

ヒト皮膚線維芽細胞におけるエストロゲン関連受容体 α の機能解析

七島直樹

青森県立保健大学 健康科学部 栄養学科

Key Words ①エストロゲン関連受容体 α ②線維芽細胞 ③皮膚

I. はじめに

エストロゲン受容体にはエストロゲン受容体 α および β などが知られており、皮膚における機能解析も進んでいる。しかしながら、エストロゲン受容体と構造が類似しているエストロゲン関連受容体[Estrogen-related receptor (ERR)]の機能はどの器官においてもほとんど知られていない。

ERR はエストロゲン受容体の DNA 結合領域とは塩基配列の高い相同性を有するが、リガンド結合領域との相同性は低い。加えて、エストロゲンをリガンドとしないという謎の多い核内受容体として知られてきた^{1),2)}。

ERR には $ERR\alpha$ 、 $ERR\beta$ 、 $ERR\gamma$ のサブタイプがあり、 $ERR\alpha$ や $ERR\gamma$ はミトコンドリアにおける酸化的リン酸化などの細胞内代謝機能を制御していることや乳がん細胞の増殖に寄与しているとの報告が散見されるが³⁾、健常人の皮膚における機能については未知である。

皮膚はエストロゲンシグナリングの影響が大きいとされる器官の一つである。更年期を迎え、エストロゲンの分泌量が減少した女性では皮膚線維芽細胞が産生するコラーゲン、ヒアルロン酸の減少により、しわが増え、弾力が減少することが知られている⁴⁾。

我々はこれまでに、ヒト皮膚線維芽細胞において、エストロゲン受容体より $ERR\alpha$ が大幅に強く発現していることを見出していることから、 $ERR\alpha$ が皮膚線維芽細胞において何らかの重要な機能を有していると仮説を立てた。

II. 目的

本研究では、ヒト皮膚線維芽細胞における $ERR\alpha$ の機能の解明を目的とした。

III. 研究方法

1. ヒト皮膚線維芽細胞における網羅的シグナリング解析

ヒト皮膚芽細胞に高発現する $ERR\alpha$ を small interfering RNA (siRNA) でノックダウンし、48 時間後に全 RNA を回収し、この RNA をもとに、遺伝子の発現変動をマイクロアレイによって網羅的に解析した結果があるのでこれをもとに WikiPathways 解析により、 $ERR\alpha$ がヒト皮膚線維芽細胞においてどのような機能を有しているのかを解析した。

2. WikiPathways で検出された遺伝子の発現解析

WikiPathways で検出された *CDC25C*、*CCNE2*、*CCNB1* などの cell cycle 関連遺伝子および *CASP3* や *FAS* などのアポトーシス関連遺伝子の発現を quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RT-qPCR) 法で解析した。

3. 培養上清中の I 型コラーゲンとヒアルロン酸の定量

siRNA で *ERRα* をノックダウンしたヒト皮膚線維芽細胞を 72 時間後に培養上清を回収し、培養上清に分泌された I 型コラーゲンとヒアルロン酸を ELISA 法で定量した。

4. 細胞増殖・細胞死の評価

ERRα を siRNA でノックダウンし、24-72 時間後に Cell Counting Kit-8 を用いた細胞増殖を解析した。さらアポトーシスの誘導について Poly Caspase Assay Kit Green FLICA を用いて解析した。

IV. 結果および考察

RT-qPCR 法を用い、ヒト皮膚線維芽細胞における ERR 遺伝子の発現を調べたところ、*ERRα* が最も強く発現しており、*ERRβ* は *ERRα* の約 1/100 の発現量にとどまり、*ERRγ* に関しては発現が認められなかった。

皮膚線維芽細胞で強く発現している *ERRα* を siRNA で 48 時間ノックダウンした後にマイクロアレイ解析した。遺伝子変動が 1.5 倍以上あった遺伝子をもとに WikiPathways でパスウェイ解析を行うと、“cell cycle”、“G1 to S cell cycle control”、“DNA replication”など細胞周期に関連する pathway は低下し、“apoptosis”、“Apoptosis modulation and signaling”などのアポトーシス関連に関連する pathway は亢進していた。加えて、*CDC25C*、*CCNE2*、*CCNB1*などの cell cycle 関連遺伝子の発現は減少し、*CASP3* や *FAS* などのアポトーシス関連遺伝子の発現は亢進していたことから、*ERRα* はこれらの遺伝子の制御に関与していることが示唆された。また、*ERRα* siRNA で 24-72 時間処理したヒト皮膚線維芽細胞の増殖は抑制され、アポトーシスが誘導された。加えて、培養上清に分泌された I 型コラーゲンおよびヒアルロン酸量は減少した。これらの結果から、*ERRα* は皮膚美容においても重要な因子であることが示唆された。

本研究によって、*ERRα* はヒト皮膚線維芽細胞の細胞周期に関与し、細胞増殖に寄与していることが示唆された。

V. 文献

- 1) Giguere V, Yang N, Segui P and Evans RM: Identification of a new class of steroid hormone receptors. *Nature* 331: 91–94, 1988.
- 2) Horard B and Vanacker JM: Estrogen receptor-related receptors: orphan receptors desperately seeking a ligand. *J Mol Endocrinol* 31: 349–357, 2003.
- 3) Deblois G and Giguere V: Functional and physiological genomics of estrogen-related receptors (ERRs) in health and disease. *Biochim Biophys Acta* 1812: 1032–1040, 2011.
- 4) Brincat MP, Baron YM and Galea R: Estrogens and the skin. *Climacteric* 8: 110–123, 2005.

VI. 発表

第 46 回日本分子生物学会年会、2023 年 12 月 6–8 日