

氏名(本籍)	木村伸太郎(東京都)			
学位の種類	博士(環境学)			
学位記番号	博甲第5760号			
学位授与年月日	平成23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	生命環境科学研究科			
学位論文題目	ストレス誘導タンパク質の紫外線障害防御における役割			
主査	筑波大学教授	博士(医学)	高野裕久	
副査	筑波大学教授	博士(医学)	土屋尚之	
副査	筑波大学教授	理学博士	石井哲郎	
副査	筑波大学准教授	理学博士	野本信也	

論文の内容の要旨

近年、オゾン層の破壊による紫外線の増加で皮膚癌の罹患率が増加しているという報告がある。太陽からの紫外線は波長によりUVA(400-320 nm)、UVB(320-280 nm)そしてUVC(280 nm >)の三種類に分けられている。UVAは生体内の光増感物質に作用し、活性酸素を産生することで細胞障害を起こすことが知られている。一方UVBとUVCの波長は、DNAの吸収域と重なるため直接DNAに障害を与えると考えられている。

本研究の目的は、細胞内の抗酸化ストレス系タンパク質の発現制御因子Nrf2とその制御を受けることが知られている抗酸化タンパク質ペルオキシレドキシニンI(PrxI)とオートファジー調節因子A170/SQSTM1について、紫外線による細胞障害におけるそれぞれの役割について検討することである。

転写制御因子Nrf2は、定常状態では阻害因子Keap1タンパク質と相互作用しユビキチン化されプロテアソームにより分解されることで発現レベルは低く保たれている。しかし、親電子性物質や活性酸素種等によりKeap1のSH基が修飾を受けると、相互作用が変化して、プロテアソームによる分解が阻害されNrf2が安定化し発現レベルが増加し、核に移行することが明らかになっている。Nrf2は小Maf因子と結合し、種々の遺伝子プロモーター領域のARE/EpRE配列に結合し、遺伝子の発現を正に制御する。Nrf2の代表的な標的遺伝子はPrxIやHO-1等の抗酸化酵素とNQO1やGSTなどの異物代謝系の酵素群である。本研究では細胞のNrf2活性化を高める事でUVAによる障害を軽減できるのではないかと考えた。そこで、ヒト皮膚細胞(HaCaT)を使用し、Nrf2の活性化が報告されており化粧品にも含まれているポリフェノールを活性化剤として使用した。その結果ポリフェノールの1種であるケルセチンがNrf2を顕著に活性化し、UVAによる活性酸素の産生を抑制することで皮膚細胞を防御することを明らかにした。

次に、Nrf2の代表的な標的遺伝子として本研究室で見出した抗酸化酵素PrxIについてUVAによる細胞障害に対する防御の役割を検討した。PrxIは、チオレドキシニンペルオキシダーゼ活性と共役し過酸化水素を水に還元する酵素でありUVA障害に対して防御的に働くことが予想された。そこで、PrxI-KOと野生型(WT)マウス由来胎児線維芽細胞(MEF)を使用し障害の比較を行った。その結果、PrxI-KOはWTと比較しUVAによるアポトーシスを顕著に誘導した。UVAによる活性酸素の産生は、Prx-KO MEFでより顕著に見られた。この結果からPrxIは、UVAによる活性酸素の産生を抑制するのに寄与していると推測された。

さらに、別の標的遺伝子である A170 については、先行研究により増殖シグナル伝達の抑制に関わっていることが明らかになっており、アポトーシスシグナル伝達に関与していることが考えられた。そこで、アポトーシスを誘導する UVB に対する A170 の役割の検討を行った。その結果、WT と比較し A170-KO MEF は顕著に UVB 誘導性アポトーシスを抑制することを明らかにした。A170 を欠損した MEF では、細胞増殖を亢進するキナーゼ Src やその下流に位置する転写因子 Stat3 等の活性化が亢進していることが明らかになり、その結果アポトーシス抵抗性を示すことが示唆された。UVB は DNA に直接障害を与えることが明らかになっており、UVB 障害によるアポトーシス抵抗性は発癌の原因になる可能性があり、A170-KO マウスを用いて UVB による皮膚発癌における A170 の役割を検討することは今後の興味深い検討課題と考えられる。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究において、転写因子 Nrf2 と抗酸化酵素 Prx1 の UVA による細胞障害を軽減する役割を明らかにしたことは評価できる。また、A170 の存在が UVB 誘導アポトーシスを促進する新しい知見を得たことは評価できるが、そのメカニズムについては今後のより詳細な解析が必要である。これらの実験結果は主に因子を欠損した細胞と野生型細胞との比較であり、実際に皮膚組織においてこれらの因子がどのように機能するか検討するための基礎実験と位置づけられる。今後、皮膚における Nrf2 や Prx1 の活性化による紫外線誘導の炎症作用、老化や癌を予防する効果があるかどうかの応用研究が興味深い。また、皮膚組織において UVB 誘導性アポトーシスに A170 が関与しているかどうか検討することも将来の研究課題として興味深い。

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