

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 22 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19695

研究課題名(和文) アンジオポエチン様因子2が皮膚の加齢性変化および加齢性皮膚がんに与える影響の検討

研究課題名(英文) Analysis of the effect of Angiopoietin-like protein 2 in the skin senescence and carcinogenesis

研究代表者

青井 淳 (Aoi, Jun)

熊本大学・医学部附属病院・寄附講座教員

研究者番号：60467991

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：皮膚老化とアンジオポエチン様因子2 (Angptl2)の関連について検討した。その結果、Angptl2皮膚過剰発現マウスでは野生型と比較してコラーゲンの発現低下、p16INK4aなどの皮膚老化を示唆する因子の発現亢進を認め、Angptl2ノックアウトマウスではpコラーゲンの発現増加、p16INK4aなどの因子は発現の減弱を認めた。また、IL-6やIL-8、MMP-3などのSASP(senescence-associated secretory phenotype)と呼ばれる老化関連因子についてもAngptl2皮膚過剰発現マウスの皮膚での発現亢進を認めた。

研究成果の概要(英文)：We reported that K14-Angptl2 Tg mice, over expressing Angptl2 in skin epithelial cells, show enhanced the skin senescence. Conversely, Angptl2 KO mice show retard the skin senescence. The expression of Collagen is decreased, and p16INK4a, senescence indicator, is increased in the skin of K14-Angptl2 Tg mice. Inversely, the expression of collagen is increased, and the expression of p16INK4a is decreased in the skin of Angptl2 KO mice. Additionally, SASP (senescence-associated secretory phenotype): IL-6, IL-8 and MMP-3 are increased the skin of K14-Angptl2 Tg mice.

研究分野：皮膚老化、皮膚がん

キーワード：老化 アンジオポエチン様因子2 発がん

1. 研究開始当初の背景

がんによる死亡はいまだ増加傾向で、死亡原因の大きな部分を占め (Chiang and Massague, 2008)、社会的、問題としてその重要性を増している。

近年、明らかな感染の既往がないにも関わらず、生体内に低レベルの持続的な炎症、すなわち慢性炎症が誘導され、様々ながん種の発症・進展の共通の原因となっていることが注目されている (Grivennikov, Greten et al., 2010)。しかし、その詳細なメカニズムは未だ明らかになっていない。アンジオポエチン様因子 2

(Angiopoietin-like protein2 ; Angptl2)はアンジオポエチン様因子ファミリーに含まれる分泌タンパクであり、重要な慢性炎症の調節因子として、肥満において脂肪組織で局所の炎症を惹起し、全身性のインスリン抵抗性を引き起こすこと (Tabata, Kadomatsu et al., 2009)、慢性関節リウマチの発症・病態形成において重要な役割を担っていること (Okada, Tsukano et al., 2010)などが相次いで報告されている。

申請者らは、ヒトの皮膚を含めた様々ながん組織においてアンジオポエチン様因子 2 の発現が正常組織に比べて有意に亢進していることを確認し、さらにがんの発症および進展に大きく関与していることを明らかにした (Aoi J, Endo M. et al., 2011)。

また、皮膚の老化は内因性因子と外因性因子が複雑に絡み合っており、他の臓器と比較してそのメカニズムは意外なほど解明されていない。さらに、皮膚の老化についてはとくにヒトにおいて客観的に評価が困難なことも研究がすすまない大きな理由と考

えられる。皮膚がんと皮膚老化は深いかわりがあることは以前から予想されているものの、その機序についても明らかではない部分が多い。申請者はこれまで得た知見から、アンジオペチン様因子 2 が皮膚老化にも重要な役割を果たしていると考えた。さらに最近、様々な臓器において SASP (Senescence-associated secretory phenotype) といわれる概念が提唱され、組織の老化において重要な役割を果たしているとされている。申請者は、SASP が皮膚老化における内因性因子としてアンジオポエチン様因子 2 とどのように絡み合うかを明にしたと考えた。

2. 研究の目的

今回、申請者は皮膚老化のメカニズムとそれに引き続く皮膚がん発症について検討を行うことを研究の目的とした。

3. 研究の方法

申請者は、老化およびそれに続くと思われる皮膚発がんに関するメカニズムを明らかにするにあたり、アンジオポエチン様因子 2 が重要な役割を果たすと予想した。その仮説を証明するために、ケラチン 14 プロモーターを用いて表皮特異的にアンジオポエチン様因子 2 を過剰発現させた K14-Angptl2 トランスジェニック (Tg) マウス、野生型のマウス、アンジオポエチン様因子 2 の発現を無効化した *Angptl2* ノックアウト (KO) マウスであり、これら 3 タイプのマウスを用いた。まず、皮膚について皮膚老化の評価を行うために、それぞれの遺伝子型のマウスについて 0 週、8 週、20 週、30 週における 型コラーゲンの産

生、皮膚における p16INK4a の発現を評価した。続いて、代表的な SASP である IL-6、IL-8、MMP-3 などについても同時期に評価を行った。野生型についてはアンジオポエチン様因子 2 の発現量の変化もあわせて検討した。さらに、それぞれの遺伝子型のマウスに対して化学物質誘発がん刺激を行い、同様に 型コラーゲンの産生、皮膚における p16INK4a の発現および、SASP についても評価することとした。

併せて、マウス実験から得られた結果をヒトサンプルを用いて検証した。

4 . 研究成果

(1) まず、野生型マウスは週齢が進むにしたがって、アンジオポエチン様因子 2 の発現は亢進し、 型コラーゲンの産生量が低下、p16INK4a の発現は増加していた。K14-*Angptl2* Tg マウスは、野生型マウスと比較して 型コラーゲンの産生が低下していた。さらに、p16INK4a の発現は 20 週以降は有意に増加していた。一方、*Angptl2* KO マウスは、野生型マウスと比較して 型コラーゲンの産生は増加し、p16INK4a の発現が皮膚において有意に低下していた。つまり、K14-*Angptl2* Tg マウスのほうが老化の表現型が亢進しており、*Angptl2* KO マウスではそれが抑制されているようであった。SASP 因子についても同様に、K14-*Angptl2* Tg マウスは、野生型マウスと比較して皮膚における発現が亢進、反対に *Angptl2* KO マウスは、野生型マウスと比較して発現が低下する傾向をしめした。

(2) 3 つの遺伝子型の皮膚化学発がんモデルの過程での皮膚組織における 型コラー

ゲンの産生、p16INK4a の発現については時間経過による一定の傾向は認めなかったものの、導入前と後を比較すると、どの遺伝子型でも 型コラーゲンの産生が低下していた。さらに、p16INK4a の発現は 20 週以降は有意に増加するという結果をえた。しかし、この結果については週齢の進行による変化も考えられるので再検討が必要であると考えた。

(3) 併せて、ヒト皮膚サンプルで検討を行った。まず、正常皮膚、良性腫瘍である脂漏性角化症、上皮内がんである日光角化症、有棘細胞がんについて p16INK4a の発現を検討した。これまでの欧米からの報告と同様に、p16INK4a の発現は正常皮膚および脂漏性角化症では低い発現にとどまり、日光角化症、有棘細胞がんと進むにつれて発現が有意に増強するという結果を得た。しかし、コラーゲン産生量や SASP については腫瘍の部位、状態に大きく左右されるためか一定の結果を得ることはできなかった。

(4) 以上より、申請者はアンジオポエチン様因子 2 は皮膚老化を亢進する内因性因子として重要であり、そのメカニズムは明らかではない部分を残すものの SASP が何らかの役割を果たすものと考えた。今後はマウスのサンプルを増やし、再現性を確認する必要を考えている。また、ヒトサンプルにおける検討としては、非露光部の皮膚における年齢における変化を検討する必要性が考えられた。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 2 件)

Tanigawa H, Miyata K, Tian Z, Aoi J,
Kadomatsu T, Fukushima S, et al.
Upregulation of ANGPTL6 in mouse
keratinocytes enhances susceptibility to
psoriasis. Sci Rep. 2016 Oct 04;6:34690.
査読有り

6 . 研究組織

(1)研究代表者

青井 淳 (A01, Jun)

熊本大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：60467991