

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 8 月 16 日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25462647

研究課題名(和文)新動物モデルを用いた真珠腫性中耳炎のエピジェネティクス制御機構解明と治療への応用

研究課題名(英文)A correlation with epigenetic changes and pathogenesis of middle ear cholesteatoma.

研究代表者

福田 智美 (Yamamoto-fukuda, Tomomi)

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号：40372776

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：これまで角化細胞増殖因子(KGF)とその受容体(KGFR)の発現が中耳真珠腫増殖および再発に関与する可能性を示唆してきた。今回、KGFRを介した中耳真珠腫形成について、転写活性を上昇させるヒストンアセチル化の関与に焦点をあてて解析した。

結果ヒストンH3K27のアセチル化レベルの上昇がKGFRの発現に何らかの相関を示す可能性が示唆された。ヒストンH3K27Acはアクティブなエンハンサーマークとされており、クロマチンを緩めて、エンハンサー領域に転写因子を結合させ、転写活性を促すとされている。中耳真珠腫組織でのKGFRの恒常的発現にヒストン蛋白修飾の変化が関与していると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Middle ear cholesteatoma is a benign disease characterized by the presence of an unrestrained growth and the accumulation of keratin in the middle ear cavity. Due to roles in cell proliferation, keratinocyte growth factor (KGF) and receptor (KGFR) could be involved in disease progression. This study focuses on the association of histone modification of keratinocytes on KGFR expression through paracrine action of KGF and pathogenesis of middle ear cholesteatoma. Middle ear cholesteatoma tissue was collected from patients under operation. And normal skin tissue of retro auricular lesion was used as control. The expressions of KGFR and histone acetylation were analyzed by immunohistochemistry. As results, a significant high H3K27ac was detected in middle ear cholesteatoma. And localization of KGFR and H3K27ac were almost same. This is the first study that evaluated the clinicopathological significance of concurrent increase of H3K27ac in middle ear cholesteatoma through KGFR expression.

研究分野：耳科学

キーワード：ヒストンアセチル化 中耳真珠腫 KGFR

1. 研究開始当初の背景

発生・分化・老化の調節・染色体の構造の安定化・多岐の生命現象に関わっているエピゲノム修飾による遺伝子発現制御(エピジェネティクス)は、最近ではエピジェネティクス異常先天性疾患のみならず、がんを初め、統合失調症、生活習慣病などの後天性疾患でも関与していると報告されており、治療においてその重要性が認識され人為的な制御も重要な課題として浮かび上がってきている。真珠腫性中耳炎も慢性炎症性疾患の一つであるがその組織は増殖能が異常に亢進した上皮組織と炎症細胞が多数浸潤している皮下肉芽組織から構成される。上皮異常増殖には様々なサイトカインが関与しているという報告があるが、我々はヒト真珠腫組織で角化細胞増殖因子(KGF)/受容体(KGFR)の発現が真珠腫再発率に有意に関係しているデータを示し、KGF/KGFRのパラクライン機構が真珠腫形成に強く関与しているとした(Yamamoto-Fukuda T 他(2003) Lab Invest 83)。KGFは通常気管上皮の発生期や皮膚損傷時の治癒期に線維芽細胞に発現するとされているが、中耳真珠腫組織では恒常的にKGFの発現が認められる。実際、間欠的KGFプラスミ導入によるKGF蛋白の長期発現で特異的に中耳真珠腫形成がみられた(福田智美 他(2012) Otology Japan 22:5)。そこで、KGFを介した細胞増殖活性へのエピゲノム因子の関与を明らかにする必要性が出てきた。

2. 研究の目的

本研究課題は、これまで過去13年間継続して行ってきた真珠腫性中耳炎の増殖機構の解明という課題を踏まえて、中耳真珠腫の発症および増殖に対するエピジェネティクス制御機構の関与、特にヒストン修飾の関与の可能性を探ることを目的とした。

特にKGFRを介した中耳真珠腫形成について、転写活性を上昇させるヒストンアセチル

化の関与に焦点をあてて、ヒト真珠腫組織および真珠腫モデル動物を用い解析した。

3. 研究の方法

これまでの結果を踏まえたうえで、手術時に採取した中耳真珠腫組織、正常皮膚をもちい解析をおこなう。ヒストン修飾動態に関しては特にヒストンH3のLys9、Lys14、Lys18、Lys23、Lys27のアセチル化及びLys4及びLys27のメチル化に注目しながら、細胞増殖活性についてはKi-67抗原抗体用い、KGF及びKGFRの発現については我々で以前開発した抗体(Yamamoto-Fukuda T 他(2003) Lab Invest 83)を用い、免疫組織化学的に解析する。

また、動物モデルにおいてはKGFプラスミド導入による、KGF遺伝子で誘導されるエピゲノム因子の経時的変化と上皮細胞増殖活性との関係を解析するためにチミジンアナログであるEdUもしくはBrdUを用いた細胞トレーシングシステムを用い解析した。

4. 研究成果

結果、ヒストンH3K27のアセチル化レベルの上昇がKGFRの発現に何らかの相関を示す可能性が示唆された。

また、動物モデル用いた実験より、真珠腫組織においては前駆細胞の増殖が誘導される結果が示された。

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) 福田智美. 新動物モデルを用いた真珠腫性中耳炎のエピジェネティクス制御機構解明と治療への応用の可能性(解説) 別冊Bio Clinica 2016: 慢性炎症と疾患 5巻2号 Page132-137.

2) Tomomi Yamamoto-fukuda, Haruo Takahashi, Hiromi Kojima. KGF controls on the epithelial stem/progenitor cell proliferation in external auditory canal. The Journal of Laryngology & Otology 2016;130(S3): S247.

[学会発表](計 8件)

Tomomi Yamamoto-fukuda, Norifumi Tatsumi, Masahiro Takahashi, Naotaro Akiyama, Masataka Okabe, Hiromi Kojima. Neural Crest Cell Might Be Origin of Middle Ear Cholesteatoma. 40th Annual MidWinter Meeting February 11 - 15, 2017, Baltimore, USA.

Tomomi Yamamoto-fukuda, Haruo Takahashi, Hiromi Kojima. KGF controls on the epithelial stem/progenitor cell proliferation in external auditory canal. The 10th International Conference on Cholesteatoma and Ear Surgery June 5 - 8, 2016, Edinburgh, UK.

福田 智美, 穉山 直太郎, 高橋 晴雄. 真珠腫性中耳炎発症機構におけるエピジェネティクス制御機構の解明. 第117回日本耳鼻咽喉科学会通常総会・学術講演会、2016、5月21日、名古屋.

福田 智美, 小路武彦. シンポジウム4. 感覚器疾患の分子形態学的解析. 真珠腫性中耳炎発症機序の分子形態学的解析. 第47回日本臨床分子形態学会総会・学術集会(招待講演) 2015、9月18日、長崎.

福田 智美, 小路武彦. ワークショップ 1. 皮膚科診療における分子形態学的アプローチ. 上皮細胞増殖性疾患における KGF/FGF7 およびその受容体の動態と

人為制御. 第46回日本臨床分子形態学会総会・学術集会(招待講演)、2014年10月、東京.

Tomomi Yamamoto-fukuda, Harakawa Sayumi, Akiyama Naotaro, Endo Daisuke, Koji Takehiko. Keratinocyte growth factor (KGF) modulates the epithelial cell differentiation of mouse ear skin. 第11回日中合同組織細胞化学セミナー September 18, 2014, Matsumoto Japan.

福田 智美, 穉山 直太郎, 遠藤大輔, 小路武彦. KGF(FGF-7)過剰発現による p63 を介した上皮細胞分化抑制機構の検討. 第119回日本解剖学会総会・全国学術集会、2014、3月27日、栃木.

Tomomi Yamamoto-fukuda. Residual cholesteatoma disease, how to decrease and how to manage. 29th Politzer Society Meeting (招待講演) November 14 - 17, 2013, Antalya, Turkey.

[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

福田 智美 (Yamamoto-fukuda Tomomi)

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号：40372776

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

()