

トピックス

筋分化におけるレチノイド X 受容体の重要性 Importance of retinoid X receptor in myogenic differentiation

はじめに

脂溶性のビタミン A は、体内で合成できないため食事として摂取しなければならない。ビタミン A は小腸から吸収され、肝臓で脂肪酸とのエステル体として貯蔵されるが、必要時に加水分解されてレチノールとして各組織に運搬された後、酸化されて活性型ビタミン A であるレチノイン酸になる¹⁾。レチノイン酸は幹細胞の運命決定に関与する形態形成因子として哺乳類の胚発生や細胞分化を制御し、成体でも恒常性維持において重要な役割を果たしている²⁾。レチノイン酸には *all-trans* retinoic acid (ATRA) の他に、その幾何異性体である *9-cis* retinoic acid (9CRA) が存在する。ATRA は転写

因子として機能するレチノイン酸受容体 (RAR) に結合し、9CRA は RAR とレチノイド X 受容体 (RXR) に結合してアゴニストとして作用する。RAR と RXR は、リガンドの有無に関わらず核内でヘテロダイマーを形成して標的遺伝子のプロモーター領域に存在するレチノイン酸応答配列 (RARE) に結合する (図 1A)。RAR にアゴニストが結合することで RAR が活性化し、RAR-RXR ヘテロダイマーでの転写活性が誘導される³⁾。RAR アゴニストによる RAR-RXR ヘテロダイマーでの転写活性は、RXR 選択的アゴニストが共存することで相乗的に活性化される⁴⁾。一方で、RAR にアゴニストが結合していない場合は、RXR 選択的アゴニストによって RAR-RXR ヘテロダイマーでの転写活性は活性

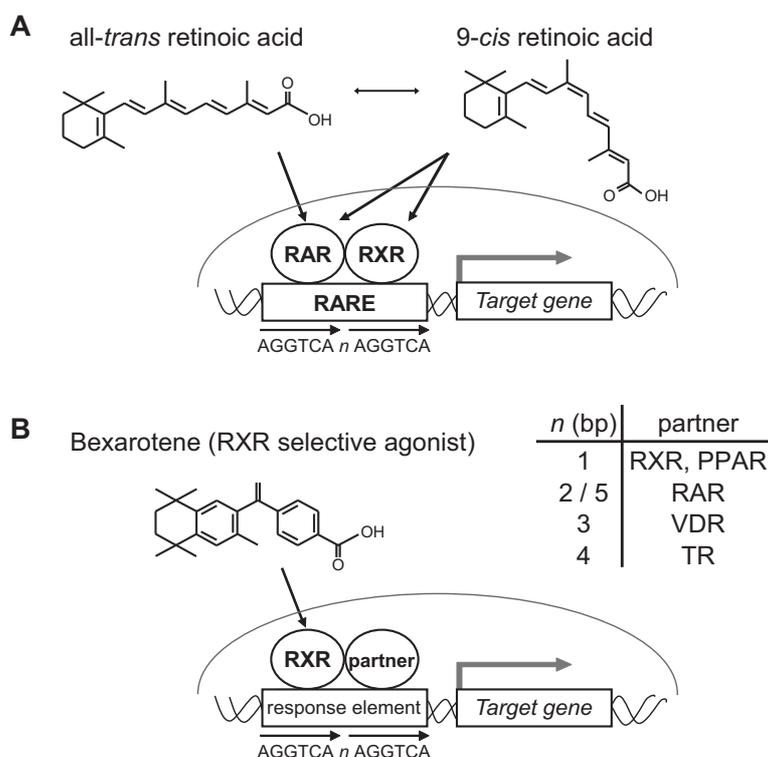


図 1 RXR を介したシグナル経路

化しない⁵⁾。つまり、RARの活性化を介したシグナル経路においてはRARへのアゴニストの結合によるRARの活性化が必須となる。これまでの研究で、骨格筋において、ATRAは筋分化を促進することが明らかとなっている⁶⁾。ATRAによる筋分化促進作用には主にRARが中心的な役割を果たしており、RXRはRARのサイレントパートナーであると考えられてきた。しかし、RXR選択的アゴニストがATRAよりも強い筋分化促進作用を有することが近年見いだされ、RARだけでなくRXRの活性化も筋分化において重要な役割を担っていることが示された⁷⁾。RXRはRAR以外にペロキシソーム増殖因子活性化受容体(PPAR)やビタミンD受容体(VDR)、甲状腺ホルモン受容体(TR)などの核内受容体とヘテロダイマーを形成するだけでなく、RXR同士でホモダイマーも形成するという特徴を持つことから⁸⁾、RXRの活性化を介した作用は非常に複雑であると考えられる(図1B)。そこで、本稿ではRXRの活性化を介した筋分化促進作用についての最近の知見について紹介する。

RXRの筋分化促進作用

骨格筋は運動、損傷などの物理的刺激を受けると骨格筋幹細胞のサテライト細胞が筋芽細胞へと分化する。単核の筋芽細胞はさらに分化し、筋芽細胞同士あるいは筋管細胞と融合することで多核の筋管細胞を形成する⁹⁾。これまでの研究で、ATRAはES細胞¹⁰⁾、マウス胚性腫瘍細胞のP19細胞⁷⁾、マウス由来筋芽細胞株C2C12細胞⁶⁾などの筋分化を促進することが明らかとなっている。C2C12細胞をATRA存在下で培養すると、筋分化制御因子のMyoDやmyogeninの発現上昇に伴い、筋分化が促進し、筋構成タンパク質のmyosin heavy chainとtroponin Tの発現が増加する⁶⁾。

RARとRXRにはそれぞれ α 、 β 、 γ の3つのアイソタイプが存在する。骨格筋ではRARとRXRは共に α タイプと γ タイプの発現量が多いことから⁶⁾、これらのアイソタイプが骨格筋で主に機能していると考えられる。C2C12細胞でRAR α とRXR α をそれぞれ高発現させると、どちらにおいても筋分化が促進し、RAR α とRXR α が共発現するとさらに筋分化を促進する。したがって、RAR-RXRヘテロダイマーを介したレチノイン酸シグナルは筋分化に重要な役割を果たしていると考えられる。*in vivo*におけるRARの役割については、骨格筋が外科手術、過度な運動などにより損傷を受けると修復・再生する筋再生という能力を利用して評価されている。マウスの後肢筋肉にカルジオトキシンを投与することで筋損傷を誘発した場合、

RAR γ 選択的アゴニストを経口投与すると、筋損傷からの回復が促進する。同様に筋損傷からの回復をRAR γ ノックアウトマウスで評価すると、野生型マウスと比較して筋再生が遅れる¹¹⁾。これらの研究から分かるように、これまで骨格筋の筋分化におけるレチノイン酸シグナルは主にRARに着目した研究が進められてきた。しかし、近年ES細胞をRXR選択的アゴニストであるbexarotene(BEX)存在下で分化させると、ATRAと比較して筋分化する細胞の割合が多く、BEXはATRAよりも効率的に筋細胞への分化を促進することが明らかとなった⁷⁾。さらに、このRXRを介した筋分化促進作用のメカニズムは、RARを介した作用と共通する点と異なる点が存在することが判明した。まず、共通する点としてWnt/ β -cateninシグナルがあげられる。Wntシグナルの中でも β -cateninを介したWnt/ β -cateninシグナルは筋分化を正に制御することが知られており、レチノイン酸による筋分化促進作用にはWnt/ β -cateninシグナルが関与することが報告されている¹²⁾。P19細胞にドミナントネガティブ型の β -cateninを高発現させると、ATRAまたはBEXによる筋細胞への分化が抑制されたことから、RARとRXRの筋分化促進作用にはWnt/ β -cateninシグナルが共通して関与すると考えられる。一方、異なる点として応答配列への選択性があげられる。RAR-RXRのヘテロダイマーが結合するRAREは5'-AGGTCA-3'を基本としたモチーフが2つ繰り返した配列(Direct Repeat; DR)からなり、2つのモチーフ間に2つまたは5つのヌクレオチドが存在し、それぞれDR2またはDR5と名付けられている¹³⁾。一方、2つのモチーフ間に1つのヌクレオチドが存在するDR1にはRXRのホモダイマーやPPAR-RXRが結合し、3つのヌクレオチドが存在するDR3にはVDR-RXRが結合する。DR5のレポーター活性測定系においてATRAはレポーター活性を増加させるが、BEXはレポーター活性を上昇させなかった。また、ATRAにはないBEXによるRXR依存的な作用として、BEXはRXR α を介してAkt2の発現を上昇させ、筋分化を促進させることが明らかとなった¹⁴⁾。Aktは細胞増殖や生存、インスリンシグナルの代謝調節など多くの細胞プロセスを調節するセリンスレオニンキナーゼであり、3つのアイソフォーム(Akt1, Akt2, Akt3)が存在する。Akt1は広く様々な組織で発現しているが、Akt2は骨格筋と肝臓で発現し、Akt3は脳での発現が高い。これら3つのアイソフォームの中でもAkt2のみが筋分化初期に発現が上昇することから、通常時の筋分化には主にAkt2が関与していると考えられている。Akt2遺伝子のプロモーター解析により、Akt2の

プロモーター領域に RXR の結合サイトが存在し、BEX によりヒストンのアセチル化が増加して Akt2 の転写が促進することが示された。さらに、マイクロアレイにより ES 細胞の筋分化時における BEX と ATRA の標的遺伝子の網羅的な解析の結果、BEX で発現が変動した遺伝子の多くは ATRA でも同様に制御されており、その多くは転写調節に関与する遺伝子であった¹⁵⁾。BEX と ATRA の両方で発現が上昇した遺伝子の中には、発現量が異なる遺伝子も存在し、骨格筋細胞への分化を誘導する Pax3 と Pax7 の発現は BEX でより高く上昇していた。RXR の内在性のリガンドである 9CRA はビタミン A を過剰に摂取した場合以外には生体内では検出されないという報告もあることから¹⁶⁾、通常では活性化状態にない RXR が BEX により活性化し、内在性のレチノイン酸と相乗的に RAR-RXR のヘテロダイマーを活性化させている可能性が考えられる。一方で、BEX と ATRA で異なる発現変動を示した遺伝子も存在し、その中でも筋分化制御因子の調節に関与する Meox1 が BEX のみで発現が上昇した。これらの結果から、筋分化促進作用を持つ遺伝子の発現調節において、BEX は ATRA より強く発現調節作用を発揮すること、また ATRA とは異なる遺伝子の発現を促進することが示唆され、RXR は RAR-RXR ヘテロダイマーに依存した経路と RAR に依存しない経路の両方で筋分化を制御していると推測された。

おわりに

これまで、レチノイン酸による筋分化促進作用は RAR が主に機能していると考えられており、RAR に着目した研究が多く行われてきた。しかし、筋分化において RAR のパートナーである RXR の活性化の重要性についても近年の研究により明らかになりつつある。活性化した RXR の作用は、RAR に依存した機構だけでなく、非依存的な機構も存在し、RXR は転写因子としての機能を介して様々なシグナル経路を制御していると考えられる。今回紹介した Akt2 や Meox1 のような BEX のみで発現の上昇する遺伝子については、RXR が RAR 以外の核内受容体と二量体を形成することにより転写が制御されている可能性が考えられる。したがって、これらの遺伝子の発現が RXR とどの転写因子の組み合わせによって制御されているかについては今後さらなる検討が必要である。また、筋分化に関与する RXR の標的遺伝子のみならず、RAR の標的遺伝子についてもこれまでほとんど明らかになっておらず、その標的遺伝子の同定も今後の課題である。効率的に筋分化を促進させるメカニズムの解明が進め

ば、筋疾患の治療や再生医療に応用できることから、筋分化における RXR の機能について今後のさらなる研究に期待したい。

(2019. 2.7 受付)

Key Words: retinoid X receptor, retinoic acid, myogenic differentiation

Division of Applied Life Sciences, Graduate School of Life and Environmental Sciences, Osaka Prefecture University
Mayu Yamaguchi, Naoki Harada, Ryoichi Yamaji
大阪府立大学大学院生命環境科学研究科応用生命科学専攻
山口 真由, 原田 直樹, 山地 亮一

文 献

- 1) Rhinn M, Dollé P (2012) Retinoic acid signalling during development. *Development* **139**, 843-858
- 2) Duester G (2008) Retinoic acid synthesis and signaling during early organogenesis. *Cell* **134**, 921-931
- 3) Heyman RA, Mangelsdorf DJ, Dyck JA, Stein RB, Eichele G, Evans RM, Thaller C (1992) 9-Cis Retinoic Acid Is a High Affinity Ligand for the Retinoid X Receptor. *Cell* **68**, 397-406
- 4) Germain P, Iyer J, Zechel C, Gronemeyer H (2002) Co-regulator recruitment and the mechanism of retinoic acid receptor synergy. *Nature* **415**, 187-192
- 5) Széles L, Póliska S, Nagy G, Szatmari I, Szanto A, Pap A, Lindstedt M, Santegoets SJ, Rühl R, Dezsö B, Nagy L (2010) Research Resource: Transcriptome Profiling of Genes Regulated by RXR and Its Permissive and Nonpermissive Partners in Differentiating Monocyte-Derived Dendritic Cells. *Mol Endocrinol* **24**, 2218-2231
- 6) Zhu GH, Huang J, Bi Y, Su Y, Tang Y, He BC, He Y, Luo J, Wang Y, Chen L, Zuo GW, Jiang W, Luo Q, Shen J, Liu B, Zhang WL, Shi Q, Zhang BQ, Kang Q, Zhu J, Tian J, Lu HH, Haydon RC, Chen Y, He TC (2009) Activation of RXR and RAR signaling promotes myogenic differentiation of myoblastic C2C12 cells. *Differentiation* **78**, 195-204
- 7) Le May M, Mach H, Lacroix N, Hou C, Chen J, Li Q (2011) Contribution of Retinoid X Receptor Signaling to the Specification of Skeletal Muscle Lineage. *J Biol Chem* **286**, 26806-26812
- 8) Chambon P (2005) The Nuclear Receptor Superfamily: A Personal Retrospect on the First Two Decades. *Mol Endocrinol* **19**, 1418-1428
- 9) Chal J, Pourquie O (2017) Making muscle: skeletal myogenesis *in vivo* and *in vitro*. *Development* **144**, 2104-2122
- 10) Ryan T, Liu J, Chu A, Wang L, Blais A, Skerjanc IS (2012) Reti-

- noic Acid Enhances Skeletal Myogenesis in Human Embryonic Stem Cells by Expanding the Premyogenic Progenitor Population. *Stem Cell Rev* **8**, 482-493
- 11) Di Rocco A, Uchibe K, Larmour C, Berger R, Liu M, Barton ER, Iwamoto M (2015) Selective Retinoic Acid Receptor γ Agonists Promote Repair of Injured Skeletal Muscle in Mouse. *Am J Pathol* **185**, 2495-2504
- 12) Kennedy KA, Porter T, Mehta V, Ryan SD, Price F, Peshdary V, Karamboulas C, Savage J, Drysdale TA, Li SC, Bennett SA, Skerjanc IS (2009) Retinoic acid enhances skeletal muscle progenitor formation and bypasses inhibition by bone morphogenetic protein 4 but not dominant negative β -catenin. *BMC Biol* **7**, 67
- 13) Zhang R, Wang Y, Li R, Chen G (2015) Transcriptional Factors Mediating Retinoic Acid Signals in the Control of Energy Metabolism. *Int J Mol Sci* **16**, 14210-14244
- 14) AlSudais H, Aabed K, Nicola W, Dixon K, Chen J, Li Q (2015) Retinoid X Receptor-selective Signaling in the Regulation of Akt/Protein Kinase B Isoform-specific Expression. *J Biol Chem* **290**, 3090-3099
- 15) Dixon K, Chen J, Li Q (2017) Gene expression profiling discerns molecular pathways elicited by ligand signaling to enhance the specification of embryonic stem cells into skeletal muscle lineage. *Cell Biosci* **7**, 23
- 16) Mic FA, Molotkov A, Benbrook DM, Duester G (2003) Retinoid activation of retinoic acid receptor but not retinoid X receptor is sufficient to rescue lethal defect in retinoic acid synthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**, 7135-7140