



【本発表に関すること】

担当：情報研究係垣内 電話：0766-56-7500（内線）1229

【本件に関すること】

担当：医薬品工学科 教授 榊 利之

電話：0766-56-7500（内線）1913

電子メール：tsakaki@pu-toyama.ac.jp

令和2年3月30日

ゲノム編集で作製した遺伝子改変ラットを使ってビタミンDの 多様な作用を解明 ～骨粗鬆症や癌の治療薬の開発につながる～

富山県立大学工学部医薬品工学科の榊 利之教授の研究グループは、骨形成、皮膚・毛の形成、免疫、癌細胞の増殖抑制など活性型ビタミン D が示す多様な作用の分子メカニズムを解明するために、ゲノム編集により 3 種の遺伝子改変ラットを作製し、それらの成長速度、骨、皮膚、毛や血中カルシウム、リン、ビタミン D 代謝物などの濃度などを比較した結果、骨粗鬆症、乾癬、癌などの治療薬を開発する上でこれら 3 種のラットがきわめて有用な評価系であることがわかりました。本研究成果は、2020 年 3 月 30 日に英国科学誌「Scientific Reports」でオンライン公開される予定です。

1. 研究成果のポイントについて

- ・ゲノム編集法により世界初の 3 種の遺伝子改変ラットの作製に成功した。
- ・「活性型ビタミン D はビタミン D に水酸基が 2 つ付加されたもので、1 つ付加されたものはその前駆体であり、生理的に意味があるのは前者のみである」という従来の概念（現在のすべての教科書に記載）を覆した。
- ・野生型と 3 種の遺伝子改変を加えた計 4 種のラットの性状比較により、ビタミン D の多様な生理作用の分子メカニズムの一端を解明した。副作用の少ない骨粗鬆症、乾癬、癌などの治療薬の開発につながる。

2. 研究の背景と経緯について

超高齢化社会の到来とともに、骨粗鬆症、癌、認知症などの患者が増加し社会問題になっている。近年、それらの疾患に対するビタミン D の生理作用が注目されている。ビタミン D は骨形成・骨代謝や血中カルシウム濃度調節に重要な役割を果たしているが、それだけでなく、細胞の増殖・分化、免疫など多くの生体機能に関わっている。ビタミン D の作用機序について教科書には次のように記述されている。食物から摂取した、あるいは皮膚でつくられたビタミン D は、肝臓で 25 位水酸化体 (25D) に変換され、腎臓で 1 位が水酸化され、活性型ビタミン D (1, 25D) が生じる。活性型ビタミン D は血流に乗って全身を駆け巡り、小腸、腎臓、骨などビタミン D 受容体 (VDR) が発現している臓器において VDR に結合して作用する。しかし、これだけでは説明がつかないことが数多

くある。今回、ゲノム編集を用いて作製した遺伝子改変ラットを用いることにより、多岐にわたるビタミンD作用の分子メカニズムの全貌を明らかにできる可能性がある。

ビタミンD誘導体(ビタミンDに種々の化学修飾を施したもの)の中には骨形成作用、抗炎症作用、細胞増殖抑制作用、抗癌作用などを示すものが数多くあり、現在、いくつかのビタミンD誘導体が骨粗鬆症や乾癬の治療薬として用いられている。また、癌治療への応用が期待されるビタミンD誘導体がいくつか報告されているが、血中カルシウム上昇作用などの副作用の問題を解決するまでには至っていない。ビタミンD作用の解明により、副作用の少ない抗癌剤や乾癬治療薬の開発が可能になると考えられる。

3. 研究内容について

マウスよりもはるかに身体が大きいラット(体重は約10倍)は外科手術が容易であり、天然型ビタミンD、ビタミンD誘導体とその代謝物他、種々の生体物質の血中濃度の経時変化を容易に測定できる。今回、3種の遺伝子改変ラット①ビタミンD水酸化酵素CYP27B1^{注1}遺伝子欠損(ノックアウト(KO))ラット、②ビタミンD受容体(VDR)の270番目のアミノ酸アルギニンがロイシンに変化した変異型VDR(R270L)遺伝子を持つラット、③VDR遺伝子欠損(KO)ラットを作製した。これらのラットは、いずれも発育遅延および骨形成異常を含む「くる病」^{注2}症状を示した。これらのうち、CYP27B1 KOラットは血中Ca濃度が顕著に低く、重度の発育遅延を示し、VDR KOラットは皮膚の異常と脱毛を示した。野生型(WT)ラットとVDR(R270L)ラットの差は、25位と1位に水酸基が付加された「活性型ビタミンD」(1,25D)のVDR依存性作用に基づくと考えられる(表1、表2-1)。また、VDR(R270L)よりもCYP27B1 KOの方がくる病症状が顕著で、これは血中カルシウム濃度維持に対する活性型ビタミンDのVDR非依存性作用の喪失に基づくと考えられる(表1、表2-2)。さらに、VDR(R270L)ラットとVDR KOラットの比較から、皮膚および毛包形成に対する25位水酸化ビタミンD(25D)のVDR依存性作用またはVDRのリガンド非依存性作用の存在が明らかになった(表1、表2-3)。

また、VDR(R270L)ラットに25位水酸化ビタミンD(25D)を投与したところ、骨形成の正常化など「くる病」症状は完全に回復した。この結果は「前駆体」とされ生理的に意味がないとされている25Dにも生理作用があり、この変異に相当するヒトの「くる病」患者に「前駆体」投与が有効であることを示唆している。

野生型を加えた4種のラットの性状比較により、1,25Dと25Dの作用にビタミンD受容体を介した作用と介さない作用があることが明確になった(表1)。これらの結果は、栄養素としてビタミンDがきわめて重要であることを示しているが、多岐にわたるビタミンD作用の分子レベルでの解明が副作用の少ない骨粗鬆症、乾癬、癌などの治

注1 ビタミンDの1位に水酸基を導入する酵素でシトクロムP450スーパーファミリーに属す

注2 CYP27B1の変異に基づく1型くる病とVDRの変異に基づく2型くる病があり、いずれも骨形成異常を示す。ラットVDR(R270L)はヒト2型くる病VDR(R274L)に相当し、骨形成異常に加えて脱毛症状を示す。

療薬を開発につながることを示唆している。

表 1 各種ラットにおける各種作用の有無 (○×)

	VDR 依存性 1,25D	VDR 非依存性 1,25D	VDR 依存性 25D	VDR 非依存性 25D	VDR リガンド無
WT	○	○	○	○	○
VDR(R270L)	X	○	○	○	○
CYP27B1 KO	X	X	○	○	○
VDR KO	X	○	X	○	X

表 2 各種ラット間 (A と B) 比較から解明される 1,25D および 25D の作用

	A	B	作用の主体と VDR の関与 (表 1)	作用
1	WT	VDR(R270L)	VDR 依存性 1,25D3	血中 Ca, 骨形成
2	VDR(R270L)	CYP27B1 KO	VDR 非依存性 1,25D3	血中 Ca, 骨形成
3	VDR(R270L)	VDR-KO	VDR 依存性 25D or VDR (リガンド無)	皮膚、毛包形成、

本研究は、文部科学省科学研究費補助金の支援を受けて実施しています。

4. 今後の展開について

本研究により、多岐にわたるビタミン D 作用の分子レベルで解明することは、副作用の少ない骨粗鬆症、乾癬、癌などの治療薬(ビタミン D 誘導体)を開発につながる。現在、乾癬に対して強い作用を示すビタミン D 誘導体および抗癌作用の強いビタミン D 誘導体をそれぞれ複数種有しており、治療薬への応用を目指す。

5. 論文の掲載について

- ・公開日:2020年3月30日(午前10時 英国時間)
- ・雑誌名:英国科学誌 Scientific Reports(サイエンティフィックレポート)
- ・論文名:**Generation of novel genetically modified rats to reveal the molecular mechanisms of vitamin D actions**
(和文タイトル: ゲノム編集により作製した遺伝子改変ラットを用いたビタミン D 作用の分子メカニズムの解明)

・論文情報

著者:西川美宇¹、安田佳織²、高松将士¹、阿部圭佑¹、岡本海利²、堀部恭平²、真野寛生²、中川公恵³、津川尚子⁴、廣田佳久⁵、堀江哲弘⁶、檜井栄一^{6,7}、岡野登志夫³、生城真一¹、榊利之²

所属:¹富山県立大学工学部生物工学科機能性食品工学講座

²富山県立大学工学部医薬品工学科バイオ医薬品工学講座

³神戸薬科大学衛生科学科

⁴大阪樟蔭女子大学健康栄養学部健康栄養学科

⁵芝浦工科大学システム理工学部生命科学科

⁶岐阜薬科大学 機能分子学大講座 薬理学研究室

⁷ 岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科

6. その他

本研究内容に関する問い合わせ先は以下の通りです。メールまたは電話でご連絡下さい。

富山県立大学工学部医薬品工学科 教授 榑 利之(サカキ トシユキ)
〒939-0398 富山県射水市黒河 5180
TEL:0766-56-7500(内線 1913)
E-mail:tsakaki@pu-toyama.ac.jp