

# Regulation of serine protease inhibitor Kazal type-5 (SPINK5)gene expression in the keratinocytes

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: レ, ゴック アイン, Le, Ngoc Anh メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/41967">http://hdl.handle.net/2297/41967</a>

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



## 論文内容の要旨及び審査結果の要旨

受付番号 甲第2443号 氏名 Le Ngoc Anh

論文審査担当者 主査 市村 宏

副査 竹原 和彦

中村 裕之



### 学位請求論文

題名 Regulation of serine protease inhibitor Kazal type-5 (SPINK5) gene expression in the keratinocytes

[ケラチノサイトにおけるセリンプロテアーゼ阻害剤カザール5型 (SPINK5) の制御]

掲載雑誌名 *Environmental Health Preventive Medicine*

平成26年6月4日オンライン発行

Serine proteaseであるkallikreins (KLKs) とその inhibitorであるserine protease inhibitor Kazal type-5 (SPINK5) のバランスが、皮膚の剥奪の時期の決定に極めて重要である。しかしながら、KLKsの発現は有棘層から顆粒層全般に幅広く認められるのに比し、SPINK5の発現は顆粒層の再表層に限られている。SPINK5発現が皮膚分化の最終段階に極めて限局的である理由を明らかにするために、SPINK5 promoterの機能解析を行った。SPINK5 の近位 promoter [nucleotide -1 to -1141] を組み込んだluciferase reporter及びそのtruncated cloneの発現を種々の培養条件で比較検討した。KeratinocyteはNHEK human keratinocyte (Kurabo, Osaka, Japan) を用いた。

結果は以下のようにまとめられる。

- (1) promoter [-676/-1] と [-318/-1] は通常の培養条件のNHEKで高いluciferase 活性を示した。
- (2) 高Ca<sup>2</sup> (1.5 mM) や成長因子除去による分化誘導では活性は変化せず、通常条件でも存在するcolony/cluster状態のNHEKが分化の最終段階に及んでいるのではないかと推定された。複数のcis element検索プログラムで両 promoter サイトに共通するcis elementsも、KLKsの発現に必須なGATA3の結合cis elementも検出されなかった。
- (3) promoter [-676/-1] と [-318/-1] 活性はGATA3発現vectorの導入により約1.5倍に増加、GATA3mutant発現vectorの導入により約1/2に減少した。
- (4) NHEKの核蛋白によるElectrophoretic mobility shift assay (EMSA)では両サイトに結合する核蛋白が検出されたが、DNA foot printingで防護される特定の配列は検出されず、複数の蛋白による調節が推定された。

これらの結果から、GATA3はkeratinocyteの増殖抑制と分化を促し、GATA3 siteをpromoterに有さないSPINK5の発現も増加させる。しかしながら、SPINK5が最大発現を示す最終分化には十分ではない。keratinocyteにおけるSPINK5及びGATA3の発現機構の解明が、keratinocyte最終分化の機構を明らかにするために必須であると考えられた。

本研究は、SPINK5発現が皮膚分化の最終段階に極めて限局的である理由の一端を明らかにした労作と評価され、学位に値すると判断された。