

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 山岡 一良

ビタミン D は、核内受容体のひとつであるビタミン D 受容体 (VDR) に結合し、標的遺伝子の転写を介して多岐にわたる組織において多彩な生理作用を発揮する。VDR の転写調節に関しては転写共役因子複合体群によるクロマチン構造変化による制御が明らかにされているが、これら複合体群が標的組織ごとに多様な作用を発揮するメカニズムの詳細は未解明の部分が多い。

本研究は、ビタミン D の作用に組織特異性をもたらす VDR の転写制御機構について、新たなビタミン D の標的組織の検索、VDR と転写共役因子複合体間の細胞種や細胞環境ごとの相互作用変化、VDR の転写機能に関与しうる相互作用因子の多様性、の 3 点から解明を試みている。

序論に続き、第二章では、ビタミン D の標的組織および組織固有の標的遺伝子に注目し、これまでに知られるカルシウム代謝調節に関わる組織や、細胞の増殖抑制・分化誘導作用の標的となる組織とは異なる新たな標的組織の検索を行った。その結果、標的遺伝子として呼吸器特異的に発現・機能する分子 HAST (Human airway trypsin-like protease) を同定した。さらにこの遺伝子のビタミン D に対する応答性についての検討から、呼吸器特異的遺伝子の発現亢進作用におけるビタミン D、もしくは VDR による細胞種特異的な発現制御機構の存在可能性を示した。さらに HAST 遺伝子の発現が、ビタミン D あるいは VDR の組織特異的な選択的作用の指標となることを明らかにした。

第三章では、合成抗ビタミン D リガンド TEI-9647 を用いて細胞種特異的および細胞環境特異的な VDR の転写活性化調節能について主に VDR レポーターアッセイを行い、TEI-9647 が組織選択的な VDR リガンドである可能性を検討している。その結果、TEI-9647 はげっ歯類由来の細胞ではアゴニスト、ヒト由来の細胞ではアンタゴニストとして作用すること、そしてこの作用の違いは VDR 分子の種差によるものであることを示した。また、ヒト由来の細胞において血清欠乏条件下での培養により TEI-9647 の特性がアンタゴニストからアゴニストへと変化すること、そしてこの変化は培養血清中に含まれるタンパク質性因子に起因すること、および mammalian two-hybrid システムを用いた VDR とコアクチベーターとの相互作用に関する作用機序の検討から TEI-9647 の特性変換はコアクチベーターのリクルートの変化によってもたらされることを示し、血清中に含まれる未知の液性因子による細胞内シグナルとビタミン D シグナルとのクロストークの存在を明らかにした。これは培養血清中に含まれるある因子の組織レベルに応じて、動物個体中の各組織において VDR による転写制御機構が何らかの修飾を受け、細胞環境に応じた転写調節がなされている可能性、ならびに選択的エストロゲン受容体調節剤に限らず、核内受容体は合成リガンドによる立体構造変化を介して組織選択性を付与しうることを示すものである。

第四章では、転写共役因子に対する VDR の認識特異性を分子生物学的に解析し、VDR

の転写機能を担う共役活性化因子複合体群の多様性を検討している。その結果、既知の 2 種のクラスのコアクチベーター複合体とそれぞれ相互作用不可能となるような VDR 変異体を作成することに成功した。これら変異体は既知複合体における相互作用因子との結合能を選択的に消失しているにもかかわらず、リガンド誘導性の転写活性化能を保持していた。これらの知見は、多様な未知のコアクチベーター複合体の存在を示唆するものであり、かつ組織特異的なコアクチベーター複合体群の使い分けを示唆するものであった。

本論文は、組織特異的な VDR の転写制御機構に関して、新規標的遺伝子および組織の同定、新たな細胞内シグナルとのクロストーク機構の存在、さらに多様な共役因子複合体群との相互作用の重要性を明らかにしたものであり、これらの知見は今後ビタミン D の多様な生理作用発現機序の解明のみならず、病態の解明や薬剤の開発にも貢献するものと期待される。よって審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。