

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20592060

研究課題名（和文）

酸化ストレスによる角膜上皮細胞の形質転換と悪性転化の抑制

研究課題名（英文）

Reactive oxygen species-induced epithelial mesenchymal transition and inhibition of malignant transformation in corneal epithelial cells

研究代表者

加藤 直子 (KATO NAOKO)

慶應義塾大学・医学部・講師

研究者番号：20398605

研究成果の概要（和文）：

マウス由来培養角膜上皮細胞(TKE2)に長波長紫外線を照射すると、p38 MAPK がリン酸化され、上皮間葉系移行様の形質転換が起こった。この変化はNアセチルシステインの添加で抑制された。しかし、p38 の阻害剤 SB202190 を添加して紫外線を照射すると TKE2 は細胞死に至った。異常より、角膜上皮細胞は p38 を介して紫外線暴露による細胞死を回避しており、随伴して EMT 様の変化が起きると考えられる。

研究成果の概要（英文）：

An immortalized mouse corneal epithelial cells, TKE2 were cultured and exposed to ultraviolet A. Then, p38 MAPK was phosphorylated shortly after ultraviolet exposure. the TKE2 cells revealed partial epithelial mesenchymal transition-like phenotypical changes. Those reactions were inhibited by addition of n-acetyl cysteine, an anti-oxidant. However, when SB202190, an inhibitor for p38, was added and ultraviolet was exposed, TKE2 showed cell death. Those results may indicate that p38 that is phosphorylated by ultraviolet exposure prevents cell death after ultraviolet exposure, and simultaneously causes epithelial mesenchymal transition-like changes in corneal epithelial cells.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合 計
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総 計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・眼科学

キーワード：角膜上皮細胞、紫外線、酸化ストレス、上皮間葉系移行、アポトーシス

1．研究開始当初の背景

翼状片は、紫外線暴露量に相関して角膜輪部に発生する良性腫瘍であり、角膜輪部から中央部へ延びる楔形の線維血管性病変である。申請者らは、先行研究により、翼状片先端部の上皮細胞が上皮としての形質を失い間葉系細胞に類似した形質を獲得していることを報告した。これは上皮間葉系移行と呼ばれ、器官形成や様々な臓器での線維症、悪性腫瘍の転移の際に重要な役割を担う変化である。また、翼状片先端部の上皮細胞は、超微細構造的に角膜輪部上皮基底細胞と類似していた（文献4）。以上の事実より、角膜輪部に存在する角膜幹細胞が慢性的な紫外線暴露により持続的な炎症や酸化ストレスを受け、その上皮間葉系移行を起こすことで翼状片が発生すると考えた。

2．研究の目的

紫外線などの刺激による角膜上皮幹細胞の形質転換のメカニズムと悪性腫瘍転化を抑制する機序の解明

3．研究の方法

培養角膜上皮細胞に酸化ストレス刺激（過酸化水素添加、紫外線照射）を行い、上皮間葉系移行様の形質変化を起こさせる細胞内シグナル伝達を特定する。

4．研究成果

マウス角膜上皮細胞株 TKE2 に過酸化水素を添加したところ、E カドヘリン、 β カテニンの膜染色性が低下し、p38 が活性化したが、 α SMA やビメンチンなどの間葉系マーカーは発現しなかった。

TKE2 に超波長紫外線を照射したところ、過酸化水素を添加したのと同様に、E カドヘリン、 β カテニンの膜染色性が低下し、p38 がリン酸化され、Snail が発現し、MMP2、9 などの間葉系マーカーの一部が誘導された。ところが、p38 の阻害剤である SB202190 を添加してから紫外線を照射したところ、TKE2 は細胞死に陥り、Annexin V、Caspase 3 などが発現したことより、この細胞死はアポトーシスと考えられた。また、SB202190 を添加し紫外線照射した後の TKE2 では、コロニー形成率が有意に低下していた。

これらのことより、角膜上皮細胞における p38 の活性化が紫外線照射後の上皮間葉系類似の形質転換に必要であると同時に、角膜上皮細胞を紫外線照射によるアポトーシスから防御しているのではないかと考えられた。

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1件）

- ・ Kato N, Shimmura S.
Epithelial-mesenchymal transition in the pathogenesis of pterygium.
Inflammation and Regeneration 2008; 28: 434-439 （査読有り）

〔学会発表〕（計6件）

- ・ 加藤直子、久保田みゆき、川北哲也、宮下英之、吉田 悟、坪田一男、榛村重人

酸化ストレスによる角膜上皮細胞における p38 の活性化とその役割 第 115 回日本眼科学会総会 2011 年 5 月 13 日 (東京)

- ・ 加藤直子、久保田みゆき、川北哲也、宮下英之、吉田 悟、坪田一男、榛村重人
酸化ストレスによる角膜上皮細胞のアポトーシスと p38 活性化による保護 角膜カンファランス 2011 2011 年 2 月 18 日 (東京)

- ・ N.Kato, S. Shimmura, T. Kawakita, H. Miyashita, S. Yoshida, K. Tsubota.
Ultraviolet A exposure induces activation of p38 MAPK pathway and epithelial mesenchymal transition-like changes in corneal epithelial cells. Second Asia Cornea Society Scientific Meeting, 2010 2010/12/3, Kyoto

- ・ N.Kato, S. Shimmura, T. Kawakita, H. Miyashita, S. Yoshida, K. Tsubota.
Ultraviolet A exposure induces activation of p38 MAPK pathway and epithelial mesenchymal transition-like changes in corneal epithelial cells. Second Asia Cornea Society Scientific Meeting, 2010 2010/12/3, Kyoto

- ・ N.Kato, S. Shimmura, T. Kawakita, H. Miyashita, S. Yoshida, K. Tsubota.
Reactive oxygen species produced by UVA causes epithelial mesenchymal transition-like changes in corneal epithelial cells. ARVO meeting, 2010/5/3 Fort Lauderdale, USA

- ・ 加藤直子、榛村重人、川北哲也、宮下英之、吉田 悟、坪田一男
紫外線暴露による角膜上皮細胞での上皮間葉系移行における p38 の活性化 第 34 回角膜カンファランス 2010 年 2 月 12 日 (仙台)

〔図書〕(計 1 件)

加藤直子

翼状片はなぜ悪性腫瘍にならないのだろう? 眼のサイエンス 眼疾患の謎 45-46 頁 2010 年 文光堂 (東京)
第 1 版

〔産業財産権〕

○ 出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○ 取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

なし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

加藤直子 (KATO NAOKO)

慶應義塾大学・医学部・講師

研究者番号：2 0 3 9 8 6 0 5

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし