

生体の酸化ストレス応答の分子メカニズム解明と
その疾病予防・治療への応用

Deciphering Molecular Basis for the Anti-Oxidative
Stress Response and Application of the Basis
for Disease Prevention and Therapy

課題番号：19H05649

山本 雅之（YAMAMOTO Masayuki）

東北大学・大学院医学系研究科・教授



研究の概要（4行以内）

酸化ストレスや外来異物に対する生体応答系の破綻は、様々な疾患発症と密接に関わる。本研究では、KEAP1-NRF2 制御系が酸化ストレスを「感知」する分子メカニズムを解明すること、また、その基盤に立って KEAP1-NRF2 制御系の活性化が、いかに種々の「病態」の治療や予防に貢献するのかの理解を進めることに挑戦する。

研究分野：医化学一般

キーワード：ストレス応答、生体防御、NRF2、KEAP1

1. 研究開始当初の背景

酸化ストレスや外来異物に対する生体応答系の破綻は、様々な疾患発症と密接に関わる。このようなストレス関連疾患の発症を未然に防ぐ目的で、生体はストレスに対して迅速に反応し、恒常性を維持する仕組みを保持している。KEAP1-NRF2 系は酸化ストレスや異物・毒物代謝に関わる酵素群の遺伝子を統一的に制御しており、このような生体防御の要として働く。NRF2 は転写因子であり、非ストレス刺激下では KEAP1-CUL3 を構成因子とするユビキチン E3 リガーゼ複合体によりユビキチン化され、プロテアソームにより迅速に分解される。KEAP1 はユビキチン E3 リガーゼ複合体の基質認識アダプターとして機能するだけでなく、ストレスセンサー分子としても機能する。例えば、KEAP1 が酸化ストレスを感知すると、同複合体はユビキチンリガーゼ活性を失い、NRF2 のユビキチン化反応は停止する。その結果、NRF2 は分解を免れ、安定化して核内に蓄積し、CsMBE 配列に結合して、種々の標的遺伝子の発現を活性化する。NRF2 は、抗酸化や異物代謝という従来から想定されていた機能にとどまらず、抗炎症機能や代謝改善効果と密接に関連するため、NRF2 活性化による生体防御機能の増強は創薬面からも注目されており、様々な疾患の治療への応用を目指して多くの NRF2 誘導剤の開発計画が進行している。

2. 研究の目的

本研究の目的は、生体がいかに過剰な活性酸素を感知し、それに反応して恒常性を維持しているのかを解明すること、また、そのような応答系を通して生体がいかに加齢・老化に対応しているのかを理解することである。特に、KEAP1-NRF2 系が酸化ストレスを感知する分子メカニズムの解明、また、KEAP1-NRF2 系の活性化がいかに種々の「病態」の治療や予防に貢献するのかの理解を進めることに挑戦する。

3. 研究の方法

1. KEAP1-NRF2 制御系による酸化ストレス感知メカニズムの分子メカニズム解明
2. KEAP1-NRF2 系の動的な構造・機能連関の解明
3. NRF2 活性に対する介入に基づく健康長寿戦略の確立と有効性検証

4. これまでの成果

KEAP1-NRF2 制御系による酸化ストレス感知メカニズムの解明（Cell Reports 2019）
NRF2 誘導剤に高反応性の KEAP1 システイン残基に対する体系的なシステイン残基置換を実施し、それらの KEAP1 変異体分子や同じ変異を持つマウスの解析実験の結果、KEAP1 は複数のセンサーシステイン残基を使い分けて、多様なストレスに対する精密な応答をしていることを見出した。

細胞内 NRF2 発現量が化学発がんにおける食道上皮細胞の運命を決定する (*Mol Cell Biol* 2021)

遺伝学的手法により、NRF2 欠失細胞と正常細胞が食道上皮においてほぼ同等に混在するマウスを作出し、同マウスに発がん物質 4-ニトロキノリン-1-オキサイド (4NQO) を投与して、同上皮における正常細胞と NRF2 欠失細胞の挙動を検討した。本マウスの食道上皮においては、通常環境では NRF2 欠失細胞と正常細胞が混在した。しかし、4NQO を曝露した際には、NRF2 欠失細胞が選択的に排除され、存在しなくなっていた。4NQO が誘導した腫瘍の大半は NRF2 欠失細胞由来ではなく、NRF2 発現細胞由来であった。これらの結果から、従来の予想に反して、化学発がん剤は NRF2 欠失細胞ではなく、発現細胞を発がんに導くこと、また、NRF2 欠失細胞が食道上皮に出現しても、その組織環境から、直ぐに発がんする運命をたどる可能性は低いことが理解される。

微小環境での NRF2 活性化は NRF2 活性化を伴う悪性腫瘍の進行を制限する (*Cancer Res* 2020)

NRF2 活性化を伴う悪性腫瘍について、周囲の正常細胞において NRF2 を活性化させることで、腫瘍を抑制できるか否かを検討した。野生型マウスと比べて、全身で NRF2 を活性化させたマウスは、腫瘍の大きさが減少し生存率が上昇した。さらに、同マウスにおいて、血液細胞 (免疫細胞) でのみ NRF2 を活性化できないようにすると、腫瘍抑制効果が弱まることから、特に免疫細胞における NRF2 活性化が腫瘍抑制に重要であることがわかった。NRF2 は正常細胞をストレスから保護する役割をもつため、NRF2 を抑制する治療法に比べて、この治療法では副作用が少なくなると考えられた。この研究成果は、予後不良のがんに対する新しい治療法の開発に結びつくものと期待される。

宇宙マウス研究から健康長寿のヒントを発見 (*Commun Biol* 2020)

世界で初めて遺伝子ノックアウトマウスの宇宙滞在実験に成功し、帰還したマウスの詳細な解析を行った。その結果、宇宙ストレスは様々な加齢変化を早回しで引き起こすこと、そして NRF2 はその加齢変化に対抗して食い止める役割があることを明らかにした。本研究の宇宙マウス実験は、今後の病態モデルマウスを用いた宇宙実験や老化研究のロールモデルになると期待される。宇宙滞在による加齢変化の克服に NRF2 が重要であることを示したことは、宇宙旅行の健康管理に重要な知見を与えるだけでなく、地上における加齢変化に関連する疾患予防および健康長寿実現に貢献することが期待される。

5. 今後の計画

特に、クライオ電子顕微鏡を活用した KEAP1-CUL3 複合体の構造解析を加速する。また、NMR 構造解析により KEAP1-NRF2 系による”門と蝶番モデル”を明らかにする。さらに、アルツハイマーや関節炎などの病態モデル系を活用して、それらのモデル動物の NRF2 活性を増大させたり、減少させたりして、予防・発症遅延・治療の効果を検証する。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

1. Horiuchi M, Taguchi K, Hirose W, Tsuchida K, Suzuki M, Taniyama Y, Kamei T, and Yamamoto M. Cellular Nrf2 Levels Determine Cell Fate during Chemical Carcinogenesis in Esophageal Epithelium. *Mol Cell Biol* 41, e00536-20 (2021)
2. Suzuki T, Hidaka T, Kumagai Y, and Yamamoto M. Environmental pollutants and the immune response. *Nat Immunol*. 21, 1486-1495 (2020)
3. Suzuki T, Uruno A, Yumoto A, Taguchi K, Suzuki M, Harada N, Ryoike R, Naganuma E, Osanai N, Goto A, Suda H, Browne R, Otsuki A, Katsuoka F, Zorzi M, Yamazaki T, Saigusa D, Koshiha S, Nakamura T, Fukumoto S, Ikehata H, Nishikawa K, Suzuki N, Hirano I, Shimizu R, Oishi T, Motohashi H, Tsubouchi H, Okada R, Kudo T, Shimomura M, Kensler TW, Mizuno H, Shirakawa M, Takahashi S, Shiba D, and Yamamoto M. Nrf2 contributes to the weight gain of mice during space travel. *Commun Biol* 3, 496 (2020)
4. Hayashi M, Kuga A, Suzuki M, Panda H, Kitamura H, Motohashi H, and Yamamoto M. Microenvironmental Activation of Nrf2 Restricts the Progression of Nrf2-Activated Malignant Tumors. *Cancer Res*. 80, 3331-3344 (2020)
5. Suzuki T, Muramatsu A, Saito R, Iso T, Shibata T, Kuwata K, Kawaguchi SI, Iwawaki T, Adachi S, Suda H, Morita M, Uchida K, Baird L, and Yamamoto M. Molecular Mechanism of Cellular Oxidative Stress Sensing by Keap1. *Cell Reports* 28, 746-758 (2019)
6. 山本雅之 第70回河北文化賞 “生体の酸化ストレス応答機構の解明” 2021年1月16日
7. Masayuki Yamamoto. Lester Packer Award 2021 (SFRRI 2021) “Discovery of the KEAP1-NRF2 pathway regulating cellular response against oxidative and electrophilic stresses” International Society For Free Radical Research (SFRRI) 18 March, 2021.

7. ホームページ等

<http://www.dmbc.med.tohoku.ac.jp/official/index.html>