核内脂溶性リガンド受容体による

遺伝子転写調節機構の解析†

(1994 年度農芸化学奨励賞受賞)

加藤 茂 明

(東京農業大学農学部)

ステロイド・甲状腺ホルモンおよびレチノイン酸（ビタミンA）をリガンドとする核内受容体群は、リガンド誘導性転写制御因子でありリガンドの信号を遺伝情報に伝達する。核内受容体は、標的遺伝子近傍に存在する特異的リガンド応答性エンハンサー DNA 配列を認識結合し、標的遺伝子の発現を転写レベルで制御する。このような核内受容体を介する情報伝達系は、個体発生から細胞分化・増殖や代謝制御、さらにはガン化などにも深くかかわっており、基本的な高次生命現象を操る情報伝達系の1つであるといえる。したがって核内受容体群の共通する基本的な情報伝達経路や各受容体固有の情報伝達経路間のクロストークを明らかにすることは、核内受容体を介する情報伝達機構を知るうえで必須の課題である。とくに転写制御因子としての核内受容体の機能を明らかにすることは、動物遺伝子の転写制御機構を分子レベルで理解するうえでも大変重要なことはいまでもない。

そこで本総説では、核内受容体による転写制御のなかでも最も重要な段階と考えられている核内受容体による標的リガンド応答エンハンサー配列の認識の特異性と非特異性および、リガンドの標的特異性を規定する受容体遺伝子発現調節（とくにビタミンA受容体遺伝子群）を中心に概説したい。

1. 核内脂溶性リガンド受容体による遺伝子転写調節

(1) 核内受容体スーパーファミリー

ステロイド甲状腺ホルモン、ビタミンA、Dなどの脂

溶性生理活性物質は、核内受容体を有する。核内受容体タンパク群の大多数はリガンド結合の有無にかかわらず核内に局在し、その主たる機能は、リガンド誘導性転写制御因子¹⁻⁵⁾である。これら核内受容体群は、太古に1つの原初遺伝子から分子進化した遺伝子スーパーファミリーを形成しているため⁶⁾、タンパク構造と機能はきわめて類似した関係にある（図1）。核内受容体タンパク群は、そのタンパクの相同性から、N末端よりAからFまでの領域に分類することができる。中央に位置するC領域には、DNA結合モチーフに特徴的な、Znイオンを中心としたZnモチーフが2個存在する。E領域は、リガンド結合領域である。転写を促進する領域には、組織特異的な発現にかかわるA/B領域と、リガンド依存的に転写を促進するE領域とがあるが、E領域の機能はA/B領域に対し支配的である。その他核内局在や2量体にかかわる領域なども存在する多機能なタンパク質である。

(2) 核内脂溶性リガンド受容体による転写促進

核内受容体は、標的リガンド応答エンハンサー（HREs）に、ホモあるいはヘテロ2量体として結合する。HREsは標的遺伝子のプロモーターに存在しリガンド依存的なエンハンサーとして働く（図2）。しかしながら実際に核内受容体と直接結合して基本転写因子群とともに転写を制御する因子の性状については不明な点が多く⁷⁻¹⁰⁾、今後の最重要課題と考えられる。一方これら核内受容体を介する転写制御とは別に、脂溶性リガンドは、mRNAの安定化を始めとした転写制御によっても標的遺伝子発現制御を行うことが知られている¹¹⁻¹³⁾。

2. 核内受容体による標的リガンド応答エンハンサー配列認識の特異性と非特異性

核内受容体群のHREsは、そのDNA構造から2つ

† Transcriptional Control by Steroid/Thyroid/Retinoic Acid Nuclear Receptors.
Shigeaki KATO (Department of Agricultural Chemistry, Tokyo University of Agriculture, Tokyo 156)

図 1 核内受容体スーパーファミリー (A) と領域構造と機能 (B). (A), 受容体の構造を模式的に記し, 数字はアミノ酸残基数を示す.

に大別される. 1つは, 回文配列であり AGGTCA (あるいはきわめて類似した配列) もしくは AGAACA (あるいは類似した配列) の基本モチーフが2個回文型に配置されたもの (表1) である^(14,15). このタイプの配列を

標的とする核内受容体群は, エストロゲン受容体 (ER) を含むステロイドホルモン受容体群が挙げられホモ2量体として標的配列に結合する. 一方甲状腺ホルモン (TR), レチノイン酸 (RAR, RXR), ビタミン D

表 1 核内受容体の標的配列

A	回文型標的配列	
	GRE	AGGTCAXXXTGTTCT
	ERE	AGGTCAXXXTGACCT
B	ダイレクトリピート型標的配列	
	RXRE(DR1)	AGGTCA X AGGTCA
	VDRE(DR3)	AGGTCA XXX AGGTCA
	TRE(DR4)	AGGTCA XXXX AGGTCA
C	コンセンサス	
	ERE	AGGTCA XXX TGACCT
	TRE	AGGTCA TTGACCT

(VDR)などの非ステロイドホルモン型受容体は、AGGTCA (あるいは類似した配列) を基本モチーフとした2個の直列にリピート (direct repeat=DR) した配列にRXRとのヘテロ2量体 (すなわちRAR-RXR, VDR-RXR, TR-RXR) あるいはホモ2量体として結合する⁽¹⁶⁻¹⁹⁾。このようにどちらの標的配列の基本モチーフも同一もしくはきわめて類似するが、これら核内受容体群の標的配列認識の特異性は、2個のモチーフ間のスペース (0~5 bp) によって規定されると考えられている (図3)。

(1) 新たなエストロゲン応答配列

筆者らが培養細胞を用いた transient expression assay (CAT assay および定量的 S1 mapping) による転写活性を指標に見出したエストロゲン応答配列 (ERE) は、上記したいずれのコンセンサス配列にも属さない新

しいタイプのものである⁽²⁰⁾。この ERE は、ニワトリ主要卵白タンパクであるオバルブミン (OV) 遺伝子プロモーター 5' 上流 3 kbp 付近に存在するエストロゲン依存性 DNase I 高感受性領域内に存在する^(21,22)。この ERE (OV-ERE) は、約 600 bp 断片内に AGGTCA モチーフ4個が互いに 100~150 bp 以上離れ直列配位 (DR) で存在し、4個では TATA box を含む短い OV プロモーターとともに非常に強力な ERE 活性を示すが、いずれの1個を欠失または変異を加えると大幅な活性減少がみられた。一方 ER 特異的抗体を用いた免疫沈降反応や gel-shift 法などの *in vitro* DNA 結合実験からは、ER が非常に弱い結合能ながら、各 AGGTCA モチーフに結合することを証明した。これらの結果からモチーフ間の互いの距離が十分離れた場合においては、DR 型 AGGTCA モチーフが ERE として ER の標的エンハンサーとして機能することを初めて証明することに成功した。このことから複数の ER が OV-ERE 内の各 AGGTCA に結合し、DNA の高次構造を変化させることで転写を促進する可能性が考えられた。

(2) 核内受容体の標的配列認識の特異性と非特異性
RAR-RXR, VDR-RXR, TR-RXR のヘテロ2量体は、やはり AGGTCA モチーフを標的エンハンサー配列の基本モチーフとするため、これら核内受容体による OV-ERE の転写活性を調べたところ、いずれの受容体の組み合わせでも転写促進能がみられなかった。このことから ER による OV-ERE の転写促進は、ER のみが極端に離れた2個の AGGTCA モチーフを認識する可能性が考えられた。そこで、この可能性を検討する目的で、2個の AGGTCA モチーフ間の距離がさまざまな異なる (0~200 bp) DR 型人工配列を作製し、これら配列

図 2 核内受容体による転写促進の予想図

図 3 核内受容体群の特異的・非特異的認識

への標的特異性を各受容体を用いた転写促進能 (CAT assay) および *in vitro* の DNA 結合能 (gel-shift) を指標に解析した。その結果 DR 間のスペースが狭い場合 (0~5 bp) には、これら核内受容体間で標的配列認識の特異性がみられた。これに対し DR 間のスペースが 10 bp 以上の場合には、転写促進能は弱いものの、ER, RAR-RXR, VDR-RXR, TR-RXR の組み合わせで、非特異的に認識することが示唆された⁽²³⁾。

(3) 核内受容体の標的配列結合によって引き起こされる DNA 高次構造

そこで精製したこれら受容体群を用い標的配列への結合能を gel-shift 法で調べたところ、ほぼ転写促進能に比例することが明らかになった。そこでこれらの非特異的な認識結合には、核内受容体群によるスペース配列の looping などの積極的な DNA 高次構造の変化が予想されたため、DNA bend assay により受容体結合により引き起こされる DNA の湾曲度を解析した。その結果 ER ホモ 2 量体は、距離が狭い (3 bp) コンセンサス回文配列よりも距離が離れた (10, 20 bp) DR 型配列 (DR 10, DR 20) に結合した場合、より湾曲した。一方ヘテロ 2 量体として DNA に結合する RAR-RXR は DR 10, DR 20 に比較し距離が狭い (5 bp) コンセンサス DR 型配列のほうをより湾曲し、また湾曲度は、受容体の種類によってもスペースによっても異なっていた。以上の結果から DR 型の 2 個の AGGTCA モチーフ間の距離が狭い場合は、DNA の絶対配置が固定されるため核内受容体の標的特異性が規定されるのに対し、モチーフ間の

距離が一定以上離れている (10 bp) 場合には、受容体結合により DNA 高次構造変化が引き起こされるため非特異的に複数種の受容体が認識されと考えられた。このように距離が離れた DR をそのプロモーターに持つ標的遺伝子は複数のリガンドにより複雑に制御されと考えられる。以上これらの解析は、他の DNA 結合タンパク (転写制御因子) の影響を避けるため、人工的な配列を選んだが、実際のプロモーターについても検討した。1つは、ラミニン B1 遺伝子プロモーターに存在し、RAR-RXR の標的配列 (LB1 RARE) であることが証明されている配列で^(24,25)、この配列は、3つの AGGTCA モチーフからなるがモチーフ間の距離は、3, 14 bp である。LB1 RARE を上記のシステムを用い解析すると同様に ER, VDR-RXR, TR-RXR の標的配列になりうることを確認することができた。さらにこのモデル実験として、モチーフ間のスペースが違う 3つのモチーフを用いた場合でも、解析すると核内受容体の非特異的な認識がみられている (H. Sasaki *et al.*, 投稿準備中)。また種々のビタミン A, ビタミン D 標的遺伝子プロモーターの標的配列を解析したが^(26~29)、このような配列の複雑な構造のほかに、未知因子の結合により標的特異性が調節される可能性³⁰⁾についても考えられた。

脂溶性リガンドによって弱く制御される標的遺伝子は数多く存在するが、その発現制御機構については不明な点が多い。今回証明することができた 2つのモチーフ間が離れた標的配列をそのプロモーターに持つものは、複数のリガンドによって複雑かつ巧妙に制御される可能性

が高いことから, *in vivo* での複雑な生理作用をよく説明できうるものである。

3. 核内受容体遺伝子群の発現制御

脂溶性リガンド群はその化学的性質から細胞膜を自由に通過するため, 器官(細胞)での標的特異性は, 核内受容体遺伝子群の発現に規定される。さらに核内受容体は転写制御因子であるため, その量的変動はリガンドの情報伝達に大きな影響を与えることが予想される。実際, 多くの核内受容体遺伝子の発現は, 時間・空間的に厳密な制御を受けることが知られている。とくに RAR, RXR などのビタミンA受容体には, 30 種近くも異なるタイプの核内受容体が存在し, この多様性が, ビタミンAの幅広い生理作用を説明すると考えられている^(31~35)。そこで, 各脂溶性リガンドによる核内受容体遺伝子群の発現制御を栄養・ホルモン状態の異なるラットを用いて解析した。またニワトリヒナを用い, ER 遺伝子の発現についても検討した⁽³⁵⁾。

(1) RAR, RXR 遺伝子の発現調節

核内受容体遺伝子としては最近発見された RAR, RXR 受容体群を選んだ。RAR, RXR 遺伝子は3種(α , β , γ)存在し, さらに3種の RAR 遺伝子は異なるプロモーターと選択的スプライシングにより生じる数種の isoform からなる。RXR は, TR, VDR, RAR とヘテロ2量体を作ることから甲状腺ホルモン(T3), ビタミン(V.D), レチノイン酸(RA)とのクロストークが考えられるためこれらリガンドの効果を, 各 RAR 主要 isoform および各 RXR 遺伝子の発現制御について検討した。その結果, RAR β isoform 全体が RA で正に制御されるが^(36,37), RAR α , RAR γ ではそれぞれ $\alpha 2$, $\gamma 2$ のみが RA で正に制御された。さらに, $\alpha 2$, $\gamma 2$ の RA による制御は, 胚発生時($\alpha 2$ のみ)と生体時($\gamma 2$ のみ)と異なることが明らかになり, RA による胚への催奇性の一部を分子レベルで説明するものであった(R. Kojima *et al.*, 投稿準備中)。また, V.D, T3 は全く効果がなかった。一方 RXR 遺伝子群の発現に対し, RA, V.D は効果がないものの, T3 で RXR α へは効果がなかったが, RXR β は正に, RXR γ は負に制御されることを見出した⁽³⁸⁾。さらに RXR β の T3 による制御は転写レベルで, RXR γ の負の制御は転写後レベルで行われていることを証明した⁽³⁹⁾。このように非ステロイドホルモン型受容体の情報伝達系が, DNA への結合のレベル

		V.A.	V.D.	T.H.
Cytosol	CRBP I	↗	↗	—
	CRBP II	↗	—	—
	CRABP I	—	—	—
	CRABP II	↗	↗	—
Nucleus	RAR α	—	—	—
	RAR β	↗	—	—
	RAR γ	—	—	—
	RXR α	—	—	—
	RXR β	—	—	↖
	RXR γ	—	—	↘

図4 ビタミンA, ビタミンD, 甲状腺ホルモンによるビタミンA結合タンパク遺伝子群の発現調節

でリガンドによるクロストークのほか, 受容体遺伝子群の発現が, リガンドにより制御される複雑なネットワークの一部を説明することに成功した(図4)。

(2) ビタミンA結合タンパク遺伝子発現制御とビタミンAの転送調節

同様な実験動物系を用い, 細胞質レチノール結合タンパク(CRBP I, II), レチノイン酸結合タンパク(CRABP I, II) 遺伝子発現についても検討を行った⁴⁰⁾。その結果, CRBP I, CRABP II 遺伝子は, ビタミンAのみならずDによって組織特異的に転写制御されることを見出し, また CRBP I プロモーターには, 2-(2)で述べたような結合モチーフが数多く散在することも見出している(Y. Yoshizawa *et al.*, 投稿準備中)。このことは, ビタミンAの代謝・転送には, ビタミンDが関与する可能性を強く示唆するものであった(図4)。

このほか RAR, RXR のリガンドである *all-trans* RA, 9-*cis* RA^(41,42) の異性化についても検討し, これらリガンド活性型への変換は, 培養細胞と異なり, 動物生体内ではその所要時間がはるかに短いことを見出すことに成功し⁽⁴³⁾, さらに現在変換組織を探している。

(3) Dominant negative タイプのビタミンD受容体(VDR)アイソフォームの発見

VDR は, TR, RAR, RXR とともに1つのサブファミリーを形成し, またビタミンDには活性を有する数多くの類縁体が存在するにもかかわらず, これら受容体と異なりサブタイプ, アイソフォームの存在を確認することができなかった。そこで, 新規ビタミンD受容体検索を目的に, いくつかの臓器由来の cDNA ライブラリー

図 5 ビタミンD受容体遺伝子とアイソフォーム

から詳細に検討したところ、VDR アイソフォームの同定に成功した (K. Ebihara *et al.*, 投稿準備中). このアイソフォームは、従来より知られていた VDR (rVDR 0) のエキソン 8 と 9 の間の全長のイントロンが使われることで (alternative splicing) 生じるものであった. 興味深いことにその結果、VDR タンパク C 末端のアミノ酸 86 残基が欠損する (rVDR 1). その結果この rVDR 1 タンパクは、ビタミン D との結合能を持たないものの DNA 結合能を保持するため、転写促進能を持たない dominant negative タイプのアイソフォームと推定された. 近年ヒト VDR 遺伝子の多型性と骨粗しょう症との相関が明らかにされ注目を浴びているが、今回同定された新たなエキソンと同じ位置にヒト VDR 遺伝子の多型性がみられることから、この rVDR 1 の生体での機能に興味を持たれる (図 5).

(4) 新規核内受容体の検索

核内受容体はスーパーファミリー間で相同性が高いことからこの相同性を利用し、最も相同性が高い領域をプローブに、種々の組織由来 cDNA ライブラリーより新規核内受容体を検索した結果、骨組織からリガンド未知の新規オーファン受容体 cDNA の同定に成功した (原田秀幸ら, 未公表). この受容体は、すでに数多く同定されているオーファン受容体群の 1 つである TR 2 に類似しており、現在その機能および発現調節について検討を加えている. オーファン受容体のいくつかは、特異的標的 DNA 配列への競合的な結合や、他の核内受容体との相互作用などにより、既存の情報伝達系 (ビタミン A, D や甲状腺ホルモン) を正負に調節することが知られている^(44~46). また PPAR のように、パーオキシゾーム増殖剤 (クロフィブレート) などの薬剤をリガンドとするオーファン受容体が見出され⁽⁴⁷⁾, またさらに最近 PPAR へは中鎖の脂肪酸群が活性型リガンドとして働くこ

とが示された⁽⁴⁸⁾. このような事実からオーファン受容体のなかには、作用機序不明の薬剤や生体の脂溶性物質をリガンドとするものが存在する可能性が高く、オーファン受容体の検索とそのリガンドの同定は、新たな情報伝達経路の発見をもたらすことは疑いのない事実である.

おわりに

ここに述べたものは、この分野のごく一部分であり、その他の部分はほかの成書・総説を参照されたい. 今後の課題として、他のグループ同様われわれは (1) 転写活性を指標とした核内受容体の共役因子の検索, (2) 遺伝子欠損マウス (knock-out マウス) を用いた核内受容体の統括的な機能の評価, を行っている. 近い将来にこれら重要問題が明らかになることを切望し、さらなる精進を重ねたい.

本研究は主に東京農業大学農芸化学科生物化学研究室で行われたものであり、当研究室の皆様方に心より感謝申し上げます. 本研究の端緒、そして強力な支援ご指導をいただきましたフランスパスツール大学医学部真核細胞分子遺伝学教室 Pierre Chambon 教授に深く御礼申し上げます. また当研究室外重正一教授、長谷川忠男教授にはご協力ご指導をいただき、厚く御礼を申し上げます. それから学生時代より現在までご協力、ご指導を賜りました先生方に感謝いたします.

- (1) S. Green and P. Chambon : *Trends Genet.*, **4**, 309—314 (1988).
- (2) R. M. Evans : *Science*, **240**, 889—895 (1988).
- (3) R. Beato : *Cell*, **56**, 335—344 (1989).
- (4) H. Gronemeyer : *Annu. Rev. Genet.*, **25**, 89—123 (1991).
- (5) 加藤茂明 : 臨床科学, **30**, 88—97 (1994).
- (6) 加藤茂明 : 「受容体タンパク質Ⅱ」, 廣川書店,

- 東京, 1993, pp. 391—447.
- (7) B. P. Cormack and K. Struhl : *Cell*, **69**, 685—696 (1992).
 - (8) P. A. Sharp : *Cell*, **68**, 819—821 (1992).
 - (9) T. Goodrich, T. Hoey, C. J. Thut, A. Adam, and R. Tjian : *Cell*, **75**, 519—530 (1993).
 - (10) K. Kato, Y. Makino, T. Kishimoto, J. Yamauchi, S. Kato, M. Muramatsu, and T. Tamura : *Nucleic Acids Res.*, **22**, 1179—1185 (1994).
 - (11) M. L. Brock and D. J. Shapiro : *Cell*, **34**, 207—214 (1983).
 - (12) G. Brawerman : *Cell*, **57**, 9—10 (1989).
 - (13) Y. Arao, N. Miyatake, Y. Ninomiya, T. Hasegawa, S. Masushige, and S. Kato : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**, 261—264 (1994).
 - (14) K. Umesono, K. K. Murakami, C. C. Thompson, and R. M. Evans : *Cell*, **65**, 199—217 (1991).
 - (15) 加藤茂明 : 実験医学, **10**, 2344—2350 (1992).
 - (16) V. C. Yu, C. Delsert, B. Anderson, J. M. Holloway, O. V. Devary, A. M. Naar, S. Y. Kim, J. M. Boutin, C. K. Glass, and M. G. Rosenfeld : *Cell*, **67**, 1251—1266 (1991).
 - (17) M. Leid, P. Kastner, R. Lyons, H. Nakshatri, M. Saunders, T. Zacharewski, J.-Y. Chen, A. Staub, J.-M. Garnier, S. Mader, and P. Chambon : *Cell*, **68**, 377—395 (1992).
 - (18) T. Perlman, P. N. Rangarajan, K. Umesono, and R. M. Evans : *Genes Dev.*, **7**, 1411—1422 (1993).
 - (19) R. Kurokawa, V. C. Yu, A. Naar, S. Kyakumoto, Z. Han, S. Silverman, M. G. Rosenfeld, and C. K. Glass : *Genes Dev.*, **7**, 1423—1435 (1993).
 - (20) S. Kato, L. Tora, J. Yamauchi, S. Masushige, M. Bellard, and P. Chambon : *Cell*, **68**, 731—742 (1992).
 - (21) J. S. Kaye, S. Pratt-Kaye, M. Bellard, G. Dretzen, F. Bellard, and P. Chambon : *EMBO J.*, **5**, 277—285 (1986).
 - (22) L. Tora, M.-P. Gaub, S. Mader, A. Die-rich, M. Bellard, and P. Chambon : *EMBO J.*, **7**, 3771—3778 (1988).
 - (23) S. Kato, H. Sasaki, M. Suzawa, S. Masushige, H. Gronemeyer, and P. Chambon : submitted.
 - (24) G. Vassons, S. Mader, J. D. Gold, M. Leid, Y. Lutz, M.-P. Gaub, P. Chambon, and L. Gudas : *EMBO J.*, **10**, 1149—1158 (1991).
 - (25) S. Richard and H. H. Zingg : *J. Biol. Chem.*, **266**, 21428—21433 (1991).
 - (26) Y. Ohyama, K. Ozono, M. Uchida, T. Shinki, S. Kato, T. Suda, O. Yamamoto, M. Noshiro, and Y. Kato : *J. Biol. Chem.*, **269**, 10545—10550 (1994).
 - (27) S. Kato, H. Morino, H. Mano, and S. Masushige : *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **40**, 1—10 (1994).
 - (28) H. Sasaki, H. Harada, Y. Handa, H. Morino, T. Katsumata, T. Ono, K. Ebihara, S. Masushige, and S. Kato : *Biochemistry*, in press.
 - (29) H. Muto, S. Kato, and T. Shimizu : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, in press.
 - (30) C. E. McPherson, E.-Y. Shim, D. S. Friedman, and S. Z. Zaret : *Cell*, **75**, 387—398 (1993).
 - (31) P. Kastner, A. Krust, C. Medelsohn, J.-M. Garnier, A. Zelent, P. Leroy, A. Staub, and P. Chambon : *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **87**, 2700—2704 (1990).
 - (32) P. Dolle, E. Ruberte, P. Kastner, M. Petkovich, C. M. Stoner, L. Gudas, and P. Chambon : *Nature*, **342**, 702—705 (1990).
 - (33) 加藤茂明, 舩重正一 : 化学と生物, **30**, 272—273 (1992).
 - (34) V. Giguere : *Endocr. Rev.*, **15**, 61—79 (1994).
 - (35) Y. Ninomiya, M. Mochi, G. Eguchi, T. Hasegawa, S. Masushige, and S. Kato : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **187**, 1374—1380 (1992).
 - (36) S. Kato, H. Mano, T. Kumazawa, Y. Yoshizawa, R. Kojima, and S. Masushige : *Biochem. J.*, **286**, 755—760 (1992).
 - (37) H. Mano, C. Kumakura, A. Kitamura, H. Morino, S. Kato, and S. Masushige : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **57**, 1400—1402 (1993).
 - (38) H. Mano, T. Ozawa, K. Takeyama, Y. Yoshizawa, R. Kojima, S. Masushige, and S. Kato : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **191**, 943—949 (1993).
 - (39) H. Mano, R. Mori, T. Ozawa, K. Takeyama, Y. Yoshizawa, R. Kojima, Y. Arao, S. Masushige, and S. Kato : *J. Biol. Chem.*, **269**, 1591—1594 (1994).
 - (40) S. Kato, K. Takeyama, R. Kojima, Y. Yoshizawa, T. Furusho, H. Mano, and S. Masushige : *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **39**, 545—555 (1993).
 - (41) A. A. Levin, L. J. Struzenbecker, S. Kazmer, T. Bosakowski, C. Huselton, G. Allenby, J. Speck, C. Kratzeisen, M. Rosenberger, A. Lovey, and J. F. Grippo : *Nature*, **355**, 359—361 (1992).
 - (42) R. A. Heyman, D. J. Mangelsdorf, J. A.

- Dyck, R. B. Stein, G. Eichele, R. M. Evans, and C. Thaller : *Cell*, **68**, 397—406 (1992).
- (43) R. Kojima, T. Fujimori, N. Kiyota, Y. Toria, T. Sato, T. Ohashi, Y. Yoshizawa, K. Takeyama, H. Mano, S. Masushige, and S. Kato : *J. Biol. Chem.*, in press.
- (44) A. J. Cooney, S. Y. Tsai, B. W. O'Malley, and M. J. Tsai : *Mol. Cell Biol.*, **12**, 4153—4163 (1992).
- (45) S. A. Kliewer, K. Umesono, R. A. Heyman, D. J. Mangelsdorf, J. A. Dyck, and R. M. Evans : *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **89**, 1448—1452 (1992).
- (46) T. J. Berrodin, M. S. Marks, K. Ozato, E. Linney, and M. A. Lazar : *Mol. Endocrinol.*, **6**, 1468—1478 (1992).
- (47) I. Issemann and S. Green : *Nature*, **347**, 645—650 (1990).
- (48) M. Gottlicher, E. Widmark, Q. Li, and J. -A. Gustafsson : *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **89**, 4653—4657 (1992).
-