

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09761

研究課題名(和文) D-DTとMIFの生物学的機能の解明と光老化予防および光発癌新規治療への展開

研究課題名(英文) Development of novel therapeutic method for photoaging and photocarcinogenesis by targeting D-DT and MIF

研究代表者

清水 忠道 (Shimizu, Tadamichi)

富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・教授

研究者番号：70260396

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：光発癌におけるD-dopachrome tautomerase (D-DT)の機能解明を検討した。D-DT過剰発現(Tg)マウスおよびWT(C57BL/6)マウスの背部皮膚に紫外線照射して光発癌を発症したマウスの皮膚を組織学的に調べた結果、TgマウスではWTマウスよりもp53の産生が減少しており、腫瘍は早期に増大した。また、*in vitro*実験系におけるフローサイトメトリーを用いた解析ではWTマウスに比べTgマウスの培養細胞で紫外線照射によるアポトーシスが有意に減少した。以上の結果から、D-DTはp53を抑制する系を介してアポトーシスを抑制することで光発癌を促進することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Here, to elucidate the possible role of D-dopachrome tautomerase (D-DT) in photocarcinogenesis, the acute and chronic effects of UVB in the skin were examined using D-DT transgenic (Tg) and wild-type (WT) mice. D-DT Tg mice skin showed higher levels of D-DT protein expression without irradiation. However, following UVB exposure, D-DT protein expression dramatically increased in comparison with that of WT mice. Increased incidence of tumorigenesis was observed in the Tg than WT mice following chronic UVB irradiation. Next, it was also clarified whether the acceleration of photo-induced carcinogenesis in the Tg mice was mediated by the inhibition of apoptosis. The epidermis derived from the D-DT Tg mice showed less substantially decreased levels of p53 after acute UVB exposure in comparison with the WT mice. These results suggest that chronic UVB exposure enhances D-DT production, which may inhibit the p53-dependent apoptotic processes and thereby induce photocarcinogenesis in the skin.

研究分野：皮膚科学

キーワード：D-DT MIF 光老化 紫外線

1. 研究開始当初の背景

近年、平均寿命が延びて高齢化社会が進むにつれ、長期間の紫外線 (ultraviolet:UV) 暴露により生じる皮膚障害である光老化や光発癌が社会的な問題になっている。特に光発癌は紫外線による DNA 損傷を起点とし、日光角化症を経て有棘細胞癌にいたる。したがって高齢化社会において UV による皮膚障害は、光老化を生じる美容上の問題ばかりでなく、皮膚発癌に密接に関わる重大な問題であると言っても過言ではない。

我々は以前よりマクロファージ遊走阻止因子 (Macrophage migration inhibitory factor: MIF) の生物学的機能や疾患との関連について解析してきた。MIF はアレルギー炎症や免疫応答、細胞の遊走、増殖と分化、メラニン生成経路において酵素的役割を担うなど多彩な生物学的作用を有するサイトカインである。サイトカインカスケードの上位に位置し、TNF- α や IL-6 などの炎症性サイトカインを誘導してアレルギーなどの炎症症状を悪化させる。

MIF の研究の過程で、我々はこれまでに MIF が光老化や光発癌に関与することを見出した。すなわち、UVA によりヒト皮膚線維芽細胞から発現誘導された MIF が表皮角化細胞から産生され IL-1 と共に 1 型コラーゲンの分解・変性に関与する Matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) の発現を亢進させること (Watanabe H et al. J Biol Chem, 2004; Honda A et al. J Dermatol Sci, 2008)、また UVB 照射による産生される MMP-2 および MMP-9 による 4 型コラーゲンの変性・分解にも MIF が関与することを見出した (Yoshihisa Y et al. PLoS one, 2014)。これは MIF の光老化における深いシワの形成への関与を示唆する。また、UVB 照射後の表皮細胞において MIF が protease-activated receptor (PAR)-2 の活性化を介したメラノソームの輸送の亢進されることや stem cell factor (SCF) を活性化させ、endothelin-1 (ET-1) とともに prostaglandin E2 (PGE2) の活性化を介しメラニン合成を亢進させることを見出し、MIF がメラニン、いわゆるシミの形成にも関与することを明らかにした (Enomoto A et al. Am J Pathol, 2011)。

一方、UVB 照射により発現が亢進した MIF により p53 の発現が減弱し、p53 より誘導される apoptosis が抑制されること (Honda A et al. Carcinogenesis, 2009)、また MIF が細胞増殖因子・血管新生因子として作用し細胞増殖を亢進させることにより、MIF は光発癌にも関与していることも明らかにした (Shimizu et al. BBRC 1999)。最近では、MIF の下流に存在する cyclooxygenase-2 (COX-2) が光発癌に関与し、その阻害薬が光発癌の予防に有用である

ことが報告され注目されている (Elmets CA et al. J Natl Cancer Int, 2010)。

近年、MIF と類似したアミノ酸配列を有する D-dopachrome tautomerase (D-DT) の存在が明らかとなった (Merk M et al. Cutokine, 2012)。D-DT は様々な組織および血清中に局在する 12 kDa の細胞内タンパク質で、D-ドーパクロームを 5,6-ジヒドロキシインドールに変換する酵素である。また、D-DT は MIF と高い構造の類似性・相同性を有しており (Esumi N et al. Mamm Genome, 1998)、D-DT の中和により炎症が有意に減少することから炎症性サイトカインとしての機能も示唆されている (Merk M et al. PNAS, 2011)。さらに D-DT は MIF の受容体である CD74/CD44 などとも結合し、MIF と同様に細胞内シグナル伝達にも関与する。このように D-DT は MIF と類似した機能を持つと考えられているが、生体内での機能や MIF との差異については解明されていない。

2. 研究の目的

本研究では光発癌における D-DT と MIF の機能を解明し、これらのサイトカインをターゲットとした光発癌の新規治療の開発を目的とした。

3. 研究の方法

光発癌モデルに D-DT を過剰発現する D-DT transgenic (Tg) マウスおよび WT (C57BL/6) マウスを適用し、光発癌における D-DT や MIF の関与について検討し、機能的異同について解析した。さらに、これらの腫瘍細胞の増殖やアポトーシス、シグナル伝達系への D-DT と MIF の関与について *in vitro* の実験系を用いて検討した。

4. 研究成果

D-DT Tg マウスおよび WT マウスの背部皮膚に紫外線を長期間照射して光発癌を発症したマウスの紫外線照射皮膚を組織学的に調べた結果、D-DT Tg マウスでは WT マウスよりも紫外線照射による p53 の産生が減少しており、腫瘍は早期に増大した。

また、*in vitro* 実験系におけるフローサイトメトリーを用いた解析では、WT マウスに比べ D-DT Tg マウスの培養細胞で紫外線照射によるアポトーシスが有意に減少することを確認した。

以上の結果から、D-DT は p53 を抑制する系を介してアポトーシスを抑制すること

で光発癌を促進することが示唆された。

今後は、今回得られた実験結果に基づき、光老化における D-DT と MIF の関与についても *in vivo*, *in vitro* の両実験系において明らかにする必要がある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 5 件)

Makino T, Yoshihisa Y, Mizawa M, Tsutsui K, Nishijima C, Inaoki M, Shimizu T. Increased serum levels of Th2-type cytokines and eotaxin in fibrillar-type dermatitis herpetiformis. *Acta Derm Venereol.* 97(5):642-643, 2017.

Andoh T, Shimizu T. Increase in sensory sensitivity around, but not in the central part of, the hyperkeratotic papule in lichen amyloidosis. *Br J Dermatol.* 177: e143-4, 2017.

Makino T, Hara H, Mizawa M, Shimizu A, Kaira K, Shimizu T. Detection of human papillomavirus type 35 in recurrent Bowen's disease lesions of the fingers. *Eur J Dermatol.*, 27:198-200, 2017.

Makino T, Ishida W, Hamashima T, Mizawa M, Sasahara M, Shimizu T. An intermediate vascular tumour between kaposiform hemangioendothelioma and tufted angioma with regression of the skin lesion. *Eur J Dermatol.*, Apr 1:27(2):175-176, 2017.

Mizawa M, Makino T, Furukawa F, Torai R, Nakano H, Sawamura D, Shimizu T. The 6-year follow-up of a Japanese patient with silent erythropoietic protoporphyria. *JAAD Case Rep.*, 3:169-171, 2017.

〔学会発表〕(計 1 件)

Yoshihisa Y, Nakagawa M, Rehman MU, Makino T, Mori H, Shimizu T. Inflammatory cytokine mediated induction of serine racemase in atopic dermatitis. 5th Annual Meeting of the International Cytokine and Interferon Society. Oct 29-Nov 2, 2017,

Kanazawa.

〔図書〕(計 2 件)

清水忠道. 皮膚疾患最新の治療 2017-2018. 東京:南江堂; 2017, p.49-50.

清水忠道. 1336 専門家による私の治療 ~ 2017-18 年度版「炎症性・自己免疫性疾患」. 東京:日本医事新報社; 2017. p. 967.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ:
<http://www.med.u-toyama.ac.jp/derma2/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

清水 忠道 (SHIMIZU, Tadamichi)
富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・
教授
研究者番号: 70260396

(2) 研究分担者

牧野 輝彦 (MAKINO, Teruhiko)
富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・
准教授
研究者番号: 90359711

(3)連携研究者
なし

(4)研究協力者
なし