

性ホルモン受容体のエピゲノム制御機構と 老年病、がんにおける役割

東京都健康長寿医療センター研究所
老化機構研究チーム システム加齢医学
高山 賢一

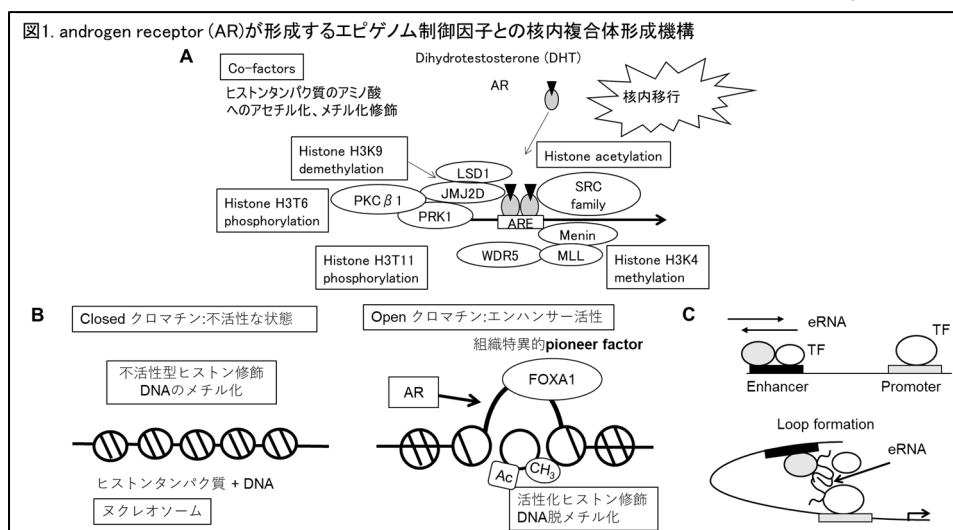
1. 性ホルモン受容体によるエピゲノム制御機構

アンドロゲンおよびエストロゲンはステロイドホルモンに属する性ホルモンであり、その細胞内作用は結合する受容体タンパク質が担っている。アンドロゲン受容体(AR)は核内受容体と呼ばれリガンドとの結合により AR は核内に移行し、ゲノムの中の特定の DNA 領域に結合する⁽¹⁾。一方でエストロゲンの作用は、ゲノムメカニズムと非ゲノムメカニズムに大別できる。女性ホルモンであるエストロゲンは、エストロゲン受容体(ER α または ER β)に結合する⁽²⁾。核内受容体は DNA 上で転写を促進する転写因子として機能し標的の遺伝子を活性化する。核内受容体はエピジェネティックな変化を引き起こす因子であり、エピゲノム因子と呼ばれる転写共役因子(Co-activator, Co-repressor)と結合している。核内受容体を制御する転写共役因子にはヒストン修飾を媒介する酵素群が含まれエピジェネティックな変化が引き起こされる。特にヒストン H3 のリシンのアセチル化やメチル化の変化が重要である(図 1A)。AR の結合部位にはアンドロゲン応答エレメント(ARE)、ER の結合部位にはエストロゲン応答エレメント(ERE)が存在し、核内受容体が実際に結合しホルモン刺激により共役因子とそれに付随したエピゲノム因子が結合、ヒストン修飾を引き起こし、標的遺伝子の発現亢進を引き起こす⁽³⁾。一方、急速なエストロゲンの非ゲノム効果は、G タンパク質共役型エストロゲン受容体(GPER)などの膜関連 ER を介して媒介される⁽⁴⁾。非ゲノムシグナル伝達経路下流も mitogen-activated protein kinase (MAPK)および phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K)の活性化と cyclic AMP (cAMP)産生を介した間接的な手段を介して遺伝子転写を引き起こすため、ERE を介して直接活性化される遺伝子とは異なる標的が想定されている。ER α と ER β が後期応答遺伝子の転写を引き起こすのに対し、GPER は高速シグナル伝達転写活性化によってエストロゲンの迅速な応答の多くを仲介する。

2. 組織特異性を決定する性ホルモン受容体の核内制御機構

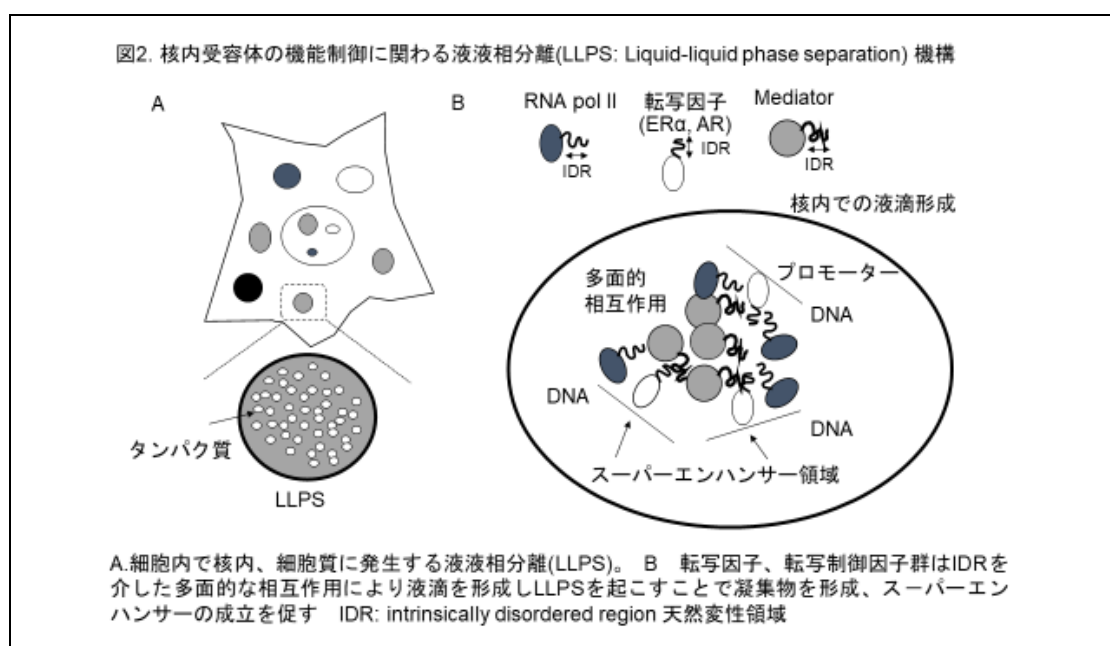
性ホルモンは全身の様々な組織で特異的な機能を示すホルモンであるが、その結合部位を決定する分子機序は長らく不明であった。Chromatin immunoprecipitation and sequencing (ChIP-seq)による前立腺癌、乳癌におけ

るゲノムワイドでのARやER α の結合部位同定により結合ピーク配列付近に結合する転写因子として Forkhead box protein A1(FOXA1)であり Forkhead ファミリーと言われるタンパク質の一つの結合が濃縮していることが見いだされた⁽⁵⁾。つまり前立腺癌や乳癌においては FOXA1 との結合が性ホルモンの核内受容体がゲノムへ結合する際に大きな役割を持っており(図 1B)、FOXA1 はゲノムの特定部位においてエピゲノムを活性化することで核内受容体の結合を促進させ Pioneer factor と呼ばれている^(5,6)。AR の結合部位の多くは転写開始点から離れた領域(エンハンサー領域と呼ばれる)に存在し遠くから標的遺伝子を制御している⁽⁶⁾。さらに数万の AR 結合部位の配列を解析することにより AR の結合部位には FOXA1 以外の様々な転写因子結合モチーフが存在し ERG や NKX3-1, OCT1, GATA2 などが AR と複合体を形成していることが明らかとなった。これらの転写因子は、Collaborative factor と呼ばれており、AR の結合部位や感受性を左右する^(7,8)。さらにこれらの Collaborative factor 群の ChIP-seq を行うことで結合部位を同定し、ゲノムワイドでの AR の結合部位との重なりや AR 結合への影響を見ることが可能となる。核内受容体はエンハンサー上で巨大な複合体を形成すると想定されており MegaTrans 複合体と呼ばれる^(9,10)。性ホルモンの組織特異性のシグナルについては Collaborative factor との複合体形成が鍵になる。各組織で共通するエストロゲンシグナルについては古典的な ERE を介している一方で各組織特異的なエストロゲンシグナルでは他の転写因子結合が鍵になる。例えば子宮では ETS ファミリー因子が特異的なシグナルを生み出すのに対して乳腺では FOXA1 が Pioneer factor として機能している⁽¹¹⁾。AR についてもマウスの腎、精巣における AR シグナルにおいては AP1 転写因子結合と協調する⁽⁷⁾。さらに病気の進行の中でもこれらの核内受容体のタンパク質複合体の構成が変化することにより前立腺癌の薬剤への抵抗性などの問題につながることを明らかとしている^(12,13)。



3. 新たな核内受容体の作用機構：スーパーエンハンサーと LLPS

液液相分離(LLPS: Liquid-liquid phase separation)は細胞内の生命活動を支える物理現象である^(14, 15)。LLPS とは水と油を混ぜた時やドレッシングを振ったときのように、分子同士の電荷により相が別れることで液滴が形成される現象である。細胞にはリン脂質による膜構造による小器官が存在するが、それとは別に顆粒状に膜を持たずに濃縮する区画が存在することが知られ、この濃縮が LLPS により引き起こされている(図 2A)。その中心は RNA 結合タンパク質であり、前駆体 RNA から mRNA スプライシング、ポリアデニル化、外へと輸送される過程、安定性の維持、局在、翻訳において機能する。これら RNA 結合タンパク質の特徴的なアミノ酸配列は天然変性配列(IDR)とよばれており



決まった構造を取らないという性質がある。そのため弱い結合をもたらず力により集合体を形成する⁽¹⁵⁾。

またゲノム中の転写調節領域：エンハンサー部位のなかでも特に細胞の運命や病気の原因になる転写活性化部位が存在する部位があることが明らかとなった⁽¹⁶⁾。これはスーパーエンハンサーと呼ばれ細胞が神経、筋肉などそれぞれの細胞に分化する段階で独自のスーパーエンハンサーを活性化することにより分化すると言われている。近年、MegaTrans 複合体を形成する転写因子やエピゲノム因子には IDR 配列が含まれることが明らかとなり、特に LLPS を介した乳癌細胞での ER α 転写活性化のメカニズムが注目されている⁽¹⁷⁾。加えてエンハンサー領域には蛋白をコードしない RNA の発現が知られており enhancer RNA (eRNA)と呼ばれている。eRNA は短時間で分解されるとされているが、その効果は核内受容体結合によるクロマチン構造変化を生み出すことが知られ

ている(図 1C)。eRNA⁽¹⁷⁾も含んだ複合体の形成によりエンハンサーの活性化やスーパーエンハンサーの形成につながる物理的な力を生む。筆者らは AR の転写因子複合体による LLPS 形成促進がスーパーエンハンサーの活性化につながることを報告している⁽¹³⁾。

またクロマチンの改変によるループ構造の形成促進によりプロモーター、エンハンサーの近接が起きる(図 2B)。これを媒介する因子として LLPS を細胞内で形成しているメディエーターと呼ばれる巨大タンパク質が知られている⁽¹⁴⁾。そしてスーパーエンハンサー領域では転写因子による LLPS により転写因子、共役因子、エンハンサーと転写開始点をつなぐメディエーターおよび eRNA などの複合体の形成、濃縮がなされる^(14, 18)。

4. 性ホルモンと老年病、フレイル

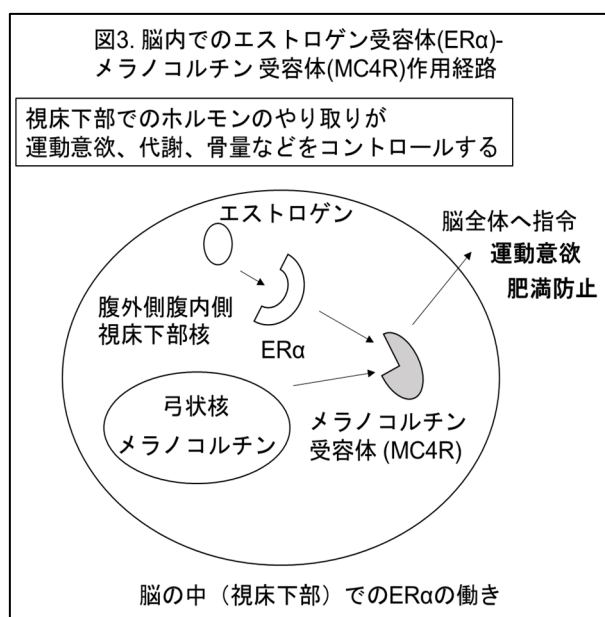
フレイルは健康と要介護状態の間に位置する中間的、可逆的な性質を有する。また骨格筋量の減少や筋力・身体機能の低下を特徴とするサルコペニアや転倒・骨折リスクが上昇するなど、その予防対策は重要な課題である。女性においては更年期における女性ホルモンであるエストロゲン(エストラジオール)の血清濃度低下、男性においては中年期以降の男性性腺機能低下症による血清アンドロゲン(テストステロン)濃度低下と、フレイル発症は密接に関係する。男性性腺機能低下症に対するテストステロン補充療法がフレイルの予防、治療になる。加齢性腺機能低下症患者に対して低中程度の補充を行ったところ **frailty score** が改善した報告がある⁽¹⁹⁾。女性では乳癌、子宮癌のリスクを回避するために骨粗鬆症治療に選択的エストロゲン受容体作動薬(SERM)が治療に用いられている⁽²⁰⁾。

性ホルモンは認知症フレイルを予防し、健康長寿を保つための生理的な役割が動物モデルにより示されている。特に骨格筋における性ホルモンの生物学的な役割には多数の研究がある。エストロゲンは筋力を保つ働きが報告されており、**heat shock protein (HSP)**やミトコンドリアの機能維持によるアポトーシスの抑制や代謝を促進する機序が報告されている⁽²¹⁾他、収縮性タンパク質を維持することで筋力を維持している⁽²²⁾。また筋肉量の維持には **ER6** を介する経路の重要性⁽²³⁾が報告されている。一方筋萎縮を生み出すユビキチンリガーゼ、**atrogin-1(Fbxo32, MAFbx)**と **MuRF1(TRIM63, MuRF2, IRF, RNF28)**は性ホルモンによる制御が示唆されており、タンパク質分解系の制御もその機序として重要である⁽²⁴⁻²⁹⁾。一方、筋肉における AR は筋肉特異的なノックアウト(KO)マウスにより **Myosin light chain kinase 4(MYLK4)**などの筋力を生む下流遺伝子発現を制御し、筋力を高める機能が示されている⁽³⁰⁻³³⁾。

また骨量の維持については骨芽細胞特異的な KO マウスが作成されており、

ER α が骨芽細胞と破骨細胞の両方で機能している⁽³⁴⁾。破骨細胞では the receptor activator of NF- κ B(RANK)が骨芽細胞より発現している RANK ligand (RANKL)により活性化され分化を促進する^(35, 36)。一方で骨芽細胞は Osteoprotegerin(OPG)を分泌、RANKL のおとり受容体として機能し RANKL の活性抑制をもたらす。したがって、RANKL : OPG 比は破骨細胞形成に重要である。エストロゲンは OPG の転写を増加、RANKL を抑制、RANKL : OPG 比を低下させ骨吸収を抑制する。ER α のエンハンサーへの結合により、骨芽細胞や破骨細胞においてアポトーシス誘導因子 Fas ligand(FasL)の転写を活性化させる。ER α は Matrix Metalloproteinase 3 (MMP3)を活性化することで FasL を細胞表面から切断、分泌し破骨細胞のアポトーシスを誘導する^(37, 38)。AR についても KO マウスの解析より海綿骨および皮質骨の構造を維持するために、骨芽細胞の石灰化や増殖に AR が必要である^(39, 40)。AR も RANKL の発現を抑制することが報告され骨芽細胞を介した破骨細胞分化の抑制機構が想定される。

また認知症と関連して脳神経においても性ホルモン受容体は重要な働きをしている。神経系の ARKO マウスでは勃起や性行動の低下に加えて、攻撃性の低い行動をもたらした⁽⁴¹⁻⁴³⁾、脳における AR は男性的な行動の調節に関与する。脳におけるアンドロゲンはエストロゲンへの変換が大きな役割を果たすこと、AR の発現は出生直後から成長の過程での発現はまばらであることより AR の役割は、これらの行動の実行を調節するだけであり、男性的な行動を制御する神経回路の分化には直接は関係していない可能性が示唆されている⁽⁴¹⁾。さらに ER の発現抑制により完全に男性的な行動が欠如するため、エストロゲンへの変換による作用の重要性が示されている⁽⁴²⁾。



生体内では脳を介する間接的な AR 作用も重要である。脳神経特異的な ARKO マウスでは血中の血糖、脂肪の増加、肥満が報告された⁽⁴⁴⁾。インスリン受容体の負の制御因子である Protein-Tyrosine Phosphatase 1B (PTP1B)が AR により抑制されていることがその機序とされている。AR が視床下部におけるインスリン感受性を制御し2次的に肝臓のインスリン感受性に影響を与える。さらに神経特異的な ARKO マウスにおいては腓腹筋、速筋である長趾伸筋の

筋肉量の低下、活動性の低下が報告された^(45, 46)。また骨吸収が増し皮質骨量や骨の脆弱性が増すことを報告しており、アンドロゲンの骨粗鬆症の予防効果において脳、視床下部の役割の重要性も示している⁽⁴⁷⁾。

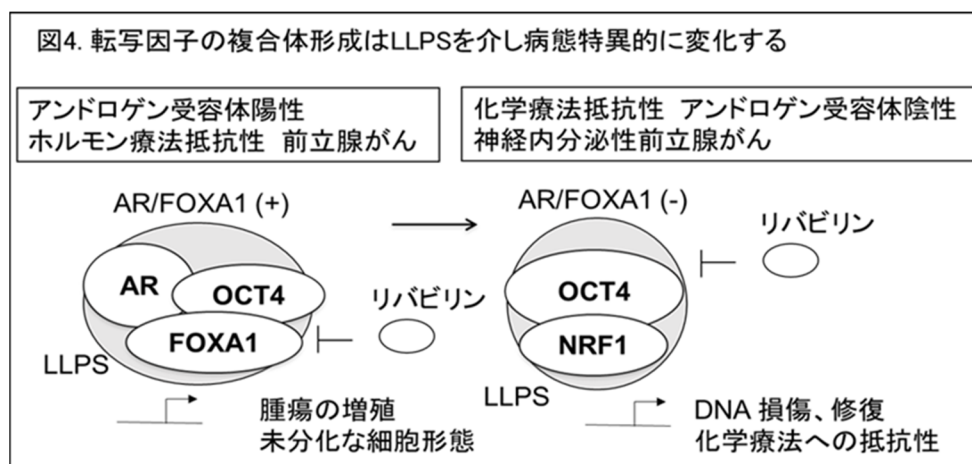
エストロゲンの脳内における機能は脳の性差という意味でも注目されている。エストロゲン枯渇は、メタボリックな変化を促し、運動の低下、脂肪蓄積、糖尿病につながる。この機序として視床下部における ER α のシグナルが重要である。雌マウスの脳内において特に満腹中枢を含む腹外側腹内側視床下部核 (VMHvl) のエストロゲン感受性ニューロンのサブセットが海馬と後脳の覚醒中心に投射していることによる。視床下部の ER α はメラノコルチン 4 受容体 (MC4R) を標的として転写亢進する⁽⁴⁸⁾。メラノコルチンは視床下部内において食欲や代謝亢進につながる神経を活性化するホルモンとして知られていた(図 3)。これらの VMHvl ニューロンの MC4R シグナル伝達を阻害させることで、雌マウスの老齢期における座りがちな行動と肥満につながることを示された。さらにこのシグナル系の活性化は骨量の増加、食欲と無関係に代謝マーカーの改善効果につながり、エストロゲンの脳内から他の組織へのフィードバック、フレイル治療への応用の可能性を示している。

5. LLPS を標的とした新たなホルモン療法開発の試み

ステロイドホルモン依存性に増殖することが知られている前立腺癌および乳癌においてはそれぞれ AR と ER は治療標的となっている。AR を抑制する薬剤は前立腺癌の治療薬として使用されるが、やがて効果が減少し治療抵抗性の前立腺癌(去勢抵抗性前立腺癌)になることが臨床上の問題となっている。近年 LLPS の研究が進む中で AR の LLPS が薬剤抵抗性に関与していることが報告された。AR は N 末端領域を中心とする IDR 配列により LLPS を起こすことが報告されているが、既存の AR 拮抗薬では前立腺癌における変異を有する AR に対して LLPS の抑制がおこらなくなっていることが報告された⁽⁴⁹⁾。そのため AR の LLPS を抑制する薬剤の開発がいくつか報告されている。通常の AR 拮抗薬が C 末端のリガンド結合部位であるのに対して N 末端領域を標的とする⁽⁴⁹⁾。例えば LLPS 形成に重要な N 末端領域のシステインに共有結合することで LLPS の抑制が観察される薬剤が報告されている⁽⁵⁰⁾。

筆者らは別の視点として AR と協調する転写因子群に着目した(図 4)。治療抵抗性の前立腺癌で高発現となる転写因子 OCT4 は AR や FOXA1 との強い協調性を示すことが明らかとなった。その機序として *in vitro* および細胞内での FOXA1 や AR の LLPS を増強する作用があることが示された。つまり協調することで AR の LLPS を高め治療抵抗性を高めている。そこでこの結合、LLPS を抑制する薬剤として既存の抗ウイルス薬リバビリンを同定した。リバビリンの投与は OCT4 と AR および FOXA1 との結合を抑制し治療抵抗性の腫瘍増殖

を抑制することが示された⁽¹³⁾。このように LLPS とくに AR やその関連因子の LLPS は有望な新規治療標的と考えられる。他の癌においても近年 LLPS による転写因子複合体を狙った薬剤がいくつか報告されており今後の研究が待たれる⁽⁵¹⁾。



6. おわりに

最近の性ホルモン受容体の作用機序について研究報告を概説した。性ホルモン作用は脳神経による骨代謝、筋肉量の制御する可能性など臓器連関によるシステムとしての全身作用を考える重要性も示唆される。性ホルモンシグナルを制御する薬剤の開発のより一層の普及は臨床的に価値がある。その治療法の開発の標的となる核内受容体の機能、標的遺伝子の同定についても次世代シーケンサーの普及に伴いゲノムワイドでの受容体結合部位、トランスクリプトームの解析も進行している。その結果、非コード RNA、エピゲノム因子、Pioneer factor などの協調因子による核内受容体の転写活性化のモデルが示された。また核内受容体の機能は LLPS などの物理現象による修飾を受けること、それに伴う RNA やタンパク質複合体での作用が鍵である。LLPS による転写制御は癌をはじめさまざまな疾患の治療法の開発につながるかもしれない。プロテオミクス、種々の RNA 解析技術など複合的なオミックス解析、コンピューターによるモデル解析といった新たな技術、実験材料を組み合わせることでより一層の病態の解明が進むと思われる。

< **keywords** : エストロゲン アンドロゲン がん フレイル エピゲノム >

【参考文献】

1. Takayama K. The biological and clinical advances of androgen receptor function in centuryage-related diseases and cancer. *Endocr J.* 2017;64(10):933-946.
2. Hasanpour M, Nourazarian A, Geranmayeh MH, Nikanfar M, Khaki-Khatibi F, Rahbarghazi R. The Dynamics of Neurosteroids and Sex-Related Hormones in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *Neuromolecular Med.* 2018;20(2):215-224.
3. Björnström L, Sjöberg M. Mechanisms of estrogen receptor signaling: convergence of genomic and nongenomic actions on target genes. *Mol Endocrinol.* 2005;19(4):833-42.
4. Olde B, Leeb-Lundberg LM. GPR30/GPER1: searching for a role in estrogen physiology. *Trends Endocrinol Metab.* 2009;20(8):409-16.
5. Lupien M, Eeckhoute J, Meyer CA, Wang Q, Zhang Y, Li W, et al. FoxA1 translates epigenetic signatures into enhancer-driven lineage-specific transcription. *Cell.* 2008;132(6):958-70.
6. Wang Q, Li W, Zhang Y, Yuan X, Xu K, Yu J, et al. Androgen receptor regulates a distinct transcription program in androgen-independent prostate cancer. *Cell.* 2009;138(2):245-56.
7. Pihlajamaa P, Sahu B, Lyly L, Aittomäki V, Hautaniemi S, Jänne OA. Tissue-specific pioneer factors associate with androgen receptor cistromes and transcription programs. *EMBO J.* 2014;33(4):312-26.
8. Pihlajamaa P, Sahu B, Jänne OA. Determinants of Receptor- and Tissue-Specific Actions in Androgen Signaling. *Endocr Rev.* 2015;36(4):357-84.
9. Nair SJ, Yang L, Meluzzi D, Oh S, Yang F, Friedman MJ, et al. Phase separation of ligand-activated enhancers licenses cooperative chromosomal enhancer assembly. *Nat Struct Mol Biol.* 2019;26(3):193-203.
10. Liu Z, Merkurjev D, Yang F, Li W, Oh S, Friedman MJ, et al. Enhancer activation requires trans-recruitment of a mega transcription factor complex. *Cell.* 2014;159(2):358-73.
11. Gertz J, Savic D, Varley KE, Partridge EC, Safi A, Jain P, et al. Distinct properties of cell-type-specific and shared transcription factor binding sites. *Mol Cell.* 2013;52(1):25-36.
12. Sharma NL, Massie CE, Ramos-Montoya A, Zecchini V, Scott HE, Lamb AD, et al. The androgen receptor induces a distinct transcriptional program in castration-resistant prostate cancer in man. *Cancer Cell.* 2013;23(1):35-47.
13. Takayama K, Kosaka T, Suzuki T, Hongo H, Oya M, Fujimura T, et al. Subtype-specific collaborative transcription factor networks are promoted by OCT4

- in the progression of prostate cancer. *Nat Commun.* 2021;12(1):3766.
14. Sabari BR, Dall'Agnese A, Boija A, Klein IA, Coffey EL, Shrinivas K, et al. Coactivator condensation at super-enhancers links phase separation and gene control. *Science.* 2018;361(6400):eaar3958.
 15. Shin Y, Brangwynne CP. Liquid phase condensation in cell physiology and disease. *Science.* 2017;357(6357):eaaf4382.
 16. Whyte WA, Orlando DA, Hnisz D, Abraham BJ, Lin CY, Kagey MH, et al. Master transcription factors and mediator establish super-enhancers at key cell identity genes. *Cell.* 2013;153(2):307-19.
 17. Wang D, Garcia-Bassets I, Benner C, Li W, Su X, Zhou Y, et al. Reprogramming transcription by distinct classes of enhancers functionally defined by eRNA. *Nature.* 2011;474(7351):390-4.
 18. Boija A, Klein IA, Sabari BR, Dall'Agnese A, Coffey EL, Zamudio AV, et al. Transcription Factors Activate Genes through the Phase-Separation Capacity of Their Activation Domains. *Cell.* 2018;175(7):1842-1855.e16.
 19. Strollo F, Strollo G, Morè M, Magni P, Macchi C, Masini MA, et al. Low-intermediate dose testosterone replacement therapy by different pharmaceutical preparations improves frailty score in elderly hypogonadal hyperglycaemic patients. *Aging Male.* 2013;16(2):33-7.
 20. Martinkovich S, Shah D, Planey SL, Arnott JA. Selective estrogen receptor modulators: tissue specificity and clinical utility. *Clin Interv Aging.* 2014;9:1437-52.
 21. Ribas V, Drew BG, Zhou Z, Phun J, Kalajian NY, Soleymani T, et al. Skeletal muscle action of estrogen receptor α is critical for the maintenance of mitochondrial function and metabolic homeostasis in females. *Sci Transl Med.* 2016;8(334):334ra54.
 22. Ribas V, Nguyen MT, Henstridge DC, Nguyen AK, Beaven SW, Watt MJ, et al. Impaired oxidative metabolism and inflammation are associated with insulin resistance in ER α -deficient mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2010;298(2):E304-19.
 23. Seko D, Fujita R, Kitajima Y, Nakamura K, Imai Y, Ono Y. Estrogen Receptor β Controls Muscle Growth and Regeneration in Young Female Mice. *Stem Cell Reports.* 2020;15(3):577-586.
 24. Ogawa M, Yamaji R, Higashimura Y, Harada N, Ashida H, Nakano Y, et al. 17 β -estradiol represses myogenic differentiation by increasing ubiquitin-specific peptidase 19 through estrogen receptor α . *J Biol Chem.* 2011;286(48):41455-41465.

25. Ogawa M, Kitakaze T, Harada N, Yamaji R. Female-specific regulation of skeletal muscle mass by USP19 in young mice. *J Endocrinol.* 2015;225(3):135-45.
26. Edström E, Altun M, Hägglund M, Ulfhake B. Atrogin-1/MAFbx and MuRF1 are downregulated in aging-related loss of skeletal muscle. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2006;61(7):663-74.
27. Clavel S, Coldefy AS, Kurkdjian E, Salles J, Margaritis I, Derijard B. Atrophy-related ubiquitin ligases, atrogin-1 and MuRF1 are up-regulated in aged rat Tibialis Anterior muscle. *Mech Ageing Dev.* 2006;127(10):794-801.
28. Edström E, Altun M, Hägglund M, Ulfhake B. Atrogin-1/MAFbx and MuRF1 are downregulated in aging-related loss of skeletal muscle. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2006;61(7):663-74.
29. Vasconsuelo A, Milanesi L, Boland R. Participation of HSP27 in the antiapoptotic action of 17beta-estradiol in skeletal muscle cells. *Cell Stress Chaperones.* 2010;15(2):183-92.
30. Dubois V, Laurent MR, Sinnesael M, Cielen N, Helsen C, Clinckemalie L, et al. satellite cell-specific knockout of the androgen receptor reveals myostatin as a direct androgen target in skeletal muscle. *FASEB J.* 2014;28(7):2979-94.
31. Rana K, Lee NK, Zajac JD, MacLean HE. Expression of androgen receptor target genes in skeletal muscle. *Asian J Androl.* 2014;16(5):675-83.
32. Wyce A, Bai Y, Nagpal S, Thompson CC. Research Resource: The androgen receptor modulates expression of genes with critical roles in muscle development and function. *Mol Endocrinol.* 2010;24(8):1665-74.
33. Sakakibara I, Yanagihara Y, Himori K, Yamada T, Sakai H, Sawada Y, et al. Myofiber androgen receptor increases muscle strength mediated by a skeletal muscle splicing variant of Mylk4. *iScience.* 2021;24(4):102303.
34. Khalid AB, Krum SA. Estrogen receptors alpha and beta in bone. *Bone.* 2016;87:130-5.
35. Bord S, Ireland DC, Beavan SR, Compston JE. The effects of estrogen on osteoprotegerin, RANKL, and estrogen receptor expression in human osteoblasts. *Bone.* 2003;32(2):136-41.
36. Krum SA, Chang J, Miranda-Carboni G, Wang CY. Novel functions for NFκB: inhibition of bone formation. *Nat Rev Rheumatol.* 2010;6(10):607-11.
37. Garcia AJ, Tom C, Guemes M, Polanco G, Mayorga ME, Wend K, et al. ERα signaling regulates MMP3 expression to induce FasL cleavage and osteoclast apoptosis. *J Bone Miner Res.* 2013;28(2):283-90.
38. Krum SA, Miranda-Carboni GA, Hauschka PV, Carroll JS, Lane TF, Freedman LP,

- et al. Estrogen protects bone by inducing Fas ligand in osteoblasts to regulate osteoclast survival. *EMBO J.* 2008;27(3):535-45.
39. Russell PK, Clarke MV, Skinner JP, Pang TP, Zajac JD, Davey RA. Identification of gene pathways altered by deletion of the androgen receptor specifically in mineralizing osteoblasts and osteocytes in mice. *J Mol Endocrinol.* 2012;49(1):1-10.
 40. Chang C, Yeh S, Lee SO, Chang TM. Androgen receptor (AR) pathophysiological roles in androgen-related diseases in skin, bone/muscle, metabolic syndrome and neuron/immune systems: lessons learned from mice lacking AR in specific cells. *Nucl Recept Signal.* 2013;11:e001.
 41. Juntti SA, Tollkuhn J, Wu MV, Fraser EJ, Soderborg T, Tan S, et al. The androgen receptor governs the execution, but not programming, of male sexual and territorial behaviors. *Neuron.* 2010;66(2):260-72.
 42. Wu MV, Manoli DS, Fraser EJ, Coats JK, Tollkuhn J, Honda S, et al. Estrogen masculinizes neural pathways and sex-specific behaviors. *Cell.* 2009;139(1):61-72.
 43. Raskin K, de Gendt K, Duittoz A, Liere P, Verhoeven G, Tronche F, Mhaouty-Kodja S. Conditional inactivation of androgen receptor gene in the nervous system: effects on male behavioral and neuroendocrine responses. *J Neurosci.* 2009;29(14):4461-70.
 44. Yu IC, Lin HY, Liu NC, Sparks JD, Yeh S, Fang LY, et al. Neuronal androgen receptor regulates insulin sensitivity via suppression of hypothalamic NF- κ B-mediated PTP1B expression. *Diabetes.* 2013;62(2):411-23.
 45. Clarke MV, Russell PK, Zajac JD, Davey RA. The androgen receptor in the hypothalamus positively regulates hind-limb muscle mass and voluntary physical activity in adult male mice. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2019;189:187-194.
 46. Davey RA, Clarke MV, Russell PK, Rana K, Seto J, Roeszler KN, et al. Androgen Action via the Androgen Receptor in Neurons Within the Brain Positively Regulates Muscle Mass in Male Mice. *Endocrinology.* 2017;158(10):3684-3695.
 47. Jardí F, Kim N, Laurent MR, Khalil R, Deboel L, Schollaert D, et al. Androgen Receptor in Neurons Slows Age-Related Cortical Thinning in Male Mice. *J Bone Miner Res.* 2019;34(3):508-519.
 48. Krause WC, Rodriguez R, Gegenhuber B, Matharu N, Rodriguez AN, Padilla-Roger AM, et al. Oestrogen engages brain MC4R signalling to drive physical activity in female mice. *Nature.* 2021;599(7883):131-135.
 49. Xie J, He H, Kong W, Li Z, Gao Z, Xie D, Sun L, Fan X, Jiang X, Zheng Q, Li G, Zhu J, Zhu G. Targeting androgen receptor phase separation to overcome antiandrogen resistance. *Nat Chem Biol.* 2022;18(12):1341-1350.

50. Thiagarajan T, Ponnusamy S, Hwang DJ, He Y, Asemota S, Young KL, Johnson DL, Bocharova V, Zhou W, Jain AK, Petricoin EF, Yin Z, Pfeffer LM, Miller DD, Narayanan R. Inhibiting androgen receptor splice variants with cysteine-selective irreversible covalent inhibitors to treat prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2023;120(1):e2211832120.
51. Takayama K, Inoue S. Targeting phase separation on enhancers induced by transcription factor complex formations as a new strategy for treating drug-resistant cancers. *Front Oncol*. 2022;12:1024600.