

ビタミンDの作用メカニズム解明に貢献する微生物

安田 佳織

ビタミンDは骨を強くすると聞いたことがあるかもしれない。最近ではビタミンDのがん予防や免疫力増強についても知られるようになっており、注目を浴びている栄養成分の一つである。実はビタミンD自身は生理作用の本体ではなく、体内で水酸化された1 α ,25-ジヒドロキシビタミンD (1,25D₃, 活性型ビタミンD₃)がその作用本体である(図1)。pMオーダーでしか血中に存在しないこの代謝物は、核内受容体であるビタミンDレセプターに結合し、骨の強化やがん抑制を導く重要な化合物である。実際、活性型ビタミンD₃は、骨粗鬆症治療薬として使用されるとともに、抗がん剤としても期待されており、その誘導体研究も盛んに行われている。

活性型ビタミンD₃は、化学合成法では製造工程が多く収率も低いことから、安価なビタミンD₃を基質にしたバイオコンバージョン法での製造は非常に有用である。すでに、放線菌*Pseudonocardia autotrophica*を用いた生産法が実用化されており、ビタミンDの水酸化を担う酵素はVdh (CYP107)であることが明らかになっている。Vdhの高活性化を目指した研究も行われており、進化工学的に機能改変したVdhを組換え大腸菌に導入することで高い生産性が得られているとともに、結晶構造解析から性能向上の構造的要因も示されている^{1,2)}。放線菌*Streptomyces griseolus*由来CYP105A1についても同様の活性があり、本酵素の立体構造を基に作製した二重変異体により、野生株の400倍もの活性上昇を実現させている³⁾。ビタミンDは疎水性が高いことから、その細胞への取り込み能を上げることが生産性向上の重要なファクターとなる。この点については、ロドコカス属放線菌を宿主とすることで、抗菌剤であるナイシン処理により溶菌させずに細胞膜に孔をあけて生産性を向上

させた技術が報告されており⁴⁾、今後ビタミンD水酸化体生産において有望な系になることが期待される。

ビタミンD水酸化体として有用なものは、活性型ビタミンD₃だけではない。体内での主要なビタミンD代謝物である25-ヒドロキシビタミンD₃ (25D₃)は血中濃度が骨粗鬆症やがんのリスクの指標となり得る可能性が示唆されると同時に、近年、自身の生理作用についても報告され始めている。生体内では活性型ビタミンD₃や25D₃がさらに代謝を受けた多数のビタミンD代謝物が存在する。たとえば、CYP24A1はビタミンD側鎖部分を連続的に代謝し多数の代謝物を生成する(図1)、それらの生理作用、また各組織での量や分布が未解明なものが多い。これらはビタミンDの作用メカニズムを明らかにするうえで重要な情報であるが、代謝物の多くが標準品として市販されていないことが、その研究が進んでいない原因の一つである。これら多数の代謝物を上述した微生物由来の酵素で生成することは現段階では成功しておらず、CYP24A1などの哺乳動物由来酵素を利用した系が有用である。哺乳動物由来のビタミンD水酸化酵素は、微生物由来の酵素と異なり膜結合型酵素で大腸菌での発現が困難であるが、N末端のシグナルペプチド領域を除くことで発現に成功し、これら大腸菌の膜画分と電子伝達系であるアドレノドキシンおよびアドレノドキシン還元酵素を含む*in vitro*再構成系を利用した複数のビタミンD代謝物の取得が報告されている^{3,5)}。

近年、代謝物分析にLC/MS/MSが一般的に用いられるようになった。ビタミンDの場合、誘導体化試薬を利用した分析法⁶⁾により、体内のpMオーダーの微量な活性型ビタミンD₃を検出することが可能となっている。上述したとおり、今後、他に多く存在する微量なビタミンD代謝物解析を行ううえで、種々の代謝物標準品が欠かせない。紹介したさまざまな系を組み合わせることで、また、さらなる改良を加えることで、これら代謝物を簡便に提供できれば、ビタミンDの生理作用メカニズム解明に貢献できることは間違いない。さらには、それら代謝物の中から有用な生理活性をもつものがでてくるとも期待したい。

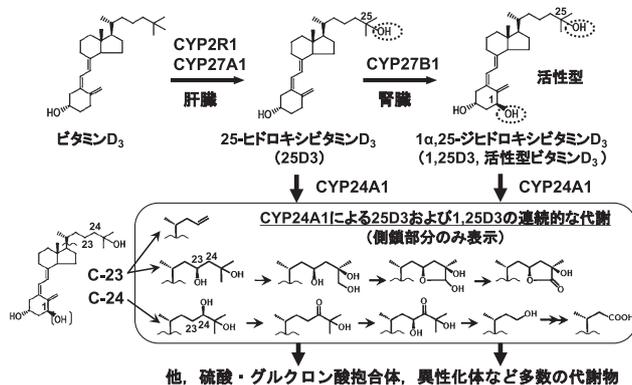


図1. 哺乳動物におけるビタミンD₃代謝経路。本文中に記載の放線菌由来VdhやCYP105A1はビタミンD₃の1 α 位と25位両方の水酸化を行う。

- 1) Fujii, T. et al.: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **73**, 805 (2009).
- 2) Yasutake, Y. et al.: *J. Biol. Chem.*, **285**, 31193 (2010).
- 3) Sakaki, T. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, **1814**, 249 (2011).
- 4) Imoto, N. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **405**, 393 (2011).
- 5) Sakaki, T. et al.: *Front. Biosci.*, **10**, 119 (2005).
- 6) Higashi, T. et al.: *Biol. Pharm. Bull.*, **24**, 738 (2001).