

細胞外局在型抗酸化酵素 (EC-SOD) のエピジェネティクス

安田 浩之

鈴鹿医療科学大学 薬学部 薬学科

総 説

細胞外局在型抗酸化酵素 (EC-SOD) のエピジェネティクス

安田 浩之

鈴鹿医療科学大学 薬学部 薬学科

キーワード： EC-SOD, 抗酸化作用, エピジェネティクス, DNA メチル化, ヒストン修飾

要 旨

Extracellular-superoxide dismutase (EC-SOD ; *SOD3*) は抗酸化酵素の一種であり, 他の SOD アイソザイムと異なり細胞外で働くことが知られている。主に, 細胞外の活性酸素種 (reactive oxygen species; ROS), 特にスーパーオキシドを過酸化水素と酸素分子に不均化することで, 細胞外 ROS を効率よく除去する働きがある。また, 糖尿病や動脈硬化症, 慢性腎臓病などの疾患において, EC-SOD 発現との関連性が報告されている。この EC-SOD は肺や腎組織, 血管系において高発現しており, 細胞・組織特異的な遺伝子の発現が認められているが, 長い間この発現制御の分子機構は不明であった。最近, ヒト培養細胞において EC-SOD の発現が DNA メチル化により抑制されていることが明らかになったことから, EC-SOD 発現調節に関するエピジェネティクスの報告が増加している。そこで本稿では, 最近の研究成果をまじえながら EC-SOD の発現制御機構を中心に, EC-SOD 発現を制御する化合物について概説し, エピジェネティクスと EC-SOD 発現の関連について紹介する。

1. はじめに

酸化ストレスとは細胞内外に多量に発生したスーパーオキシド、ヒドロキシラジカル、過酸化水素などの reactive oxygen species (ROS) を十分に消去できないことにより組織や細胞が受けるストレスである。ROS の多くは不対電子を持つフリーラジカルであり、DNA 切断、タンパク質変性、脂質過酸化など生体成分の酸化修飾により、生理機能に影響を及ぼすことが知られている^{1,2)}。スーパーオキシドは酸素分子が一電子還元されたものであり、生体内ではミトコンドリア電子伝達系の内膜複合体 (I, III), NAD(P)H oxidase (NOX), キサンチンオキシダーゼ, シトクロム P450 などの反応過程で産生される¹⁾。通常、スーパーオキシドは superoxide dismutase (SOD) により過酸化水素と酸素分子に不均化され、さらに過酸化水素はカタラーゼやグルタチオンペルオキシダーゼなどにより速やかに水分子と酸素分子に変換されることで、生体は ROS の蓄積を抑制している^{3,4)}。また、過剰のスーパーオキシドは血管内皮細胞で産生される血管拡張因子の一酸化窒素 (NO) と反応してペルオキシ亜硝酸を生成し、過酸化水素は遷移金属の存在下で反応性の高いヒドロキシラジカルに変換されることで細胞障害を引き起こす⁵⁾。ROS が過剰になる原因の一つとして、SOD やカタラーゼなどの ROS 消去系の破綻が考えられる。この破綻により生じる酸化ストレスは、悪性新生物、心血管系疾患や生活習慣病などの種々の疾患の発症・憎悪への関与が指摘されている。

生体内レドックス恒常性を維持するために、抗酸化酵素は ROS 消去機構の中で中心的な役割を担っている。SOD は主要な抗酸化酵素であり、哺乳類では 3 種の SOD アイソザイムである、copper and zinc containing-SOD (Cu, Zn-SOD; *SOD1*), manganese containing-SOD (Mn-SOD; *SOD2*), extracellular-SOD (EC-SOD; *SOD3*) が同定されている (図 1)。各 SOD は局在が異なり、組織を酸化ストレスから防御している。この中で、EC-SOD は 1982 年に Marklund らにより発見・同定された唯一の細胞外局在型 SOD アイソザイムである⁶⁾。EC-SOD に関する報告は各種疾患患者血漿中の EC-SOD レベルの変動と病態との関連性についての報告が多く^{7,8)}、その発現調節機構に関する報告は少なかった。最近、EC-SOD 発現制御機構としてのエピジェネティクスの存在が報告され、この点に関する報告が増加し、レドックス制御機構としてのエピジェネティクスの重要性が示唆されている。

2. EC-SOD の生理的機能

EC-SOD は四量体構造を有する分子量 135kDa の分泌型の糖タンパク質であり、そのアミノ酸配列の C 末端側には塩基性アミノ酸であるアルギニン残基 (R) およびリジン残基 (K) が連結しているヘパリン結合ドメイン (²¹⁰RKKRRR²¹⁵) が存在する。この塩基性ヘパリン結合ドメインが細胞膜表面のグリコサミノグリカン類であるヘパラン硫酸プロテオグリカンやコンドロイチン硫酸プロテオグリカンなどに結合することにより、EC-SOD は細胞外

	Cu, Zn-SOD (<i>SOD1</i>)	Mn-SOD (<i>SOD2</i>)	EC-SOD (<i>SOD3</i>)
Molecular mass	32,000	85,000	135,000
Subunit	a2	a4	a4
Metal (atom/subunit)	1Cu, 1Zn	1Mn	1Cu, 1Zn
Rate constant (M ⁻¹ S ⁻¹)	~2×10 ⁹	1.25×10 ⁹	1.25×10 ⁹
Location	cytoplasm	mitochondria	extracellular
Carbohydrate	-	-	+
Affinity for heparin	-	-	+

図 1 Properties of human SOD isozymes
ヒト SOD アイソザイムの特徴

に局在すると考えられている。このため EC-SOD は血管内膜を含む血管壁に大量に存在することが確認されている。細胞から EC-SOD が分泌された後、ゆっくりと拡散し、血管内腔に放出された EC-SOD は、血管内皮細胞に対してゾーンディフェンスラインを形成し、血管内皮細胞の細胞膜に局在する NADPH oxidase や血管壁に接着した白血球、好中球などから血管内腔に放出されるスーパーオキシドを効率よく消去することにより、血管壁を酸化ストレスから防御していると考えられている (図 2)。

EC-SOD ノックアウトマウスでは、野生型マウスと比較して高酸素分圧下での生存率が低下することや⁹⁾、大動脈縮窄症における左心室肥大、線維化の亢進が認められている¹⁰⁾。一方で、EC-SOD のトランスジェニックマウスや EC-SOD を投与したマウスにおいて、冠状動脈虚血後の梗塞部位の縮小や¹¹⁾、関節炎誘発モデルにおける関節腔中の腫瘍壊死因子 α (TNF- α) を含む炎症性サイトカインの減少が報告されている¹²⁾。また、ヘパリン硫酸との結合能を有しない変異型 EC-SOD は冠状動脈虚血後の梗塞部位の縮小があまり見られないということや¹³⁾、糖尿病患者においてヘパリン結合ドメインのリジン残基 (²¹¹KK²¹²) が糖化を受けることにより細胞表面への結合性が低下するという報告もある¹⁴⁾。これら知見は、内在性 EC-SOD が血管内皮細胞フロントラインにおけるレドックス恒常性維持に対して重要な役割を担っていることを示している。

3. EC-SOD の発現調節機構

EC-SOD は上述のように、分泌型の SOD アイソザイム

であり、それが発現する細胞や臓器とそのタンパク質が局在する場所が異なることが特徴的である。例えば、血管を構成する血管内皮細胞は血管内での酸化ストレスからの防御のため、EC-SOD タンパク質の局在が免疫組織学的に認められているが、それら細胞の EC-SOD 発現は *in vitro* および *in vivo* のどちらの実験系においても認められない。このように、他の SOD アイソザイムは普遍的に発現しているのに対し、EC-SOD は特定の細胞・組織に発現しているが、その特異的な発現を決定する分子機構は長い間不明であった。最近、Zelko らがヒト培養細胞の EC-SOD 発現はエピジェネティクスにより抑制されていることを明らかにし^{15, 16)}、EC-SOD の発現調節におけるエピジェネティックな分子機構に焦点が当たり始めた。

エピジェネティクスとは、塩基配列の変化によらない遺伝情報の発現制御機構のことであり、具体的には、DNA メチル化やヒストンの翻訳後修飾により遺伝子発現が制御を受ける。エピジェネティクスは発生や細胞の分化において重要な機構であり、非可逆的な遺伝子の発現制御様式を担うのがエピジェネティクスである。また、加齢やがんにおいて、エピジェネティックな変化や異常の関与は既に確立されており、神経変性疾患や免疫・代謝異常についてもエピジェネティクスの関与が報告されている。このように、エピジェネティクスを制御することは様々な疾患の治療や予防につながると考えられている。

(1) DNA メチル化による EC-SOD 発現制御

DNA メチル化は最も初期に同定されたエピジェネティック要因であり、そのほとんどが CpG 配列 (シトシンとグ

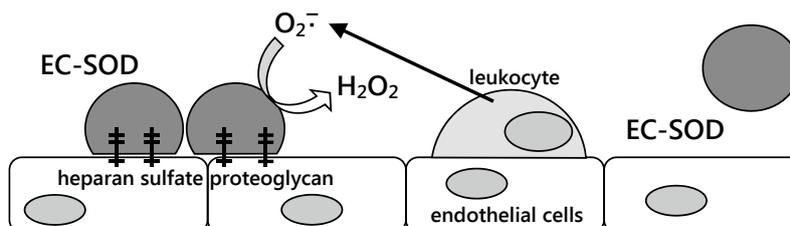


図 2 Intravascular reactive oxygen species scavenger system of EC-SOD
EC-SOD による血管内 ROS 消去メカニズム

アニンが順に並んだ配列) のシトシンの 5 位がメチル化することに由来する。ヒト遺伝子の約 70%には、プロモーター領域にこの CpG 配列が多数存在する CpG アイランドが存在し、その多くがメチル化されていない状態にある。一般的に、DNA メチル化転移酵素 (DNA methyltransferases; DNMTs) などが CpG 部位のメチル化に関与しており、CpG 配列がメチル化されることで遺伝子の発現は抑制される (図 3)。Zelko らは、ヒト肺胞上皮基底癌細胞 A549 細胞とヒト胎児肺由来線維芽細胞 MRC-5 細胞で明らかな EC-SOD 発現の違いを発見し、A549 細胞の EC-SOD プロモーター上の CpG 配列が高メチル化状態にあることを見出した^{15, 16)}。DNMTs のアイソザイムである DNMT1 は、維持メチル化転移酵素と呼ばれ、細胞増殖過程における DNA メチル化状態を維持するために働くことが知られており、この DNMT1 の強力な阻害剤である

5-azacytidine (Aza) は A549 細胞の EC-SOD 発現を亢進させる¹⁶⁾。このとき、EC-SOD の発現に重要な転写因子として考えられている Sp1/3 の DNA 結合能が亢進したことから、DNA メチル化による転写因子 Sp1/3 の DNA 結合不全が EC-SOD の発現低下につながっていると示唆された (図 4)。また、Teoh-Fitzgerald らは、ステージの異なるヒトの肺癌組織において、癌ステージが進むにつれて EC-SOD 発現が減少することを発見した¹⁷⁾。このとき、EC-SOD プロモーター領域の CpG 配列は肺癌ステージの進行とともにメチル化されており、肺癌に伴う DNA メチル化と EC-SOD の発現低下の相関が証明された。さらに Teoh-Fitzgerald らは、癌細胞の浸潤・転移を EC-SOD の過剰発現により抑制できるということを見出し、肺癌組織におけるエピジェネティックな EC-SOD 発現制御が癌の増悪抑制に寄与することを示唆した¹⁸⁾。Kamiya ら

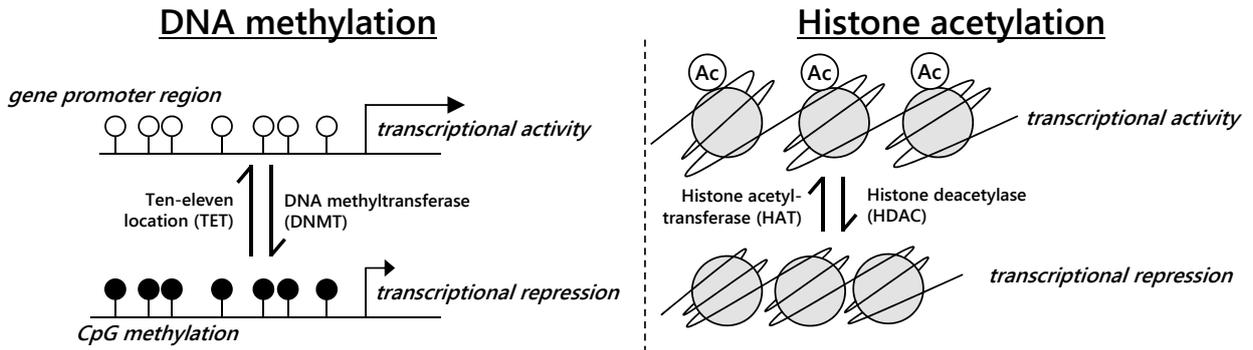


図 3 Epigenetic regulation of gene expression
遺伝子発現におけるエピジェネティクス制御

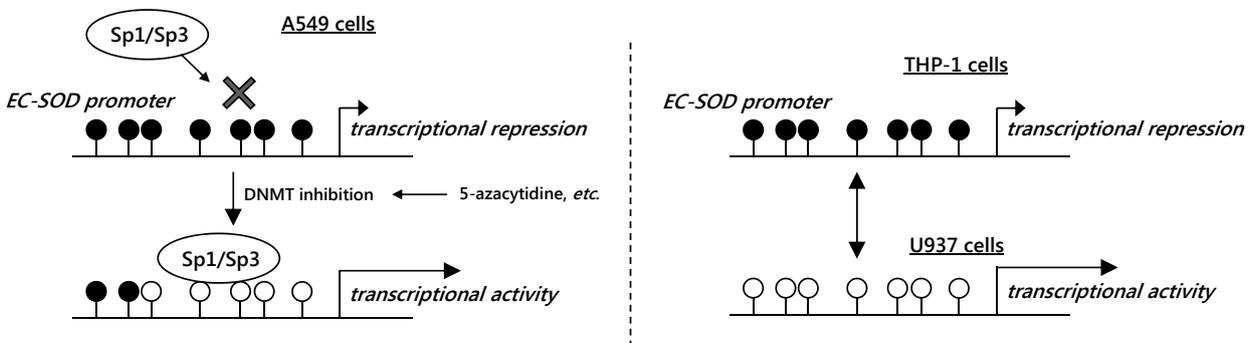


図 4 The mechanisms of EC-SOD expression involving in DNA methylation
DNA メチル化制御が関与する EC-SOD 発現機構

は、肺癌由来の細胞だけでなく、ヒト単球系細胞である THP-1 細胞と U937 細胞とを比較すると、U937 細胞の EC-SOD 発現がかなり高く、THP-1 細胞は EC-SOD プロモーター領域における DNA メチル化が亢進していることを発見した (図 4)¹⁹⁾。これらの報告から、EC-SOD 発現制御機構としてのエピジェネティクス、特に DNA メチル化の重要性が注目されている。

(2) ヒストンアセチル化による EC-SOD 発現制御

遺伝子の発現制御機構は DNA メチル化だけでなくヒストン修飾も重要なエピジェネティック要因である。コアヒストンとは 2 個ずつのヒストン H2A・H2B・H3・H4 から成る 8 量体であり、ヒストンテールと呼ばれるアミノ酸残基がこのコア領域から突出している。このヒストンテール領域内のアミノ酸残基がアセチル化・メチル化・リン酸化などの様々な化学修飾を受けることで、遺伝子の転写活性や転写抑制、DNA 修復を誘導することが知られている。ヒストンアセチル化や脱アセチル化はヒストン修飾の中でも最も研究が進んでいる化学修飾機構であり、histone deacetylase (HDAC) および histone acetyltransferase (HAT) がその責任酵素として同定されている (図 3)。ヒストンのアセチル化が亢進すると、クロマチンと DNA の結合が緩み、転写因子が結合しやすくなり、遺伝子の転写活性が増加する。Zelko らは、ヒト肺動脈血管内皮細胞とヒト肺動脈血管線維芽細胞において、HDAC 阻害剤

である trichostatin A (TSA) の処理により EC-SOD 発現が亢進する結果を示している²⁰⁾ (図 5)。また、Kamiya らは、THP-1 細胞に 12-*O*-tetradecanoyl phorbol 13-acetate (TPA) を処理することで、マクロファージへの分化に伴い、HDAC の発現抑制と HAT の関与を介してヒストンアセチル化が亢進し、EC-SOD 発現が亢進することを見出した¹⁹⁾。これらのヒストンアセチル化を介する EC-SOD 発現亢進は、DNA 脱メチル化を介する場合に比べて早期に誘導される。Zelko らの報告では、ヒト肺動脈血管内皮細胞において Aza は 96 時間の処理によって EC-SOD 発現が亢進するという結果になったが、TSA は 48 時間の処理によって EC-SOD 発現がそれ以上に亢進している。おそらく、Aza は DNMT1 を阻害し、細胞増殖過程でのメチル化の維持を抑制するため、その細胞の増殖の速さに依存する可能性があるが、TSA のようなヒストンアセチル化に関与する試薬は、細胞の増殖に依存せず遺伝子の転写に関わるため、EC-SOD 発現亢進が比較的早期であると考えられる。しかし、A549 細胞では TSA の影響は受けず、DNA 脱メチル化作用によってのみ EC-SOD 発現が亢進し、また THP-1 細胞は Aza によって EC-SOD 発現が亢進するが、TPA による EC-SOD 発現亢進は DNA 脱メチル化作用を介さない。このように、細胞によって EC-SOD 発現におけるエピジェネティクス機構の詳細は異なり、ヒストンアセチル化を介した遺伝子発現制御機構と DNA メチル化による遺伝子発現抑制機構は独立して機能することを意味する。したがって、EC-

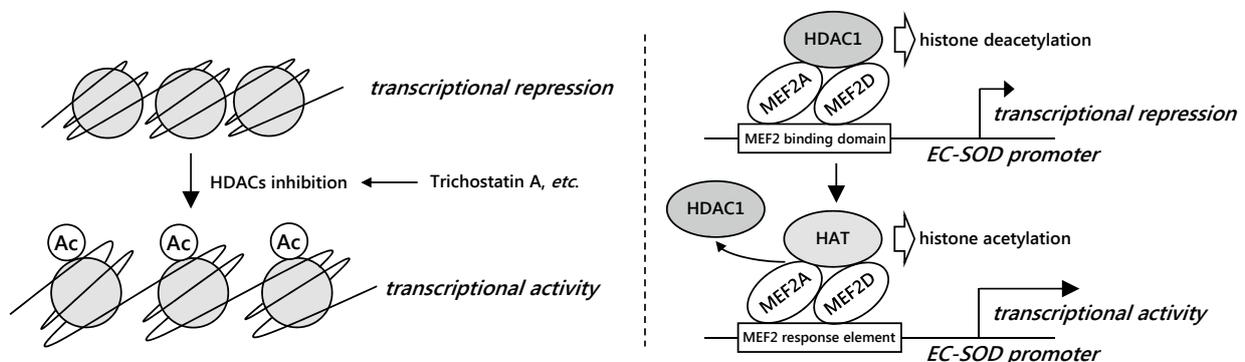


図 5 The mechanisms of EC-SOD expression involving in histone acetylation
ヒストンアセチル化制御が関与する EC-SOD 発現機構

SOD 発現の DNA メチル化制御とともにヒストン修飾を制御する機構を明らかにすることは、EC-SOD 発現調節機構の詳細を明確にし、生体のレドックス恒常性維持に向けた重要な情報になりえる。

4. EC-SOD 発現を制御する化合物

EC-SOD 発現がエピジェネティックに制御されている点から、DNMT1 阻害剤である Aza, HDAC 阻害剤である TSA やバルプロ酸 (valproic acid; VPA) は EC-SOD の発現を増加させる試薬として効果的である。しかし、これらの効果は非常に強く、エピジェネティックな発現制御を受ける他の遺伝子の発現にも強く影響を及ぼすと考えられる。ゆえに、エピジェネティクスに作用する化合物に対して、マイルドな生理活性を示す天然物由来化合物の探索や既存の医薬品の適用拡大を目指すことが、生体の EC-SOD 発現制御を中心としたレドックス恒常性維持として重要な課題であると考ええる。

(1) GLP-1 受容体作動薬 exendin-4 による EC-SOD 発現制御

既存医薬品の安全性や効果を向上させる「育薬」という概念は、医療経済学上の観点から重要視されており、近年では、薬の新しい効果や適応拡大を目指す研究も盛んに行われている。糖尿病治療薬として 2010 年より日本で上市されたエキセナチド (exendin-4) はアメリカオオトカゲの唾液腺から抽出されたホルモンであり、glucagon like peptide-1 (GLP-1) 受容体に結合し、膵β細胞からのインスリン分泌促進やα細胞からのグルカゴン分泌抑制などの効果を示す。生体内では、GLP-1 は小腸下部より分泌されるが、dipeptidyl peptidase 4 (DPP-4) によって速やかに分解される。一方、exendin-4 は DPP-4 切断部位アミノ酸配列が GLP-1 と異なるため、DPP-4 抵抗性を示すことが特徴的である。GLP-1 受容体は膵臓だけでなく、心臓、腎臓、脳や血管においても発現が確認されたことから²¹⁾、exendin-4 の膵外作用が期待され、適応拡大につながる報告も少なくない。Pinney らは、インスリン分泌に関与する pancreatic-duodenal homeobox factor-1

(PDX-1) が exendin-4 によってエピジェネティックに転写調節されるということを報告したため²²⁾、exendin-4 には DNA メチル化やヒストンアセチル化に影響を及ぼす可能性があると考えられる。実際、Yasuda らは DNA メチル化により EC-SOD 発現が低度である A549 細胞において、exendin-4 が EC-SOD プロモーター領域の部分的な DNA 脱メチル化作用により EC-SOD 発現を亢進させることや²³⁾、これもまた EC-SOD 発現が低度であるヒト網膜血管内皮細胞において、exendin-4 がヒストンアセチル化亢進を介して、EC-SOD 発現を亢進させることを見出した²⁴⁾。また、exendin-4 の DNA 脱メチル化作用は DNMT1 の活性を抑制し、ヒストンアセチル化作用は HDACs の活性を抑制することで得られる結果であることを示している。これら exendin-4 のエピジェネティックな作用はその受容体アンタゴニストである exendin-(9-39) により抑制されることから、exendin-4 の作用の起点は GLP-1 受容体であり、細胞内シグナル伝達を介して DNMTs や HDACs の活性を抑制していると考えられる。Kim らは、GLP-1 が GLP-1 受容体を介し、cAMP-dependent protein kinase (PKA)/mitogen- and stress-activated kinase-1 (MSK-1) や extracellular signal-regulated kinase 1/2 (ERK1/2)、p38 が HDACs 活性を制御していることを示している²⁵⁾。ゆえに、Yasuda らが示している exendin-4 による EC-SOD 発現亢進には上述のような細胞内シグナル伝達を介したエピジェネティクス機構が存在していると考えられる。これら知見より、exendin-4 は EC-SOD 発現を中心としたエピジェネティックな膵外作用を有することが示唆され、また、エピジェネティクス異常を基盤とする疾患の治療・予防に有用である可能性があると考えられる。

(2) 蜂産品成分による EC-SOD 発現制御

プロポリスとはミツバチが様々な植物から摂取した樹液や花粉などと、自らの分泌物を混合した物質であり、その成分として、フラボン類、アルデヒド類、カルコン類など 200 種類以上の物質が報告されている。その成分の一種である caffeic acid phenethyl ester (CAPE) は、抗炎症作用、抗腫瘍作用、抗酸化作用があると報告されている^{26~28)}。

Ohashi らはこの CAPE を用いてヒト網膜血管内皮細胞での EC-SOD 発現への影響を検討した。上述のように、ヒト網膜血管内皮細胞における EC-SOD 発現はヒストン修飾により制御されており、CAPE はヒストンアセチル化を増強させることで EC-SOD 発現を亢進させていることが示された²⁹⁾。興味深いことに、exendin-4 では広く DNA 全体にヒストン H3 のアセチル化が増強したが、CAPE は上記の結果は示さず、EC-SOD プロモーター上に隣接するヒストン H3 のアセチル化を増強させることがわかった。この結果から、EC-SOD プロモーター上にヒストンアセチル化に関与する因子が存在することが考えられる。Ohashi らは、EC-SOD プロモーター配列に転写因子である myocyte enhancer factor 2 (MEF2) が結合することを発見し、免疫沈降法などを用いて解析したところ、CAPE は MEF2 のアイソザイムである MEF2A と HDACs のアイソザイムである HDAC1 との結合を阻害することを見出した。この結果は、EC-SOD プロモーター上から HDAC1 の動員数を減少させることで EC-SOD プロモーター特異的にヒストンアセチル化を増強していることを示している。また、MEF2 は HAT とも相互作用することが知られているため、ヒストンアセチル化の調節機構を介する特異的な EC-SOD 発現制御には、MEF2 が重要な役割を果たす可能性がある (図 5)。

また、プロポリスとは異なる蜂産品成分であるローヤルゼリーにも抗酸化作用などがあるという報告があり、Makino らは、THP-1 細胞を用いて EC-SOD 発現にローヤルゼリーが与える影響について検討した。ローヤルゼリーは 10-ヒドロキシデセン酸や 10-ヒドロキシデカン酸などの脂肪酸誘導体を含有していることが知られている。これら誘導体を THP-1 細胞に負荷することにより、EC-SOD プロモーター領域に結合しているヒストンアセチル化が促進され、EC-SOD 発現を誘導することを見出した³⁰⁾。さらに、新規に合成した脂肪酸類似体 (4-hydroperoxy-2-decenoic acid ethyl ester) は天然物由来脂肪酸誘導体に比べ、HDAC の阻害活性や EC-SOD 発現促進作用が強かった。これらの結果は、ローヤルゼリーに含まれる脂肪酸誘導体が、エピゲノム創薬のシード化合物になりえることにつながり、また、これらがエピジェネティックな

EC-SOD 発現を制御することで炎症性疾患などの増悪予防に貢献できる可能性を示唆している。

5. 最近の研究

EC-SOD の発現調節におけるエピジェネティクス、特に DNA メチル化に関する報告の中で、DNA 脱メチル化に注目した報告がある。DNA メチル化機構は DNMTs が責任酵素として働くが、DNA 脱メチル化機構で重要となるのが ten-eleven translocations (TETs) という酵素である。TETs は葉酸などの存在下、メチル化シトシン (5mC) をヒドロキシメチル化シトシン (5hmC) など経由して、シトシンに変換させる (図 3)。Kamiya らは、EC-SOD 発現が非常に少ない THP-1 細胞と高発現している U937 細胞を比較すると、TETs のアイソザイムである TET1 の発現が U937 細胞で多いことを見出した³¹⁾。また、THP-1 細胞同様、EC-SOD 発現が少ない A549 細胞に TET1 の酵素活性部位 (TET1-CD) を過剰発現させると、EC-SOD 発現が亢進することを明らかにした。このとき、EC-SOD プロモーター領域における 5hmC の割合が亢進していた。このように、DNA メチル化による EC-SOD 発現抑制機構は DNMTs だけでなく TETs の DNA 脱メチル化機構も重要視されてきている。

また、Adachi らは、ヒト線維芽細胞や平滑筋細胞において EC-SOD が高発現していることを見出し、腫瘍壊死因子 (TNF- α) がこの EC-SOD 発現を低下させることを報告した³²⁾。Morisawa らは、この TNF- α 負荷における EC-SOD 発現抑制作用に TET1 の発現抑制を介する DNA メチル化亢進が関与していることを見出した³³⁾。ヒト線維芽細胞に TNF- α を負荷することで TET1 の発現が低下し、DNMT1 の発現が亢進したことが EC-SOD プロモーター領域の高度なメチル化に関与したと考えられるが、DNMT1 阻害剤である Aza により TNF- α 負荷時の EC-SOD 発現低下が抑制されなかった。この結果は、ヒト線維芽細胞における EC-SOD プロモーター領域の DNA メチル化作用は DNMT1 よりも TET1 の影響が強く作用しているのではないかと示唆している。

6. おわりに

酸化ストレスは多くの疾患発症・増悪に関与しており、ROSの発生と抗酸化酵素の誘導のバランスを改善することがそれら疾患の治療や予防につながる。抗酸化酵素であるCu,Zn-SODは筋萎縮性側索硬化症（amyotrophic lateral sclerosis; ALS）の発症に関与し³⁴⁾、EC-SODは動脈硬化などに関与するという報告があることから³⁵⁾、抗酸化酵素の誘導機序を解明することがこれら疾患の解明に貢献できると考える。EC-SODは分泌型のSODアイソザイムであり、その発現ならびに活性制御機構を把握するためには、単一細胞種におけるEC-SOD発現制御機構を明らかにするだけでなく病態を形成する細胞群間でのクロストーク機構の把握が重要となる。病態の発症・増悪には遺伝的な原因や環境の変化が考えられるが、この一端にエピジェネティクス機構による様々な遺伝子の発現変化に関与しており、その一つにEC-SODがあるということを今回の総説で示した。AzaやTSAといった試薬のエピジェネティックな作用は強く、多くの遺伝子に影響を与えるが、今回示した蜂産成分などはマイルドな効果であり、EC-SODプロモーター特異的に影響を与えることが出来る可能性が高い。今後、酸化ストレス軽減を目標としたEC-SOD発現のエピジェネティックな制御機構の解明は、炎症反応や動脈硬化症の抑制につながる大きな一歩になると考える。

参考文献

- 1) Halliwell B, Cross CE: Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. *Environ Health Perspect*, 102, 5-12, 1994.
- 2) Vachier I, Chanez P, Le Doucen C, et al.: Enhancement of reactive oxygen species formation in stable and unstable asthmatic patients. *Eur Respir J*, 7, 1585-1592, 1994.
- 3) Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, et al.: Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest*, 114, 1752-1761, 2004.
- 4) Roberts CK, Barnard RJ, Sindhu RK, et al.: Oxidative stress and dysregulation of NAD(P)H oxidase and antioxidant enzymes in diet-induced metabolic syndrome. *Metabolism*, 55, 928-934, 2006.
- 5) Huang PL: eNOS, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Trends Endocrinol Metab*, 20, 295-302, 2009.
- 6) Marklund SL: Human copper-containing superoxide dismutase of high molecular weight. *Proc Natl Acad Sci USA*, 79, 7634-7638, 1982.
- 7) Adachi T, Nakamura M, Yamada H, et al.: Quantitative and qualitative changes of extracellular-superoxide dismutase in patients with various disease. *Clin Chim Acta*, 229, 123-131, 1994.
- 8) Yamada H, Yamada Y, Adachi T, et al.: Polymorphism of extracellular superoxide dismutase (EC-SOD) gene: relation to the mutation responsible for high EC-SOD level in serum. *Jpn J Hum Genet*, 42, 353-356, 1997.
- 9) Carlsson LM, Jonsson J, Edlund T, et al.: Mice lacking extracellular superoxide dismutase are more sensitive to hyperoxia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 92, 6264-6268, 1995.
- 10) Lu Z, Xu X, Hu X, et al.: Extracellular superoxide dismutase deficiency exacerbates pressure overload-induced left ventricular hypertrophy and dysfunction. *Hypertension*, 51, 19-25, 2008.
- 11) Li Q, Bolli R, Qiu Y, et al.: Gene therapy with extracellular superoxide dismutase protects conscious rabbits against myocardial infarction. *Circulation*, 103, 1893-1898, 2001.
- 12) Iyama S, Okamoto T, Sato T, et al.: Treatment of murine collagen-induced arthritis by ex vivo extracellular superoxide dismutase gene transfer. *Arthritis Rheum*, 44, 2160-2167, 2001.
- 13) Iida S, Chu Y, Francis J, et al.: Gene transfer of extracellular superoxide dismutase improves endothelial function in rats with heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 289, H525-H532, 2005.
- 14) Adachi T, Ohta H, Hayashi K, et al.: The site of nonenzymic glycation of human extracellular-superoxide

- dismutase in vitro. *Free Radic Biol Med*, 13, 205-210, 1992.
- 15) Zelko IN, Mueller MR, Folz RJ: Transcription factor sp1 and sp3 regulate expression of human extracellular superoxide dismutase in lung fibroblasts. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 39, 243-251, 2008.
 - 16) Zelko IN, Mueller MR, Folz RJ: CpG methylation attenuates Sp1 and Sp3 binding to the human extracellular superoxide dismutase promoter and regulates its cell-specific expression. *Free Radic Biol Med*, 48, 895-904, 2010.
 - 17) Teoh-Fitzgerald ML, Fitzgerald MP, Jensen TJ, et al.: Genetic and epigenetic inactivation of extracellular superoxide dismutase promotes an invasive phenotype in human lung cancer by disrupting ECM homeostasis. *Mol Cancer Res*, 10, 40-51, 2012.
 - 18) Teoh-Fitzgerald ML, Fitzgerald MP, Zhong W, et al.: Epigenetic reprogramming governs EcSOD expression during human mammary epithelial cell differentiation, tumorigenesis and metastasis. *Oncogene*, 33, 358-368, 2014.
 - 19) Kamiya T, Machiura M, Makino J, et al.: Epigenetic regulation of extracellular-superoxide dismutase in human monocytes. *Free Radic Biol Med*, 61, 197-205, 2013.
 - 20) Zelko IN, Stepp MW, Vorst AL, et al.: Histone acetylation regulates the cell-specific and interferon- γ -inducible expression of extracellular superoxide dismutase in human pulmonary arteries. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 45, 953-961, 2011.
 - 21) Ban K, Noyan-Ashraf MH, Hoefler J, et al.: Cardioprotective and vasodilatory actions of glucagon-like peptide 1 receptor are mediated through both glucagon-like peptide 1 receptor-dependent and -independent pathway. *Circulation*, 117, 2340-2350, 2008.
 - 22) Pinney SE, Jaeckle Santos LJ, Han Y, et al.: Exendin-4 increases histone acetylase activity and reverses epigenetic modifications that silence Pdx1 in the intrauterine growth retarded rat. *Diabetologia*, 54, 2606-2614, 2011.
 - 23) Yasuda H, Mizukami K, Hayashi M, et al.: Exendin-4 promotes extracellular-superoxide dismutase expression in A549 cells through DNA demethylation. *J Clin Biochem Nutr*, 58, 34-39, 2016.
 - 24) Yasuda H, Ohashi A, Nishida S, et al.: Exendin-4 induces extracellular-superoxide dismutase through histone H3 acetylation in human retinal endothelial cells. *J Clin Biochem Nutr*, 59, 174-181, 2016.
 - 25) Kim SJ, Nian C, McIntosh CH: Glucose-dependent insulinotropic polypeptide and glucagon-like peptide-1 modulate beta-cell chromatin structure. *J Biol Chem*, 284, 12896-12904, 2009.
 - 26) Ma Y, Zhang JX, Liu YN, et al.: Caffeic acid phenethyl ester alleviates asthma by regulating the airway microenvironment via the ROS-responsive MAPK/Akt pathway. *Free Radic Biol Med*, 101, 163-175, 2016.
 - 27) Kuo YY, Jim WT, Su LC, et al.: Caffeic Acid phenethyl ester is a potential therapeutic agent for oral cancer. *Int J Mol Sci*, 16, 10748-10766, 2015.
 - 28) Murtaza G, Karim S, Akram MR, et al.: Caffeic acid phenethyl ester and therapeutic potentials. *Biomed Res Int*, 2014, 145342, 2014.
 - 29) Ohashi A, Yasuda H, Kamiya T, et al.: CAPE increases the expression of SOD3 through epigenetics in human retinal endothelial cells. *J Clin Biol Nutr*. (in press)
 - 30) Makino J, Ogasawara R, Kamiya T, et al.: Royal jelly constituents increase the expression of extracellular superoxide dismutase through histone acetylation in monocytic THP-1 Cells. *J Natl Prod*, 79, 1137-1143, 2016.
 - 31) Kamiya T, Nakahara R, Mori N, et al.: Ten-eleven translocation 1 functions as a mediator of SOD3 expression in human lung cancer A549 cells. *Free Radic Res*, 51, 329-336, 2017.
 - 32) Adachi T, Toishi T, Takashima E, et al.: Infliximab neutralizes the suppressive effect of TNF-alpha on expression of extracellular-superoxide dismutase in vitro.

Biol Pharm Bull, 29, 2095-2098, 2006.

- 33) Morisawa S, Yasuda H, Kamiya T, et al.: Tumor necrosis factor- α decreases EC-SOD expression through DNA methylation. J Clin Biol Nutr, 60, 169-175, 2017.
- 34) Matsumoto A, Okada Y, Nakamichi M, et al.: Disease progression of human SOD1 (G93A) transgenic ALS

model rats. J Neurosci Res, 83, 119-133, 2006.

- 35) Sentman ML, Brännström T, Westerlund S, et al.: Extracellular superoxide dismutase deficiency and atherosclerosis in mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 21, 1477-1482, 2001.

Epigenetic regulation of extracellular-superoxide dismutase expression

Hiroyuki YASUDA

Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Suzuka University of Medical Science

Key words: EC-SOD, antioxidant, epigenetics, DNA methylation, histone modification

Abstract

Extracellular-superoxide dismutase (EC-SOD; *SOD3*) has been known to be a sort of antioxidant enzymes and acts at the extracellular space in contrast to other SOD isozymes. Generally, EC-SOD efficiently removes extracellular superoxide by dismutation to hydrogen peroxide and oxygen. Additionally, EC-SOD expression correlate with physiological condition in various diseases, such as diabetes, arteriosclerosis and chronic kidney disease (CKD). Although EC-SOD is high-expressed in lung, kidney tissue and blood vessel and recognized to have the specificity of cell/tissue expression, the molecular mechanism of EC-SOD expression is unclear for a long term. Recently, it was clarified that EC-SOD expression was associated with DNA methylation in human cultured cell, and epigenetic regulation of EC-SOD expression has been drawing attention. This review mainly shows the mechanisms of EC-SOD expression and compounds regulating EC-SOD expression, and introduce the association of epigenetics with EC-SOD expression.

略 歴

安田 浩之 (博士 [薬学]) 鈴鹿医療科学大学 薬学部 薬学科 生物系薬学 助手

学 歴：

平成24年 岐阜薬科大学 薬学科卒業

28年 岐阜薬科大学大学院 薬学専攻博士課程 修了

職 歴：

平成28年 鈴鹿医療科学大学 薬学部 薬学科 生物系薬学 助手

受賞歴：

平成29年 第35回サイトプロテクション研究会 奨励賞

学会活動：

日本薬学会 (正会員)

日本生化学会 (正会員)

日本酸化ストレス学会 (正会員)

研究内容：

抗酸化酵素 EC-SOD のエピジェネティックな発現調節機構の研究

好中球細胞外トラップ誘導メカニズムに関する研究