

最近のトピックス

エストロジェンの骨作用： 細胞特異性と受容体サブタイプ Topics on estrogen action in bone: cell specific action and localization of receptor subtypes

新潟大学歯学部歯科薬理学講座

川島博行

Hiroyuki Kawashima

Department of Pharmacology

Niigata University School of Dentistry

はじめに

超高齢化社会を快適なものにするためには、高齢者のQOLが満足できるレベルに維持されなければならない。そのためには、健康管理に関する個々人の普段の努力が必要であるが、医学的に解決されるべき問題も多い。そのひとつとして加齢にともなう骨量の減少と骨折頻度の増大があげられる。閉経によるエストロゲン(E)欠乏後30年以上生き続けることになる女性にとっては特に重大な問題である。その意味でE補充療法は理想的であると思われたが、乳癌や子宮頸癌の増加や不正(?)出血など好ましくない効果が問題となっている。この点を解決するポテンシャルを持つ薬物として、いわゆる組織特異的E受容体モジュレーター(selective estrogen receptor modulator, SERM)が注目されている。これらのうちのあるものは、限られた標的臓器にしか作用しない。たとえば、Raloxifeneは乳腺や子宮に対して単独では効果を示さずにEに作用に拮抗する、すなわち、アンタゴニストとして働くのに対して、骨や脂質代謝に関しては、Eと同様に働く、すなわち、アゴニストとして作用する^{1,2)}。このような化合物が存在することは、E自身の作用にも組織に応じて特異的作用機構が存在する可能性を示唆する。Eをめぐる最近の話題には、①男性の骨代謝もEに依存すること³⁾、②Eの受容体サブタイプが見出されたこと⁴⁾、その結果、Eの機能には、従来見出されていた受容体(ER α)を介して作用するものと、新しいERサブタイプ(ER β)を介して発現するものがあるらしいこと⁵⁾、③男性の生殖機能にもEが必要であること^{3, 6)}、などがある。本稿では、骨におけるEの作用について、ERサブタイプの分布および作用の特異性に関する最近の進歩を解説する。

(1) 骨組織内のERサブタイプの分布と機能

骨組織を構成する細胞のうち、従来ER α (最近まで唯一のERと考えられていた)の発現が確認されていたのは、骨芽細胞のみであった。in situ hybridization (ISH)法による検討ではER α が検出されとするデータと検出できないとするデータが相半ばし、最近のRT-PCR法によっても検出できないという報告もある⁷⁾。一方、ウサギ由来の成熟破骨細胞を用いたpit assay法によれば、17 β -estradiol (17 β -E₂)は骨吸収活性を抑制するという⁸⁾。そこでわれわれは、より定量性の高いcompetitive RT-PCR法を用いてウサギおよびラットの単離破骨細胞のER α 遺伝子の発現を調べた。その結果、破骨細胞にはER α が骨芽細胞と同程度存在することが明らかとなった⁹⁾。しかし、ER β を検出することはできなかった。さらにラットの長管骨から単離した骨芽細胞、骨細胞についても同様に検討した結果、ER α は骨芽細胞と骨細胞にほぼ同レベル発現していたが、ER α の発現は骨芽細胞で最も高く、骨芽細胞から骨細胞への移行期にあると考えられる前骨細胞ともいうべき細胞ではやや減少し、若い骨細胞(young osteocytes)では1/10以下に減少した⁹⁾。この現象が骨芽細胞の分化にともなうものであるか否かを確認するため、マウス頭蓋冠由来の骨芽細胞様細胞株MC3T3-E1細胞を用いて検討したところ、骨芽細胞が成熟するに従ってER β の発現が上昇し、骨細胞が大部分を占める培養後期には著明に低下することが確認された⁹⁾。従って、ER β は、骨芽細胞が成熟するにともなって増加し、骨形成機能を失って骨細胞へと移行するとともに消失すると考えられる。

骨芽細胞に対するEの作用に関してそれぞれのERサブタイプの寄与を調べるために、骨芽細胞にER α またはER β を強制発現し、17 β -E₂に応答する転写活性を調べた。驚いたことに、ラット由来の骨芽細胞様細胞株、ROS17/2.8およびIRC 10/30 myc1では、ER β を介する転写活性がはるかに強く現れた。これに対して、サル腎臓由来のCOS1細胞やラット子宮内膜細胞由来のRENE1細胞ではER α を介する活性の方が強く現れた⁹⁾。以上のことから、骨芽細胞に対するEの作用とくに骨形成作用は、ER β を介して発現している可能性が考えられる。

(2) エストロジェンの骨芽細胞特異的作用

骨芽細胞特異的なE作用について検討するために我々は、ラットオステオカルシン遺伝子の転写調節領域に存在するシスエレメントOSE2とE応答配列EREとを直列につないだレポーター遺伝子を構築し、ER α と共発現したin vitro転写活性測定系を用いて骨芽細胞とそ

れ以外の細胞とで比較した。その結果、骨芽細胞様細胞株 MC3T3E1, ROS17/2.8, MG63のいずれにおいても 17β -E2による転写活性の上昇は OSE2が共存することにより著明に亢進した(相乗効果)¹⁰⁾。この効果は、OSE2に変異を導入すると失われることから、OSE2に特異的な効果であることがわかる。一方、乳腺細胞由来の MCF7や子宮由来の HeLa 細胞、骨芽細胞や筋肉細胞に分化し得る多分化能を持つ C3H10T1/2細胞では、上記のような相乗効果は認められなかった¹⁰⁾。シスエレメント OSE2には骨芽細胞中に存在するタンパク因子が結合することが知られていた¹¹⁾が、最近このものが転写因子 Cbfa1であることが明らかにされた^{12, 13)}。そこで、MCF7細胞、HeLa 細胞、C3H10T1/2細胞にそれぞれ Cbfa1を強制発現したところ、骨芽細胞で認められた相乗効果が再現された¹⁰⁾。このことから、Cbfa1は E の $ER\alpha$ を介する作用を著明に刺激することが明らかになった。この効果が in vivo でどのような意義を持つかについては今のところ明らかではないが、E の効果の骨芽細胞特異性を担う機構の一つとして機能する可能性は十分考えられる。

(3) ドミナントネガティブ受容体サブタイプの発見

ラット $ER\beta$ のクローニングの過程で、われわれは、 $ER\beta$ のリガンド結合領域に18アミノ酸残基の配列が挿入された新規の受容体 $ER\beta_2$ を単離した¹⁴⁾。このものは、上記配列の挿入以外は $ER\beta$ ($ER\beta_1$ と再命名;上記(2), (3)で述べた $ER\beta$ はすべて $ER\beta_1$ に相当する)と全く同じ配列を有する。配列挿入部分から予想されるように $ER\beta_2$ は E 結合能を欠いていることが確認された。その結果として、 $ER\beta_2$ のみを発現した細胞では E による転写活性化が認められなかった。意外なことに、 $ER\beta_2$ はそれ自身転写活性を持たないが、 $ER\beta_1$ あるいは $ER\alpha$ を介する転写活性亢進を抑制することが明らかになった¹⁴⁾。さらに gel shift assay により DNA 結合能を調べた結果、 $ER\beta_2$ は特異的に ERE に結合し得ることが判明した¹⁴⁾。 $ER\beta_2$ が $ER\alpha$ あるいは $ER\alpha$ を介する E の転写活性を抑制する機序は今のところ不明であるが、①他のサブタイプとヘテロダイマーを形成することで活性型のホモダイマーあるいはヘテロダイマーの形成を阻害(競合阻害)することにより転写活性を抑制する、②ERE をめぐって活性型のホモダイマーあるいはヘテロダイマーと拮抗することにより転写活性を抑制する、③他の転写補助因子との結合に関して活性型サブタイプと競合する、などが考えられる。 $ER\beta_2$ は調べた限り全ての臓器に大なり小なり発現しており¹⁴⁾、in vivo においても $ER\alpha$ および $ER\beta_1$ を介する E の作用を調節している可能性がある。

また、最近ヒトにおいてもドミナントネガティブ受容体として作用するサブタイプ $ER\beta_{cx}$ がクローニングされており、このものも E 結合能をもたないことが確認されている¹⁵⁾。

これらのサブタイプの発現レベルがどのように制御されているかについても興味を持たれる。

おわりに

以上述べたように骨芽細胞に特異的な E 作用の発現制御には、①細胞特異的な転写因子の存在、や、②ドミナントネガティブ型を含む ER サブタイプの発現の消長、等がかかわっているものと考えられる。さらに、核内受容体 $PPAR\gamma$ の転写補助因子で、脂肪細胞にのみ存在することが最近明らかにされた PGC1に相当する因子が、骨芽細胞特異的な因子として存在する可能性もある。研究の更なる発展に期待したい。

参考文献

1. Black LJ, et. al. J. Clin. Invest. 93: 63-69, 1994.
2. Delmas PD, et. al. New Engl. J. Med. 337: 1641-1647, 1997.
3. Korach KS, et. al. Recent Prog. Horm. Res. 51: 159-188, 1996.
4. Kuiper GGJM, et. al. Natl. Acad. Sci. 93: 5925-5930, 1996.
5. Iafrati MD, et. al. Nature Medicine 3: 545-548, 1997.
6. Hess WA, et. al. Nature 390: 509-512, 1997.
7. Collier FM, et. al. Endocrinology 139: 1258-1267, 1998.
8. Mano H, et. al. Biochem. Biophys. Res. Commun. 223: 637-642, 1996.
9. Kobori M, et. al. Bone 23 (suppl): S423, 1998.
10. Sasaki-Iwaoka H, et. al. J. Bone Miner. Res. in press.
11. Geoffroy V, et. al. J. Biol. Chem. 270: 30973-30979, 1995.
12. Ducy P, et. al. Cell 89: 747-754, 1997.
13. Komori T, et. al. Cell 89: 755-764, 1997.
14. Maruyama K, et. al. Biochem. Biophys. Res. Commun. 246: 142-147, 1998.
15. Ogawa S, et. al. Nucleic Acids Res. 26: 3502-3512, 1998.