

令和元年5月16日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10126

研究課題名(和文) 色素性乾皮症マウスを用いた紫外線発がん抑制因子の探索 炎症反応をコントロールする

研究課題名(英文) The study of the elements of inflammatory response related with ultraviolet-induced skin carcinogenesis using Xpa knockout mice-the control of inflammation in the skin

研究代表者

国定 充 (KUNISADA, MAKOTO)

神戸大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：80566969

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：紫外線による皮膚発癌においてすでに活性酸素が関わる系で紫外線による皮膚の炎症反応が関係することを把握していた。この度の研究は色素性乾皮症という高皮膚発癌形質を示すと伴に強い紫外線による炎症反応を起こす疾患モデルマウスを用いて紫外線による炎症反応因子を網羅的にマイクロアレイ法にて解析、その中で好中球遊走因子であるCXCL1というケモカインの有意な遺伝子および蛋白の発現上昇を認め、さらにその中和抗体を投与しながら紫外線を照射すると通常起こる皮膚腫瘍の形成が有意に抑制された。このことはCXCL1が炎症反応因子および発癌に関わる重要な分子であることが解明された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

紫外線発癌のメカニズム解明において、紫外線による皮膚の炎症反応が重要な要素であることが証明出来、今後皮膚癌における治療や予防などにおいて抗炎症を考慮した戦略に繋がる可能性が出来た。さらにそれらの炎症反応において活性酸素が重要な要素であることも証明できたので、抗炎症のストラテジーとともに抗酸化作用を考えた内服や外用などの治療応用に発展できる可能性がある。さらに皮膚癌は多段階発癌を経るシステムと考えられているが、そのどのポイントで炎症反応が関与するかをさらに詳細に明らかにすることにより、紫外線皮膚発癌のメカニズム解明が進むことになる。

研究成果の概要(英文)：We have already reported that ultraviolet-(UV) induced inflammation might involve the mechanism of UV-induced skin carcinogenesis. We this time utilised Xpa knockout mice, the model of Xeroderma pigmentosum type A that reveal marked increased skin cancer and abnormal inflammatory skin reaction by UV for detecting some important molecules related to this extreme phenotype. We have performed microarray to obtain up-regulated genes in Xpa knockout mice compared to wild-type mice and found CXCL1, that is neutrophils-attractant chemokine was significantly up-regulated in both mRNA and protein level. Furthermore, when we administered the CXCL1 neutralising antibody with chronic UVB exposure for Xpa knockout mice, the tumor production has been significantly decreased and the induction of skin tumor development also showed delayed compared to the control group. These results suggests that CXCL1 is critical molecule related to UV-induced inflammation as well as skin tumor development.

研究分野：紫外線皮膚発癌

キーワード：紫外線皮膚発癌 炎症反応 UVB CXCL1 Xpaノックアウトマウス 活性酸素

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

紫外線皮膚発癌においてその詳細なメカニズムは未だに明らかになっていない。一方、紫外線による炎症反応の増強は高紫外線発癌形質を示す色素性乾皮症 (XP-A) という常染色体劣性遺伝性疾患から観察するに、重要な要素であることは予想されていた。さらに我々は色素性乾皮症のシステムとは違う活性酸素由来で高発現形質を示すマウスモデルですでに紫外線による炎症反応が重要であることは示していた。

### 2. 研究の目的

紫外線発癌において紫外線曝露後の皮膚での炎症反応がいかに関与しているかについて、網羅的に遺伝子を検討することにより、重要なサイトカインを中心とした分子を同定する。また実際にその分子が発癌に対して関与しているかどうかを検討する。

### 3. 研究の方法

*Xpa* ノックアウトマウスを野生型マウスとともに紫外線 UVB を照射し、皮膚より mRNA を抽出し、マイクロアレイにて網羅的に遺伝子発現を比較検討した。その結果をもとに有意な遺伝子をサイトカイン、ケモカインにフォーカスを当てて、抽出し、今度はマウスの血中において同遺伝子の蛋白レベルでの上昇を ELISA 法にて確認・検討した。さらにはその蛋白の中和抗体を実際に *Xpa* ノックアウトマウスと野生型マウスに投与しながら UVB を慢性に照射し、マウスの腫瘍数、発生時間、腫瘍の体積などを比較した。

### 4. 研究成果

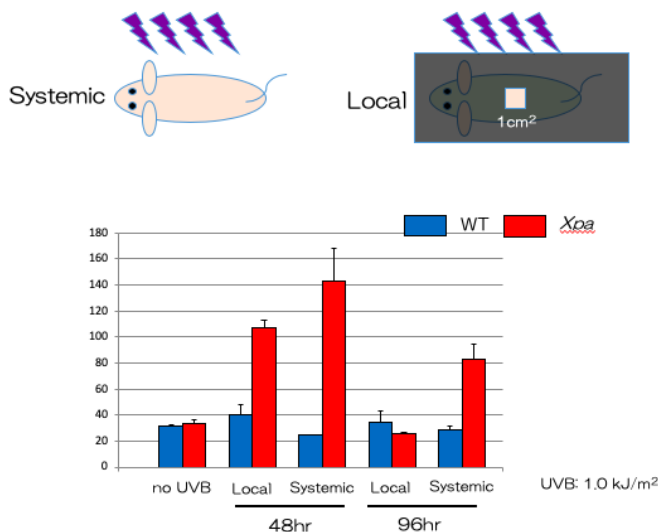
4-1. *Xpa* ノックアウトマウスにおいて、様々なサイトカイン/ケモカインの上昇が認められた。特に CXCL1 というケモカインの発現量は多く、また野生型と比較しても有意に上昇していた。

*Xpa*マウスでの様々なケモカインの上昇

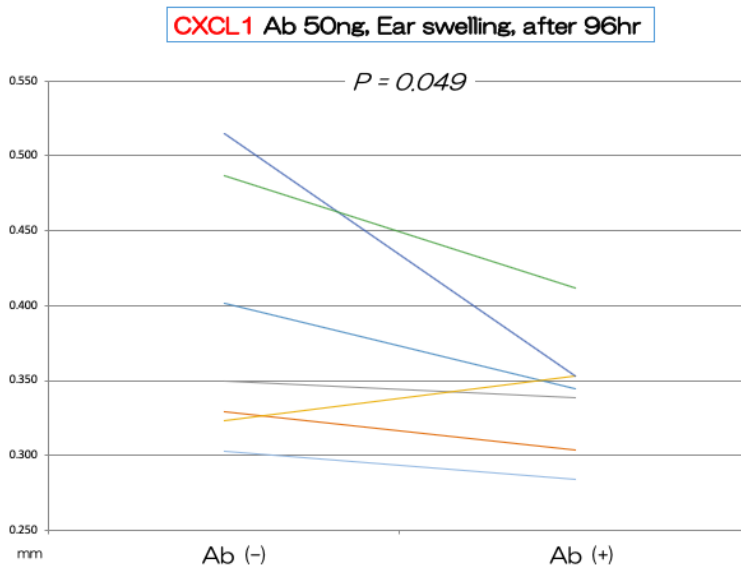
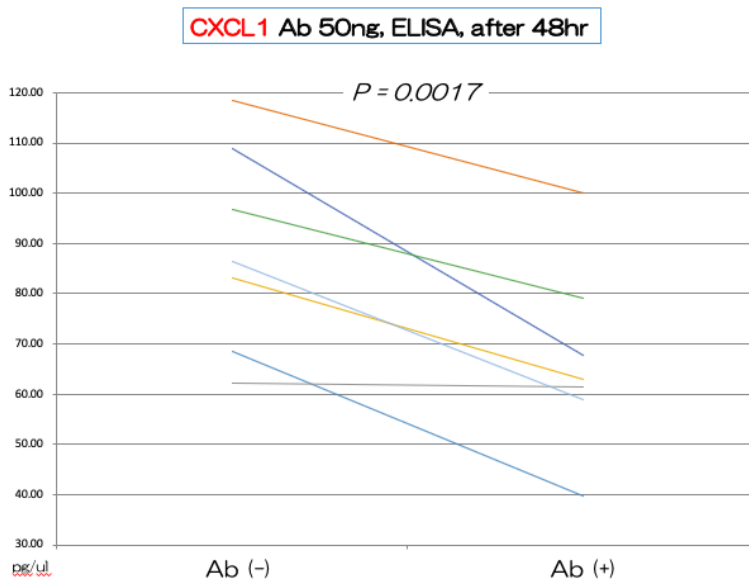
Normalized intensity (test)	Normalized intensity (control)	Normalized intensity (sum)	Normalized intensity (ratio)	Gene Symbol	Gene Name
201.8813	92.89108	294.7724	2.17331	<i>Cxcl14</i>	chemokine (C-X-C motif) ligand 14
564.3677	276.8816	841.2493	2.0383	<i>Cxcl1</i>	chemokine (C-X-C motif) ligand 1
235.9485	39.77024	275.7188	5.93279	<i>Cxcl2</i>	chemokine (C-X-C motif) ligand 2
575.0206	198.8813	773.902	2.89128	<i>Ccl7</i>	chemokine (C-C motif) ligand 7
1602.647	628.9721	2231.619	2.54804	<i>Ccl6</i>	chemokine (C-C motif) ligand 6
315.1014	131.2582	446.3596	2.40062	<i>Ccl2</i>	chemokine (C-C motif) ligand 2
138.1141	24.94304	163.0572	5.53718	<i>Hck</i>	hemopoietic cell kinase
477.9954	191.5427	669.5381	2.4955	<i>Ccl9</i>	chemokine (C-C motif) ligand 9
337.1426	30.43936	367.582	11.0759	<i>Pbpc</i>	pro-platelet basic protein
123.8247	21.10228	144.927	5.86784	<i>Adcy9</i>	adenylate cyclase 9
647.1859	289.5087	936.6947	2.23546	<i>Pf4</i>	platelet factor 4

4-2. また紫外線を照射したマウスにおいて血清中でも CXCL1 の上昇が認められ、蛋白レベルでもの上昇が確認された。これは皮膚の全体に紫外線を照射するのみならず、一部分のみに照射することによっても CXCL1 上昇が見られ、*Xpa* ノックアウトマウスにおいての CXCL1 上昇は全身の炎症に関与することが示唆された。

The level of CXCL1 after UVB exposure on *Xpa* mice, ELISA

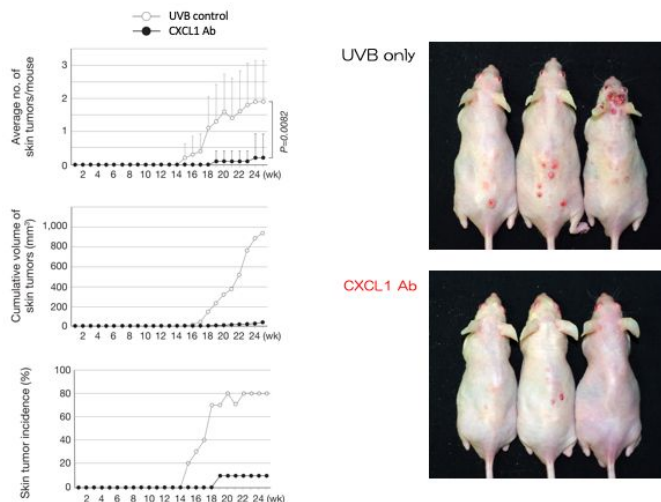


4-3. さらにこのマウスに CXCL1 の中和抗体を投薬すると、上昇したマウス CXCL1 が低下することも確認出来、同時に中和抗体を投与することでマウスの耳介腫脹が抑制され、実際の炎症反応が抑制されることが示された。



4-4. 最終的に CXCL1 の中和抗体を投薬しながら紫外線を照射するとマウスの皮膚腫瘍発生は有意に低下することが確認でき、また腫瘍の発症時期も有意に遅れさせることが示された。結論して *Xpa* マウスにおいての易紫外線皮膚腫瘍の形質は炎症反応と密接に関係していることが証明できた。

The inhibition of skin tumorigenesis by CXCL1-Ab



## 5. 主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計3件)

1. Takemori C, Kunisada M, Yogiarti F, Oka S, Sakumi K, Ono R, Nakabeppu Y, Nishigori C. Co-regulation of Cxcl1 and versican in the inflammatory response to UVB induced reactive oxygen species in skin photo-tumorigenesis. J Dermatol Sci 85(2): 140-143, 2017
2. Kunisada M, Hosaka C, Takemori C, Nakano E, Nishigori C. CXCL1 inhibition regulates UVB-induced skin inflammation and tumorigenesis in *Xpa*-deficient mice. J Invest Dermatol 137(9): 1975-83, 2017
3. Kunisada M, Yamano N, Hosaka C, Takemori C, Nishigori C. Inflammation due to voriconazole-induced photosensitivity enhanced skin phototumorigenesis in *Xpa*-knockout mice. Photochem Photobiol 94(5):1077-1081, 2018

### 〔学会発表〕(計7件)

1. Kunisada M, Takemori C, Hosaka C, Nakano E, Enomoto H, Nishigori C The effects of Cxcl1 antagonist on UVB-induced skin inflammation in Xeroderma pigmentosum type A deficient mice. 16th World Congress of Cancers of the Skin 2016, Vienna
2. Takemori C, Kunisada M, Yogiarti F, Oka S, Sakumi K, Ono R, Nakabeppu Y, Nishigori C Co-regulation of Cxcl1 and versican in inflammatory response in UVB induced reactive oxygen species in the skin The 41th Annual meetings of the Japanese Society for Investigative Dermatology 2016, Sendai
3. Kunisada M, Hosaka C, Takemori C, Nakano E, Nishigori C CXCL1 inhibition regulates UVB-induced skin inflammation and tumorigenesis in Xpa deficient mice The 42th Annual meetings of the Japanese Society for Investigative Dermatology 2017, Kochi
4. Kunisada M, Hosaka C, Takemori C, Nakano E, Nishigori C Voriconazole enhances skin tumor development through induction of inflammation caused by ultraviolet B International Investigative Dermatology 2018, Orlando, US
5. Kunisada M, Hosaka C, Takemori C, Nakano E, Nishigori C Voriconazole enhances skin tumor development through induction of inflammation caused by ultraviolet B International Investigative Dermatology 2018, Sydney, Australia
6. CXCL1 抗体は Xpa 欠損マウスにおける UVB 誘導の皮膚の炎症反応および皮膚腫瘍発生を抑制する 国定 充、保坂 千恵子、竹森 千尋、中野 英司、榎本 秀樹、錦織 千佳子 第39回日本光医学・光生物学会 於名古屋 2017年
7. ポリコナゾールによる光毒性反応による炎症増強反応は Xpa ノックアウトマウスにおいて皮膚腫瘍を増加させる 国定 充、山野 希、保坂 千恵子、竹森 千尋、錦織 千佳子 第40回日本光医学・光生物学会 於仙台 2018年 口頭発表

### 〔図書〕(計0件)

### 〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

### 〔その他〕

ホームページ等: なし

## 6. 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名: なし

### (2)研究協力者

研究協力者氏名: なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。