

機関番号：32620

研究種目：若手研究 B

研究期間：2009～2010

課題番号：21791098

研究課題名（和文）新規治療を目指した角化機序における転写調節因子 Sp1 の活性化機構の解析

研究課題名（英文） The analysis of the activated mechanism of transcription factor Sp1 in the keratinization mechanism that aimed at the new treatment.

研究代表者

高木 敦 (TAKAGI ATSUSHI)

順天堂大学・医学部・准教授

研究者番号：40459160

研究成果の概要（和文）：

我々は、皮膚角化機序を解明するために転写調節因子 Sp1-family に注目し、Sp1/Sp3 といった転写調節因子の角化関連遺伝子の発現への影響を調べた。その結果、Sp1/Sp3 は画一的に角化関連遺伝子の発現に関与するわけではなく、個々の遺伝子に応じて異なる役割を果たしていることが示唆された。また、角化関連遺伝子の 1 つである ATP2A2 遺伝子において、COX-2 を抑制することで UVB により減弱した ATP2A2 の発現を回復させることが示唆された。）

研究成果の概要（英文）：

We paid attention to transcription factor Sp1 to elucidate a keratinization of the skin mechanism and examined effect on manifestation of the keratinization-related gene of the transcription factor such as Sp1/Sp3. As a result, Sp1 and Sp3 were associated with keratinization-related gene manifestation via multiple pathways, and it was suggested that Sp1 and Sp3 played a different role depending on an individual gene.

In the ATP2A2 gene which was a keratinization-related gene, the results of UVB-treatment experiments suggested a possibility that COX-2 inhibition restores UVB-mediated down regulation of ATP2A2 expression.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

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：Sp1 Sp3 角化機序 角化関連遺伝

1. 研究開始当初の背景

角化過程には様々な要素が関与しており、それに関連する遺伝子、たとえばステロイドサルファターゼ遺伝子異常による伴性遺伝性魚鱗癬やケラチン1/10 遺伝子異常による水疱型先天性魚鱗癬様紅皮症など多数の角化関連の遺伝子異常による角化異常症が明らかになってきている。この角化過程の制御機構を明らかにすることはこれらの先天性角化症の新しい治療へ向けて重要な研究となる。

一方、近年様々な角化に関連する遺伝子のプロモーター領域の解析が行なわれており、我々のグループでは角化に関与するカルシウムポンプをコードし、ダリエ病やヘイリーヘイリー病の責任遺伝子である ATP2A2、ATP2C1 遺伝子のプロモーター領域の解析において Sp1 が関与することを明らかにした (Kawada et al, 2005) , (Takagi et al, 2008)。その他トランスグルタミナーゼ3、ロリクリン、インボルクリン、ケラチン5といった遺伝子で転写調節因子 Sp1 の関連が明らかにされており (Lee et al. 1996) 、 (Steinert, 2002 ほか)、これらのことから正常角化機序において Sp1 が重要な役割を果たすことが示唆されている。

また、近年 Sp1 の活性化には TGF- β 、PGE2、12-O-tetradecanolphorbol 13-acetate、17 β estradiol などの関与が報告されている (Sakaguchi et al. 2003, 2005,) (Kanda and Watanabe 2005)。これらの因子と角化に関連する遺伝子、特に遺伝性角化症の責任遺伝子

との関連を研究していくことで表皮細胞の角化機序の更なる解明を進めるとともに遺伝性角化症の新しい治療への可能性を見つける研究となり得る。

2. 研究の目的

転写調節因子 Sp1 と角化関連遺伝子との相関を解析するとともに Sp1 活性化因子の角化関連遺伝子の影響を調べ、最終的にダリエ病やヘイリーヘイリー病のような遺伝子発現量が低下している疾患群の遺伝子発現を転写調節因子レベルでの機能改善により増加させる可能性を模索する研究であり、本研究の結果を基礎として新たな治療開発において重要な位置を占めるものと考ええる。

また、TGF- β 、PGE2 といった因子によって遺伝子発現量の改善がなされた場合、これらの因子は治療へ還元することが早期に可能となる薬剤であり、本研究が直接的に治療へ結びつく可能性もある研究である。

3. 研究の方法

まず我々は、カルシウム負荷を与えることにより角化細胞を角化へ誘導し、角化関連遺伝子の mRNA 量を Real-time PCR で調べた。

次に転写調節因子 Sp1 と Sp3 を siRNA にてノックダウンを行い、角化関連遺伝子への影響を Real-time PCR を用いて調べた。

最後に角化関連遺伝子の1つである ATP2A2 遺伝子について COX-2、PGE2 の影響を調べた。

4. 研究成果

カルシウム負荷後における角化関連遺伝

子のmRNA の変化を調べた結果、ロリクリン・フィラグリン・ケラチン1・インボルクリンではカルシウム負荷後、mRNA 量は増加を示し、12時間で最も増加した。また、トランスグルタミナーゼ3・PADI2でもカルシウム負荷後、mRNA 増加量は増加し、24時間後まで持続していた。ATP2A2・ATP2C1・ケラチン5ではカルシウム負荷によるmRNA の増加はみられなかった。

次に Sp1、Sp3 各々ノックダウンによる角化関連遺伝子の影響を調べた結果、Sp1 ノックダウン下ではPAD2、トランスグルタミナーゼ3、ロリクリン、フィラグリンでは発現の増加傾向がみられた。逆に ATP2A2、ATP2C1、インボルクリンでは減少傾向がみられた。また、Sp3 ノックダウン下ではフィラグリンで増加傾向を示し、ロリクリン、ATP2A2では減少傾向がみられた。

この結果から、一様に Sp1 で発現が増加し、Sp3 で発現が減少するといった単純なメカニズムで角化関連遺伝子に関与しているわけではなく、個々の遺伝子レベルで違ってきている可能性が推測された。たとえばロリクリンは Sp1 が抑制因子、Sp3 が促進因子のように機能しているように観察されたが、ATP2A2 やインボルクリンなどは Sp1、Sp3 共に促進因子として機能しているように観察された。また、フィラグリンでは Sp1、Sp3 共に抑制因子として機能しているように観察された。

しかしながら、カルシウム負荷による角化誘導下でデータに有意な差がなく、今後タンパクレベルなどの解析も必要である。

最後に Sp1 活性化による治療を模索するため、ATP2A2 遺伝子の発現を低下させた状態で

PGE2 の発現を抑制した結果、ATP2A2 遺伝子の発現が増加した。この結果、ATP2A2 遺伝子異常であるダリエ病の治療につながる可能性が示唆された。今後、発現を増加させたメカニズムについて解析をすすめ、Sp1 の活性化を通じた遺伝子発現の増加かそれ以外のルートでの発現の増加を調べていく必要がある。

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6件)

- 1) 高木敦、池田志孝; Darier 病, Hailey-Hailey 病と遺伝子変異. MB Derma, 163:31-35, 2010. 査読; 無
- 2) 飯田秀雄 高木敦他: 増殖性天疱瘡の1例. 皮膚科の臨床, 52: 648-649, 2010, 査読; 有
- 3) 高木敦、池田志孝; Darier 病. Visual Dermatology, 8(11):1178-1179, 2009. 査読; 無
- 4) 高木敦、水野優起他; 角化異常症の遺伝子診断の実際. MB Derma, 151:157-166, 2009, 査読; 無
- 5) Niwa Y, Potaczek DP, Kanada S, Takagi A, Shimokawa N, Ito T, Mitsuishi K, Okubo Y, Tajima M, Hobo A, Ng W, Tsuboi R, Ikeda S, Ogawa H, Okumura K, Nishiyama C; FcepsilonRIalpha gene (FCER1A) promoter polymorphisms and total

serum IgE levels in Japanese atopic dermatitis patients Int J Immunogenet. 37:139-141, 2010.

査読 ; 有

- 6) Niwa Y, Hasegawa T, Ko S, Okuyama Y, Ohtsuki A, Takagi A, Ikeda S; Efficacy of 308-nm excimer light for Japanese patients with psoriasis. J Dermatol 2009 Nov;36(11):579-582

[学会発表] (計 5 件)

- 1) Kawasaki J, Takagi A, et al. : 308nm Excimer lamp for the treatment of alopecia areata. World congress for hair research. 2010. 6. 17 Cairns.
- 2) 河崎純子 高木敦他 : 成人に生じた肥満細胞腫の 2 例. 日本臨床皮膚科医会総会, 2010. 05. 29 東京
- 3) 吉原 渚 高木敦他 : びまん性 B 細胞性大細胞型リンパ腫の 2 例. 日本皮膚科学会中部支部総会, 2010. 09. 11 大阪
- 4) 神谷由紀 高木敦他 : 腓癌を伴った皮下結節性脂肪壊死症の 1 例. 日本皮膚科学会東京地方会, 2010. 11. 20 東京
- 5) 大月亜希子 高木敦他 : エキシマランプとナローバンド UVB を用いた円形脱毛症の治療. 毛髪科学研究会 2009. 11. 28 東京

[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

高木 敦 (TAKAGI ATSUSHI)

順天堂大学 医学部 准教授

研究者番号 : 40459160

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし