

公募助成「腎不全病態研究助成」研究サマリー

研 究 名	副甲状腺機能の抑制の細胞内分子機構と、腎不全によるその破綻
所 属 機 関	公立大学法人横浜市立大学・生命医科学研究科
氏 名	片岡 浩介
<p>副甲状腺の機能 (parathyroid hormone PTH の産生と分泌) は、生理的にはビタミンDやカルシウムにより抑制されるが、慢性腎疾患における副甲状腺機能亢進 (secondary hyperparathyroidism: SHPT) においては、この抑制がかからない。本研究では、副甲状腺の機能抑制の分子機構を理解するため、PTH 遺伝子発現の調節機構に注目して、ビタミンDおよびカルシウムによる抑制の仕組みの解明を試みた。</p> <p>非副甲状腺細胞 BHK21 (ハムスター繊維芽細胞) に PTH 遺伝子の発現制御に関わる転写因子 Gata3, Gcm2, MafB を共発現させることによって、PTH 遺伝子エンハンサー・プロモーター活性を活性化できることをすでに報告していた。そして、この実験系を副甲状腺の機能を十分に保持した培養細胞系の代替とし、ビタミンD受容体 VDR-RXRα の共発現下でビタミンDの濃度依存的に、PTH 遺伝子エンハンサー・プロモーター活性が抑制されることを Luciferase assay を用いて示した。</p> <p>PTH 遺伝子のプロモーター上には、VDR 結合配列 VDRE (vitamin D responsive element) および nVDRE (negative VDRE) が同定・報告されているが、これらの配列はビタミンD/VDR-RXRα による転写抑制には必要ではなかった。また、MafB-Gcm2 の結合する遠位エンハンサー領域と Gata3 が転写因子 SP1 を介して結合するプロモーター近位の領域だけで転写抑制には十分であった。そこで、VDR-RXRα と、Gata3, Gcm2, MafB, SP1 の相互作用を検討したところ、VDR が SP1 と特異的に結合することが分かった。また、VDR は SP1 と結合することによって、SP1 をタンパク質レベルで減少させることも明らかにした。</p> <p>一方、同じ実験系を用いることによって、カルシウム感知受容体 (CaSR) 共発現下でのカルシウム添加により、PTH 遺伝子エンハンサー・プロモーター活性が抑制されることを示した。また、カルシウム感知受容体 (CaSR) の恒常活性型変異体 (A843E) の共発現下ではカルシウムに依存せずに抑制がみられた。この系においても分子機構の探索を行い、CaSR のシグナルによって転写因子 MafB の発現量が減少することを見出した。</p> <p>以上のことから、ビタミンDとカルシウムはそれぞれ異なる転写調節因子を標的とすることで PTH 遺伝子の発現を抑制することが明らかになった。今後は治療標的分子の特定に向けて、VDR による SP1 の発現低下の分子機構と、CaSR 下流で MafB が発現低下する分子機構 (シグナル伝達系の特定やユビキチン・リガーゼの同定など) を探索する必要がある。</p>	