

Regulation of CYP17 gene expression in adrenocortical cells by transforming growth factor- β

Tomasz Lehmann, Justyna Biernacka-Łukanty, Wiesław H. Trzeciak

Department of Biochemistry and Molecular Biology, Poznan University of Medical Sciences, Poznan

Abstract

In the adrenal cortex, CYP genes encoding cytochromes P450 components of steroid hydroxylases are regulated by hormones and growth factors. Cytochrome P450c17, constituent of 17 α -hydroxylase/17,20-lyase enzyme complex, essential for production of adrenal androgens, is encoded by CYP17 and the expression of this gene, both basal and ACTH-induced, requires steroidogenic factor-1 (SF-1).

Our studies conducted in human adrenocortical NCI-H295R cells indicated that TGF- β acting through the Smad protein pathway, inhibited both basal and cAMP-stimulated transcription of CYP17, and that the -483/-433 fragment of CYP17 promoter, which contains a putative Sp1 response element, is the target for the inhibitory action of TGF- β .

To elucidate the mechanism of inhibition of CYP17 transcription by TGF- β , the expression of SF-1 was also investigated. It was demonstrated that adenyl cyclase activator, forskolin which mimicks the effect of ACTH, increased, while TGF- β decreased the level of SF-1

transcript. The maximal decrease of basal SF-1 mRNA level was observed after 48 h of incubation of the cells with TGF- β (60% inhibition), while in forskolin-treated cells TGF- β caused 50% decrease in Sf-1 transcript level, already after 6 h of treatment. In both cases the effect was transcriptional and was accompanied by parallel changes in the level of the protein product of the gene.

It is concluded that CYP17 expression is negatively regulated by TGF- β at the transcriptional level via Smad protein pathway, and that this effect requires the -483/-433 fragment of CYP17 promoter containing a putative Sp1 response element. The effect of TGF- β on the expression of CYP17 is specific, since under the same conditions the expression of CYP11A1 is unaffected, and could be, at least in part, due to the inhibition of SF-1 transcription.

Supported by a grant PO4A03127 from the State Committee for Scientific Research.

Regulacja ekspresji genu CYP17 w komórkach kory nadnerczy przez transformujący czynnik wzrostu- β

Tomasz Lehmann, Justyna Biernacka-Łukanty, Wiesław H. Trzeciak

Katedra Biochemii i Biologii Molekularnej Akademii Medycznej w Poznaniu

Streszczenie

W korze nadnerczy geny CYP, kodujące składniki kompleksów enzymatycznych hydroksylaz steroidowych, są regulowane przez hormony i czynniki wzrostu. Cytochrom P450c17, składnik kompleksu 17 α -hydroksylazy/17,20-liazy, konieczny do produkcji androgenów nadnerczowych, jest kodowany przez CYP17 i ekspresja tego genu, zarówno podstawowa, jak i stymulowana, wymagają steroidogennego czynnika 1 (SF-1).

Nasze badania, prowadzone na komórkach kory nadnerczy ludzkich NCI-H295R, wskazują, że TGF- β , działając za pośrednictwem ścieżki sygnałowej białek Smad, hamuje zarówno podstawową, jak i stymulowaną przez cAMP transkrypcję CYP17 i wymaga fragmentu -485/-433 promotora CYP17, zawierającego potencjalny element odpowiedzi na SP-1.

Aby wyjaśnić mechanizm zahamowania transkrypcji CYP17 przez TGF- β , badano także ekspresję SF-1. Wykazano, że aktywator cykazy adenilowej, forskolina, która imituje działanie ACTH - wzmacnia, podczas gdy TGF- β - obniża poziom transkrypty SF-1. Maksymalne obniżenie poziomu podstawowego mRNA

dla SF-1 obserwowano po 48 godz. inkubacji komórek z TGF- β (60% zahamowania), podczas gdy w komórkach inkubowanych z forskoliną i TGF- β obserwowano 50% zahamowanie ekspresji już po 6 godz. inkubacji. W obu przypadkach efekt dotyczył transkrypcji genu i towarzyszyły mu równoległe zmiany stężenia produktu białkowego genu.

Wnioskuje się, że ekspresja CYP17 jest regulowana negatywnie przez TGF- β na poziomie transkrypcji poprzez ścieżkę sygnałową białek Smad i ten efekt wymaga fragmentu -483/-433 promotora, zawierającego potencjalny element odpowiedzi na SP-1. Efekt TGF- β na ekspresję CYP17 jest specyficzny, ponieważ w tych samych warunkach ekspresja CYP11A1 pozostała niezmienną i może przynajmniej w części być spowodowany zahamowaniem transkrypcji SF-1.

Finansowano z grantu KBN PO4A03127.