論文内容の要旨

論文題目　皮膚線維芽細胞における transforming growth factor (TGF)-βによる tenascin-C 産生促進作用の機序

指導教官　玉置邦彦教授

東京大学大学院医学系研究科

平成 13 年 4 月入学

医学博士課程

外科学専攻

氏名　神人正寿

Tenascin-C(TN-C)は通常胎生期にのみ一過性に発現し成人組織ではほとんど発現が見られないのに対し創傷治癒、炎症および腫瘍形成など特殊な状態下においては再びその間質に発現する、時期および場所特異性を有する細胞外マトリックスの一つである。その機能は未だ明らかではないが、細胞接着を抑制し細胞遊走、分化、分裂やアポトーシスを誘導することで形態形成、創傷治癒、腫瘍進展に何らかの役割を果たしているものと考えられる。

一方皮膚における TN-C 発現は様々な病態において亢進していることが報告されている。悪性腫瘍では悪性黒色腫や有棘細胞癌において腫瘍間質に強く発現し、予後と相関することが知られ、創傷治癒においては受傷後 24 時間以内に強い TN-C 発現が確認される。さらに、汎発性強皮症やケロイド病変においても、病変部真皮に TN-C の発現亢進が見られる。

これらの病態に共通して関与すると考えられているサイトカインの一つが transforming growth factor (TGF)-βである。我々は、様々な皮膚疾患における TN-C 発現亢進が TGF-βによりもたらされている可能性に着目した。そこで本研究において、胎児の背部皮膚由来の線維芽細胞を用いて、免疫ブロッティングおよびノーザンブロッティングにより TGF-βが TN-C 蛋白および mRNA 発現を誘導することを確認し、そのメカニズムについて検討した。

TN-C 遺伝子 promoter 領域の 5’-deletion の解析により、同遺伝子 promoter の

-133ー-29bp 領域に TGF-βに対する responsive element が存在すると考えられた。この領域の CAGA motif に対する Smad2/3 の結合能が TGF-β刺激で増強することを DNA affinity precipitation assay を用いて確認した。Smad3、Smad4、加えて Ets1 および Sp1 の強発現により無刺激下においても TN-C プロモーター活性の上昇がみられ、また TGF-βのプロモーター活性化作用は増強した。CAGA motif およびこの領域の Ets binding site および Sp1/3 binding site の substitution mutation では TGF-βの作用が抑制されたのに加え、免疫沈降法では TGF-β刺激により Smad3・Sp1・Ets1 間の interaction が誘導された。また、TGF-βの TN-C に対する作用は CBP および p300 dominant negative form 強発現で阻害された。

以上の結果より、TGF-βによる TN-C 遺伝子転写活性亢進には Smad3 と Ets1、Sp1、CBP/p300 間の interaction が必要であると考えられた。

汎発性強皮症を初めとした線維化病変の形成における TN-C の関与は未だ明らかではないが、TN-C ノックアウトマウスでは PDGF レセプターの発現が低下し、逆に TN-C を強発現することでその発現が増加することから、TN-C は PDGF レセプターの発現を制御していると考えられる。一方汎発性強皮症では線維芽細胞や血管周囲における PDGF および PDGF レセプターの強発現が認められる。PDGF は主に血小板より分泌されるサイトカインで強い細胞遊走能および細胞増殖能を誘導することから、TN-C は PDGF レセプター発現量増加を通して炎症あるいは血管障害に影響することで本症の線維化に対し positive に機能していると考えられ、本症における TN-C 過剰発現の是正には治療的意義が存在する可能性がある。今後汎発性強皮症、TGF-βそして TN-C の 3 者の関係についてさらなる検討を重ねる予定である。