

ビタミンD受容体レスポンスエレメントの効率的探索法 An Efficient Approach for Seeking Vitamin D Receptor Response Elements

松前ひろみ[†] 福岡豊[‡] 稲岡秀検[§] 菊池浩明[†] 山本恵子[§] 増田 正[‡]

Hiromi Matsumae, Yutaka Fukuoka, Hidenori Inaoka, Hiroaki Kikuchi, Keiko Yamamoto, Tadashi Masuda

1 はじめに

近年の研究によりビタミンDは標的遺伝子の発現調節を通じて生体内でさまざまな調節に関わっていることが分かっている。ビタミンDは細胞の核内においてビタミンDと特異的に結合するビタミンD受容体(VDR)と結合する。VDRはDNA上のビタミンDレスポンスエレメント(VDRE)と結合し標的遺伝子の転写活性を調節する。このVDRの異常により、遺伝性くる病などが起きることが分かっている。しかしビタミンDの標的遺伝子は少数しか知られていない。現在VDREのコンセンサス配列を用いて標的遺伝子を探索する試みがあるが、候補遺伝子が多く検出され、生物学的検証は困難であるという問題がある。そこで本研究では、配列以外の情報も用いてより可能性の高い少数のVDRE候補を抽出することを目的とする。

2 VDREについて

VDREのコンセンサス配列は、上流配列と下流配列の間に任意の3塩基(以下本稿ではxxxと表すことにする)挟んでいるDirectRepeat-3(DR3)、すなわちAGGTCAxxxAGGTCAである。DR3のほかにInverted Parindrome(IP)が知られている。IPは上流域の配列は相補を取ったうえで逆さから読むように変換した形で、下流はそのままの配列のことを言う。上記コンセンサス配列をIPに変換すると、TGACCTxxxAGGTCAとなる。

表1. 既知のVDREの塩基配列[1]

遺伝子	生物種	上流	挿入	下流	タイプ
Osteopontin	マウス	GGTTCA	cga	GGTTCA	DR3
	チンパンジー	GGGTCA	tat	GGTTCA	DR3
Osteocalcin	ヒト	GGGTGA	acg	GGGGCA	DR3
		GGGTGA	ctcacc	GGGTGA	DR6
	ラット	GGGTGA	atg	AGGACA	DR3
		TGCACT	gggtgaatg	AGGACA	IP9

表1から分かるように、マウスとチンパンジーのOsteopontin遺伝子のVDREは、1塩基を除いては同じである。またOsteocalcin遺伝子を比較すると、ヒトとラットでそれぞれ類似の2種類のVDREが存在し、ともに間に挿入される塩基数が異なる。このことから、異なる生物種間でもVDREの塩基配列は類似していることが分かる。

そこで本研究では既知のVDREに特異的な塩基配列について生物種や配列の繰り返しパターンを限定せずに検索し、いまだ見つからないヒト遺伝子群上のVDREを探索する。

3 使用データについて

本研究では、遺伝子情報に関しては公開データあるいは既知のデータを利用した。

A) ビタミンD誘導体により発現が変化したヒト遺伝子群(153個)[2]

[†] 東海大学 電子情報学部情報メディア学科

[‡] 東京医科歯科大学 大学院疾患生命科学研究所

[§] 東京医科歯科大学 生体材料工学研究所

- B) NCBI ヒト遺伝子の塩基配列(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)
- C) 既知のヒト・チンパンジー・マウス・ラット・イエヌ・ヨーロッパミツバチの VDRE(24 個) [1]

4 解析方法

- Step 1. データ A のそれぞれの遺伝子について、NCBI で公開されている遺伝子(データ B)の開始位置から上流 2500bp を加えた塩基配列を合計 144 個、取得した。これは既知の VDRE が全て上流 2kbp 以内に見ついているからである。
- Step 2. データ C の VDRE 配列と、以下の変換を施したものとあわせて 48 個を候補配列とした。(DR の配列は IP に、IP の配列は DR に変換した。)
- Step 3. Step1 で取得した塩基配列に対し、Step2 で作成したリストの VDRE 配列候補の有無について、挟み込む塩基数を任意の 3~9 塩基という条件で検索した。

5 結果および考察

Step3 で得られた結果では、Step2 で作成されたリストのうち既知のものは位置も含めて正しく発見され、未知の VDRE 配列を持つものは 14 箇所発見された。新たに見つかった候補配列はヒトと他生物種の VDRE 両方が見られ、DR を IP に変換したものや、挟み込まれた塩基数が元のデータ C とは異なるものなども多く見つかった。さらにデータ A の遺伝子発現パターンを参照し[1]、誘導体投与直後から遺伝子の発現が上昇しているものを選んだ。その結果、明らかに発現が上昇している遺伝子 2 つに関して VDRE 候補を絞り込むことができた。この 2 つの遺伝子のうち、一つではヒトの VDRE, もう一つではラットの VDRE が検出された。よって本研究では、塩基配列以外に、(1)ビタミン D 誘導体による発現変化に関する情報を利用すること、(2)既知の VDRE の配列とそれらを変形した配列(DR は IP に、IP は DR に変換)のみを対象とすることで、少数の候補配列検出を達成できた。今回用いた発現データはきわめて限定された条件で得られたものなので、今後はほかの発現データを用いたさらなる検証と、生物学的検証をする必要がある。

6 参考文献

- [1] S. Yamada, et al, "Vitamin D Receptor", in Z. Hochberg ed.: "Vitamin D and Rickets", pp.50-68, Karger, Basel, 2003.
- [2] R. Lin, et al, "Expression Profiling in Squamous Carcinoma Cells Reveals Pleiotropic Effects of Vitamin D3 Analog EB1089 Signaling on Cell Proliferation, Differentiation, and Immune System Regulation", *Molecular Endocrinology*, vol.16(6), pp.1243-56, 2002.