

平成 23 年 4 月 13 日現在

機関番号：32659

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21790292

研究課題名 (和文) 発毛環境創生におけるホスホリパーゼ C デルタ 1 の役割解析

研究課題名 (英文) Roles of phospholipase C delta1 in hair shaft formation

研究代表者 中村 由和 (NAKAMURA YOSHIKAZU)

東京薬科大学・生命科学部・講師

研究者番号：60366416

研究成果の概要 (和文) : FOXN1 は毛の形成に不可欠な転写因子である。我々はイノシトールリン脂質代謝系の酵素であるホスホリパーゼ C (PLC) $\delta 1$ が正常な毛の形成に必須であることを明らかにしていた。本研究において FOXN1 制御下で発現する PLC $\delta 1$ が正常な毛の形成に重要であることが判明した。また PLC $\delta 1$ は Foxn1 下流において毛の形成に重要な因子である Notch1 の発現を調節していることも判明した。

研究成果の概要 (英文) : A transcription factor, FOXN1 is essential for hair formation. Phospholipase C (PLC) $\delta 1$, a key molecule in the phosphoinositide signaling pathway, is essential for normal hair formation. In this study, we found that Foxn1-mediated expression of PLC $\delta 1$ is important in normal hair formation and Notch1 expression.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
20 年度	1,600,000 円	480,000 円	2,080,000 円
21 年度	1,600,000 円	480,000 円	2,080,000 円
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000 円	960,000 円	4,160,000 円

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・医化学一般

キーワード：毛形成、ホスホリパーゼ C、FOXN1、Notch

1. 研究開始当初の背景

毛髪を形成する細胞は、自身および周囲の細胞から放出された発毛促進因子を受容し、細胞内シグナル伝達経路を介して毛の形成を行っている。発毛促進因子の一つである骨形成因子 (BMP) は転写因子 FOXN1 の発現誘導を介し毛の構成ケラチンの発現を誘導する

ことで毛の形成を制御していることが示唆されている。FOXN1 は毛の構成ケラチンの発現を制御しており正常な毛の形成に不可欠な転写因子である。しかしながら、FOXN1 がどのような機構で毛の構成ケラチンの発現を制御しているのかについての詳細な機構は明らかにされていない。

2. 研究の目的

我々は、イノシトールリン脂質代謝系の要となる酵素であるホスホリパーゼ C (PLC) の一つである PLC δ 1 が FOXN1 による発現誘導を受け、FOXN1 依存的な毛形成に必須であることを明らかにしてきていた。しかしながら、PLC δ 1 は全身の広い組織に分布するのに対し、FOXN1 は主に皮膚、胸腺に発現するといった非常に限局した組織分布を示すため、PLC δ 1 は FOXN1 以外の機構によっても発現制御を受けているものと考えられる。そのため、FOXN1 下流で発現誘導を受ける PLC δ 1 が毛の形成を制御しているのかは不明であった。また、PLC δ 1 が FOXN1 依存性の毛の形成に必須であることは明らかにしていたが、PLC δ 1 がどのような分子機構を介して FOXN1 の下流にて毛の形成を制御しているのかは不明であった。そこで、本研究では上記の2点について明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

FOXN1 下流での PLC δ 1 の発現が毛の形成を制御しているのか否かの検討および PLC δ 1 が毛の形成を制御する分子機構の解明を以下の方法により試みた。

1) FOXN1 プロモーター下流にて PLC δ 1 を発現するような PLC δ 1 欠損 (KO) マウスの解析。

FOXN1 下流で発現誘導を受ける PLC δ 1 とそれ以外の機構により発現制御を受ける PLC δ 1 を区別するために、FOXN1 プロモーター下流にて PLC δ 1 を発現するようなトランスジェニックマウスと PLC δ 1KO マウスを交配させることにより作製された FOXN1 プロモーター下流にてのみ PLC δ 1 を発現するような PLC δ 1KO マウスを解析に用いた。これらのマウスにおける毛の形成についての解析を行うことにより FOXN1 下流で発現制御を受ける PLC δ 1 が FOXN1 依存性の毛の形成を制御しているのかについて検討を行った。

2) FOXN1 下流にて PLC δ 1 依存的に発現変化が見られる毛形成関連遺伝子の検索。

FOXN1 下流にて PLC δ 1 依存的に発現変化が見られる遺伝子を同定するために、FOXN1 下流で発現制御を受け、毛の形成に関与することが報告されている遺伝子に注目し、それらの遺伝子の発現を野生型、PLC δ 1KO および FOXN1 プロモーター下流にて PLC δ 1 を発現するような PLC δ 1KO マウスの皮膚において検討した。

4. 研究成果

1) FOXN1 下流で発現誘導を受ける PLC δ 1 が毛

の形成に重要である。

FOXN1 プロモーター下流にて PLC δ 1 を発現するような PLC δ 1KO マウスの解析を行った結果、これらのマウスでは正常な毛の形成が見られた。このことから、FOXN1 下流で発現誘導を受ける PLC δ 1 が毛の形成に重要であり、FOXN1 以外により発現制御を受ける PLC δ 1 は毛の形成には必要ないことが判明した。



図 1. PLC δ 1KO マウス (左) および、FOXN1 プロモーター下流にて PLC δ 1 を発現する PLC δ 1KO マウス (右) の外見

2) PLC δ 1 は FOXN1 下流にて Notch1 の発現を調節する

FOXN1 下流にて PLC δ 1 が毛の形成を制御する分子機構については、毛の形成時の Notch1 の正常な発現に PLC δ 1 が必要であることが判明した。さらに、FOXN1 プロモーター下流にて PLC δ 1 を発現するような PLC δ 1KO マウスの皮膚においては野生型マウスと同程度の Notch1 の発現が見られることが判明した。これらの結果より、PLC δ 1 は FOXN1 下流にて Notch1 の発現を調節することにより毛の形成を制御していることが強く示唆された。

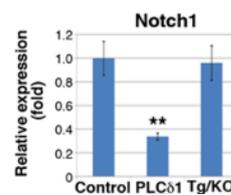


図 2. 野生型 (Control)、PLC δ 1KO (PLC δ 1)、FOXN1 プロモーター下流にて PLC δ 1 を発現するような PLC δ 1KO (Tg/KO) マウスの皮膚における Notch1 mRNA の発現

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 8 件)

1. Kouchi Z., Igarashi T., Shibayama N., Inanobe S., Sakurai K., Yamaguchi H., Fukuda T., Yanagi S., Nakamura Y., and Fukami K. Phospholipase C(δ)3 Regulates RhoA/Rho Kinase Signaling and

Neurite Outgrowth. *J. Biol. Chem.* 286, 8459-8471 (2011). 査読有り

2. Du F. (*), Nakamura Y. (*), Tan T.L., Lee P., Lee R., Yu B., and Jamora C. Expression of Snail in epidermal keratinocytes promotes cutaneous inflammation and hyperplasia conducive to tumor formation. *Cancer Res.*, 70, 10080-9. in press. 査読有り (*) **Equally contributed.**

3. Sakurai K., Hirata M., Yamaguchi H., Nakamura Y., and Fukami K. Phospholipase C δ 3 is a novel binding partner of Myosin VI and functions as anchoring of Myosin VI on plasma membrane. *Advan. Enzyme Regul.*, in press. 査読有り

4. Fukami K., Inanobe S., Kanemaru K., and Nakamura Y. Phospholipase C is a key enzyme regulating intracellular calcium and modulating phosphoinositide balance. *Prog Lipid Res.*, 49, 429-37 (2010) **Review**

5. Yamaguchi H., Yoshida S., Muroi E., Kawamura M., Kouchi Z., Nakamura Y., Sakai R., and Fukami K. Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate and PIP5-kinase I α are required for invadopodia formation in human breast cancer cells. *Cancer Sci.* 101, 1632-8 (2010) 査読有り

6. Kanemaru K., Nakahara M., Nakamura Y., Hashiguchi Y., Kouchi Z., Yamaguchi H., Oshima N., Kiyonari H., and Fukami K. Phospholipase C- ϵ 2 is highly expressed

in the habenula and retina. *Gene Expr. Patterns.* 10, 119-126 (2010). 査読有り

7. Nakamura Y., and Fukami K. Roles of phospholipase C isozymes in organogenesis and embryonic development. *Physiology*, 24, 332-41 (2009) **Review**

8. Yamaguchi H., Takeo Y., Yoshida S., Kouchi Z., Nakamura Y., and Fukami K. Lipid rafts and caveolin-1 are required for invadopodia formation and extracellular matrix degradation by human breast cancer cells. *Cancer Res.*, 69, 8594-602 (2009) 査読有り

[学会発表] (計 23 件)

1. 中村 由和, 金丸 佳織, 深見 希代子, 表皮におけるホスホリパーゼ C δ 1 の欠損は全身性の顆粒球増加を引き起こす、BMB2010 (ワークショップ)、2010/12、神戸

2. 金丸 佳織, 中村 由和, 児島 亮太, 深見 希代子 ホスホリパーゼ C δ 1 は正常な白血球数維持に重要である、BMB2010、2010/12、神戸

3. 鈴木 睦実, 平田 真之, 石井 里佳, 中村 由和, 深見 希代子 肥満形成におけるホスホリパーゼ C δ 1 の生理的役割、BMB2010、2010/12、神戸

4. 高橋 佐織, 中村 由和, 深見 希代子 ホスホリパーゼ C- δ 1 はヌード遺伝子 Foxn1 下流において正常な毛の形成を制御している、BMB2010、2010/12、神戸

5. 金丸 佳織、藤森 亮、児島 亮太、中村 由

- 和、深見 希代子、PLC $\delta 1$ は正常な白血球数の維持に重要である、第 5 2 回脂質生化学会、2010/6、群馬
6. 高橋 佐織、中村 由和、一戸 学、深見 希代子、ホスホリパーゼ C-delta1 による毛形成制御機構、第 5 2 回脂質生化学会、2010/6、群馬
7. 鈴木 睦実、平田 真之、石井 里佳、中村 由和、深見 希代子、肥満におけるホスホリパーゼ C $\delta 1$ の生理機能解析、第 5 2 回脂質生化学会、2010/6、群馬
8. Nakamura, Y., Ichinohe, M., Takahashi, S., Inanobe, S., Kanemaru, K., Fukami, K., Phospholipase C -delta1 Regulates Hair Keratin Expression And Hair Shaft Formation Downstream of Foxn1, The American Society for Cell Biology 49th Annual meeting, 2009/12, San Diego
9. Ishii, R., Hirata, M., Suzuki, M., Matsuoka, S., Nakamura, Y., Kouchi, Z., Yamaguchi, H., Sasaki, T., Kitamura, T., Fukami, K., Physiological functions of phospholipase C $\delta 1$ in adipose tissue development and obesity (part1), The 6th Japan-Korea Conference on cellular signaling for young scientists, 2009/11, Nagasaki
10. Shibayama, N., Kouchi, Z., Fukuda, T., Igrashi, T., Nakamura, Y., Yamaguchi, H., Yanagi, S., Fukami, K. Phospholipase C $\delta 3$ is involved in neurite outgrowth of cerebral cortical neurons and Neuro2A cells, The 6th Japan-Korea Conference on Cellular Signaling for Young Scientists, 2009/11, Nagasaki
11. Inanobe, S., Nakamura, Y., Ichinohe, M., Hirata, M., Kouchi, Z., Yamaguchi, H., Fukami, K., Lack of phospholipase C delta1 accelerates skin wound healing, The 6th Japan-Korea Conference on Cellular Signaling for Young Scientists, 2009/11, Nagasaki
12. 深見希代子、平田真之、石井里佳、一戸学、中村由和、ホスホリパーゼ C $\delta 1$ は様々な生理機能に関与する、第 82 回日本生化学会大会、2009/10、神戸（シンポジウム）
13. 中村由和、一戸学、平田真之、高橋佐織、深見希代子。ホスホリパーゼ C delta1 は Foxn1 下流に位置し毛の形成を制御している、第 82 回日本生化学会大会、2009/10、神戸
14. 河内全、小堀真平、宮崎聡一郎、中村由和、山口英樹、深見希代子。大腸癌細胞における vitaminD レセプター依存的な E-cadherin の発現誘導に PIP kinase II β が関与する、第 82 回日本生化学会大会、2009/10、神戸
15. 金丸佳織、中村由和、河内全、山口英樹、深見希代子。白血球の機能、分化におけるホスホリパーゼ $\delta 1$ の機能解析、第 82 回日本生化学会大会、2009/10、神戸
16. 高橋佐織、一戸学、中村由和、平田真之、河内全、山口英樹、深見希代子。PLC $\delta 1$ による毛包形態および毛の構成ケラチン発現の制御、第 82 回日本生化学会大会、2009/10、神戸
17. 石井里佳、平田真之、鈴木睦美、松岡翔

一、中村由和、河内全、山口英樹、深見希代子. 脂肪細胞形成におけるホスホリパーゼ C δ 1 の生理機能解析、第 82 回日本生化学会大会、2009/10、神戸

18. 稲野邊俊一、中村由和、一戸学、平田真之、河内全、山口英樹、深見希代子. 創傷治癒におけるホスホリパーゼC δ 1の役割、第51回日本脂質生化学会、2009/7、名古屋

19. 河内全、五十嵐隆公、柴山奈美、中原真道、中村由和、山口英樹、深見希代子. Neuro2a 細胞の神経突起伸長における PLC δ 3 の機能解析、第 51 回日本脂質生化学会、2009/7、名古屋

20. 山口英樹、竹尾由希子、吉田周平、河内全、中村由和、深見希代子. 浸潤突起形成における脂質ラフトとカベオリンの役割、第 61 回日本細胞生物学会 (ワークショップ)、2009/6、名古屋

21. 柴山奈美、河内全、五十嵐隆公、中村由和、山口英樹、深見希代子. Phospholipase C δ 3 は Neuro2a 細胞における神経突起伸長に関与する、第 61 回日本細胞生物学会大会、2009/6、名古屋

22. 平田真之、石井里佳、一戸学、中村由和、河内全、山口英樹、深見希代子. 肥満におけるホスホリパーゼ C δ 1 の生理機能解析、2009/6、名古屋

23. Nakamura, Y., physiological functions of a bioactive lipid producer, phospholipase c -delta 1 in skin, 4th International Conference on Phospholipase A2 and Lipid Mediators, 2009/5, Tokyo

〔図書〕 (計 1 件)

中村由和、深見希代子 遺伝子改変マウスの表現型より示されるホスホリパーゼ C の生理的役割、実験医学増刊 分子から個体へと深化する脂質生物学, 28 (20), 126-132, 羊土社

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村 由和 (NAKAMURA YOSHIKAZU)
東京薬科大学・生命科学部・講師
研究者番号：60366416