

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 4 月 12 日現在

機関番号：11101

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23791248

研究課題名（和文） 皮膚紫外線障害予防における SIRT6 の役割

研究課題名（英文） Analyses of SIRT6 function in preventing ultraviolet B-induced skin damages

研究代表者

六戸 大樹（ROKUNOHE DAIKI）

弘前大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：50436036

研究成果の概要（和文）：DNA 修復に働く SIRT6 の皮膚での発現を増加させたトランスジェニックマウスを作製し、その背部皮膚に紫外線を照射することにより、SIRT6 が皮膚における急性期障害としての紅斑新生を抑制することを明らかとした。次に、紫外線照射による慢性期皮膚障害としての腫瘍形成を SIRT6 が抑制するか、また、びらん形成を抑制するかを検討した。腫瘍形成に関しては SIRT6 トランスジェニックマウスでも有意な差は見いだせなかったが、皮膚びらん形成は SIRT6 トランスジェニックマウスにおいて抑制されることを明らかとした。

研究成果の概要（英文）：We established SIRT6 transgenic mice. SIRT6, which plays important roles in DNA repair pathways, is overexpressed in epidermis of those TG mice. We irradiated UVB on the back of those TG mice, and analyzed acute and chronic skin damages. We demonstrated SIRT6 protein overexpression in epidermis inhibited UVB-induced acute erythema, and suppressed chronic skin damages.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	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：皮膚炎症・再生学・寿命・紫外線皮膚障害・皮膚悪性腫瘍

1. 研究開始当初の背景

我々の皮膚は UVB に曝露されることにより、種々の障害を受けている。UVB の皮膚に対する効果には急性障害と慢性障害があり、急性障害はサンバーン、慢性障害は皮膚のシミやシワなどの皮膚老化および腫瘍発生の誘因となることが知られている。中でも UVB は DNA によく吸収されるため、皮膚の細胞に直接的損傷を与えるが、通常は修復機構が働き、DNA 損傷部位の除去あるいは修復が行われてい

る。しかし UVB に対する曝露が長期間になると、修復過程でエラーが生じ、癌遺伝子や癌抑制遺伝子に変異が生じるとされている。その結果、慢性皮膚障害により、びらん・潰瘍や皮膚腫瘍が発生することとなる。

近年、酵母において Sir2 の発現量が増大するとその寿命が延びることから、Sir2 が老化に関連する遺伝子であることが明らかになった。哺乳類でもオルソログとして SIRT 遺伝子群（SIRT1 から 6）が同定され、いろ

いろな組織で脱アセチル化を行う酵素であることが知られるようになってきた。そのなかで、SIRT6 に関する研究が盛んに行われており、図に示すカスケードにより DNA 修復に関与しゲノムの安定化をもたらすことが報告されている (Mostoslavsky et al. Cell, 2006)。

2. 研究の目的

上記背景を踏まえて、UVB によって生じる皮膚に対する急性期障害や慢性期障害が SIRT6 により軽減されるかを検討すること。

3. 研究の方法

(1) 紫外線照射後の急性期反応

SIRT6-TG マウスの背部を剃毛後、UVB を 500 mJ/cm² 照射した。照射後 24, 48 時間といった比較的短時間での皮膚障害を調べるため、皮膚生検を行った。得られた検体で、サンバーン細胞数のカウントにより、SIRT6 発現過剰により、急性期障害が軽減されるか否かを確認した。また、UVB による急性期紅斑の客観的評価法として、Dermaspectrometer® を使用し Erythema Index を測定して判定した。

(2) 紫外線照射後の慢性期反応 (長期観察)

TG マウスとコントロールマウスの各群において、20 週間、UVB を定期的 (週 3 回) に照射した際の皮膚腫瘍の発生数につき比較検討した。UVB 照射のプロトコールは過去に報告されている (Noonan et al. J Invest Dermatol, 2003)。具体的には、マウスの背部を剃毛し、UVB を各群のマウスに 210mJ/cm² より照射し、4 週ごとに照射量を増加させ最終的に 610mJ/cm² になるように照射量を増やした。

4. 研究成果

我々はケラチン 14 プロモーターの下流に SIRT6 cDNA の配列を有するトランスジェニック (TG) マウスを作製した。この SIRT6-TG では表皮角化細胞や毛包に SIRT6 が過剰発現していることを確認した。SIRT6-TG の背部を剃毛後、UVB を 500 mJ/cm² 照射、照射後 24, 48 時間での皮膚障害を調べるため、皮膚生検を行った。得られた検体で、サンバーン細胞数のカウントをしたが、SIRT6 発現過剰させても、サンバーン細胞の抑制は認めなかった。一方、UVB による急性期紅斑の客観的評価法として、Dermaspectrometer を使用し、照射 48 時間後の Erythema Index を測定したところ、SIRT6-TG では有意に紅斑形成が抑制されていた (図 1, 図 2)。

以上より、SIRT6 発現増加によって、表皮角化細胞に対する UVB 傷害は抑制されないが、紅斑形成は抑制されることが明らかとなった。SIRT6 過剰発現した表皮角化細胞と、線維芽細胞、メラノサイト、リンパ球等炎症細胞による interaction がある可能性が考えられた。

つづいて、UVB 照射による長期的な腫瘍新生の差異について検討を行った。野生型マウスと、SIRT6-TG マウスに対して、週 3 回、21 週間に渡り UVB を照射した。その結果、野生型マウスでは照射部の背部に皮膚びらんを認めたが、SIRT6-TG マウスではびらん形成が見られなかった (図 3)。このことから、SIRT6 の皮膚での発現増加が、UVB による慢性皮膚障害であるびらんあるいは皮膚潰瘍の形成を抑制したことが示唆された。以上の結果より、野生型マウスの SIRT6 発現量では、UVB 照射による DNA 損傷を修復しきれず、紅斑やびらんが出やすかったと考えた。一方、SIRT6-TG マウスでは皮膚での SIRT6 の発現増加によって、損傷された DNA の修復がスムー

ズに行われた、と推察した。今回の長期 UVB 照射においては、皮膚有棘細胞癌をはじめとした皮膚腫瘍発生に関しては野生型と TG 型との間に有意差を認めず、SIRT6 と皮膚腫瘍発生との間に関連性は証明されなかった。

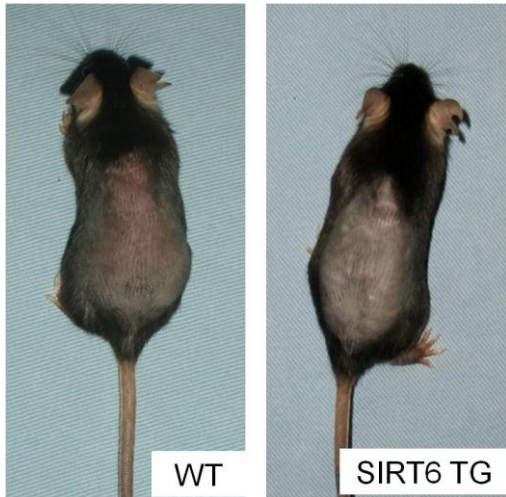


図1 UVB 照射後 48 時間後の、野生型マウスと SIRT6-TG マウスの紅斑の差。

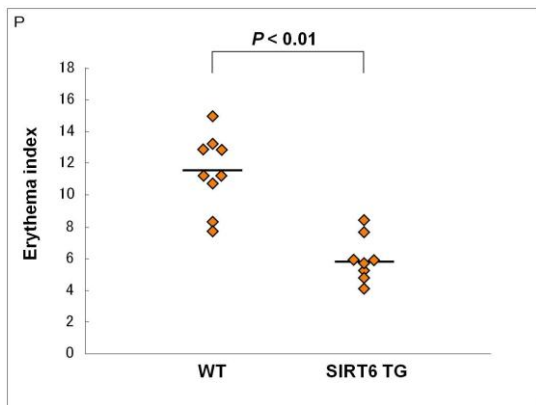


図2 UVB 照射後 48 時間後の、野生型マウスと SIRT6-TG マウスの背部紅斑部の erythema index 値。SIRT6-TG マウス群において、index 値が有意に低かった ($P < 0.01$)。SIRT6-TG マウスで有意に紅斑が抑制されたことを示唆する。

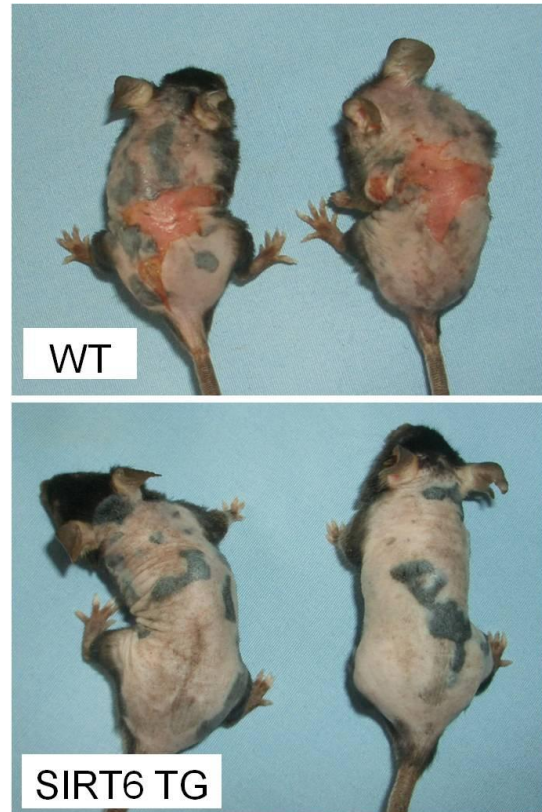


図3 UVB を週 3 回、21 週間に渡り照射した。野生型マウスの背部にはびらんが多発したが、SIRT6-TG マウスの背部ではびらん形成は見られなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

- (1) Rokunohe D, Akasaka E, Rokunohe A, Kaneko T, Matsuzaki Y, Takiyoshi N, Aizu T, Nakano H, Sawamura D: Multiple aplasia cutis congenita lesions located along Blaschko's lines in a patient with tetralogy of Fallot -A. 査読有. J Dermatol Case Rep. 2012, 6:40-42. doi: 10.3315/jdcr.2012.1096.
- (2) Minakawa S, Matsuzaki Y, Rokunohe D, Akasaka E, Nakajima K, Aizu T,

Kaneko T, Nakano H, Takashima T, Sawamura D: A Case of Erythema Nodosum Associated with Subareolar Abscess. 査読有. Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications, 2012; 2: 263-264. doi:10.4236/jcdsa.2012.24049

- (3) Rokunohe D, Takeda H, Kaneko T, Aizu T, Akasaka E, Matsuzaki Y, Nakano H, Sawamura D: Spindle Cell Hemangioma and Decorin Expression. 査読有. Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications. 2012, 2:8-10. doi:10.4236/jcdsa.2012.21002

[学会発表] (計5件)

- ① 金子高英、六戸亜希子、六戸大樹、中島康爾、会津隆幸、中野 創、澤村大輔：放射線角化症の2例。第81回日本皮膚科学会茨城地方会、2013.3.9-10、つくば市
- ② 六戸大樹、金子高英、六戸亜希子、竹内園子、木村一之、中野創、澤村大輔、板井恒二：腫に生じミルメシア様の外観を呈した顆粒細胞腫の1例。第76回日本皮膚科学会東部支部学術大会、2012.9.29-30.札幌市
- ③ 金子高英、福井智久、六戸亜希子、是川あゆ美、六戸大樹、中島康爾、会津隆幸、中野 創、澤村大輔、原田 研：原発不明悪性黒色の4例。第76回日本皮膚科学会東部支部学術大会、2012.9.29-30.札幌市
- ④ 六戸大樹、北村英夫、原田 研、金澤 洋、三上幸子：アダリムマブ投与後に掌蹠膿

疱症が再燃し全身に膿疱が多発した関節リウマチの1例。日本皮膚科学会青森地方会第358回例会、2012.4.8.弘前市

- ⑤ 金子高英、六戸大樹、六戸亜希子、中野創、澤村大輔：白斑黒皮症を呈した慢性光線性皮膚炎の1例。日本皮膚科学会青森地方会第358回例会、2012.4.8.弘前市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

六戸大樹 (ROKUNOHE DAIKI)
弘前大学・医学(系)研究科(研究院)・助教
研究者番号：50436036

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：