

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K16255

研究課題名（和文）扁平上皮特異的Nrf2活性化マウスに生じる皮膚炎発症メカニズムの解析

研究課題名（英文）Molecular Mechanism in NRF2-mediated Dermatitis

研究代表者

枝光 智大（Edamitsu, Tomohiro）

東北大学・医学系研究科・学術研究員

研究者番号：80907709

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）：本研究では、皮膚炎を発症するNrf2活性化マウスを用いて、Nrf2と皮膚炎との関係を解析した。Nrf2活性化マウスの表皮を用いた網羅的遺伝子発現解析では、TrCPによるNrf2分解を遮断したマウスや、Keap1によるNrf2分解を遮断したマウスと比較して、両者による分解経路を遮断したNrf2活性化マウスではNrf2標的遺伝子群を含めて多くの遺伝子発現に変動がみられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

皮膚が環境から受ける様々なストレスは、アトピー性皮膚炎の発症や悪化に関わるが、その機序は不明な点が多い。これまで、Nrf2は解毒代謝や抗酸化に関わる酵素を制御することはよく調べられてきた。環境ストレスに対するセンサーとして機能するNrf2に注目した本研究の成果は、アトピー性皮膚炎の未解明の機序またはNrf2の新しい機能解明にアプローチできる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：In this study, the relationship between Nrf2 and dermatitis using Nrf2-activated mice that developed skin inflammation was analyzed. Comprehensive gene expression analysis using the epidermis of Nrf2-activated mice revealed significant changes in gene expression, including Nrf2 target genes, when compared to mice where the degradation of Nrf2 by Keap1 or TrCP was blocked individually.

研究分野：皮膚科学

キーワード：Nrf2 アトピー性皮膚炎 Keap1 TrCP

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

皮膚が環境から受けるストレスは、アトピー性皮膚炎の発症や悪化に関わっている。Nrf2 は環境化学物質などに由来する酸化ストレスに応答して活性化し、生体の恒常性維持に機能する転写因子である。Nrf2 は、Keap1 と β TrCP を介したプロテアソーム分解を受けており、定常状態において活性は抑制されている。興味深いことに、扁平上皮において Keap1 と β TrCP による分解経路を遮断した Nrf2 活性化 ($K5CreERT2::Keap1^{F/F}::Nrf2^{SA}$) マウスは、痒みを伴う皮膚症状を呈する。

2. 研究の目的

Nrf2 活性化が皮膚炎を発症するメカニズムは不明であり、本研究では Nrf2 活性化マウスを用いて Nrf2 と皮膚炎の関係を調べた。

3. 研究の方法

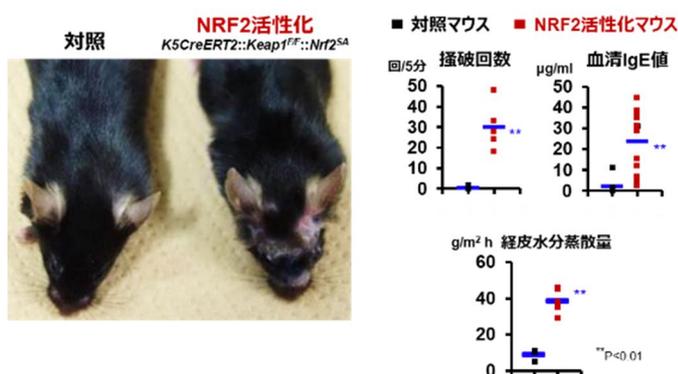
扁平上皮特異的かつタモキシフェン (Tam) 依存的に Keap1 が欠失する $K5CreERT2::Keap1^{F/F}$ マウス (Horiuchi *et al.* 2021) と、 β TrCP による Nrf2 分解に重要なセリン 335/338 をアラニンに置換した $Nrf2^{SA}$ マウス (Kuga *et al.* 2022) を交配させることで、Keap1 と β TrCP による分解経路を遮断した $K5CreERT2::Keap1^{F/F}::Nrf2^{SA}$ マウスを作製した。Tam を投与した $Keap1^{F/F}$ 、 $Keap1^{F/F}::Nrf2^{SA}$ 、 $K5CreERT2::Keap1^{F/F}$ および $K5CreERT2::Keap1^{F/F}::Nrf2^{SA}$ マウスの皮膚症状を観察し、組織学的評価、遺伝子発現解析および RNA-seq 解析を行った。

4. 研究成果

(1) $K5CreERT2::Keap1^{F/F}::Nrf2^{SA}$ マウスの表現型解析

$K5CreERT2::Keap1^{F/F}::Nrf2^{SA}$ マウスの皮膚症状が、ヒトのアトピー性皮膚炎に類似するか調べた。本マウスは、タモキシフェン (Tam) 投与 1 週以降に搔破行動と皮膚病変が出現し、4 週間まで悪化、その後 12 週時点で軽快した。組織学的に不全角化、表皮肥厚、表皮細胞間浮腫、真皮への炎症細胞の浸潤を伴い皮膚炎の特徴を有した。また、Tam 投与 4 週間において、血清 IgE 値と経表皮水分蒸散量 (TEWL) が対照マウスと比較して有意に増加し、アトピー性皮膚炎の特徴を有した。

図1. タモキシフェン投与4週後の表現型



(2) 表皮における Nrf2 標的遺伝子 *Nqo1* の発現解析

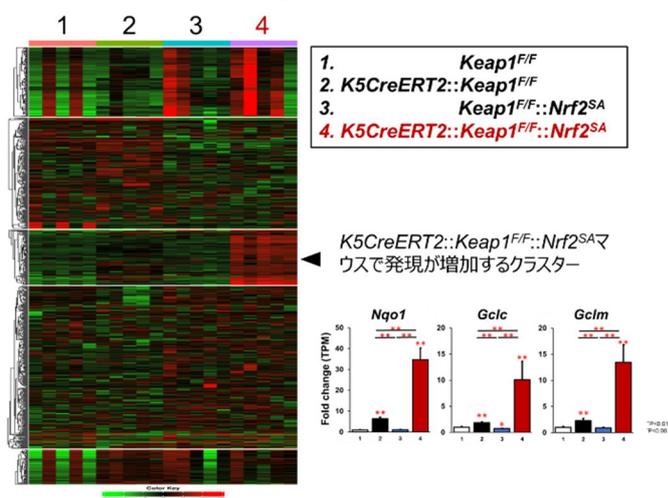
表皮における Nrf2 活性を評価するために *Nqo1* mRNA の発現を調べた。Tam 投与 1 週間および 4 週間後の表皮における *Nqo1* mRNA の発現は、 $Keap1^{F/F}$ 、 $K5CreERT2::Keap1^{F/F}$ 、 $Keap1^{F/F}::Nrf2^{SA}$ と比較して、 $K5CreERT2::Keap1^{F/F}::Nrf2^{SA}$ マウスにおいて著しく上昇した。Keap1 抑制に加え、 β TrCP による Nrf2 分解を抑制すると、Nrf2 の活性が増強することが示された。

(3) RNA-seq による網羅的遺伝子発現解析

$K5CreERT2::Keap1^{F/F}::Nrf2^{SA}$ マウスとは異なり、 $Keap1^{F/F}$ 、 $Keap1^{F/F}::Nrf2^{SA}$ 、 $K5Cre::Keap1^{F/F}$ マウスは皮膚炎を発症しないので、 $K5CreERT2::Keap1^{F/F}::Nrf2^{SA}$ マウスのみで発現変動する遺伝子が皮膚炎の発症に寄与することが示唆される。RNA-seq で発現変動する上位 1,000 遺伝子を用いてクラスタリングすると、 $K5CreERT2::Keap1^{F/F}::Nrf2^{SA}$ マウスで発現が増加するクラスターを同定した。パスウェイ解析では、Glutathione metabolic process や Detoxification などに関連するパス

エイが活性化し、Nrf2 標的遺伝子 (*Nqo1*, *Gclc*, *Gclm* など)を多く含んだ。このことから、Keap1 または β TrCP の単独抑制と比較して、両者の抑制は Nrf2 をより強く活性化することが示された。本クラスターには、皮膚や痒みに関連する遺伝子も含んでおり、Nrf2 活性化による皮膚炎発症に貢献している可能性がある。

図2. RNA-seqによる網羅的遺伝子発現解析



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

| | |
|---|---------------------|
| 1. 著者名 Eisaku Ogawa, Tomohiro Edamitsu, Hidetaka Ohmori, Kazuyoshi Kohu, Mineo Kurokawa, Hiroshi Kiyonari, Masanobu Satake, Ryuhei Okuyama | 4. 巻 23 |
| 2. 論文標題 Transcription Factors Runx1 and Runx3 Suppress Keratin Expression in Undifferentiated Keratinocytes | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences | 6. 最初と最後の頁 10039 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms231710039 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件）

| |
|-----------------------------|
| 1. 発表者名 枝光智大、田口恵子、山本雅之 |
| 2. 発表標題 AhRとアトピー性皮膚炎 |
| 3. 学会等名 第49回日本毒性学会（招待講演） |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|----------------------------------|
| 1. 発表者名 枝光智大、田口恵子、西山徳、山本雅之 |
| 2. 発表標題 NRF2活性化によるアトピー性皮膚炎の発症 |
| 3. 学会等名 日本生化学会東北支部 第89回例会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Tomohiro Edamitsu, Keiko Taguchi, Masayuki Yamamoto |
| 2. 発表標題 Constitutive AhR activation in atopic dermatitis |
| 3. 学会等名 10th International Congress of ASIATOX（招待講演） |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Tomohiro Edamitsu, Keiko Taguchi, Eisaku Ogawa, Ryuhei Okuyama, Masayuki Yamamoto |
| 2. 発表標題 Nrf2 Activation in Atopic Dermatitis |
| 3. 学会等名 The Environmental Response VI |
| 4. 発表年 2023年 |

〔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 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|