

初代培養骨芽細胞におけるビタミンDのアロマターゼ活性修飾作用機構の分子生物学的解明

後藤 公宣

九州大学医学部第三内科

我々は、一次培養ヒト骨芽細胞において、デキサメサゾン (DEX) と活性型 Vitamin D (VD3) がアロマターゼ (P450AROM) 活性に対して相乗的誘導効果を及ぼすことを既に報告した。骨芽細胞では DEX 単独による P450AROM 活性の誘導は 24 時間をピークとして以後基礎値まで低下するが、VD3 の同時添加によりその発現が高値に維持されるという特徴をもつ。今回、繊維芽細胞では、骨芽細胞とは対照的に DEX 単独による P450AROM の誘導は 48 時間まで直線的に増加し、VD3 同時添加により、さらに数倍の上昇が観察されることが明らかとなった。

両細胞における相乗的誘導が、P450AROM 遺伝子の転写段階で発揮されるものかどうかを検討する目的で、まず骨芽細胞、皮膚線維芽細胞で組織特異的に使用されるエクソン Ib 上流域の -1100 塩基までの塩基配列を決定した。ホモロジーサーチの結果、この 1.1kb には典型的なビタミン D 応答領域 (VDRE) は存在しなかった。-1100 塩基までの deletion mutant を作製、luciferase 遺伝子に結合し、一次培養ヒト骨芽細胞、皮膚線維芽細胞にトランスフェクトした後、DEX と VD3 を培地に添加し 48 時間後に Reporter Assay を施行したところ、両細胞とも DEX にて luciferase 活性は著明に誘導を受けたが、VD3 の相乗的転写誘導効果は、両細胞とも 1 から 1.5 倍程度の弱いものであった。DEX 単独もしくは VD3 同時添加による P450AROM 活性の変化は、両細胞ともに RT-PCR で観察した P450AROM の mRNA レベルとよく相関した。

以上の実験結果より、VD3 添加が P450AROM の mRNA の安定性に関与している可能性がある。同じエクソン Ib プロモーターを使用するにもかかわらず、組織特異的に発現様式が異なることは興味深い。

参考文献

1. 松永静, 後藤公宣他, ヒト初代培養線維芽細胞における活性型ビタミンDとデキサメサゾンによるアロマターゼ遺伝子の相乗的転写誘導 日本臨床代謝学会記録 35:72, 1998.