

令和 2 年 4 月 21 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16036

研究課題名(和文)芳香族炭化水素受容体によるFICZ代謝を介したUVA防御と皮膚癌発生のメカニズム

研究課題名(英文) AHR controls skin cancerization through metabolism of FICZ, a UVA-photosensitizer

研究代表者

中村 元樹 (Nakamura, Motoki)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・講師

研究者番号：70645051

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：FICZによるAHRの活性化とCYP1A1の発現亢進と同時に、FICZ自体のUVA毒性によるアポトーシスの誘導を観察した。AHRの阻害によりFICZを代謝するCYP1A1が減少し、アポトーシスが増えることを明らかにした。AHR活性によるFICZ代謝の増減で、UVA毒性はコントロールが可能であることが証明できた。UVB照射によっても同様にFICZのUVA毒性はAHRを介して産生されたCYP1A1によって抑制されており、AHR阻害を行うことでUVB照射後のUVAによるアポトーシスが増すことが分かった。アポトーシスの増加は皮膚癌の抑制につながり、この機構は我々の皮膚に備わった皮膚癌抑制機構である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

AHRによるFICZ/UVA毒性の制御と皮膚癌の発生の関連の証明は、紫外線発癌および職業性の発癌として知られるタールやアゾ色素、ヒ素の暴露による皮膚癌発症のメカニズムの解明につながる。また様々な疾患や皮膚老化の原因としてクローズアップされることの多いAHRの皮膚における重要な役割の発見であり、実用化の始まっているAHR阻害薬の外用薬等の汎用に警鐘を鳴らす。

研究成果の概要(英文)：We observed activation of AHR and upregulation of CYP1A1 by FICZ, as well as induction of apoptosis by UVA-toxicity of FICZ itself. It was revealed that inhibition of AHR decreased CYP1A1 which metabolizes FICZ and increased apoptosis. It was proved that UVA-toxicity can be controlled by increasing / decreasing FICZ metabolism by AHR activity. UVA-toxicity of FICZ was also suppressed by CYP1A1 produced through AHR by UVB irradiation, and it was found that AHR inhibition increases UVA-induced apoptosis after UVB irradiation. Increased apoptosis leads to suppression of skin cancer. This is the innate mechanism of skin cancer suppression in our skin.

研究分野：皮膚科学

キーワード：芳香族炭化水素受容体 紫外線 UVB UVA アポトーシス 皮膚癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

外界とのバリアとして、皮膚は常に様々な環境ストレスにさらされており、紫外線はそのもっとも危険なものの1つである。我々の肌に届く紫外線は UVA(320-400nm)と UVB(290-320nm)の2つに分けることができ、それぞれが皮膚に対し異なる影響を及ぼす。UVA は皮膚の奥深くまで侵入し、酸化ストレスを発生させて真皮線維芽細胞を傷害し、皮膚の老化を引き起こす(Yin L, et al: Photodermatol Photoimmunol Photomed. 17:178-83, 2001)。一方 UVB は主に表皮角化細胞の DNA に吸収され、DNA 障害、突然変異の誘発、そして皮膚癌を引き起こす。過去 10 年間において、芳香族炭化水素受容体(AHR)は、紫外線による皮膚癌の発生を含む皮膚の UVB ストレス反応における重要なメディエーターであることが明らかにされてきた。UVB 照射された角化細胞の細胞質で、トリプトファンから変換された FICZ をリガンドとして活性化された AHR は、CYP1A1 や cyclooxygenase(COX)-2 などの様々な遺伝子の転写活性化を引き起こす(Fritsche E, et al: PNAS. 104:8851-56, 2007)。皮膚の AHR シグナル経路を阻害すると、UVB 照射により誘導される炎症誘発性酵素の阻害、UVB 誘発性のアポトーシスの増加、UVB 暴露による免疫抑制の緩和、そして UVB による皮膚癌の発症が減少する(Esser C, et al: Semin Immunopathol.: 35:677-91, 2013)。つまり AHR の阻害は UVB 暴露による有害事象から皮膚を守る有効な手立てに思える。ここで我々は次の疑問を抱いた。なぜ“自然”はこのような“負”の影響しか及ぼさないシグナル経路を残しているのか

2. 研究の目的

2015 年に Park らは、AHR のリガンドであり UVB によって生成される FICZ は、強い UVA 増感作用を持っているという報告を行った。この事実は、AHR が CYP1A1 による FICZ 代謝を介して UVA による光毒性から皮膚を守っている可能性を示唆している。これは、これまで明らかにされなかった AHR の、生体に利益ある役割である。同時に、FICZ の UVA 増感剤としての作用は、ただ皮膚を傷害するだけのものでは無いと思われる。我々は、AHR の活性化に調節される FICZ/UVA 光毒性は、UVB ダメージを受けた細胞をアポトーシスに導くことにより、光発癌から生体を守っていると考える。UVB による直接的な DNA ダメージを受けた表皮細胞は、活性化された AHR の仲介する様々な反応(炎症の惹起、免疫抑制、アポトーシスの抑制)により癌化の危険性を増すが、UVB により同時に生成された FICZ と太陽光の大部分を占める UVA によりアポトーシスに導かれる。そして AHR は自身の活性化と誘導した CYP1A1 による FICZ の代謝を介して、UVA による過剰な皮膚障害が起きない様、この反応をコントロールしているのではないだろうか。AHR が過剰に活性化された時、このメカニズムが破綻し、UVB ダメージを受けた細胞が UVA により適切に処理されないと皮膚癌が発生する。これは紫外線発癌だけでなく、職業性の発癌として知られる、慢性的なタールやアゾ色素、ヒ素の暴露による皮膚癌発症のメカニズムであると考えられる。本研究では、AHR による FICZ/UVA 毒性の制御と皮膚癌の発生の関連を証明し、紫外線発癌および職業性の発癌として知られるタールやアゾ色素、ヒ素の暴露による皮膚癌発症のメカニズムを解明する。

3. 研究の方法

本研究では以下の3つの仮説を、培養細胞およびマウスを用いた実験で証明する。

AHR 活性による FICZ 代謝の増減で、UVA 毒性はコントロールが可能である。

HaCaT 細胞、ヒト表皮角化細胞(nHEK)を AHR アゴニスト/アンタゴニストで処理し、100nM の FICZ 添加と 5J/cm² の UVA 照射を行い、caspase-3 assay、FACS、comet assay でアポトーシス、DNA 障害を評価する。AHR アゴニストは光毒性を持たない β-naphthoflavone(βNF)を用

い、AHR の化学的な阻害には 3-methoxy-4-nitroflavone (MNF)を用いた。遺伝子的な阻害として AHR ノックアウト HaCaT を使用した。

太陽紫外線 (UVB+UVA) 暴露下での FICZ/UVA 毒性は AHR により制御されている自然界では FICZ は UVB 照射により生成される。その FICZ が我々の皮膚で UVA 毒性を發揮しないのは AHR に誘導された CYP1A1 によって代謝されているからである。この仮説を証明するために、UVB と UVA を細胞に照射し、AHR 阻害の有無によってアポトーシス量が増加するかどうかを観察した。

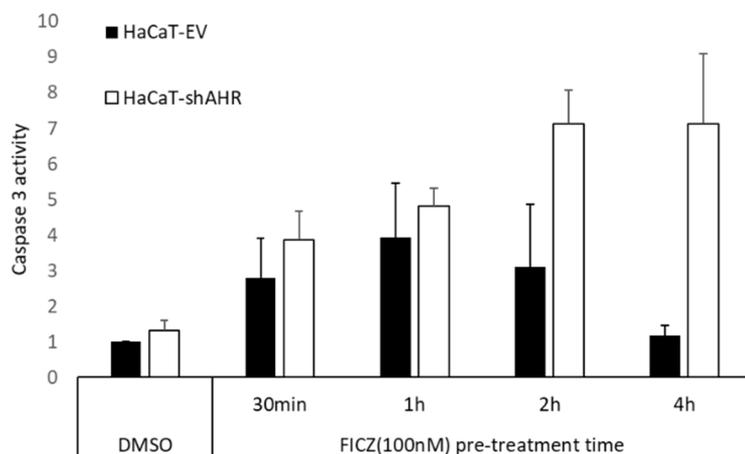
FICZ/UVA 光毒性は紫外線発癌防御機構として働いている

HR-1 ヘアレスマウスに 150mJ/cm² の UVB 照射を週 3 回行い、UVB 照射後に 8J/cm² の UVA 照射を行う群と行わない群、トリプトファン欠乏餌を食べる群、通常の餌を食べる群とで 16 週以降の皮膚腫瘍の個数、大きさを比較した。

4. 研究成果

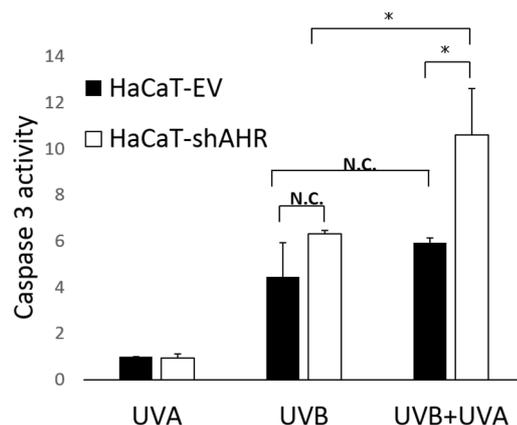
AHR 活性による UVA 毒性のコントロール

β-naphthoflavone(βNF) による AHR の活性化により FICZ + UVA によるアポトーシスが減少することを確認した。また、AHR の阻害によって、FICZ + UVA によるアポトーシスが増強、遷延することを突き止めた (右図)。



UVB 照射下での FICZ+UVA 毒性

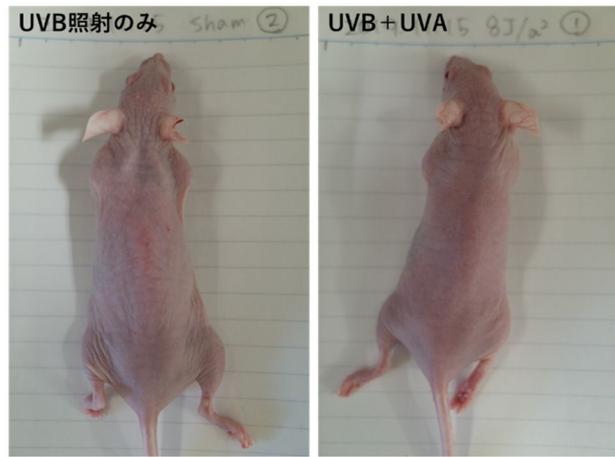
自然界では FICZ は UVB 照射により生成される。その FICZ が我々の皮膚で UVA 毒性を發揮しないのは AHR に誘導された CYP1A1 によって代謝されているからである。このことを UVA、UVB の連続照射により証明した。AHR-KO HaCaT に UVB 400J/m² 照射 2 時間後に UVA 5J/cm² 照射を行ったところ右の結果を得た。UVB により生成された FICZ も UVA 毒性を持ち、それは AHR の存在により無効化されている。



FICZ + UVA 毒性は光発癌防御機構として働いている

HR-1 ヘアレスマウスに 150mJ/cm² の UVB 照射を週 3 回行い、UVB 照射後に 8J/cm² の UVA

照射を行う群と行わない群、トリプトファン欠乏餌を食べる群、通常の餌を食べる群とで 16 週以降の皮膚腫瘍の個数、大きさを比較した。シワの形成など、UVB 照射のみのマウスに皮膚老化の兆候が見られたが、個体差が大きく有意差を得ることはできなかった。また皮膚腫瘍の発現も仮説とは逆に UVB+UVA 照射マウスで多く、UVA による ROS の発生などを介した発がん性が強く出てしまった結果と思われる。至適な UVB/UVA 照射条件の検索およびソーラーシミュレーターを使用した再検を行う予定である。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----