

《日本農芸化学会賞》

脂溶性ビタミン類の作用機構に関する研究



東京大学分子細胞生物学研究所 核内情報研究分野 教授 加藤 茂 明

食品の微量栄養素である脂溶性ビタミン A, D や、ステロイド甲状腺ホルモンなどに代表される低分子量脂溶性生理活性物質は、顕著な生物活性を示す。これら脂溶性生理活性物質は、核内に局在する核内受容体群のリガンドとなり、各々特有の生物活性を發揮する。これら核内受容体群は、DNA 結合性転写制御因子として機能することから、これら脂溶性物質の主たる作用経路は、標的遺伝子群の正負の発現制御と考えられている。これら転写因子型受容体群の転写制御は、染色体の構造調節やヒストンタンパク質 N 末端の翻訳後修飾（いわゆるエピジェネティクス制御）を伴うものと予想されている。このような制御には、複数の複合体群が必須であるが、その機能および性状の詳細の大部分は不明である（図 1）。

筆者は核内受容体リガンドである脂溶性ビタミン A, D の分子作用機構解明を目的に、これらビタミン受容体群の高次機能の解明や、受容体による転写制御を共役する因子群の同定やそれら因子のエピゲノム制御との関連について研究を進めてきた。本講演ではこれら脂溶性ビタミン受容体群とそれら共役因子群の機能について報告する。

I. 脂溶性ビタミン D 受容体の生体内高次機能の解明

脂溶性ビタミン D は、カルシウム代謝をはじめ、広範な生理作用を發揮することが古くから知られた。しかしながら、幅広い生理作用の中で、ビタミン D の作用が直接的なのか間接的なのかは長い間不明であった。そこでビタミン D の受容体 (VDR) 遺伝子破壊動物（ノックアウトマウス）を作出することで、ビタミン D のさまざまな生理作用が直接的な効果なのか間接的な効果なのかを固体レベルで解析した。その結果古典的にも最もよく知られていたビタミン D による成長維持作用が、血中ミネラルの制御を介した間接的な作用であることを決定づけ

た (*Nature Genetics*, 1997)。またこのマウスを利用することで、ビタミン D 生合成鍵酵素 (25(OH)D1 位水酸化酵素) の cDNA クローニングに成功し、同時にこの鍵酵素遺伝子の発現が、転写レベルで VDR を介し負に制御されることを見いだした (*Science*, 1997)。

II. 脂溶性ビタミン D による転写制御と染色体構造調節機構

核内ビタミン D 染色体 (VDR) による転写制御の分子機構の解明を目指し、生化学的アプローチにより、VDR の転写制御を支持する新規染色体構造調節複合体 (WINAC) を同定した (*Cell*, 2003)。WINAC は、VDR との直接相互作用により、染色体構造を変換することで、標的 DNA 配列への結合を促すことを示した。このことは、染色体上の特定 DNA 配列認識機構の一端を明らかにするものであり、転写制御・染色体構造調節研究の進展に大きく寄与した。またビタミン D 生合成鍵酵素 (25(OH)D1 位水酸化酵素) 遺伝子プロモーターを詳細に解析し、ビタミン D 依存的な染色体構造調節における WINAC の役割を明らかにした。さらに VDR を介したビタミン D による転写抑制の分子機構の一部を明らかにすることができた (図 2)。

III. DNA メチル化/脱メチル化を介したビタミン D 受容体による転写制御機構の解明

核内受容体によるリガンド依存的な転写制御は、転写活性化のみならず転写抑制が知られている。しかしながら転写活性化に比べ、転写抑制の分子機構の大部分は未解明である。そこで上述した染色体構造調節を介した 25(OH)D1 位酸化酵素遺伝子のビタミン D による転写抑制分子機構の解明に加え、さらにエピゲノムとの関連について検討した。その結果、ビタミン D によるヒストン脱アセチル化による転写抑制に加え、この遺伝

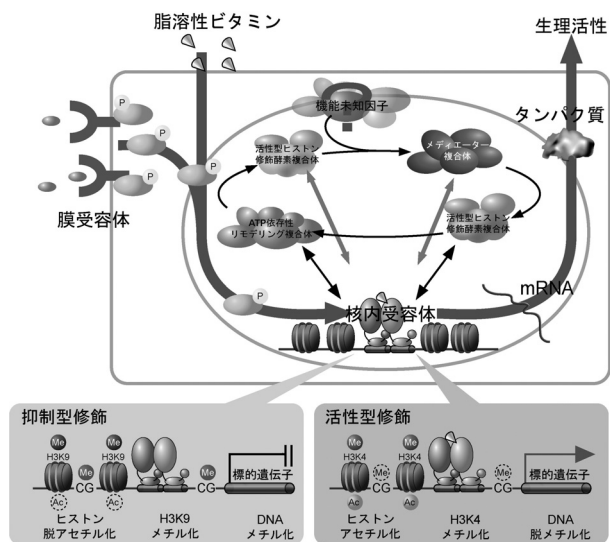
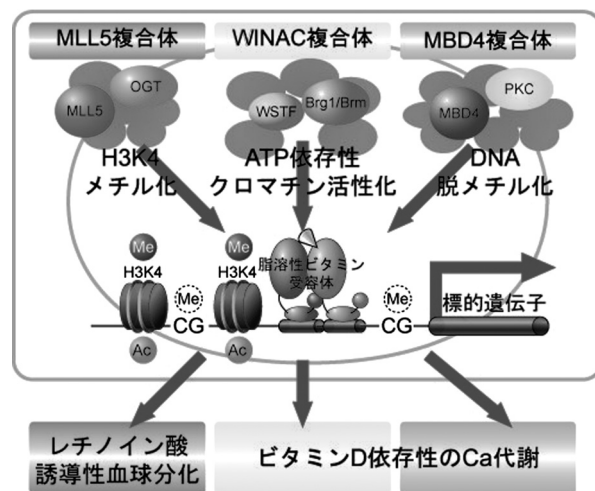


図 1 脂溶性ビタミンの作用機序



EMBO. J. 2004, 2005他

図 2 脂溶性ビタミン依存的な転写制御を担う核内複合体群

子プロモーターの CpG サイトの DNA メチル化がビタミン D により誘導されることを見いだした。またこの DNA メチル化は、DNA メチル化転移酵素がビタミン D 依存的に VDR などを複合体と会合することを生化学的に証明した。また副甲状腺ホルモン (PTH) による脱転写抑制には、DNA の脱メチル化が起こることを見いだした (*Nature*, 2009a) (図 2)。このことから、一度メチル化された DNA も、可逆的に DNA 脱メチル化が起こる機構が、動物細胞にも存在することを証明することができた。

IV. ビタミン A による細胞分子誘導を決定するエピゲノム制御因子の同定

脂溶性ビタミン A はビタミン D 同様、核内受容体を介した転写制御によるその生理作用を発揮することが知られている。特にビタミン A の活性本体であるレチノイン酸は、強力な細胞分化誘導能を有し、個体発生に必須な脂溶性ビタミンである。しかしながらレチノイン酸による強力な細胞分化誘導作用とビタミン A 受容体による転写制御との関連は謎であった (図 1 参照)。またビタミン A 受容体 (RARs) による転写制御を担う転写共役因子の性状やエピゲノム制御との関連についても未解明であった。そこでビタミン A の活性本体であるレチノイン酸をリガンドとする核内受容体 (RAR α) をプローブにすることで、相互作用する転写共役因子を生化学的に網羅的に検索した。その結果染色体を活性化するヒストン H3 の 4 番目のリジン残基へのメチル化を行うヒストンメチル化転移酵素 (HKMT) の一つである MLL5 を同定した。遺伝子の存在は知られていたが、そのタンパク質機能は不明であったが、H3K4 への HKMT 活性とともに、RAR α の転写共役活性化因子であ

ることを見いだした。さらにこの MLL5 酵素活性が 0 型の単糖 (*N*-アセチルグルコサミン; GlcNAc) 付加により活性化されることを見いだした。またこの単糖付加は、MLL5 とともに複合体を形成する単糖付加酵素 (OGT) が行うことも証明した。このようにビタミン A による細胞分化誘導作用の分子機構の一端をエピゲノム制御の観点から明らかにすることができた (*Nature*, 2009b)。このことは、ビタミン D 同様、ビタミン A が染色体構造調節を行うことを直接的に証明するものであった。以上これらの成果から、脂溶性ビタミン A, D の染色体上での遺伝子発現制御の分子機構の一端を明らかにすることができた。

本研究は、主に東京大学分子細胞生物学研究所核内情報研究分野で行われたものであり、また国内外の数多くの大学・企業研究者との間での共同研究により得られた成果である。なかでも当教室でのビタミン D による転写制御研究の開拓者であり共同研究者である武山健一准教授、北川浩史現群馬大教授、ビタミン A とエピゲノム制御因子に関する研究を行った藤木亮次助教、またダイオキシン受容体に関する研究を先導した大竹史明助教らの共同研究者に厚く感謝申し上げます。脂溶性ビタミンの分子生物学研究を始めるきっかけを賜りました東京農業大学農芸化学科の舛重正一名誉教授、ルイパスツール大学 Pierre Chambon 先生ほか、ご指導ご鞭撻いただきました数多くの本会会員の諸先生方に厚く御礼申し上げます。また最後になりましたが、これまで筆者の研究室に所属した教室員および大学院生、研究補助員の方々の献身的な努力にこの場を借りて心より御礼申し上げます。