ステロイドレセプターの遺伝子発現制御機能

Regulatory function of steroid receptors in gene expression

東京大学分子細胞生物学研究所 CREST, 科技団

加藤 茂明 Shigeaki KATO

Key words: steroid receptors; nuclear receptors; gene expression; coactivator; androgen receptor

はじめに

食品および体内に存在する低分子量脂溶性生理活性物質の中には、核内レセプターリガンドとして、作用するものが数多く知られている。すなわち、ステロイド/甲状腺ホルモン、ビタミンA（レチノイド）、ビタミンD群のエイコサノイド、さらにコレステロール代謝体などである¹⁾。核内レセプターは、一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おり、いわゆるクラスII遺伝子群の発現を制御するDNA結合性転写制御因子である。ヒトゲノム解読の結果、48種のレセプターが存在すると考えられる¹⁾。そのためこれらレセプターリガンドの分子作用メカニズムは、核内レセプターを介した標的遺伝子発現制御にある。本稿では、すべての核内レセプターに共通した主機能である遺伝子制御機能を中心に、核内レセプター機能について概観したい。

1. 核内レセプタースーパーファミリー

核内レセプターリガンドとして作用する低分子量脂溶性生理活性物質の中では、ホルモン・ビタミンが、リガンドとしてのレセプター特異性は極めて高い。これらレセプターに加え、リガンド未知のオーファンレセプターが存在する。最近これらオーファンレセプターのうちリガンドが同定されたものにPPARs, LXR, FXRなどの非ステロイドレセプター群が知られている。これら核内レセプター群は一つの遺伝子から分子進化したと考えられ、互いの構造機能が類似したいわゆる一つの大きな遺伝子スーパーファミリーを形成している^{2), 3)}。これら一群の脂溶性物質は脂溶性であるので、細胞膜・核膜を自由に透過し、核内に局在する特異的核内レセプターに高い親和性を示すことでリガンドとして働く。核内レセプターは、リガンド誘導性転写制御因子であって、それぞれの特異的な標的遺伝子群プロモーターに結合することで、標的遺伝子群の発現を転写レベルで制御する。標的遺伝子群産物（タンパク質）は、酵

素であったり、細胞内構成タンパク質であったり、いずれも生理的に重要な役割を担っていると予想されている。このように核内レセプターは、脂溶性リガンドのもつシグナルを遺伝情報に伝える変換器であって、リガンド固有の生理活性は、その標的遺伝子群（遺伝子産物＝タンパク質）群が実際担っていることがわかる（図1）⁴⁾。このような脂溶性リガンド作用発現における核内レセプター分子の重要性は、レセプター遺伝子欠損マウスの観察からも裏づけられる。筆者らは、ビタミンDと男性ホルモンレセプター遺伝子欠損ノックアウトマウスを作出したところ、これらリガンド欠乏と同じ障害が観察された^{5), 6)}。加えて、リガンド欠乏動物では、観察することが不可能であったレセプター機能を明らかにすることもできた。

2. 核内レセプター群の構造と機能

核内レセプター群は、その高い相同性と機能からA～Fまでの領域にレセプタータンパク質N末端から分割される（図2）。直接標的エンハンサー配列を認識、結合するDNA結合領域は、タンパク質中央のC領域に位置する。リガンドが結合するいわゆるリガンド結合領域はC末側のE領域に存在する。核内レセプターはホモあるいはヘテロとして2量体を形成するが、2量体化能はCおよびE領域が存在する。核内に局在させる核移行シグナル(NLS)はD領域に存在する。レセプターの主たる機能である転写促進能は、A/BとE領域の2カ所が担っている⁵⁾。いずれの機能も組織や動物種の違いによって活性が異なっている。このA/B領域とE領域を別々に、分子生物学的手法により調べてみると、A/B領域の転写促進機能(AF-1)は恒常的であるのに対し、E領域の転写促進機能(AF-2)はリガンド結合誘導的である⁷⁾。AF-1およびAF-2の機能は、細胞種特異的であり、また結合するプロモーターによっても活性が異なることが知られている^{8), 9)}。また特にAF-1は、リン酸化されるとその機能が調節されるレセプターが存在することが知られている¹⁰⁾。

3. 転写制御因子としての核内レセプター

転写因子は、遺伝子プロモーターに結合、会合、巨大複

図 1 核内レセプターを介したステロイドホルモン類の分子作用メカニズム (概念図)

図 2 核内レセプタータンパク質構造と機能領域

合体を形成することで、染色体 DNA 上に RNA ポリメラーゼを呼び込むことで、転写を可能にする因子群の総称である¹¹⁾。転写因子は、三つのクラスに大別される。一つは、TATA box を標的とする基本転写因子群であり、その種類は少なくかなり限局される。もう一つは、特徴的な DNA 配列からなるエンハンサー/サイレンサーに結合する DNA 結合性転写制御因子群であり、多くが細胞特異性を規定するため、その種は豊富である。基本転写因子群はすべての遺伝子プロモーターを介した転写に必須な転写因子と考えられている。一方、転写制御因子群は、特定の遺伝子プロモーターにのみ作用するため、各々の遺伝子固有の発現を規定する。核内レセプターも転写制御因子の一つのクラスである。第3のクラスの転写因子は、転写共役(仲介)因子と呼ばれ、タンパク質-タンパク質相互作用により機能し、基本転写装置と、転写制御因子とを橋渡しす

る(図3)^{11), 12)}。転写共役因子は最近ようやくいくつかが同定され、性状が明らかにされつつあるが、大多数は不明である。すなわち複合体の種類や、複合体構成因子の性状についての情報は現在なお少ない。しかしながらその機能を考慮すると転写開始複合体形成において、転写共役因子は、中心的役割を果たすと考えられる。

3. 核内レセプターのリガンド依存的転写制御の分子機構

核内レセプターの転写促進作用は、先にも述べたようにリガンド結合依存的である。したがって、このような転写開始複合体形成はリガンド依存的であると考えられ、少なくとも核内レセプターに直接結合する転写共役因子は、リガンド結合依存的に相互作用すると予想された。また同時にリガンド未結合状態の核内レセプターの転写促進能はむ

図3 転写因子による転写促進の分子メカニズム (概念図)

転写制御因子が染色体 DNA 上で基本転写装置 (TFIIs, TAFs, TBP など) や転写共役因子 (co-factor) とともに転写を促進する。

しる抑制されている状態であるので、このときには逆に転写を抑制する共役因子群の存在が考えられた。つまりリガンド末結合状態では共役転写抑制因子 (コリプレッサー) が結合していて、リガンド結合により、転写抑制因子が解離する。逆に共役転写活性化因子 (コアクチベーター) が入れ替わるように結合し、転写促進を助けるというスキームである。さらに最近これら転写共役因子は単独ではなく、複合体として機能することがわかっている¹³⁾。コアクチベーター、コリプレッサーとの直接的な接触部位は、リガンド結合領域 (E 領域) C 末端の AF-2 AD core と呼ばれる狭い領域である。AF-2 AD core は後になって、リガンド結合領域を構成する最 C 末端の α -helix ループであることが判明している^{14), 15)}。リガンド結合によるリガンド結合領域の構造変化は、疎水性ポケット全体ではなくその一端が大きく変化することがわかった¹⁵⁾。すなわち疎水性ポケットの外側にあり、最も C 末端側に存在する小さな領域 (helix 12) のみが大きく移動することがわかった¹⁵⁾。コアクチベーター内の核内レセプターの接触部位は、LXXLL motif であり、一方コリプレッサー内の接触モチーフは、L/IXXI/VI であることが、最近明らかになっている¹⁶⁾。

一方、これらリガンド依存的な制御は、AF-2 において詳細に解析されてきたが、AF-1 においては、ほとんどその分子機構は不明である。最近筆者らは、ヒト男性ホルモンレセプター AF-1 領域を詳しく解析することで、リガンド依存的に AF-2 領域が、AF-1 から機能的、物理的に解離する可能性が高いことを示した¹⁸⁾。このことは、リガンド未結合 AF-2 が、AF-1 をマスクすることで、転写機能を抑制する一方、リガンド結合により、両 AF 機能が誘導されること意味するものである。

4. 核内レセプター転写共役因子複合体の機能

現在までに少なくとも核内レセプターには二つのコアクチベーター複合体が存在することがわかっている (図4)。一つは、CBP/p300, SRC-1/TIF2 (p160) family を含む複合体で、さらに RNA コアクチベーターも含まれるとの報告もある。いずれにしてもこの複合体には、性状不明の構成因子が多数含まれている可能性は高い^{13), 19)~21)}。CBP/p300, SRC-1/TIF2 family タンパク質自身がヒストンアセチル化酵素 (HAT) であるので²²⁾、このコアクチベーター複合体は、ヒストンをアセチル化することで積極的にクロマチン構造をより転写が潤滑に開始される状態を作り出す作用があると思われる。もう一つの複合体である DRIP/TRAP にはこのような HAT 活性がない。したがって、前者の複合体が作用した後に、この複合体が作用するいわゆる 2 step モデルが、提唱されている^{12), 13)}。また最近筆者らは、Estrogen receptor を材料にすることで、新たな核内レセプターコアクチベーター複合体の精製、同定に成功した²³⁾。この複合体は、HAT である GCN5 を含むほか、c-Myc, E1A などの癌遺伝子の transformation 活性に必須な TRRAP (PAF400) を含み、既知のコアクチベーターである TFIIIC, STAGA, PAF 複合体と同じクラスの複合体であった^{23), 24)}。またこれら今まで報告された転写共役複合体は、いわゆる基本的な複合体と考えられ、実際核内では、これら複合体に数多くの情報伝達調節因子群が、会合すると考えられる。

一方、コリプレッサーは、ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) と複合体を形成しているため、逆にコリプレッサーはヒストン脱アセチル化することでクロマチン構造を密にし、転写開始に対し抑制的に作用すると想像されている²⁵⁾。このように核内レセプターはリガンド依存的に転写

図4 核内レセプターコアクチベーター複合体

核内レセプター複合体は少なくとも2種存在する。DRIP/TRAP複合体はHAT活性をもたない。TRRAP (GCN5)複合体は第3のクラスの核内レセプター複合体である。

共役因子複合体とともに巨大複合体を形成すること、ヒストンのアセチル化、脱アセチル化によってクロマチン構造を調節することが明らかになりつつある¹³⁾。

おわりに

核内レセプターの遺伝子発現制御機能については、分子機構の解析は、大きく進歩した。しかしながら、転写共役因子複合体の例にあるように、機能に関与する因子はすべて同定されたわけではなく、今後さらに新たな因子が、見いだされることは間違いない。また今回述べた分子メカニズムは、リガンド依存的な分子メカニズムの概要である。しかし一方、核内レセプターは転写を抑制する標的遺伝子も存在するため²⁶⁾、このメカニズムの解明は、極めて興味深い問題である。

- 1) D. J. Mangelsdorf, C. Thummel, M. Beato, P. Herrlich, G. Schutz, K. Umesono, B. Blumberg, P. Kastner, M. Mark, and P. Chambon: *Cell*, **83**, 835-839 (1995).
- 2) W. Xie, J. L. Barwick, M. Downes, B. Blumberg, C. M. Simon, M. C. Nelson, B. A. Neuschwander-Tetri, E. M. Brunt, P. S. Guzelian, and R. M. Evans: *Nature*, **406**, 435-439 (2000).
- 3) S. Kersten, B. Desvergne, and W. Wahli: *Nature*, **405**, 421-424 (2000).
- 5) 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 Genetics*, **16**, 391-396 (1997).
- 6) M. Li, A. K. Indra, X. Warot, J. Brocard, N. Messaddeq, S. Kato, D. Metzger, and P. Chambon: *Nature*, **407**, 633-636 (2000).
- 7) D. Tasset L. Tora C. Fromental, E. Scheer, and P. Cham-

bon: *Cell*, **62**, 1177-1187 (1990).

- 8) H. Endoh, K. Maruyama, Y. Masuhiro, Y. Kobayashi, M. Goto, H. Tai, J. Yanagisawa, D. Metzger, S. Hashimoto, and S. Kato: *Mol. Cell. Biol.*, **19**, 5363-5372 (1999).
- 9) H. Kitagawa, J. Yanagisawa, H. Fuse, S. Ogawa, Y. Yogiashi, A. Okuno, H. Nagasawa, T. Nakajima, T. Matsumoto, and S. Kato: *Mol. Cell. Biol.*, **22**, 3698-3706 (2002).
- 10) 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).
- 11) S. Bjorklund, G. Almouzni, I. Davidson, P. K. Nightingale, and K. Weiss: *Cell*, **96**, 759-767 (1999).
- 12) N. J. McKenna and B. W. O'Malley: *Cell*, **108**, 465-474 (2002).
- 13) C. K. Glass, and M. G. Rosenfeld: *Genes & Development*, **14**, 121-41 (2000).
- 14) D. M. Heery, E. Kalkhoven, S. Hoare, and M. G. Parker: *Nature*, **387**, 733-736 (1997).
- 15) A. Shiau, D. Barstad, and P. Loria: *Cell*, **95**, 927-937 (1998).
- 16) X. Hu and M. A. Lazar: *Nature*, **402** (6757), 93-96 (1999).
- 17) A. Yamamoto, Y. Hashimoto, K. Kohri, E. Ogata, S. Kato, K. Ikeda, and M. Nakanishi: *J. Cell Biol.*, **150**, 873-879 (2000).
- 18) K. Takeyama, S. Ito, A. Yamamoto, H. Tanimoto, T. Furutani, H. Kanuka, M. Miura, T. Tabata, and S. Kato: Androgen-Dependent Neurodegeneration by Polyglutamine-Expanded Androgen Receptor in *Drosophila*, *Neuron*, **35**, 855-864 (2002).
- 19) K. Takeyama, Y. Masuhiro, H. Fuse, H. Endoh, A. Murayama, S. Kitanaka, M. Suzawa, J. Yanagisawa, and S. Kato: *Mol. Cell. Biol.*, **19**, 1049-1055 (1999).
- 20) J. Yanagisawa, Y. Yanagi, Y. Masuhiro, M. Suzawa, M. Watanabe, K. Kashiwagi, T. Toriyabe, M. Kawabata, K. Miyazono, and S. Kato: *Science*, **283**, 1317-1321 (1999).
- 21) M. Watanabe, J. Yanagisawa, H. Kitagawa, K. Take-

- yama, S. Ogawa, Y. Arao, M. Suzawa, Y. Kobayashi, T. Yano, H. Yoshikawa, Y. Masuhiro, and S. Kato: *EMBO J.*, **20**, 1341–1352 (2001).
- 22) E. Spencer, G. Jenster, and M. Burcin: *Nature*, **389**, 194–198 (1997).
- 23) J. Yanagisawa, H. Kitagawa, M. Yanagida, O. Wada, S. Ogawa, M. Nakagomi, H. Oishi, Y. Yamamoto, H. Nagasawa, S. B. McMahon, M. D. Cole, L. Tora, N. Takahashi, and S. Kato: *Cell*, **9**, 553–562 (2002).
- 24) M. Brand, C. Leurent, V. Mallouh, L. Tora, and P. Schultz: *Science*, **286**, 2151–2153 (1999).
- 25) L. Nagy, Y. Kao, and D. Chakravarti: *Cell*, **89**, 373–380 (1997).
- 26) K. Takeyama, S. Kitanaka, T. Sato, M. Kobori, J. Yanagisawa, and S. Kato: *Science*, **277**, 1827–1830 (1997).
-