

Macrophage Inhibitory Cytokine MIC-1 is Upregulated by Short-Wavelength Light in Cultured Normal Human Dermal Fibroblasts

Masashi Akiyama, Keiko Okano, Yoshitaka Fukada, Toshiyuki Okano

FEBS Letters 583, 933–937 (2009)

doi:10.1016/j.febslet.2009.02.006

ヒト皮膚培養細胞においてマクロファージ抑制性サイトカインである MIC-1 が短波長の光によって誘導される

秋山正志¹、岡野恵子¹、深田吉孝²、岡野俊行¹

¹早大,²東大

【本論文のポイント】

可視光に対する真皮の反応を理解するため、正常な真皮の線維芽細胞で青色光また、近紫外光に誘導される遺伝子を調べるため、DNA マイクロアレイ解析^{※1}を行った。その結果、近紫外光は、*Mic-1* という TGF- β スーパーファミリータンパク質をコードする遺伝子の mRNA 量を顕著に増加させることが判明した。そこで、定量的 RT-PCR 解析とイムノブロット解析を用い調べたところ、mRNA、タンパク質どちらのレベルにおいても *Mic-1* は赤や緑でない短波長領域の光により、上方制御されるということが判明した。この結果より、ヒトの真皮が MIC-1 タンパク質を生成する部位であり、可視光が真皮での遺伝子発現を制御している可能性を示した。MIC-1 は免疫制御や食欲のコントロールで重要な役割を担うことが分かっているため、光による MIC-1 の誘導は生理学的にも重要と考えられる。

【概要】

地球上に降り注ぐ太陽光は波長領域ごとに以下の4種類に分類される。

- ・ UVB (280-315 nm) DNA やタンパク質を損傷し、日焼け、皮膚がん、免疫制御、などの太陽光による生体変化に関与する。
- ・ UVA (315-400 nm) タンパク質を損傷する。また、生体内小分子に吸収されて活性酸素種などを生じ、酸化ストレスを介して生体にダメージを与える。
- ・ 可視光 (400-760 nm) 視覚に関与するほか網膜内の光受容体を介して概日時計のリセットに関与する。
- ・ 赤外光 (760- nm)

このように太陽光の波長領域によって影響する対象分子が異なっている。紫外線が皮膚に及ぼす影響は詳細に研究されてきたが、可視光が皮膚に及ぼす影響はほとんど調べられていない。真皮が可視光を吸収し、生理応答することは報告されているものの、そのメカニズムは明らかにされていない。そこで本研究では、ヒト真皮の青色光に対する応答を知るために、ヒト皮膚由来の初代培養細胞である NB1RG B 細胞を用いて、光照射に伴う発現遺伝子の変動を、マイクロアレイとリアルタイム PCR 法により解析した。

まず、実験に先立ち波長特性の異なる4種類のLEDを用いて細胞刺激用の光源装置を作製した(図1)。このうち、青色光(Blue)ま

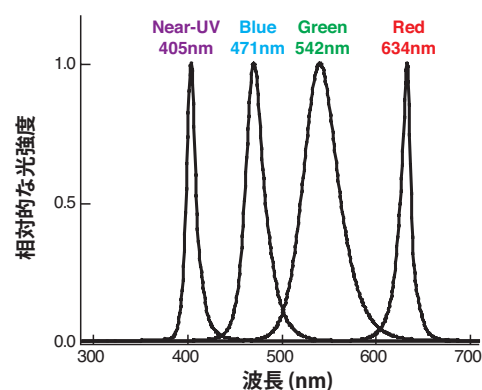


図1 LED光源のスペクトル

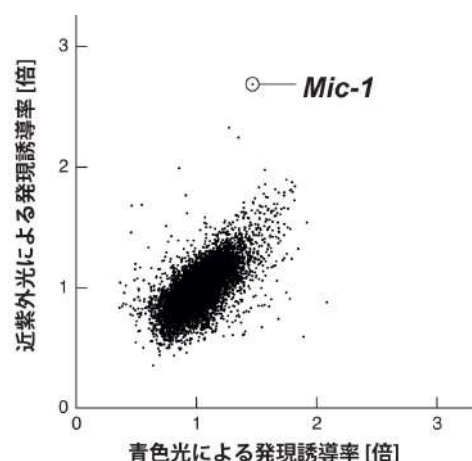


図2 青色光と近紫外光の効果の比較

たは近紫外光 (Near-UV) を用いて、NB1RGB 細胞を 3 時間光刺激した後細胞を回収し、それぞれ光照射を行わなかった細胞との間で個々の遺伝子の mRNA 発現量をマイクロアレイ解析により比較した。有効な 12844 スポットを解析したところ、短波長の光刺激によりいくつかの転写産物の発現が顕著に増加制御された。特に *Mic-1* は、青色光または近紫外光によって誘導された。なお、光照射を行わなかった NB1RGB 細胞においても *Mic-1* は比較的高レベルで発現しており、光によってさらに誘導された (図 2)。

次に、*Mic-1* 転写産物の光依存的増加制御を確かめる為の定量的 RT-PCR 解析を行なった。予備実験により実験条件を検討した結果、*Mic-1* 転写産物の光依存的増加にはウシの胎児血清中に存在する未同定の因子が抑制している可能性が考えられたため、ウシの胎児血清を除き、波長依存性を調べた。その結果、1.5-6 時間光照射をした *Mic-1* の mRNA レベルは、近紫外光の照射により光照射前の約 7 倍まで上昇した (図 3)。一方、緑色光や赤色光の照射では発現誘導されなかった。また、タンパク質レベルでも MIC-1 は誘導された (図 4)。

MIC-1 は IL-1 β 、IL-2, TNF- α などと同様にサイトカインの一種であり、マクロファージによって合成され、自身の増加を抑制する活性をもつ。本研究において得られた、皮膚の細胞が MIC-1 を光依存的に産生するという結果は、可視光が免疫応答の抑制または緩和に関与する可能性を示唆しており、とても興味深い。さらには、近年 MIC-1 タンパク質の発現は前立腺癌に関係した食欲不振や、体重減少において重要な働きをもつことが報告されている。明るい光照射中での MIC-1 のヒトの皮膚また血漿における発現をさらに研究することは、将来的にこの皮膚真皮細胞における MIC-1 生成の生理学的重要性を解き明かす鍵となるかもしれない。

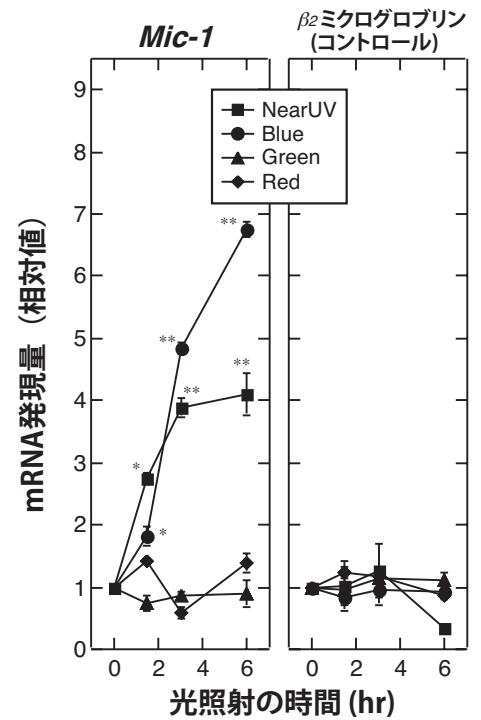


図3 ヒト皮膚由来NB1細胞において *Mic-1* mRNAは短波長光によって発現誘導される



図4 青色光によるMIC-1前駆体タンパク質の発現誘導

[要約作成：末廣美波、岡野俊行]

【語句の説明】

※1 DNA マイクロアレイ解析：試料中の個々の mRNA の量を網羅的に調べる手法の1つ。組織や細胞から取り出した RNA から cRNA や cDNA を合成し、蛍光物質等で標識した後に、何万種類もの短い合成オリゴ DNA をスポットしたスライドガラスに添加し、塩基の相補性によって結合したプローブを検出する。複数試料中の各遺伝子の mRNA 発現量を一挙に比較することができ、条件の違いによって発現が変化する遺伝子をスクリーニングする目的で行われる。