ミニレビュー [Nippon Nōgeikagaku Kaishi Vol. 72, No. 10, pp. 1199~1203, 1998]

ビタミン D による遺伝子発現の制御†

吉澤達也, 関根圭輔, 加藤茂明

(東京大学分子細胞生物学研究所)

Key words: vitamin D; VDR; nuclear receptor

1. はじめに

ビタミン D はその発見経緯からもわかるように、骨カルシウム代謝に重要な役割を果たす微量栄養素である。しかし、従来より知られているカルシウム代謝調節だけでなく、細胞の増殖・分化制御、免疫応答制御など多彩な生理作用も有している^(1,2)。これらビタミン D 生理作用の大部分は、その特異的な核内受容体であるビタミン D 受容体 (VDR) を介した標的遺伝子の発現によることが分子レベルで明らかとなっている^(3,4) (図 1)。核内受容体群は、ステロイド・甲状腺ホルモン・エイコサノイド受容体とともにアミノ酸の相同性と機能からスーパーファミリーを形成している。これら核内受容体群の分子生物学的解析が進むにつれ、ビタミン D・A の生理作用発現は他のビタミン群とは異なり、むしろステロイドホルモンと同様な経路であることが明らかとなった。そこで本稿では、いかにして食餌由来のビタミン D が遺伝子の発現を制御し、生理作用を発現するのかを紹介する。

2. ビタミン D の生合成

コレステロールから生合成された 7-デヒドロコレステロール (プロビタミン D) は、皮膚で紫外線照射によりビタミン D₃ に転換される。しかしそれだけでは体内摂取量が十分ではないため、食餌から栄養素としてビタミン D を摂取している。食事中にはプロビタミン D やビタミン D が含まれているが、栄養効果が期待できるのはビタミン D で、プロビタミン D は腸管吸収時に変換されてしまうため効果は期待できない。ビタミン D は魚に多く含まれ、次にキノコ類であ

り、意外にも牛乳にはあまり多くは含まれていない。また、畜肉にはほとんど含まれない。

合成されたビタミン D₃ および食餌から摂取したビタミン D₃ は肝臓で 25 位が水酸化され、25(OH)₂D₃ に変換される。さらに 25(OH)₂D₃ は腎臓で 1 位が水酸化されると活性型である 1α,25(OH)₂D₃ に変換される。この 1α,25(OH)₂D₃ はビタミン D 結合蛋白質 (DBP) やアルブミンなどと結合し、血液を介し、各標的組織に運ばれる。また、1α,25(OH)₂D₃ は主に 24 位が水酸化され、やがて oxo 体を経て尿中に排泄される (図 2)^(2,5)。血中の 1α,25(OH)₂D₃ は極少量でありながら、厳密に一定値を取るよう制御されている。この制御の鍵になる酵素が 1 位の水酸化を行う 1α-水酸化酵素⁽⁶⁾と 24 位の水酸化を行う 24 水酸化酵素⁽⁷⁾である。これら酵素をコードする遺伝子は、1α,25(OH)₂D₃ 自身により負または正に転写調節を受けることが明らかとなっている。つまり血中を介して標的細胞に運ばれる 1α,25(OH)₂D₃ は、それ自身のフィードバック機構により制御されているのである。

3. 核内ビタミン D 受容体 (VDR) による転写調節

a. VDR の構造と分布

RXR, RAR などのビタミン A 受容体群には数種のサブタイプ (別々の遺伝子) やアイソフォームが存在し、そ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。しかし、ビタミン D の活性型である 1α,25(OH)₂D₃ をリガンドとするものは VDR 1 種類のみが報告されているにすぎない (武山の稿参照)。30 種類以上存在するビタミン D 代謝物の中には 24,25(OH)₂D₃ などの活性を有する代謝物が存在すること⁽⁸⁾、またビタミン D の広範な生理作用から考えると第 2 の VDR が存在する可能性も否定できない。

前述のように核内受容体群は遺伝子スーパーファミリーを形成しており、その機能と蛋白の相同性から N

† Regulation of Gene Expression by Vitamin D
Tatsuya YOSHIZAWA, Keisuke SEKINE, and Shigeaki KATO (Institute of Molecular and Cellular Biosciences, The University of Tokyo)

図1 ビタミンDの核内情報伝達機構のモデル

活性型ビタミンDと結合したVDRは、VDRE上にRXRsとヘテロ2量体を形成し、標的遺伝子の転写を促進あるいは抑制する。このとき、基本転写装置との間に転写共役因子(co-factor)が必要である。

図2 ビタミンDの生合成と代謝系路

活性型である $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の濃度は、1位の水酸化を受けもつ 1α -水酸化酵素と24位の水酸化を受けもつ24-OHaseにより制御されると考えられている。

末端よりAからFまでの領域に分けられる^(4,9)(武山の稿, 図2参照). 中央に位置するC領域はZnフィンガー構造を有しており, DNAに直接結合する領域である. E領域は, リガンド結合領域である. 2量体化に関わる領域は, C領域とE領域に存在する. 転写を促進する領域は, 組織特異的の発現に関わるA/B領域(AF-1)と, リガンド依存的転写促進能を有するE領域(AF-2)に存在している. ヒトVDRは427アミノ酸からなり, AF-1領域は24アミノ酸と極めて短い, あるいは存在しない.

VDRは腎近位尿細管細胞, 小腸上皮細胞, 骨芽細胞, 副甲状腺主細胞などの古典的なビタミンD標的器官以外にも, 免疫系細胞, 皮膚, 骨格筋, 脾臓, 心筋, 下垂体, 精巣, 卵巣など非常に広範な臓器に分布している^(1,10). これら組織内におけるVDRの存在はある細胞に局限しているようであり, 今後の詳細な検討が期待される.

b. VDRによる転写促進

VDRは標的遺伝子プロモーターに存在するビタミンD応答配列(VDRE)を認識し, 基本的にRXRs(9-cisレチノイン酸をリガンドとするビタミンA受容体群)とヘテロ2量体として結合することで, 標的遺伝子の発現を転写レベルで制御する. VDREは基本モチーフであるAGGTCA(あるいは似た配列)が, 3塩基のスペーサーを挟んで二つ直線的にリピートする構造

を有する。

VDR が VDRE に結合し転写を制御する場合には、RNA ポリメラーゼ II を含む基本転写装置群との相互作用が必要である。このとき、タンパク-タンパク相互作用によりこれらを仲介し、転写を促進あるいは抑制する一群の因子、いわゆる転写共役因子 (co-factor) が存在すると理解されている (図 1)。実際 VDR の AF-2 には、核内受容体群に共通する co-factor のうち、SRC-1/TIF2/AIB1 ファミリーや RIP140, SUG1 がリガンド依存的に結合する⁽¹¹⁻¹³⁾。現在 VDR のリガンド依存的な転写促進能は、これらリガンド依存的な co-factor の結合により説明される。つまり VDR にリガンドが結合すると VDR の C 末端に存在するヘリックスの構造変化が引き起こされ、これら co-factor が結合し、転写が活性化されるのである。しかし VDR に個々の co-factor や、VDR の組織特異的な転写促進能を十分に説明する co-factor の報告はなされていない。

また、VDR はプロテインキナーゼ C やカゼインキナーゼ II によりリン酸化されることが報告され、転写活性化への関与が示唆されている。特にカゼインキナーゼ II によるリン酸化はリガンド依存的であることは興味深い⁽¹⁴⁾。近年、EGF などの増殖因子が MAP キナーゼを介してエストロゲン受容体 (ER) をリン酸化し、ER の転写を亢進させることが明らかになった⁽¹⁵⁾。つまり VDR の転写制御も膜受容体からの情報伝達系とクロストークする可能性が強く示唆される。しかし、まだ受容体のリン酸化がなぜ転写を亢進するかは十分に明らかではない。現在リン酸化特異的に結合する因子が存在すると考えられており、その発見が期待される。

c. 標的遺伝子

ビタミン D により発現が調節される遺伝子は多く報告されているが、実際に VDRE が同定されているものは意外と少ない。最近、p21 や p27⁽¹⁶⁾、HoxA 10⁽¹⁷⁾ など細胞周期を制御する因子がビタミン D の標

図3 VDR 遺伝子欠損マウスに現れた変異

VDR^{-/-} ではクル病性骨変異、脱毛、子宮・卵巣の萎縮などが離乳後にのみ認められた。

的遺伝子となることが報告され、ビタミンDが直接細胞の増殖や分化を制御するメカニズムの一つが示された。しかし現在報告されている標的遺伝子群のみで、ビタミンDの多様な生理作用を十分説明するには疑問が残る。さらなる標的遺伝子の報告が望まれる。

4. VDRの生体内高次機能

ビタミンDの生体での役割は、ビタミンD欠乏動物に現れる変異から解析されてきた。しかし、このような栄養学的なアプローチでは完全なビタミンDの欠乏や、胚発生時の母体への影響を排除することは非常に困難であった。幸い $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ をリガンドとするものはVDRしか報告されていないため、VDRを不活性化すれば $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の情報伝達系路は遮断される。そこで、われわれは $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ・VDRの情報伝達系路の生体での役割を明確にするため、VDR遺伝子欠損(VDRKO)マウスを作製した⁽¹⁸⁾。VDRKOマウスは正常に誕生するが、離乳時期である3週以後に顕著な成長障害が見られた。7週では脱毛が見られ、年とともに全身も脱毛する。また、離乳後に低カルシウム血症、低リン血症、血清アルカリフォスファターゼ活性の上昇および血中 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 値の10倍近い上昇が認められ、重篤なクル病性骨変化が見られた。血中 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 値の顕著な上昇から 1α -水酸化酵素遺伝子の発現増加が予想され、実際VDR遺伝子欠損マウス由来のcDNAライブラリーから、新規P450酵素である 1α -水酸化酵素遺伝子をクローニングすることができた⁽⁹⁾。さらに、意外なことに卵巣・子宮に重度の萎縮が見られた(図3)。

VDRKOマウスの解析から、 $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ・VDRは離乳後において決定的な役割を果たすが、胚発生時や授乳中は必須ではないことが示された。これは、乳中にビタミンDが少ないことに合致するが、乳幼児にビタミンDが重要とする通説とは相反するものであった。果たして本当に $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ は授乳中に必要なのだろうか。現在ビタミンDの作用は $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ・VDRを中心に考えられているが、他のビタミンD代謝物が未知のレセプターを介して作用を補っている可能性も否定できない。また、過去に報告された生理作用の中には、VDRKOマウスに変異として現れないものもあり、多くの疑問が残された。どのような情報伝達系路がその機能を補っているのか、今後の解析が待たれる。

おわりに

以上微量栄養素であるビタミンDがいかにして遺伝子の発現を制御しているのかについて大まかに紹介した。ビタミンDはその生理作用が広範であることから、古くから医薬品としての開発が進められている。数多いビタミンD誘導体の中には血中カルシウム代謝と細胞の増殖・分化制御をある程度分離できるものが存在する。つまり、ビタミンDの構造を修飾することによりその作用の現れかたが変わるのである^(19,20)。従来、これらは投与の方法、代謝、VDRとの結合能などの違いにより説明されてきたが、これらだけでは誘導体の作用の特異性を理解するには十分ではなかった。現在VDRの転写制御にco-factor群の存在が非常に重要なこと、他の情報伝達系路とのクロストークの存在などが明らかにされつつあり、これらを踏まえたVDRの組織特異的転写促進能の検討からのアプローチが必要であろう。いずれにせよビタミンDの遺伝子発現制御の解明には、VDRのみならず核内受容体群全体の転写制御メカニズムの理解が必須であり、目が離せない。

- (1) G. P. Studzinski *et al.*: *Grit. Rev. Eukaryotic Gene Expression*, **3**, 279-312 (1993).
- (2) M. R. Walters *et al.*: *Endocrinol. Rev.*, **13**, 719-764 (1992).
- (3) H. Darwish *et al.*: *Crit. Rev. Eukaryotic Gene Expression*, **3**, 89-116 (1993).
- (4) D. J. Mangelsdorf and R. M. Evans: *Cell*, **83**, 841-850 (1995).
- (5) D. R. Fraser: *Physiol. Rev.*, **60**, 556-613 (1980).
- (6) K. Takeyama, S. Kitanaka, T. Sato, M. Kobori, J. Yanagisawa, and S. Kato: *Science*, **277**, 1827-1830 (1997).
- (7) Y. Ohyama *et al.*: *FEBS Lett.*, **278**, 195-198 (1991).
- (8) C. Lidor *et al.*: *J. Bone Miner. Res.*, **2**, 91-98 (1987).
- (9) S. Green and P. Chambon: *Trends Genet.*, **4**, 309-314 (1988).
- (10) R. Bouillon *et al.*: *Endocrinol. Rev.*, **16**, 200-257 (1995).
- (11) Y. Kamei *et al.*: *Cell*, **85**, 403-414 (1996).
- (12) J. J. Voegel *et al.*: *EMBO J.*, **15**, 3667-3675 (1996).
- (13) H. Chen *et al.*: *Cell*, **90**, 569-580 (1997).
- (14) J. W. Pike and N. M. Sleator: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **131**, 378-385 (1985).
- (15) S. Kato, H. Endoh, Y. Masuhiro, T. Kitamoto, S. Uchiyama, H. Sasaki, S. Masushige, Y. Gotoh, E. Nishida, H. Kawashima, D. Metzger, and P.

- Chambon: *Science*, **270**, 1491-1494 (1995).
- (16) M. Liu *et al.*: *Genes Dev.*, **10**, 142-153 (1996).
- (17) N. Y. Rots *et al.*: *Mol. Cell. Biol.*, **18**, 1911-1918 (1998).
- (18) T. Yoshizawa, Y. Handa, Y. Uematsu, S. Takeda, K. Sekine, Y. Yoshihara, T. Kawakami, K. Arioka, H. Sato, Y. Uchiyama, S. Masushige, A. Fukamizu, T. Matsumoto, and S. Kato: *Nature Genet.*, **16**, 391-396 (1997).
- (19) J. Abe *et al.*: *FEBS Lett.*, **226**, 58-62 (1987).
- (20) L. Binderup *et al.*: *Biochem. Pharmacol.*, **37**, 889-895 (1988).
-