 雌マウスは出産するものの, 正常マウスに比して子マウスの匹数が少なかった. 雌マウスでは卵巣機能の低下が認められ, これが繁殖能の低下につながって

いると考えられる. 心血管系や骨・脂質代謝系の表現型については第一報では発表されていない. さらにER α とER β のダブルノックアウトマウスの作成が進行中で, その形質が興味深く待たれる. 以上, この項であげたエストロゲン関連遺伝子変異による表現型の一覧を表3にまとめる.

細胞膜エストロゲンレセプター

性ホルモンに関しては, 核以外にも膜蛋白質に結合して数分以前で起こるような迅速な細胞反応が想定されており, 以前からNongenomic actionの経路の存在が示唆されてきた. 1998年に, プロゲステロンがオキシトシンレセプターと直接的に作用してオキシトシン反応を抑制することが報告され³²⁾, ステロイドホルモンがG蛋白質共役レセプターに直接作用する新たな経路が提唱された.

エストロゲンについても20年来, 膜レセプターの存在が論議されており, 17 β -エストラジオール刺激により数秒から数分でcAMPの上昇, 細胞内カルシウム流入, フォスホオリパーゼCの活性化, イノシトールリン酸の産生, プロラクチンの放出などの反応が引き起こされることが報告されている. ごく最近, ER α とER β 遺伝子をCHO細胞に強制発現させると, 膜分画にもエストラジオール結合部位が現われ, Gs α 蛋白とGq α に膜レセプターが結合することがGTP γ S結合実験により報告された³³⁾. エストロゲンによるNongenomic actionと考えられてきた反応が, 生体内においてもエストロゲン膜レセプターによってG蛋白質を介して引き起こされているのかはさらに検討が必要と思われる.

おわりに

ERに関する最近の知見について生化学, 生物学, 医学の立場から概説した. 最近の研究の

進歩としては、特にER β の発見とレセプターの新しい共役因子やエストロゲン下流応答遺伝子の解析が大きく寄与していると思われる。さらに、レセプター欠損マウスの作製と解析ならびにレセプター欠損症の発見とその臨床的知見により、エストロゲンは女性の生殖機能や性行動に重要であるばかりでなく、男性における精子形成、また心血管系や骨代謝系などにおいても重要な作用を及ぼしていることが明らかになりつつある。

今後さらに各研究の進歩によって、エストロゲンの多彩な生理的機能が明らかになり、臨床的に新しい診断法やより臓器特異的で副作用が少ない治療法の開発に応用されていくものと考えられる。

文 献

1. Evans RM. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science* 1988; 240: 889—895
2. 井上 聡. エストロゲン受容体とラロキシフェンの臨床と分子生物学. *実験医学* 1998; 16: 1454—1460
3. Inoue S, Orimo A, Hosoi T, Kondo S, Toyoshima H, Kondo T, Ikegami A, Ouchi Y, Orimo H, Muramatsu M. Genomic binding-site cloning reveals an estrogen-responsive gene that encodes a RING finger protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 11117—11121
4. Orimo A, Inoue S, Ikeda K, Noji S, Muramatsu M. Molecular cloning, structure, and expression of mouse estrogen-responsive finger protein Efp. Co-localization with estrogen receptor mRNA in target organs. *J Biol Chem* 1995; 270: 24406—24413
5. Ogawa S, Inoue S, Watanabe T, Hiroi H, Orimo A, Hosoi T, Ouchi Y, Muramatsu M. The complete primary structure of human estrogen receptor beta (hER beta) and its heterodimerization with ER alpha in vivo and in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 243: 122—126
6. Kuiper GG, Carlsson B, Grandien K, Enmark E, Haggblad J, Nilsson S, Gustafsson JA. Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors alpha and beta. *Endocrinology* 1997; 138: 863—870
7. Hiroi H, Inoue S, Watanabe T, Goto W, Orimo A, Momoeda M, Tsutsumi O, Taketani Y, Muramatsu M. Differential immunolocalization of estrogen receptor α and β in rat ovary and uterus. *J Mol Endocrinol* 1999; 22: 37—44
8. Enmark E, Pelto-Huikko M, Grandien K, Lagercrantz S, Lagercrantz J, Fried G, Nordenskjold M, Gustafsson JA. Human estrogen receptor beta-gene structure, chromosomal localization, and expression pattern. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 4258—4265
9. 梅園和彦. 核内受容体の構造分類と内分泌情報の統合. *日本臨床* 1998; 56: 1693—1698
10. 小川純人, 井上 聡, 村松正実, 大内尉義. エストロゲン受容体研究の新展開. *現代医療* 1998; 29: 2493—2500
11. Halachmi S, Marden E, Martin G, MaKay H, Abbondanza C, Brown M. Estrogen receptor-associated proteins: possible mediators of hormone-induced transcription. *Science* 1994; 264: 1455—1458
12. Cavailles V, Dauvois S, Danielian PS, Parker MG. Interaction of proteins with transcriptionally active estrogen receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 10009—10013
13. Kamei Y, Xu L, Heinzel T, Torchia J, Kurokawa R, Glass B, Lin SC, Heyman RA, Rose DW, Glass CK, Rosenfeld MG. A CBP integrator complex mediates transcriptional activation and AP-1 inhibition by nuclear receptors. *Cell* 1996; 85: 403—414
14. Chakravarti D, LaMorte VJ, Nelson MC, Nakajima T, Schulman IG, Juguilon H, Montminy M, Evans RM. Role of CBP/P300 in nuclear receptor signalling. *Nature* 1996; 383: 99—103
15. Kato S, Endoh H, Masuhiro Y, Kitamoto T, Uchiyama S, Sasaki H, Masushige S, Gotoh Y, Nishida E, Kawashima H, et al. Activation of the estrogen receptor through phosphorylation by mitogen-activated protein kinase. *Science* 1995; 270: 1491—1494
16. Anzick SL, Kononen J, Walker RL, Azorsa DO, Tanner MM, Guan XY, Sauter G, Kallioniemi OP, Trent JM, Meltzer PS. AIB1, a steroid receptor coactivator amplified in breast and ovarian cancer. *Science* 1997; 277: 965—968
17. Voegel JJ, Heine MJ, Zechel C, Chambon P, Gronemeyer H. TIF2, a 160 kDa transcriptional mediator for the ligand-dependent acti-

- vation function AF-2 of nuclear receptors. *EMBO J* 1996 ; 15 : 3667—3675
18. *Horwitz KB, Jackson TA, Bain DL, Richer JK, Takimoto GS, Tung L.* Nuclear receptor coactivators and corepressors. *Mol Endocrinol* 1996 ; 10 : 1167—1177
 19. *Heery DM, Kalkhoven E, Hoare S, Parker MG.* A signature motif in transcriptional coactivators mediates binding to nuclear receptors. *Nature* 1997 ; 387 : 733—736
 20. 折茂 彰, 井上 聡, 村松正実. エストロゲンレセプターの下流応答遺伝子とその生体内機能. *実験医学* 1998 ; 16 : 2447—2453
 21. *Watanabe T, Inoue S, Hiroi H, Orimo A, Muramatsu M.* NMDA receptor type 2D gene as target for estrogen receptor in the brain. *Brain Res Mol Brain Res* 1999 ; 63 : 375—379
 22. *Watanabe T, Inoue S, Hiroi H, Orimo A, Kawashima H, Muramatsu M.* Isolation of estrogen-responsive genes with a CpG island library. *Mol Cell Biol* 1998 ; 18 : 442—449
 23. *Lubahn DB, Moyer JS, Golding TS, Couse JF, Korach KS, Smithies O.* Alteration of reproductive function but not prenatal sexual development after insertional disruption of the mouse estrogen receptor gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 11162—11166
 24. *Smith EP, Boyd J, Frank GR, Takahashi H, Cohen RM, Specker B, Williams TC, Lubahn DB, Korach KS.* Estrogen resistance caused by a mutation in the estrogen-receptor gene in a man. *N Engl J Med* 1994 ; 331 : 1056—1061
 25. *Sudhir K, Chou TM, Chatterjee K, Smith EP, Williams TC, Kane JP, Malloy MJ, Korach KS, Rubanyi GM.* Premature coronary artery disease associated with a disruptive mutation in the estrogen receptor gene in a man. *Circulation* 1997 ; 96 : 3774—3777
 26. *Simpson ER.* Genetic mutations resulting in estrogen insufficiency in the male. *Mol Cell Endocrinol* 1998 ; 145 : 55—59
 27. *Morishima A, Grumbach MM, Simpson ER, Fisher C, Qin K.* Aromatase deficiency in male and female siblings caused by a novel mutation and the physiological role of estrogens. *J Clin Endocrinol Metab* 1995 ; 80 : 3689—3698
 28. *Carani C, Qin K, Simoni M, Faustini-Fustini M, Serpente S, Boyd J, Korach KS, Simpson ER.* Effect of testosterone and estradiol in a man with aromatase deficiency. *N Engl J Med* 1997 ; 337 : 91—95
 29. *Fisher CR, Graves KH, Parlow AF, Simpson ER.* Characterization of mice deficient in aromatase (ArKO) because of targeted disruption of the *cyp 19* gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998 ; 95 : 6965—6970
 30. *Ogawa S, Inoue S, Orimo A, Hosoi T, Ouchi Y, Muramatsu M.* Cross-inhibition of both estrogen receptor alpha and beta pathways by each dominant negative mutant. *FEBS Lett* 1998 ; 423 : 129—132
 31. *Krege JH, Hodgin JB, Couse JF, Enmark E, Warner M, Mahler JF, Sar M, Korach KS, Gustafsson JA, Smithies O.* Generation and reproductive phenotypes of mice lacking estrogen receptor beta. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998 ; 95 : 15677—15682
 32. *Grazzini E, Guillon G, Mouillac B, Zingg HH.* Inhibition of oxytocin receptor function by direct binding of progesterone. *Nature* 1998 ; 392 : 509—512
 33. *Razandi M, Pedram A, Greene GL, Levin ER.* Cell membrane and nuclear estrogen receptors (ERs) originate from a single transcript : studies of ERalpha and ERbeta expressed in Chinese hamster ovary cells. *Mol Endocrinol* 1999 ; 13 : 307—319