

研究種目：特定領域研究

研究期間：2006～2010

課題番号：18077005

研究課題名（和文） 代謝環境センサーとして機能する核内受容体の分子ダイナミズム

研究課題名（英文） Dynamic regulation of metabolite-sensing nuclear receptors

研究代表者

榎島 誠 (MAKISHIMA MAKOTO)

日本大学・医学部・教授

研究者番号：70346146

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・医化学一般

キーワード：核内受容体、遺伝子、蛋白質、脂質、発現制御、代謝、ビタミン

1. 研究計画の概要

代謝環境センサーとして機能する核内受容体におけるリガンドがリガンド結合ポケットに結合した後のコファクター相互作用の変化及び標的遺伝子の転写制御に至るまでの分子内・二量体分子間のダイナミックなモーダルシフト、それらとリガンド選択的な生理作用との関連性についてはまだ十分な解明がなされていない。本研究課題では、代謝センサー型核内受容体におけるリガンド特異的な分子内・分子間モジュール相互作用（モーダルシフト）、他の化学的・物理的シグナルのモーダルシフトへの影響、他のセルセンサーとの情報統合メカニズムなどを分子生物学的・細胞生物学的実験及び動物実験によって明らかにし、生体の生存応答機構の解明を目指す。

2. 研究の進捗状況

代謝環境センサーとして機能する核内受容体のリガンド応答性の分子ダイナミズムを、核内受容体の分子内・分子間相互作用や標的遺伝子の発現、さらに他の代謝センサーとの機能連関などを解析することで検討した。

(1)核内受容体 VDR リガンドのアゴニスト/アンタゴニスト作用とコファクター蛋白質の発現及び相互作用の関連性を明らかにした。

(2)活性型ビタミン D3 (VD3) 及び胆汁酸であるリトコール酸 (LCA) の受容体として機能する VDR において、VD3 及び LCA のリガンド結合ポケットへの結合様式の解析からより VDR 活性化作用の強い LCA 誘導体を見だし、細胞及び動物における作用を比較検討したところ、リガンド選択的 VDR 機能発現の存在

を見いだした。

(3)煙草煙や加熱調理食品に含まれる BaP は、ダイオキシン受容体 AhR 活性化を介して誘導される CYP1 ファミリー酵素により代謝活性化されることで有害作用を及ぼすと考えられていたが、CYP1 ファミリー酵素による代謝により、BaP の AhR 活性化作用や DNA アダクト形成が減弱することを見いだした。また、BaP によって活性化した AhR の存在下において、VD3 によるビタミン D 代謝酵素 CYP24A1 の誘導が増強され、VD3 の不活性化が促進することを見いだした。

(4)Na⁺, K⁺-ATPase 阻害作用を有する強心ステロイド bufalin が VDR のリガンド依存性核内発現を安定化することを見いだした

(5)VDR の 1 分子内及び他の蛋白との 2 分子間のモーダルシフトを解析するために、蛍光標識蛋白の作製及び実験条件の検討を進めた。VDR とヘテロ二量体パートナーである RXR α 間の相互作用、及び VDR とコアクチベーターである SRC-1 との間の相互作用は、リガンド依存性 FRET にて検出できることを確認した。

(6)細胞の増殖やがん化に重要な働きをしている β -カテニンの転写誘導活性を、LXR α /LXR β がリガンド依存性に抑制することを見いだした。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由)核内受容体のリガンド選択的作用やアゴニスト/アンタゴニスト作用とコファクターとの関連性の研究、他の代謝センサーとの機能連関の研究は順調に進んでいる。FRET 等を利用した、分子内・分子間相互作用の解析は技術的な面で若干遅れている。

4. 今後の研究の推進方策

(1)代謝センサー型核内受容体におけるリガンド特異的な分子内・分子間モジュール相互作用：技術的に困難であった蛍光キメラ蛋白質の作成、FRET 検出系の基礎研究を十分に行い、VDR におけるリガンド選択的応答機構、合成リガンドを利用した受容体の構造変化、そして他の代謝センサー型核内受容体の分子活性化機構などの解析を進める。

(2)他のセルセンサーとの情報統合：核内受容体の膜シグナルやリン酸化シグナルとの相互作用、ダイオキシン受容体など他の代謝センサーとの情報統合の分子機構を解析する。

(3)代謝のモーダルシフト：核内受容体活性の結果生じる代謝産物（特にリガンド）他のセルセンサー蛋白質の解析を細胞レベル、動物レベルで行う。

5. 代表的な研究成果

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 40 件）

①Matsunawa M, Amano Y, Endo K, Uno S, Sakaki T, Yamada S, Makishima M. The aryl hydrocarbon receptor activator benzo[a]pyrene enhances vitamin D3 catabolism in macrophages. Toxicol Sci, in press 査読有

②Amano Y, Cho Y, Matsunawa M, Komiyama K, Makishima M. Increased nuclear expression and transactivation of vitamin D receptor by the cardiostonic steroid bufalin in human myeloid leukemia cells. J Steroid Biochem Mol Biol 114: 144-151, 2009 査読有

③Uno S, Endo K, Jeong Y, Kawana K, Miyachi H, Hashimoto Y, Makishima M. Suppression of beta-catenin signaling by liver X receptor ligands. Biochem Pharmacol 77: 186-195, 2009 査読有

④Ishizawa M, Matsunawa M, Adachi R, Uno S, Ikeda K, Masuno H, Shimizu M, Iwasaki K, Yamada S, Makishima M. Lithocholic acid derivatives act as selective vitamin D receptor modulators without inducing hypercalcemia. J Lipid Res 49: 763-772, 2008 査読有

⑤ Inaba Y, Yamamoto K, Yoshimoto N, Matsunawa M, Uno S, Yamada S, Makishima M. Vitamin D3 derivatives with adamantane or lactone ring side chains are cell type-selective vitamin D receptor modulators. Mol Pharmacol 71: 1298-1311, 2007 査読有

〔学会発表〕（計 57 件）

〔図書〕（計 1 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 2 件）

名称：作用選択的ビタミンD受容体作用剤
発明者：榎島誠、石澤通康、松縄学、山田幸子

権利者：学校法人日本大学

種類：PCT 国際出願

番号：PCT/JP2008/050027

出願年月日：2008年1月7日

国内外の別：国外

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ

<http://www.med.nihon-u.ac.jp/~biochem/>