

氏名（本籍）	小川 達也		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	博甲第	9935	号
学位授与年月	令和 3 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	Nrf2-Keap1 経路の乾癬病態における役割の解明		
主査	筑波大学教授	博士（理学）	入江 賢児
副査	筑波大学教授	医学博士	加藤 光保
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	森島 祐子
副査	筑波大学講師	博士（農学）	蕨 栄治

論文の内容の要旨

小川達也氏の博士学位論文は、乾癬病態における Nrf2-Keap1 経路の役割を検討したものである。その要旨は以下のとおりである。

（目的） 生体は細胞内酸化還元状態を維持して機能する。転写因子 Nrf2 とその活性化を抑制する細胞質タンパク質 Keap1 は、抗酸化/解毒代謝遺伝子群の発現を増強し、酸化ストレス反応を制御し、細胞の恒常性を維持する。Nrf2 は、自然免疫反応・自己免疫反応に深く関わり、さらに表皮バリア機能を制御する。慢性炎症性皮膚疾患である乾癬は、特徴的な角化様式を持ち、求電子剤であるジメチルフルマル酸（DMF）が治療薬として使用される。DMF の主な作用に Nrf2 活性化があり、乾癬において Nrf2 が炎症反応を制御し、正常角化の維持に重要な役割を持つと考えられる。著者は、Nrf2-Keap1 経路の乾癬における役割、DMF 使用の妥当性を実験的に明らかにすることを目的に本研究を実施した。

（対象と方法） 著者は、Nrf2 欠損マウスを用いてイミキモド（IMQ）誘発性乾癬様皮膚炎モデルで検討し、N-アセチルシステイン（NAC）、DMF による治療を行った。また、マウス胚線維芽細胞（MEFs）、ヒト正常角化細胞（NHEK）を培養し、炎症性サイトカイン刺激によるシグナル伝達や表皮分化に伴う Nrf2 発現への影響を *in vitro* で検討した。さらに、Nrf2 欠損・野生型マウス間で骨髄キメラマウスを作製し、乾癬様皮膚炎モデルで検討した。最後に、ヒト乾癬患者から採取した皮膚サンプルを用いて、Nrf2 発現を検討した。

（結果） 著者は、Nrf2 欠損マウスを用いて IMQ 誘発乾癬様皮膚炎モデルで検討した。Nrf2 欠損マウスは野生型マウスと比較して耳介腫脹が増悪した。これと一致して、Nrf2 欠損マウスの耳介皮膚では IL-6、TNF- α 、IL-23、IL-17 などの乾癬と関連する炎症性サイトカインの mRNA 発現レベルの上昇があった。しかしながら、IL-22 の mRNA 発現レベルには有意な差はなく、背部皮膚の表皮肥厚は同程度であった。以上の結果から、Nrf2 欠損マウスでは、野生型マウスと比較して、耳介腫脹の増悪、炎症性サイトカインの発現の亢進などの過剰な炎症や、不全角化・顆粒層の欠如、表皮分化マーカーの発現の低下

など角化の異常を呈することが示された。

次に、著者は DMF の治療効果を実験的に検討するため、マウスに DMF を強制経口投与する実験を行った。その結果、野生型マウスでは著明に耳介腫脹が改善したのに対し、*Nrf2* 欠損マウスでは部分的な改善であることを見出した。野生型マウスでは耳介皮膚での IL-6、TNF- α 、IL-23、IL-17 の mRNA 発現レベルが有意に低下した。野生型マウスではロリクリン、フィラグリンの mRNA 発現レベルは上昇したが、*Nrf2* 欠損マウスではこれらの炎症性サイトカイン、表皮分化マーカーの mRNA 発現レベルに有意な変化はなかった。以上の結果から、DMF は主に *Nrf2* 活性化を介して乾癬様皮膚炎を抑制することが示唆された。また、野生型、*Nrf2* 欠損マウス由来の MEFs を IL-6、TNF- α 、IL-17 の存在下で培養し、DMF 投与による炎症性シグナル伝達への影響が *in vitro* で検討された。炎症性サイトカインによる pSTAT3 の発現は、野生型 MEFs では DMF 治療により低下した。*Nrf2* が自然免疫反応を制御することに一致して、*Nrf2* 欠損 MEFs は炎症性サイトカインによって pSTAT3 の発現が亢進し、DMF 治療に反応しなかった。以上の結果から、*Nrf2* が求電子剤による免疫修飾効果に重要な役割を持つことが明らかにされた。

次に、著者は、ヒト乾癬病変部・非病変部皮膚で *Nrf2*、その下流の標的遺伝子の mRNA 発現レベルを比較した。*Nrf2*、その下流の標的遺伝子である NQO1、フィラグリン、ロリクリンの mRNA 発現レベルは非病変部皮膚と比較して病変部皮膚で有意に低下していた。以上の結果から、*Nrf2* 発現の低下が乾癬病変部形成に関与する可能性が示された。

(考 察) 本研究で、著者は、*Nrf2* 欠損マウスを用いた IMQ 誘発性乾癬様皮膚炎での検討により、*Nrf2* が乾癬様組織反応を制御することを示した。*Nrf2* は表皮において正常角化を保ち、基底層から顆粒層にかけてチオール濃度勾配を形成するなどして表皮の恒常性を維持していることが明らかにされた。組織由来の danger signal に対する反応として好中球動員を含む炎症反応が起こり、血中活性酸素種 ROS の産生や組織障害をもたらして乾癬様組織反応が起こる。その時、*Nrf2* が活性化することで、表皮の正常角化、チオール濃度勾配を回復して炎症を寛解に導くと考えられた。

審査の結果の要旨

(批評)

本研究では、*Nrf2*-Keap1 経路の乾癬における役割、乾癬治療におけるジメチルフマル酸使用の妥当性が実験的に検討された。本研究は、*Nrf2* が体表バリア組織の主要な炎症反応である乾癬様組織反応を抑制し、乾癬、そして自己炎症・自己免疫が重要な役割を持つ関連疾患への求電子剤の使用の根拠となる実験結果を示した優れた論文である。

令和 2 年 12 月 21 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。