

学位研究紹介

**EstrogenとSERMはEREを介さずにERサブタイプおよび細胞種特異的にヒトc-fos遺伝子プロモーターを活性化する。
Estrogen and Selective Estrogen Receptor Modulators Activate the Human C-fos Gene Promoter via Mechanism Independent of Estrogen Responsive Element in Estrogen Receptor Subtype- and Cell Type-Specific Manners.**

新潟大学歯学部歯科矯正科講座
山岸敏男

Department of Orthodontics,
Niigata University Faculty of dentistry
Toshio Yamagishi

【目的】 c-fos遺伝子は多くの細胞で分化：増殖などの重要な役割を担う前ガン原性遺伝子である。一方，estrogenは，その標的とする組織や細胞においてc-fos遺伝子の発現を調節することが知られている。Estrogenは主に核内受容体であるestrogen receptor (ER) の2つのサブタイプ (ER α , ER β) を介して作用を発揮するが，前述の作用がどのサブタイプを介するのかわからない。そこで今回，モデル系としてestrogenの重要な標的細胞の1つであり，両サブタイプを発現することが知られている骨芽細胞に着目して，estrogenおよびselective estrogen receptor modulator (SERM) の各ERを介してc-fos遺伝子promoter活性に及ぼす影響をreporter assayによって検討した。

【材料と方法】 35mmディッシュにMC3T3-E1と線維芽細胞NIH3T3をそれぞれ 5×10^4 , 1×10^5 cells/dishの濃度で播種した。翌日これら各ディッシュの細胞に対してER α 発現plasmid (pSG5/ER α) あるいは，ER β 発現plasmid (pSG5/ER β) をそれぞれ $2 \mu\text{g}$ とluciferase遺伝子上流にc-fos遺伝子promoter (約0.4kbp) を組み込んだreporter plasmidであるpfluc2 ($0.5 \mu\text{g}$) をco-transfectした。また，transfection効率補正用に β -gal遺伝子発現plasmidであるpSV/ β -gal ($0.3 \mu\text{g}$) も同時にtransfectした。Transfection開始から30時間後，これらの細胞に17 α -estradiol (α -E2), 17 β -estradiol (β -E2),

tamoxifen (Tam) およびraloxifene (Ral) を最終濃度 10^{-8}M になるように加えて18時間培養した。その後，細胞を回収し，抽出液のluciferase活性を測定した。

【結果・考察】 ER α を過剰発現させたMC3T3-E1において， β -E2, α -E2, Tam, Ralはいずれもluciferase活性を上昇させた。ER β を過剰発現させた同細胞においては，luciferase活性はTamにより6倍上昇したが， β -E2, α -E2では有為な変化を示さなかった。また，pure antagonistであるICI164,384は，ER β を過剰発現させたMC3T3-E1にのみ有為な作用を示し，luciferase活性を上昇させた。一方，各ERを過剰発現させた線維芽細胞NIH3T3に α -E2, β -E2, Tamを作用させた場合はluciferase活性はいずれもわずかに増加したのみであった。さらにc-fos遺伝子promoterの5'側の配列を欠落させたreporter plasmidを3種類作製し，ER β 発現plasmidと共にMC3T3-E1にco-transfectしてTamの影響を調べた結果，-404~-207の領域にEREとは異なるestrogen応答性cis因子が少なくとも2か所存在することが示唆された。

以上の結果より骨芽細胞において，estrogenやSERMsはc-fos遺伝子の転写をEREを介さない機構により調節し得ることが示唆され，その制御はER α を介する系とER β を介する系で異なることが明らかとなった。また，線維芽細胞では骨芽細胞とは異なりERsを介する転写活性の著明な上昇ならびにそのサブタイプによる差が認められなかったことからこの作用には細胞特異性があることが示された。

ERやSERMsは，EREを介して転写調節を行い，estrogen作用あるいはantiestrogen作用を発揮すると考えられてきた。しかし今回EREを介さない転写機構において，SERMsがestrogen同様agonisticに作用したり，従来どのような組織においてもpure antagonistとして働くと考えられていたICI164,384がやはりagonistとして作用することが骨芽細胞で観察された。このように本研究で明らかにされた現象は従来知見と全く異なるものであり，この機構が，SERMsの骨特異的作用を説明するカギとなるかも知れない。また，estrogenは細胞周期の調節にも関与することが知られているが，その過程にも本研究で明らかにされた転写制御機構が関わっている可能性がある。このように，本研究は核内受容体を介する転写機構の詳細を明らかにし，細胞周期や増殖など細胞機能の調節に関する新しい情報を提供するのみならず，細胞特異的な転写調節機序を明らかにする上でもきわめて有用な実験系を構築し得たという点で意義深いものと考えられる。