

平成 22 年 5 月 14 日現在

<p>研究種目：若手研究 (B) 研究期間：2008～2009 課題番号：20790786 研究課題名 (和文) 癌抑制遺伝子 p53 類似遺伝子 p51 / p63 の表皮細胞分化における機能の解析</p> <p>研究課題名 (英文) analysis of function about keratinocyte differentiation of p51/p63, homologue of tumor suppressor gene p53</p> <p>研究代表者 小川 英作 (OGAWA EISAKU) 東北大学・大学院医学系研究科・助教 研究者番号：20451586</p>
--

研究成果の概要 (和文)：

表皮細胞の分化マーカーであるケラチン1の発現に p51/p63 (p63 と略) が関与することが分かった。p63 は JNK を活性化し、AP-1 を通じて、ケラチン1の発現を増強するが、真皮由来の KGF が ERK を介して、その発現を減弱させる事が分かった。

次に p63 と sonic hedgehog の関係を解析した。表皮細胞で p63 を過剰発現すると sonic hedgehog のプロモーター活性が上昇していた。基底細胞癌で p63 の発現が多いことが免疫染色で分かった。

研究成果の概要 (英文)：

I found that p63 was related to the mechanism of keratin 1 expression in keratinocyte differentiation. p63 induces keratin 1 via JNK/AP-1 activation. I explained keratinocyte growth factor, from dermal fibroblast, suppressed keratin 1 expression via ERK signaling.

I examined the relationship between p63 and sonic hedgehog. I overexpressed p63 in keratinocyte and showed the promoter activity of sonic hedgehog increased. In vivo, I showed that p63 expressed strongly in basal cell carcinoma by immunostaining method.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・皮膚科学

キーワード：発生・分化、表皮細胞分化、p51/p63、p53

1. 研究開始当初の背景

表皮は深層から順に基底層、有棘層、顆粒層、角層に区別される。表皮細胞が様々な刺激により制御を受けて、正常に分化することにより、水分保持能や刺激防御能を持ち、恒常性を維持している。それが破綻することにより、様々な皮膚疾患を生じる。表皮細胞の分化を解析することは、皮膚疾患の病態を解明する上で重要である。特に癌抑制遺伝子 p53 の類似遺伝子 p51/p63 は、ここ数年表皮細胞の分化に重要な因子であると認識されている。p51 は、癌抑制遺伝子 p53 のホモログとして、1998 年に初めて報告された。癌抑制遺伝子 p53 のホモログはこの他に p73 がある。p51 は p53 と構造がよく似ており、transactivation domain(TA domain)、DNA binding domain、oligomerization domain、Sterile α motif domain(SAM domain)、transactivation inhibitory domain(TID)から構成されている。

しかし、p53 は様々な臓器で発現しているが、p51 は主に表皮などの上皮組織で発現している。p53 とは異なり、p51 は遺伝子構造上 2 つの異なるプロモーター領域(TA-type、 Δ N-type)があり、3 種類の可変式スプライシング(α 、 β 、 γ)を持つので、複数のアイソフォームが存在する。p51 は表皮では主として、基底層を中心に発現しており、もっとも多く発現しているアイソフォームは Δ Np51B(Δ Np63 α)である。

p51 のノックアウトマウスは、全ての重層扁平上皮とその付属器が完全に欠損し、四肢と頭頸部発生に重大な欠陥を生じ、口蓋裂・口唇裂・歯牙欠損が生じ、脱水のため生後すぐに死亡した。また、異所性に p51 を発現させると、肺の単層上皮が重層扁平上皮のよう

に変化した。さらに、先天性外胚葉形成不全症である ectrodactyly ectodermal dysplasia and facial clefting (EEC) 症候群、Hay-Wells 症候群 (ankyloblepharon ectodermal dysplasia clefting (AEC) 症候群) の原因遺伝子が、p51 であり、その症状が、上に記した p51 ノックアウトマウスの表現型に近いことが分かった。また、p51+/-マウスは特に癌になりやしくないという報告もなされた。以上のことから、表皮において、p51 は癌抑制遺伝子というよりは、表皮の発生や分化になくてはならない遺伝子であると考えられている。

現在、私は p51/p63 から表皮細胞の分化のメカニズムを解明している。

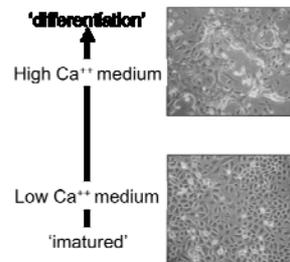
2. 研究の目的

p51/p63 による表皮細胞の分化のメカニズムを明らかにすること。

3. 研究の方法

主にマウスの培養表皮細胞を使用し、細胞生物学的な研究を行った。その他、タンパク質の発現などには生化学的な解析を用い、p51/p63 の発現の調整には分子生物学的手法を用いた。そして、得られた結果により、皮膚疾患の病態解明をするためには、臨床医学的な研究もおこなった。

表皮細胞の分化は培地のカルシウム濃度を上昇させる事で誘導した。

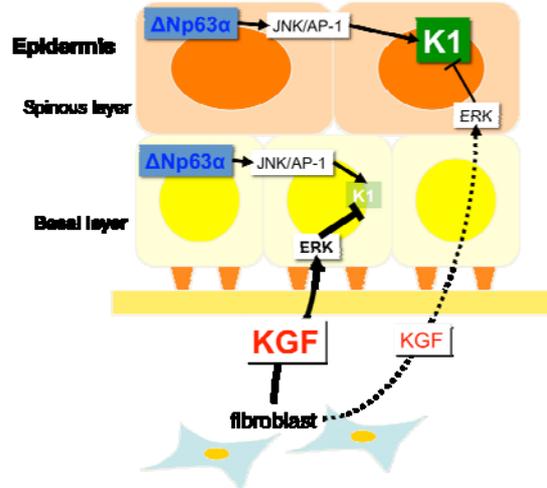


4. 研究成果

2008年度まではp51/p63によりどのようなシグナル伝達の活性変化が起こり、その結果、表皮細胞分化にどのように関係しているかを実験によって明らかにした。表皮細胞の分化過程におけるケラチン1の発現メカニズムに p51/p63 が関与している事が分かった。p51/p63 は c-Jun N-terminal kinase (JNK) を活性化し、その下流の AP-1 を通じて、ケラチン1の発現を増強する事が分かった。しかし、表皮の基底層では p51/p63 が発現しているにも関わらず、ケラチン1の発現を認めない。これについて、真皮からの影響があるものと考え、その一部が keratinocyte growth factor (KGF) によるものである事を同定した。KGF が extracellular signal-related kinase (ERK) を介して、ケラチン1の発現を p51/p63 に抗して、減弱させるという事が分かった。

2009年度は、p51/p63 の下流のシグナルとして、sonic hedgehog の関与を考えて、解析している。sonic hedgehog は、生物発生段階の形態形成に重要な因子であるが、皮膚癌の一種である基底細胞癌ととても密接に関連している事が知られている。まず、表皮細胞で p51/p63 を過剰発現させたところ、sonic hedgehog のプロモーター活性が上昇する事を確かめた。次に p51/p63 には多数のアイソフォームがある事が知られているので、そのうちどのアイソフォームで活性化されるかを調べた。すると、p51/p63 の中でも、表皮で最も多く存在する $\Delta Np63\alpha / \Delta Np51B$ で最もプロモーター活性が上昇する事が確かめられた。以上の事から、現在、基底細胞癌の病態形成と p51/p63、sonic hedgehog には関わりがあるのではないかと考え、更なる解析を進めている。

<私の考えている K1 制御メカニズム>



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)

1. E Ogawa, R Okuyama, T Egawa, H Nagoshi, M Obinata, H Tagami, S Ikawa and S Aiba : p63/p51-induced Onset of Keratinocyte Differentiation via the c-Jun N-terminal Kinase Pathway Is Counteracted by Keratinocyte Growth Factor. THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY VOL. 283, NO. 49 : 34241-34249, 2008, 査読あり

2. E Ogawa, R Okuyama, T Egawa, H Nagoshi, H Tagami, S Ikawa, S Aiba : Ectopic expression of the p53 homologue p63 is linked to squamous metaplasia in extramammary Paget ' s disease with invasive adenocarcinoma. Histopathology, 54 : 374-393, 2009, 査読あり

[学会発表] (計 2 件)

1. 小川英作、奥山隆平、岡田修子、井川俊太郎、相場節也、p63 prevents growth arrest via Sonic hedgehog induction、日本研究皮膚科学会第 3 4 回年次学術大会・総会、2009 年 12 月 4 日、福岡

2. 奥山隆平、齊藤るみ子、小川英作、井川俊太郎、相場節也、Notch2 down-regulation in wound healing is contributed to acceleration of cell motility、日本研究皮膚科学会第 3 4 回年次学術大会・総会、2009 年 12 月 4 日、福岡

[図書] (計 0 件)

〔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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小川 英作 (OGAWA EISAKU)
東北大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号：20451586

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：