

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 17 日現在

機関番号：37116

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22791640

研究課題名（和文）アレルギー性鼻炎における Th2 サイトカイン制御因子としての ZNF143 の機能解析

研究課題名（英文）Analysis of ZNF143 as a Th2 cytokine regulator in allergic rhinitis  
研究代表者

若杉 哲郎（WAKASUGI TETSURO）

産業医科大学・医学部・助教

研究者番号：20461569

研究成果の概要（和文）：ヒト鼻粘膜における ZNF143 mRNA の発現量は、IL-5 /IL-13 mRNA の発現量、総 IgE 値との間に有意な相関関係があった。これは、転写因子 ZNF143 が Th2 サイトカインの転写制御を介してアレルギー性鼻炎に関与している可能性を初めて示した。またメカニズムとして、ZNF143 が GATA-3 と分子会合することで、Th2 サイトカイン制御に関わっている可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：The expression level of ZNF143 mRNA in human nasal mucosa had significant correlation between IL-5 mRNA, IL-13 mRNA, and the total IgE. This is the result of showing that ZNF143 is participating in the allergic rhinitis through the transcriptional regulation of Th2 cytokines. We consider ZNF143 interacts with GATA-3 and involved in the regulation of the Th2 cytokines.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	900,000	270,000	1,170,000
2011 年度	700,000	210,000	910,000
2012 年度	400,000	120,000	520,000
年度			
年度			
総計	2,000,000	600,000	2,600,000

研究分野：耳鼻咽喉科学

科研費の分科・細目：鼻科学

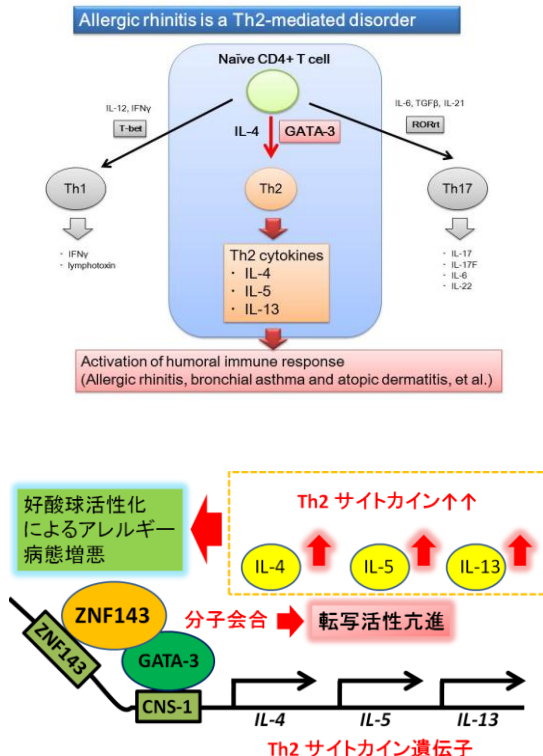
キーワード：転写因子、ZNF143、Th2 サイトカイン、アレルギー性鼻炎、好酸球

## 1. 研究開始当初の背景

転写システム異常という観点から各種病態の基礎研究を行う中で、転写因子 ZNF143 に注目した。ZNF143 は、p73 と分子会合することで、その標的遺伝子である DNA 修復遺伝子 *FEN-1*、*Rad51* の転写活性を亢進し、シスプラチンの耐性獲得に関わるということを以前に報告した（Wakasugi T, et al: ZNF143 interacts with p73 and is involved in cisplatin resistance through the transcriptional regulation of DNA repair genes. *Oncogene* 26, 5194-203, 2007）。そ

の中で ZNF143 の標的遺伝子を検索すると、様々な pathway における代表的な遺伝子を制御する可能性があることが示唆され、ZNF143 が様々な病態におけるマスターレギュレーターとしての機能をしているのではないかと考えた。さらに、ZNF143 と会合する分子を phage display を用いて網羅的に解析したところ、GATA-3 が候補分子に挙がった。GATA-3 は転写因子で、プロモーター領域に存在する CNS-1 と呼ばれる配列に結合することで Th2 サイトカイン（IL-4, 5, 13）の転写制御を行っている。ZNF143 の結合配列もまた、CNS-1

配列の近傍に存在していることが分かり、これら2つの転写因子が会合することで、Th2 サイトカインの転写が活性化され、アレルギー性鼻炎などのアレルギー疾患における IgE 上昇や、好酸球の活性化を生じているのではないかという仮説に至った。



## 2. 研究の目的

アレルギー性鼻炎を始めとしたアレルギー疾患に対する治療は、現在でも対症療法の域を超えていない。本研究では、Th2 サイトカインを制御すると考えられる転写因子 ZNF143 を分子標的とすることで、アレルギー病態を増悪する高 IgE 血症や好酸球の活性化を抑制し、根治的な治療方法につながる基礎研究データを提示することを目的とした。

## 3. 研究の方法

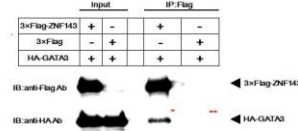
- (1) ZNF143 と GATA-3 の分子会合の証明: pull down 法 (in vitro)、共免疫沈降法 (in vivo)
- (2) アレルギー感作マウスとコントロールマウスの鼻粘膜における Th2 サイトカイン (IL-4, 5, 13) の発現量、ZNF143 の発現量測定 (定量的 RT-PCR 法)
- (3) ヒト鼻粘膜 (通年性アレルギー性鼻炎群: AR 群、および対象の RAST 陰性肥厚性鼻炎群) において、Th2 サイトカイン (IL-4, 5, 13) および 2 つの転写因子 (GATA-3, ZNF143) の mRNA の発現レベルを定量的 RT-PCR 法で比較
- (4) (3) と同一検体を用いて、血中の総 IgE 値 / 総好酸球数と、測定した mRNA 発現量の関係を比較
- (5) (3) と同一検体を用いて、Th2 以外の T 細

胞分化に関わる T-bet、RORC、Foxp3 の mRNA 発現量と血中の総 IgE/総好酸球数との関係を比較

## 4. 研究成果

- (1) pull down 法、共免疫沈降法、共に GATA-3 と ZNF143 が分子会合することが証明された。

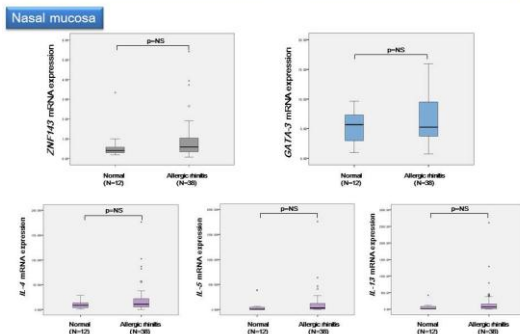
### Interaction of ZNF143 with GATA-3 (Co-immunoprecipitation assay)



- (2) アレルギー感作マウスとコントロールマウスの鼻粘膜における ZNF143 と Th2 サイトカイン (IL-4, 5, 13) の mRNA の発現に明らかな相関関係はなかった。

- (3) 測定した Th2 サイトカイン mRNA (IL-4, 5, 13) 3 つ全て AR 群で有意に上昇していたが、2 つの転写因子 (ZNF143, GATA-3) の mRNA の発現に差はなかった。

### Expression of transcription factors and Th2 cytokines in nasal mucosa (qRT-PCR)



- (4) IL-5 mRNA の発現量と総 IgE 値および総好酸球数、IL-13 mRNA と総 IgE 値の間に有意な正の相関関係があったが、Th2 サイトカイン制御のマスターレギュレーターと報告される GATA-3 mRNA は、これらの因子との相関関係はなかった。しかし、ZNF143 mRNA と IL-5 mRNA、IL-13 mRNA、総 IgE 値の発現量の間には有意な相関関係が存在していた。

### 血清総 IgE 値/好酸球数と各 mRNA 発現量の相関 (定量的 RT-PCR 法)

	転写因子		Th2 サイトカイン		
	GATA-3	IL-4	IL-5	IL-13	
総 IgE 値	r=0.034 (p=0.833)	r=0.237 (p=0.136)	*r=0.360 (p=0.021)	*r=0.375 (p=0.016)	
好酸球数	R=0.008 (p=0.962)	R=0.205 (p=0.199)	*r=0.309 (p=0.049)	r=0.270 (p=0.089)	

Spearman's rank correlation coefficient

**GATA-3とTh2サイトカインのmRNA発現量の相関(定量的RT-PCR法)**

転写因子	Th2サイトカイン		
	IL-4	IL-5	IL-13
GATA-3	r=0.002 (p=0.988)	r=0.115 (p=0.473)	r=0.161 (p=0.313)

Spearman's rank correlation coefficient

**ZNF143とTh2サイトカインのmRNA発現量の相関(定量的RT-PCR法)**

転写因子	Th2サイトカイン		
	IL-4	IL-5	IL-13
ZNF143	r=0.231 (p=0.146)	<b>*r=0.457</b> <b>(p=0.003)</b>	<b>*r=0.436</b> <b>(p=0.004)</b>

Spearman's rank correlation coefficient

**ZNF143 mRNA発現量と血清好酸球数/総IgE値の相関(定量的RT-PCR法)**

	ZNF143
好酸球数	r= -0.084 (p=0.876)
総IgE値	<b>*r=0.283</b> <b>(p=0.048)</b>

Spearman's rank correlation coefficient

(5) T-bet、RORC、Foxp3 の mRNA 発現量と血中の総 IgE/総好酸球数との間には、有意な相関関係は存在しなかった。

以上の結果から、ZNF143 がアレルギー性鼻炎における新規の治療標的になる可能性が示唆された。ZNF143 が GATA-3 と分子会合するという事実から、GATA-3 による Th2 サイトカインの転写制御に ZNF143 が大きく関与していると考えられる。GATA-3 と Th2 サイトカインの mRNA 発現量に相関関係はなかったが、ZNF143 mRNA と IL-5、IL-13 mRNA と総 IgE 値の発現量の間には有意な相関関係があったことから、ZNF143 が Th2 サイトカインの転写制御に大きな関わりを持っていると考えられる。そして、アレルギー性鼻炎における高 IgE 血症や好酸球増多症に、ZNF143 が特異的に関与している可能性が示唆される。今後の更なる検討が必要である。

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 8 件)

- ① Nguyen KH, Wakasugi T、他、Different expression of erbB1/2 and tight junction proteins in hypertrophic inferior turbinates and nasal polyps、Eur Arch Otorhinolaryngol、査読有、270 巻、2013、945-51  
DOI : 10.1007/s00405-012-2166-5
- ② 若杉哲郎、他、上顎骨褐色腫を合併した原発性副甲状腺機能亢進症例、耳鼻咽喉科臨床、査読有、105 巻、2012、973-980  
DOI:10.5631/jibirin.105.973
- ③ Nguyen KH, Wakasugi T、他、Expression of epidermal growth factors, erbBs, in the nasal mucosa of patients with chronic hypertrophic rhinitis、ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec.、査読有、74 巻、2012、57-63  
DOI:10.1159/00335583
- ④ Hohchi N, Wakasugi T、他、Synergism of Staphyrococcus aureus Colonization and Allergic Reaction in the Nasal Cavity in Mice、Int Arch Allergy Immunol.、査読有、159 巻、2012、33-40  
DOI : 10.1159/000335200
- ⑤ 若杉哲郎、他、頭頸部癌におけるシスプラチン耐性の分子機序、耳鼻咽喉科臨床、査読無、104 巻、2011、161-170  
DOI: 10.5631/jibirin.104.161
- ⑥ Suzuki H, Wakasugi T、他、Prediction model for hearing outcome in patients with idiopathic sudden sensorineural hearing loss、Eur Arch Otorhinolaryngol、査読有、268 巻、2011、497-500  
DOI : 10.1007/s00405-010-1400-2
- ⑦ Izumi H, Wakasugi T、他、Role of ZNF143 in tumor growth through transcriptional regulation of DNA replication and cell-cycle-associated genes、Cancer Science、査読有、101 巻、2010、2538-2545  
DOI : 10.1111/j.1349-7006
- ⑧ Wakasugi-Sato N, Wakasugi T、他、Clinical significance of ultrasonographic examination including detection of thyroid gland diseases when surveying cervical lymph nodes in subjects with oral squamous cell carcinoma、Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.、査読有、109 巻、2010、78-85  
DOI : 10.1016/j.tripleo.2010.01.011

[学会発表] (計 8 件)

- ① 若杉哲郎、頭頸部癌における Th 細胞サブセット分化に関連する転写因子の発現検討、第 31 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会、2013 年 2 月 7 日～9 日、倉敷市芸文館 (倉敷市)
- ② 若杉哲郎、当科におけるリンパ節生検の検討、第 23 回頭頸部外科学会、2013 年 1 月 24 日～25 日、城山観光ホテル (鹿児島市)
- ③ 若杉哲郎、遠隔転移に対して積極的治療を行い、長期予後が得られている中咽頭腺様嚢胞癌症例、第 25 回日本口腔・咽頭学会、2012 年 9 月 12 日～13 日、熊本県立劇場 (熊本市)
- ④ 若杉哲郎、制吐薬 3 剤併用による TPF 療法の有害事象についての検討、第 36 回頭頸部癌学会、2012 年 6 月 7 日～8 日、島根県民会館 (松江市)
- ⑤ 若杉哲郎、GATA-3 に会合する新規分子 ZNF143 と Th2 サイトカインの発現解析、第 30 回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会、2012 年 2 月 16 日～18 日、琵琶湖ホテル (大津市)
- ⑥ 若杉哲郎、シスプラチンによる DNA 障害に対する転写因子 ZNF143 と p73 の協調的作用の機能解析、第 35 回日本頭頸部癌学会、2011 年 6 月 9 日～10 日、ウイנק愛知 (名古屋市)
- ⑦ 若杉哲郎、頭頸部癌におけるシスプラチン感受性/耐性因子としての転写因子 ZNF143 の機能解析、第 112 回日本耳鼻咽喉科学会総会、2011 年 5 月 19 日～20 日、京都国際会議場 (京都市)
- ⑧ 若杉哲郎、頭頸部がんにおけるシスプラチンベース化学療法の感受性規定因子としての転写因子 ZNF143 の機能解析、第 34 回日本頭頸部癌学会、2010 年 6 月 10 日～11 日、京王プラザホテル (東京都)

[図書] (計 1 件)

- ① 若杉哲郎、全日本病院出版会、耳鼻咽喉科診療 私のミニマム・エッセンシャル、2011、pp96-101

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

若杉 哲郎 (WAKASUGI TETSURO)

産業医科大学・医学部・助教

研究者番号：20461569

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：