

## ホルモンとしてのビタミンD<sub>3</sub>と そのリセプター

太田 稔

岩手医科大学医学部生化学教室\*(主任：小野 繁教授)

(受付：1982年10月30日)

**Key words :** vitamin D<sub>3</sub>, activated vitamin D, steroid hormone, receptor, salivary gland

### I はじめに

ビタミンDは生体におけるカルシウムと燐の代謝の重要な調節因子の一つであり、2種のペプチド・ホルモン、すなわち、副甲状腺ホルモン(PTH)とカルシトニンとともにカルシウムのホメオスタシスに関与している。そもそも、ビタミンDは1919年にくる病を実験的に惹起した栄養学者の Mellanby によって最初に同定され、その3年後の1922年に今日の栄養学を築いたと云われるアメリカの McCollum により脂溶性ビタミンと提唱されたことに始まる。一方、時を同じくしてドイツとアメリカの医師達が紫外線がくる病の発症と治療に重要な関係のあることを発見した。1930年代に入るとビタミンDはその第二期を迎え、主として Windaus によって1932年にD<sub>2</sub>(calciferol)、ついで1936年にD<sub>3</sub>(cholecalciferol)の構造が明らかにされた。その結果、ビタミンDは、ステロイドに属するがより明確にいえば *seco*-steroid であり、皮膚に存在する前駆体ステロール、すなわち、7-dehydrocholesterol から生成されることがわかった。*seco*-steroid とはステロイド骨格の構成環の一つが開裂を受けたものを云い、ビタミンDの場合、B環が開裂されている。ビタミンD<sub>3</sub>の化学構造は 9,10-*seco*cholest-5,7,10(19)-

trien-3 $\beta$ -olである(図1)。

ビタミンDの研究にはその後大きな発展はみられず、その生理作用についての詳細な知識は得られなかった。1960年代になって、比放射活性の高いビタミンDの入手が可能になると、Dの生化学的研究は急に活発になった。まず、ビタミンDは生体内で数種の、より極性の強い化合物に代謝されること、また、その中の幾つかは、生物学的活性を有することなどが、わかった。さらに、ビタミンDの代謝産物は小腸細胞の核に結合することが証明された。プロビタミンの 7-dehydrocholesterol は紫外線照射によってビタミンD<sub>3</sub>に生成されるが、この時ステ

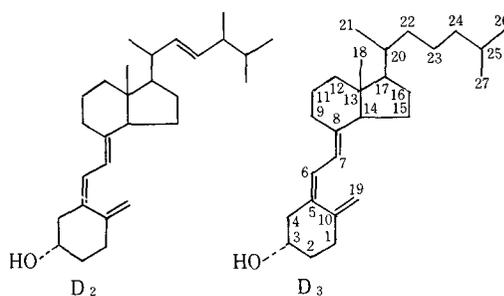


図1. ビタミンD<sub>2</sub>とD<sub>3</sub>の化学構造

(註：ビタミンD<sub>2</sub>=calciferol あるいは ergocalciferol,  
ビタミンD<sub>3</sub>=cholecalciferol)

D<sub>3</sub>は22と23位の炭素間に二重結合がないことと、  
24位の炭素にメチル基のない点が、D<sub>2</sub>と異なる。

Biologically active form of vitamin D<sub>3</sub> and its receptor.

Minoru OTA

(Department of Biochemistry, School of Medicine, Iwate Medical University, Morioka, 020)

\*岩手県盛岡市内丸19-1 (〒020)

Dent. J. Iwate Med. Univ. 8 : 10-20, 1983

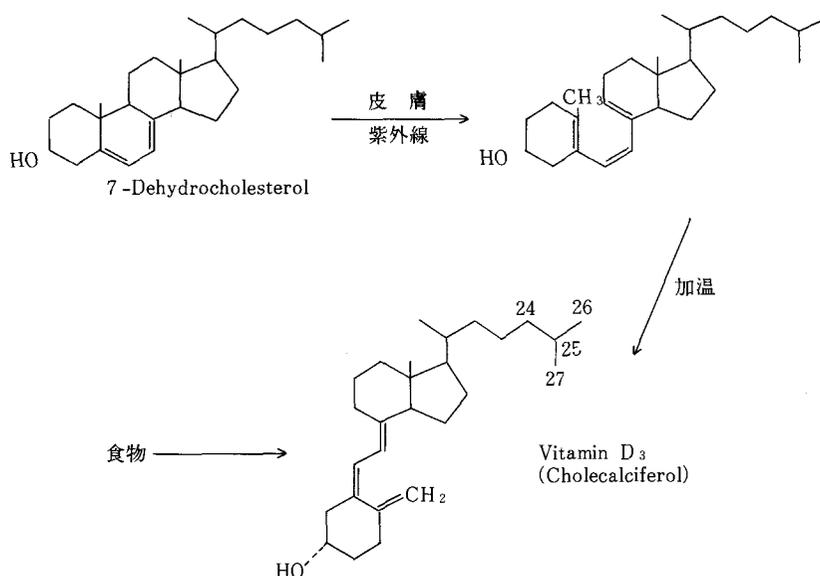


図2. ビタミンD<sub>3</sub>の生合成

生成されたビタミンD<sub>3</sub>はビタミンD結合蛋白(DBP)と結合して肝臓に運ばれる。

ロイドのB環C<sub>9</sub>-C<sub>10</sub>間に開裂が起こる(図2)。人ではこの反応は皮膚で行われる。7-dehydrocholesterolは生体内でcholesterolから生成されるし、cholesterolも肝臓、副腎などでかなりの量が生合成される。したがって、ビタミンD<sub>3</sub>はビタミンではなく適量の紫外線さえあれば、われわれは必要とする量を生成することが出来る。ただし、ビタミンD<sub>3</sub>は食餌中に痕跡含まれる物質であり、また皮膚を厚い布ですっかり覆ってしまう様な風俗の人々や、工業地帯のひどい大気公害下、あるいは日の射さない室内だけで生活せざるを得ない人々のことを考慮して、今もなおビタミンと呼んでいる。

## II ビタミンD<sub>3</sub>の代謝

前述のごとく、1922年にビタミンDが発見されて以来、およそ45年もの間、このビタミンは生体内でなんら代謝されることなしに小腸や骨の標的組織に直接作用すると考えられていた。ビタミンD代謝の研究を刺激した病態のひとつは慢性腎不全であった。この病気ではビタミン

D欠乏症状が現われ、大量のビタミンを投与してもその症状はあまり改善されない。このビタミンD抵抗状態の本質は不明であったが、ただ腎臓がこのビタミンを生物学的に活性をもつ活性型に変換するために必要と推測されていた。今日われわれが得ているD代謝の知識は、DeLuca, Fraser, Kodickをはじめ、多数の科学者達の優れた研究に負っている。

ビタミンD<sub>3</sub>は、まず肝臓において側鎖の25位の炭素が水酸化される(図3)。この反応は肝細胞のミクロソームに存在する25-hydroxylaseによっておこなわれる。この結果25-hydroxycholecalciferol (25-OH-D<sub>3</sub>)が生成される。この酵素の活性は紫外線と生成物である25-OH-D<sub>3</sub>により抑制されており過剰のビタミンDの生産を防止しているらしい。しかし、この反応は血清中のカルシウム、磷あるいはPTHの影響はうけない。ついでこの25-OH-D<sub>3</sub>は肝臓から血中を移動して腎臓に運ばれ、1 $\alpha$ あるいは24位の炭素が水酸化を受ける。前者の反応は腎尿細管のミトコンドリアの1 $\alpha$ -hydroxylaseに



基を一個もつものをいう}。

### III 活性型ビタミンD<sub>3</sub>の作用様式

ホルモンの古典的な定義は、『生物体で極めて微量で生理的な調節効果を示すもの』である。それは生きている細胞、特種な腺あるいは組織中で合成され、そこから直接血流中に分泌される。ついで、ホルモンは、生合成され、分泌された特定の組織から、離れた標的器官に輸送される。ここで、ホルモンは一連の特異的かつ特徴的な生物応答を引き起こすための反応をおこなう。

ビタミンDの活性型代謝物質、1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>の作用する場所は長い間、小腸と骨組織だけと考えられていた。しかし、放射活性比の高い [<sup>3</sup>H] 1 $\alpha$ , 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>を調節し<sup>3)</sup>, これをビタミンD欠乏ラットに注射した後に種々の組織中の標識ビタミンDをオートラジオグラフィにより検索すると意外にも従来知られていた組織以外にも高い放射活性が検出され、下垂体の甲状腺刺激ホルモン分泌細胞、膵臓の $\beta$ 細胞、腎臓の遠位尿管細胞、表皮なども活性型ビタミンD<sub>3</sub>の標的組織であることが示唆された。さらに、既知の組織については組織内の局在性について詳細な知見が得られた。すなわち、小腸では粘膜上皮細胞、骨では造骨細胞、さらに副甲状腺では、主細胞に [<sup>3</sup>H] 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>が高濃度に分布していた。

腸管から吸収されたり、皮膚で合成されたビタミンD<sub>3</sub>は血流を介して肝臓に、ついで腎臓に運ばれ活性型に変換されることは記述したが、活性型ビタミンD<sub>3</sub>は、再び血流中に出て標的組織に運ばれるが、この時運び屋の役をするのがビタミンD結合蛋白 (vitamin D binding protein) である。この種の血清蛋白質はステロイド・ホルモンの場合にも存在しており、ビタミンDとステロイド・ホルモンの類似性がここでもうかがえる (図4)。

活性型ビタミンD<sub>3</sub>が標的組織でその作用を發揮するためには、エストロゲン、テストステロン<sup>4,5)</sup>、プロゲステロン、コーチゾールなどの

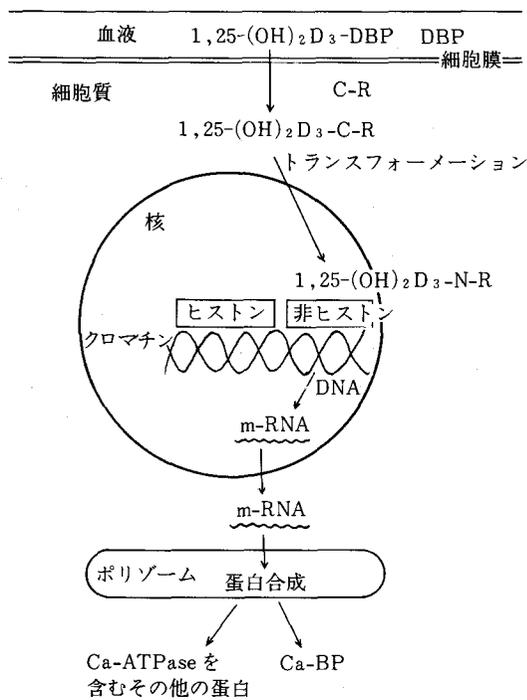


図4. 標的細胞における活性型ビタミンD<sub>3</sub>の作用機序  
活性型ビタミンD<sub>3</sub> (主として 1, 25-(OH)<sub>2</sub>cholecalciferol = 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>)は、標的細胞にはいり、細胞質リセプター (C-R) と結合して、複合体を形成する。ついで、核に取り込まれ、核リセプター (N-R) 複合体としてクロマチンのアクセプター部位と結合し、蛋白質合成の転写の作用を発現する。

ように、標的細胞の細胞膜を通り抜けて行き、そこで細胞質中に存在するそれぞれのホルモンの受容体 (リセプター) と特異的に結合しなければならない。ステロイドの場合、細胞質受容体は高分子の蛋白質であり、ステロイド・ホルモンに対して高い親和性を有し、極めて微量のステロイド・ホルモンを逃さずしっかりと結合してしまふ。かくしてステロイド・ホルモンとリセプターの複合体が形成され、ついで、この複合体は核膜を通過して核内のアクセプターと結合する<sup>6-8)</sup>。この際、核内のアクセプターと結合するためには、リセプターはステロイド・ホルモンと複合体を形成している必要がある。アクセプターは、クロマチンを存在する。クロマチンはヒストン、酸性蛋白質 (非ヒストン性蛋白質) とDNAより構成されることは、衆知の通りであるが、一般にステロイド・ホルモンのア

クセプターは酸性蛋白と DNA に存在しており、ヒストンにはないらしい。ステロイド・リセプター複合体がクロマチンのアクセプター部位と相互作用することにより、特定の暗号をもつ DNA を露出させ、その部分の情報を m-RNA へと転写する。ここのところは不明の点が少ない。たゞ、プロゲステロンについてほんの少し分かっているだけである。いずれにせよ特定の情報を荷った m-RNA は核膜を通りぬけポリゾーム上で特定の蛋白質を合成する。この蛋白質が酵素の場合は、酵素誘導と云う現象がおこる。以上述べた過程は、全てのステロイド・ホルモンについて十分な証拠がえられてないが、或るステロイド・ホルモンで分かっている原則的なものは、他のステロイド・ホルモンにもあてはまると思われる。

ビタミン D<sub>3</sub> の水酸化代謝産物、つまり 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> と 24, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> の場合、腎臓がこれを分泌する内分泌腺であることは明白である。今日では活性ビタミンが標的組織において (特に 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> については小腸と骨において)、引き起こす種々の反応は丁度ステロイド・ホルモンによるものと同じがごとくに行われることが分かっている。事実、小腸の粘膜は 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> の標的器官であるが、この組織中にはこの化合物に対する特異的な親和性の高い結合蛋白質、つまりリセプターの存在が確認されている。もっと正しい表現をすれば、小腸は 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> を特異的に、かつ高親和性で結合しうる物質を有するが故に、標的組織と呼ぶことが出来るのである。

ステロイド・ホルモンの場合、上記のごとく細胞質リセプターと結合して複合体を形成後、核の中に移行するが、核膜には直径 400 Å 程の穴が多数あり、複合体の大きさは 100 Å 以下であるので、細胞質と核との出入は物理的に困難ではないらしい。しかし、複合体は核に移行するためには“活性化”もしくは“トランスフォーメーション”(変形)される必要がある。活性型ビタミン D<sub>3</sub> については核への移行のために活性化の必要があるか否かまだ明確にされていない<sup>9)</sup>

<sup>10)</sup> 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-リセプター複合体がクロマチンと結合するためには温度依存性の活性化段階を必要とするが<sup>11)</sup>、この際には分子量の変化を伴わず、活性化の際に大きな分子量や分子の形に変化のみられるエストロゲンやグルココルチコイドと異なるという<sup>12,13)</sup>。

ビタミン D の核における作用が RNA を介して発現されることは、ステロイドと同様であり<sup>14,15)</sup>、DNA-directed-RNA の合成の阻害剤であるアクチノマイシン D によりビタミン D の作用が抑制されるために、以前から D の働きが遺伝情報の発現に関与することが知られていた。

1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> の場合、これをステロイド・ホルモンの概念の中に含蓄させる鍵となったのは、それが標的組織の核中に局在することの証拠を示した Stumpf の研究成果であった<sup>20,22)</sup>。彼は名前とは全く反対の優れた学者であり、標的組織において [<sup>3</sup>H] 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> が小腸円柱上皮細胞核に局在することをオートラジオグラフィを用いて証明した。さらに、この組織中に 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> に対し高親和性を有する結合蛋白質の存在が示された。核中にリセプターが存在すると、その結果として RNA 合成が刺激される<sup>23,24)</sup>。投与後にビタミン D 依存性カルシウム結合蛋白質 (Ca-binding protein, 以後 CaBP と略す) に対する m-RNA coding が明らかに刺激を受けることを証明した<sup>25-29)</sup>。一方、Norman らは、ニワトリヒナの腸と腎臓のビタミン D-依存性 CaBP の m-RNA 活性が 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 投与後に昂進することを観察している<sup>30)</sup>。また、小腸の CaBP 量は小腸粘膜に局在する 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 量と密接に比例すること、さらに腎の 25-hydroxycholecalciferol-1-hydroxylase 活性と相関することが知られている<sup>31)</sup>。

従って、活性型ビタミン D<sub>3</sub> の場合にも、一般的なステロイド・ホルモンと、そのリセプター間の機構は普遍すると考えられる。フランスのジャック・モノーがノーベル医学生理学を受賞したとき、新聞記者の『モノー博士、大腸菌で

真実である原則は、象の細胞でも真実なのでしょうか』との質問の答えは難しいが、『ステロイド・ホルモンでみられる現象はビタミンDでも真実であるか』との質問に明確な解答を与えることは、まもなく可能であろう。さて、ここでリセプターについて意義づけしておく必要がある。第一にステロイド・ホルモン（ビタミンD<sub>3</sub>も含めて）の立体的構造をリセプターは認識して、これを特異的に結合することである。第二には、ステロイド・ホルモンと結合したリセプターが核に移行し、特定の細胞機能の発現へと一連の反応を行うことである。

#### IV 活性型ビタミンD<sub>3</sub>リセプターの生化学的性質

このことに関する記述は、残念ながら歯科領域とは関係の浅い小腸、しかもニワトリヒナの腸から始めなくてはならない。それは、小腸が活性ビタミンD<sub>3</sub>の代表的標的組織であり、最も研究が進んでいるからである。1973年から1974年にかけて<sup>9,32,33</sup>、ヒナの腸に1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>の細胞質リセプターが存在することが初めて報告され、これを契機にビタミンDリセプター研究の競争がスタートした。このリセプターは蛋白質であり、蔗糖密度勾配法で3.7 S（卵白アルブミンと同じ、分子量45,000位）に沈降することが報告された<sup>12,34-36</sup>。初期の研究では、分子量は47,000から70,000の範囲にあるとするものが多いが<sup>10,37</sup>、最近の研究によると分子量は、90,000から100,000の間にあり、Stoke's radius（ストーク半径、分子の大きさの目安として用いるもので、調べている蛋白質と同じ速度でゲル濾過カラムや薄層を通過する、完全に無水の球形の物質と比較して半径を推定する。）は、36-38Åとされている<sup>38,39</sup>。このような分子量の証正はステロイド・ホルモンでもなされているが、これは純化の過程で試料中に蛋白質分解酵素が含まれているために、リセプターの分解がおこるからである。したがって、試料を処理する過程で蛋白分解酵素の阻害剤を

添加することによって真の分子量が求められた。

リセプターの1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>との結合力はN-ethylmaleinide や iodoacetamide の様なスルフィドリル・アルキレート剤により失われるが、リセプターを予めそのリガンド、すなわち、1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>と結合させておくと、失活をかなり防ぐことができる<sup>13,40</sup>。このことは、リガンドとの結合部位、あるいは、その近接部位にシステイン残基が存在し、それが結合活性の保持に重要な役割をしていると思われる。小腸リセプターの場合1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>との親和性は極めて高く、解離恒数Kd=1-50×10<sup>-11</sup>Mである<sup>9,10,41-43</sup>。ステロイドの結合親和性や結合部位数を求める方法にScatchard plot法が用いられる。リセプター(R)とステロイド(S)との結合が平衡状態にある場合(R+S⇌S-R複合体)、結合恒数(Ka)は解離恒数(Kd)と逆数の関係にある(Ka=1/Kd)。Kdは、少ない方が親和性が高い。リセプターはある化合物と特異的に高親和性をもって結合し、しかも単位重量当りの結合部位数が少なくなくてはならない。このことをhigh affinity, low capacityと呼んでいる。

1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>の血中濃度は測定者により一致してないが、成人で1-4 ng/dl位である<sup>44,45</sup>。これはステロイド・ホルモン、例えばアルドステロンの3 ng/dl、コーチゾールの1.2 ng/dl（但し、いずれも、遊離型）と同様のオーダーである。分子量も、D<sub>3</sub>が凡そ385、アルドステロンとコーチゾールは、360とほぼ同じであるから、これらのリセプターは東京の朝のラッシュ・アワーの12両連結の満員電車から一人の特定の人間を探しだす程の能力がある。

#### V 活性ビタミンD<sub>3</sub>の立体構造とリセプターによる識別

リセプターはそのリガンドを識別する。この際に、リガンドの細かい側鎖の違いは余り関係がなく、リガンド分子の全体的な立体構造が問題となる。活性ビタミンD<sub>3</sub>の場合、1α-水酸基

と25-水酸基 ( $1\alpha$ -OH, 25-OH) がリセプターの識別にとって最も重要である。一方,  $3\beta$ -水酸基やC-19のメチレン基 ( $=\text{CH}_2$ ) は, いずれも全結合力の10%ほどを分担しているに過ぎない<sup>12,46,47</sup>。面白いことに, 24もしくは25位の炭素をもつ,  $1, 24\text{R}-(\text{OH})_2\text{D}_3$ や $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ はリガンドとして同様の結合力を有するが, 24と25の両方に水酸基を持つ  $1\alpha$ -24R, 25R-(OH) $_2\text{D}_3$ には, リセプターと結合する力はない<sup>48</sup>。

#### VI 活性型ビタミンD<sub>3</sub>リセプターの各組織内分布

驚くほど種々の組織に $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ リセプターが検出された。いわゆる非標的と考えられていた組織にもリセプターが存在していることがわかった。現在, 哺乳類で活性型ビタミンD<sub>3</sub>のリセプターが検出された器官, 組織には, 小腸<sup>49</sup>, 結腸, 副甲状腺<sup>37</sup>, 骨, 脾臓, 下垂体<sup>50</sup>, 卵巣, 皮膚<sup>51,52</sup>, 胎盤<sup>53</sup>, 睪丸, 子宮<sup>54</sup>, 乳腺<sup>55</sup>, 胸腺, 耳下腺<sup>56</sup>などがある。ひとむかし前では, とても考えられなかった程の, いわば, “新しい” 標的組織が発見され, そして将来はこれら新標的組織の客人としての活性型ビタミンD<sub>3</sub>の生物学的作用機序が明確になるものと期待される。

#### VII ビタミンD-依存性のカルシウム結合蛋白質 (Vitamin D-dependent Ca binding protein)

ビタミンD-依存性-CaBPの存在について既に簡単に記述したが, CaBPの発見はビタミンDの分野における最も重要な貢献の一つであった。

現在のところ四種類のCaBPが単離, 精製されている。すなわち, 分子量28,000で哺乳動物の組織に広く存在しているもの<sup>57</sup>, 分子量8,000-11,000で哺乳動物の小腸に存在しているもの<sup>58</sup>, 分子量9,000で皮膚に存在し, 最近性状がわかったもの<sup>59-62</sup>, そして四番目として分子量6,000の骨に存在するものがある<sup>63</sup>。この中, 二番目と三番目のCaBPはCaとの親和性が高い

( $K_d = 1 - 10 \times 10^{-7}\text{M}$ )。分子量8,000-11,000のCaBPはモル当りカルシウム2gと, また分子量28,000のものは4gと結合する。

#### VIII 骨細胞と活性型ビタミンD<sub>3</sub>のリセプター

骨において, カルシウムは主にハイドロキシアパタイト ( $[\text{Ca}_5\text{OH}(\text{PO}_4)_3]_2$ ) として存在する。これは陽イオンとして $\text{Ca}^{++}$ , 陰イオンとして $\text{PO}_4^{--}$ と $\text{OH}^-$ よりなる錯塩である。一方, 血清中のカルシウムは極めて濃度が低いが, しかし, 恒常性が維持されている。この血中カルシウム濃度の恒常性維持には, 骨液コンパートメント境界膜が重要な役割を果たす。骨液コンパートメントから組織液へのカルシウム輸送は, 活性型ビタミンD<sub>3</sub>とPTHによって促進され, カルシトニンにより抑制される。一方では, このビタミンはPTHとともに破骨細胞を増殖し, その機能を促進する。カルシトニンはこれと反対に抑制的に働き, 造骨細胞に対しては増生と機能亢進作用をする。

さて, 活性型ビタミンD<sub>3</sub> ( $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ ) は骨細胞中のリセプターと結合した後に, 骨吸収をすると思われる。PTHの場合, cyclic AMPを介するが, D<sub>3</sub>の場合は, cyclic AMPの介在がないのは勿論のことである。 $24, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ の骨組織や軟骨組織での重要性が注目されてきた。すなわち, 軟骨組織では,  $25-\text{OH D}_3$ から $24, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ が生成されるし, また成人の骨軟化症の骨塩量が,  $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ と,  $24, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ の併用によってのみ増加することが分かったからである。この事から,  $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ 以外のビタミンD誘導体と結合するリセプターが存在することが推測される。DeLucaのグループは, ラット胎仔や鶏胚の頭蓋冠から細胞質を調製し, D<sub>3</sub>代謝産物の結合能をしらべた<sup>64</sup>。その結果, 両細胞質は $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ に特異的に結合する3.5Sの高分子を含有し, 加えて $25-(\text{OH})\text{D}_3$ と結合する5-6Sの高分子物質をも含むこと, さらに, ラットの頭蓋冠細胞質の5-6S分子は $1, 25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ にも低い親和性を有することを証明した。最

近, Norman の研究室より報告された cell-line のリセプターの研究は極めて興味深いものである<sup>65)</sup>。マウスの骨から誘導された安定性の強い cell-line (MMB-1) を用いて造骨細胞における  $1, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$  のリセプターを調べた。彼と共同者達は、既にこの MMB-1 cell-line においてコラーゲン合成が他の骨調節ホルモンと同様に  $1, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$  により特異的に阻害される事を観察している。彼らは  $1, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$  を細胞質液と孵置し、細胞質にリセプターが存在することを見出し、さらに、これが核に移行してクロマチンに局所することを観察した。このことは、MMB-1 が他の標的組織と同様な性質をもつことと、このリセプターがコラーゲン合成上  $1, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$  の効果の調節因子であることを暗示させる。

歯周組織におけるコラーゲン代謝との関係は、未だ不明であり、今後この分野での研究が待たれる。

#### IX 耳下腺カルシウム結合蛋白質 (CaBP) と活性型ビタミン $\text{D}_3$ のリセプター

歯科領域における活性型ビタミン  $\text{D}_3$  リセプターの研究は、現在のところ余り進んでいない。近年、Christakos と Norman は<sup>66)</sup>、ラットの耳下腺中にビタミン  $\text{D}$  依存性 CaBP が存在することを、さらに耳下腺細胞の細胞質に  $1, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$  に対し解離恒数  $K_d = 4 \times 10^{-10}\text{M}$  を示す特異的な結合蛋白質の存在を認めた。このことは、耳下腺も活性型ビタミン  $\text{D}_3$  の標的組織であることを暗示している。

#### X 顎下腺と男性ホルモン

顎下腺の活性型ビタミン  $\text{D}_3$  のリセプターの存在についての確固たる証拠は、現在のところ、得られていない。しかし、この腺がステロイド・ホルモンと関係が深いことを暗示するデータは多々ある。マウスの顎下腺はアンドロゲン依存性であり、その顆粒管は雌に較べ雄でより発達している。事実、ある種のプロテアーゼ<sup>66)</sup>やブドー糖-6-リン酸脱水酵素<sup>67)</sup>などはアンドロゲン

によってコントロールされている。これらの事実は顎下腺がアンドロゲンの標的器官の一つであることを示唆するものである。Takuma ら<sup>68)</sup>は、マウスの顎下腺細胞の細胞質に存在する  $5\alpha$ -dihydrotestosterone の結合蛋白量と発育との関係を雌雄につき比較検討したところ、この結合蛋白は両性とも生後五日で検出され、これは顆粒管細胞のアンドロゲン依存性の細胞分化の開始と時を同じくすることなどを認めた。Booth は<sup>69)</sup>、雄豚の顎下腺でアンドロゲン系のステロイドが代謝されること、この代謝相をエストロゲンが変化させること、そして、この種の動物においても顎下腺はアンドロゲンの標的器官であることなどを報告しているが、面白いことにこれらと同様のことが肝臓のアンドロゲン代謝にもみられる<sup>70)</sup>。

#### おわりに

以上、活性型ビタミン  $\text{D}_3$  とそのリセプターに関する最新の知見について紹介し、これらがステロイド・ホルモンと、そのリセプターとの関係と極めて類似していることを強調した。しかしながら、歯科領域においては動物の耳下腺や、顎下腺での僅かの知見を除いては、ビタミン  $\text{D}$  とそのリセプターの問題は未解決のままである。硬組織における将来の研究が待たれる。(本総説で記載していない点も多々ある。専門書<sup>71-75)</sup>を参照されたい)。

#### 文 献

- 1) Norman, A. W. : Evidence for a new kidney-produced hormone, 1-25-dihydroxycholecalciferol, the proposed biologically active form of vitamin D. *Am. J. Clin. Nutr.* 24 : 1346-1351, 1971.
- 2) Norman, A. W. and Henry, H. L. : The role of the kidney and vitamin D metabolism in health and disease. *Clin. Orthop.* 98 : 258-287, 1974.
- 3) Neville, P. F. and DeLuca, H. F. : The synthesis of  $[1, 2-^3\text{H}]$  vitamin  $\text{D}_3$  and the tissue localization of a 0.25-ug (10IU) dose per rat. *Biochemistry.* 5 : 2201-2207, 1966.
- 4) Sato, N., Ota, M. and Obara, K. : Presence of binding component(s) for testosterone in rat liver cytosol. *Endocrinol. Japon.* 27 : 315-319,

- 1980.
- 5) Ota, M., Sato, N., Takahashi, S. and Ono, S. : Characteristics of the binding component for testosterone and androstenedione in rat liver cytosol. *Endocrinol. Japon.* 27 : 321-328, 1980.
  - 6) Ota, M., Sato, N., Takahashi, S. and Ono, S. : Translocation of hepatic cytosol androgen receptor to the nucleus in vivo in male rats. *Experientia.* 37 : 318-319, 1981.
  - 7) Ota, M., Sato, N., Kyakumoto, S. and Ono, S. : Interaction of hepatic chromatin with androgen-receptor complex. XIIth international Congress of Biochemistry (Perth, Australia), Abstracts p277, 1982.
  - 8) Sato, N., Ota, M. and Ono, S. : Binding of cytoplasmic testosterone-receptor complex to nuclei from male rat livers in a cell-free system. XIIth International Congress of Biochemistry (Perth, Australia), Abstracts p277, 1982.
  - 9) Brumbaugh, P. F. and Haussler, M. R. :  $1\alpha, 25$ -Dihydroxycholecalciferol receptors in intestine. II. Temperature-dependent transfer of the hormone to chromatin via a specific cytosol receptor. *J. Biol. Chem.* 249 : 1258-1262, 1974.
  - 10) Brumbaugh, P. F. and Haussler, M. R. : Specific binding of  $1\alpha, 25$ -dihydroxycholecalciferol to nuclear components of chick intestine. *J. Biol. Chem.* 250 : 1588-1594, 1974.
  - 11) Colston, K. and Feldman, D. : Nuclear translocation of the  $1, 25$ -dihydroxycholecalciferol receptor in mouse kidney. *J. Biol. Chem.* 255 : 7510-7513, 1980.
  - 12) Haussler M. R., Pike, J. W., Chandler, J. S., Manolagas, S. C. and Deftos, L. J. : Molecular action of  $1, 25$ -dihydroxyvitamin  $D_3$ : new cultured cell models. *Ann. NY. Acad. Sci.* 372 : 502-517, 1981.
  - 13) Wecksler, W. R. and Norman, A. W. : Biochemical properties of  $1\alpha, 25$ -dihydroxyvitamin D receptors. *J. Steroid Biochem.* 13 : 977-989, 1980.
  - 14) Ota, M., Sato, N., Toyoshima, Y. and Obara, K. : The effect of actinomycin D and puromycin on the induction of the cytosol enzymes involved in the androgen metabolism by testosterone in female rat liver. *Endokrinologie.* 69 : 1-10, 1977.
  - 15) Sato, N., Ota, M. and Obara, K. : Effect of actinomycin D or puromycin on microsomal testosterone hydroxylase activity enhanced by testosterone in female rat liver. *Experientia.* 24 : 1375-1376, 1978.
  - 16) Norman, A. W. : Actinomycin D effect on lag in vitamin D-mediated calcium absorption in the chick. *Am. J. Physiol.* 211 : 829-834, 1966.
  - 17) Norman, A. W. : Actinomycin D and the response to vitamin D. *Science.* 149 : 184-186, 1965.
  - 18) Zerwekh, J. E., Lindell, T. J. and Haussler, M. R. : Increased intestinal chromatin template activity-influence of  $1\alpha, 25$ -dihydroxyvitamin  $D_3$  and hormone receptor complexes. *J. Biol. Chem.* 251 : 2388-2394, 1976.
  - 19) Zull, J. E., Czarnowska-Misztal, E. and DeLuca, H. F. : On the relationship between vitamin D action and actinomycin-sensitive processes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 55 : 177-184, 1966.
  - 20) Narbaitz, R., Stumpf, W. E. and Madhabananda, S. : The role of autoradiographic and immunocytochemical techniques in the clarification of sites of metabolism and action of vitamin D. *J. Histochem. Cytochem.* 29 : 91-100, 1981.
  - 21) Stumpf, W. E., Sar, M., Reid, F. A., Tanaka, Y. and DeLuca, H. F. : Target cells for  $1, 25$ -dihydroxyvitamin  $D_3$  in intestinal tract, stomach, kidney, skin, pituitary, and parathyroid. *Science.* 206 : 1188-1190, 1979.
  - 22) Stumpf, W. E., Sar, M., Narbaitz, R., Reid, F. A., DeLuca, H. F. and Tanaka, Y. : Cellular and subcellular localization of  $1, 25$ -(OH) $_2$ -vitamin  $D_3$  in rat kidney : comparison with localization of parathyroid hormone and estradiol. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 77 : 1149-1153, 1980.
  - 23) Siebert, P., Hunziker, W. and Norman, A. W. : Cell-free translation analysis of the vitamin D-dependent calcium binding protein mRNA activity present in total RNA and polysomal extract from chick intestine. *Arch. Biochem. Biophys.* 219 : 286-296, 1982.
  - 24) Tsai, H. C. and Norman, A. W. : Effect of  $1, 25$ -dihydroxyvitamin  $D_3$  on RNA synthesis in the intestinal mucosa. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 54 : 622-627, 1973.
  - 25) Emtage, J. S., Lawson, D. E. M. and Kodicek, E. : Vitamin D-induced synthesis of mRNA for calcium-binding protein. *Nature.* 246 : 100-101, 1973.
  - 26) Emtage, J. S., Lawson, D. E. M. and Kodicek, E. : The response of the small intestine to vitamin D. Correlation between calcium-binding-protein production and increased calcium absorption. *Biochem. J.* 144 : 339-346, 1974.
  - 27) Emtage, J. S., Lawson, D. E. M. and Kodicek, E. : The response of the small intestine to vitamin D. Isolation and properties of chick intestinal polyribosomes. *Biochem. J.* 140 : 239-247, 1974.
  - 28) Lawson, D., Spencer, R., Charman, M. and Wilson, P. : Recent studies on  $1, 25$ -(OH) $_2D_3$  action in the intestine. In : Norman, A. W., Shaefer, K., Coburn, J. W., DeLuca, H. F., Faser, D., Grigoleit, H-G. and von Herrath, D. (eds) Vitamin D : Biochemical, Chemical and Clinical Aspects Related to Calcium Metabolism. Walter de Gruyter, Berlin, pp265-275, 1977.
  - 29) Spencer, R., Charman, M. and Lawson, D. E.

- M. : Stimulation of intestinal calcium-binding-protein mRNA synthesis in the nucleus of vitamin D-deficient chicks by 1, 25-dihydroxycholecalciferol. *Biochem. J.* 175 : 1089-1094, 1978.
- 30) Christakos, S. and Norman, A. W. : Vitamin D-dependent calcium-binding protein synthesis by chick kidney and duodenal polysomes. *Arch. Biochem. Biophys.* 203 : 809-815, 1980.
- 31) Morrissey, R. L. and Wasserman, R. H. : Calcium absorption and calcium-binding protein in chicks on differing calcium and phosphorus intakes. *Am. J. Physiol.* 220 : 1509-1515, 1971.
- 32) Tsai, H. C. and Norman, A. W. : Studies on calciferol metabolism. VIII. Evidence for a cytoplasmic receptor for 1, 25-dihydroxy-vitamin D<sub>3</sub> in the intestinal mucosa. *J. Biol. Chem.* 248 : 5967-5975, 1973.
- 33) Brumbaugh, P. F. and Haussler, M. R. : 1 $\alpha$ -25-Dihydroxycholecalciferol receptors in intestine. I. Association of 1 $\alpha$ , 25-dihydroxycholecalciferol with intestinal mucosa chromatin. *J. Biol. Chem.* 249 : 1251-1257, 1974.
- 34) Brumbaugh, P. F. and Haussler, M. R. : Nuclear and cytoplasmic receptors for 1, 25-dihydroxycholecalciferol in intestinal mucosa. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 51 : 74-80, 1973.
- 35) Kream, B. E., Jose, M. J. L. and DeLuca, H. F. : The chick intestinal cytosol binding protein for 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> : a study of analog binding. *Arch. Biochem. Biophys.* 179 : 462-468, 1977.
- 36) Kream, B. E., Yamada, S., Schnoes, H. K. and DeLuca, H. F. : Specific cytosol-binding protein for 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in rat intestine. *J. Biol. Chem.* 252 : 4501-4505, 1977.
- 37) Weckslers, W. R., Ross, F. P., Mason, R. S., Posen, S. and Norman, A. W. : Biochemical properties of the 1 $\alpha$ -25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> cytoplasmic receptors human and chick parathyroid glands. *Arch. Biochem. Biophys.* 201 : 95-103, 1980.
- 38) Bishop, J. E., Hunziker, W. and Norman, A. W. : Evidence for multiple molecular weight forms of the chick intestinal 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 108 : 140-145, 1982.
- 39) Hunziker, W., Walters, M. R., Bishop, J. E. and Norman, A. W. : Differential effects of protease inhibitors on occupied and unoccupied 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> receptors : evidence for multiple molecular forms. Program of the 64th Annual Meeting of The Endocrine Society, San Francisco CA, 1982, p143 (Abstract 254).
- 40) Weckslers, W. R., Mason, R. S. and Norman, A. W. : Specific cytosol receptors for 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in human intestine. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 48 : 715-717, 1979.
- 41) Lawson, D. E. M. and Wilson, P. W. : Intracellular localization and receptor proteins for 1, 25-dihydroxycholecalciferol in chick intestine. *Biochem. J.* 144 : 573-583, 1974.
- 42) Mellon, W. and DeLuca, H. : An equilibrium and kinetic study of 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> binding to chicken intestinal cytosol employing high specific activity 1, 25-dihydroxy[3H-26, 27] vitamin D<sub>3</sub>. *Arch. Biochem. Biophys.* 197 : 90-95, 1979.
- 43) Weckslers, W. R. and Norman, A. W. : A kinetic and equilibrium binding study of 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> with its cytosol receptor form chick intestinal mucosa. *J. Biol. Chem.* 255 : 3571-3574, 1980.
- 44) Eisman, J. A., Hamster, A. J., Kream, B. E. and DeLuca, H. F. : A sensitive, precise, and convenient method for determination of 1, 25-dihydroxyvitamin D in human plasma. *Arch. Biochem. Biophys.* 176 : 235-243, 1976.
- 45) Dokoh, S., Morita, R., Fukunaga, M., Yamamoto, I. and Torizuka, K. : Competitive protein binding assay for 1, 25-dihydroxyvitamin D in human plasma. *Endocrinol. Japon.* 25 : 431-436, 1978.
- 46) Procsal, D. A., Okamura, W. H. and Norman, A. W. : Structural requirements for the interaction of 1 $\alpha$ , 25-(OH)<sub>2</sub>-vitamin D<sub>3</sub> with its chick intestinal receptor system. *J. Biol. Chem.* 250 : 8382-8388, 1975.
- 47) Weckslers, W. R., Okamura, W. H. and Norman, A. W. : Studies on the mode of action of vitamin D-XIV. Quantitative assessment of the structural requirements for the interaction of 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> with its chick intestinal mucosa receptor system. *J. Steroid Biochem.* 9 : 929-937, 1978.
- 48) Siebert, P. D., Ohnuma, N. and Norman, A. W. : Studies on the mode of action of calciferol. XIX. A 24R-hydroxyl-group can replace the 25-hydroxyl-group of 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> for optimal binding to the chick intestinal receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 91 : 827-834, 1979.
- 49) Weckslers, W. R., Ross, F. P., Mason, R. S. and Norman, A. W. : Biochemical properties of the 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> cytosol receptors from human and chicken intestinal mucosa. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 50 : 152-157, 1980.
- 50) Pike, J., Gooze, L., Haussler, M. : Biochemical evidence for 1, 25-dihydroxyvitamin D receptor macromolecules in parathyroid, pancreatic, pituitary and placental tissues. *Life Sci.* 26 : 407-414, 1980.
- 51) Eil, C. and Marx, S. J. : Nuclear uptake of 1, 25-dihydroxy[<sup>3</sup>H]cholecalciferol in dispersed fib-

- roblasts cultured from normal human skin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 78 : 2562-2566, 1981.
- 52) Eil, C., Liberman, U. A., Rosen, J. F. and Marx, S. J. : A cellular defect in hereditary vitamin D-dependent rickets type II : Defective nuclear uptake of f, 25-dihydroxy-vitamin D in cultured skin fibroblasts. *N. Engl. J. Med.* 304 : 1588-1591, 1981.
- 53) Christakos, S. and Norman, A. W. : Specific receptors/binding proteins for 1, 25(OH)<sub>2</sub>-vitamin D<sub>3</sub> in rat and human placenta. *Fed. Proc.* 39 : 560 (Abstract), 1980.
- 54) Takahashi, N., Abe, E., Tanabe, R. and Suda, T. : A high-affinity cytosol binding proteins for 1 $\alpha$ , 25-dihydroxycholecalciferol in the uterus of Japanese quail. *Biochem. J.* 190 : 513-518, 1980.
- 55) Colston, K., Hirst, M., Feldman, D. : Organ distribution of the cytoplasmic 1, 25-dihydroxycholecalciferol receptor in various mouse tissues. *Endocrinology.* 107 : 1917-1922, 1980.
- 56) Christakos, S., Pansini, A. and Thomas, S. F. : Calcium binding proteins and 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in rat parotid gland. *Calcif. Tissues. Int.* 33 : 332, 1981.
- 57) Wasserman, R. H. and Taylor, A. N. : Vitamin D-dependent calcium-binding protein : Response to some physiological and nutritional variables. *J. Biol. Chem.* 243 : 3987-3993, 1968.
- 58) Hitchman, A. J. W., Kerr, M. K. and Harrison, J. E. : The purification of pig vitamin D-induced intestinal calcium binding protein. *Arch. Biochem. Biophys.* 155 : 221-222, 1973.
- 59) Laouari, D., Pavlovitch, H., Deceneux, G. and Balsan, S. : A vitamin D-dependent calcium-binding protein rat skin. *FEBS. Lett.* 111 : 285-289, 1980.
- 60) Pavlovitch, J. N., Didierjean, L., Risk, M., Balsan, S. and Saurat, J. H. : Skin calcium binding protein : distribution in other tissues. *Am. J. Physiol.* 244 : C50-C57, 1983.
- 61) Pavlovitch, J. H., Laouari, D., Didierjean, L., Saurat, J. H. and Balsan, S. : Vitamin D-dependent calcium binding protein in rat epidermis. In : Siegel, F. L., Carafoli, E., Kretsinger, R. H., MacLennan, D. H. and Wasserman, R. H. (eds) *Calcium-Binding Proteins : Structure and Function.* Elsevier/North-Holland, New York, p417-419, 1980.
- 62) Saurat, J. H., Didierjean, L., Pavlovitch, J. H., Laouari, D. and Balsan, S. : Skin calcium binding protein is localized in the cytoplasm of the basal layer of the epidermis. *J. Invest. Dermatol.* 76 : 221-223, 1981.
- 63) Price, P. A. and Baukol, S. A. : 1, 25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> increases serum levels of the vitamin K-dependent bone protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 99 : 928-935, 1981.
- 64) Kream, B. E., Jose, M., Yamada, S. and DeLuca, H. F. : A specific high-affinity binding macromolecule for 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in fetal bone. *Science.* 197 : 1086-1088, 1977.
- 65) Walters, M. R., Rosen, D. M., Norman, A. W. and Luben, R. A. : 1, 25-Dihydroxyvitamin D receptors in an established bone cell line : correlation with biochemical responses *J. Biol. Chem.* 257 : 7481-7484, 1982.
- 66) Angeletti, R. A., Angeletti, P. U. and Calisano, P. : Testosterone induction of estero-proteolytic activity in the mouse submaxillary gland. *Biochem. Biophys. Acta.* 139 : 372-381, 1967.
- 67) Nakamura, T., Fuji, M., Kaiho, M. and Kumegawa, M. : Sex difference in glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in the submandibular gland of mice. *Biochem. Biophys. Acta.* 362 : 110-120, 1974.
- 68) Takuma, T., Nakamura, T., Hosoi, K. and Kumegawa, S. : Binding protein for 5 $\alpha$ -dihydrotestosterone in mouse submandibular gland. *Biochem. Biophys. Acta.* 496 : 175-181, 1977.
- 69) Booth, W. D. : Metabolism of androgens in vitro by the submaxillary salivary gland of the mature domestic boar. *J. Endocr.* 45 : 145-154, 1977.
- 70) Ota, M., Sato, N., and Obara, K. Sex differences in metabolism of testosterone by rat liver. *J. Biochem.* 72 : 11-20, 1972.
- 71) Lawson, D. E. M. : *Vitamin D*, Academic Press, London, 1978.
- 72) Norman, A. W., Schaefer, K., Herrath, D. V., Grigoleit, H.G., Coburn, J.W., DeLuca, H. F., Mawer, E. B. and Suda, T. : *Vitamin D. Basic research and its clinical application*, Walter de Gruyter, Berlin, 1979.
- 73) Norman, A. W. : *Vitamin D. The calcium homeostatic hormone.* Academic Press, New York, 1979.
- 74) 吉田 博, 井村裕夫 : レセプター ; 基礎と臨床, 中外医学社, 東京, 1981.
- 75) 須田立雄, 尾形悦郎, 小椋陽介, 西井易穂 : ビタミンD—その新しい流れ. 講談社サイエンティフィック, 東京, 1982.