

分担研究報告書

オートファジーによる酸化ストレスの調節機構に関する研究

研究分担者 辻 学 九州大学病院 講師

研究要旨 これまでの研究で、ダイオキシン類の受容体である芳香族炭化水素受容体(Aryl Hydrocarbon Receptor: 以下、AHR)が酸化ストレスを調節する因子であることを報告してきた。今回、酸化ストレスを調節機構として重要とされるオートファジーの活性化について AHR が関与するかを検討した。AHR を刺激するリガンドでヒト表皮細胞を刺激したところ、オートファジーが誘導されることが明らかとなった。現在は、AHR を介して誘導されたオートファジーが酸化ストレスをどのように調節するかを検討している。

られない。

A . 研究目的

これまでの研究で、ダイオキシン類の受容体である芳香族炭化水素受容体(Aryl Hydrocarbon Receptor: 以下、AHR)が酸化ストレスを調節する因子であることを報告してきた。今回、酸化ストレスを調節機構として重要とされるオートファジーの活性化について AHR が関与するかを検討した。オートファジーは細胞の炎症・代謝・老化・癌化などに幅広く関与する機構であることから、オートファジーを制御する機構は幅広い疾患の治療法の確立に有用と考えられている。そこで、これまでの研究成果に基づき、オートファジーを誘導し、かつ AHR を刺激するリガンドであるメトホルミンを用いてヒト表皮細胞を刺激し、AHR の刺激がオートファジーの誘導にどのような変化をきたすかを検討した。

B . 研究方法

ヒト表皮細胞を培養し、メトホルミンで刺激を行なった。オートファジーの活性化を示す AMPK のリン酸化、LC3B の発現の増加についてウエスタンブロット・蛍光免疫染色で解析を行った。

(倫理面への配慮)

当該研究は培養細胞を用いた in vitro の実験系であり、倫理面の問題は特に考

C . 研究結果

ヒト表皮細胞に対してメトホルミンを用いて、刺激を行なった。メトホルミンは AHR の活性化し、AHR の核内移行を誘導した(図 A)。さらに、メトホルミンは AMPK のリン酸化(図 B)、LC3B の発現の増加(図 C)を来し、オートファジーを誘導する可能性が示唆された。

図の説明

図 A : ヒト表皮細胞をメトホルミン 10mM で 3 時間刺激し、抗 AHR 抗体を用いて蛍光免疫染色を行なった。二次抗体には Alexa 568 (赤色)を用いた。Control では AHR は細胞質に位置するのに対して、メトホルミンによる刺激を行った方では AHR は核に位置していた。

図 B : ヒト表皮細胞をメトホルミン 0.01-25mM で 3 時間刺激し、抗 pAMPK 抗体を用いてウエスタンブロットを行なった。メトホルミンの用量依存性に AMPK のリン酸化が誘導された。

図 C : ヒト表皮細胞をメトホルミン 10 mM で 6 時間刺激し、抗 LC3B 抗体を用いて蛍光免疫染色を行なった。二次抗体には

FITC(緑色)を用いた。メトホルミンで刺激を行った方では、LC3B の発現が多く見られた。赤色は核染色である。

D . 考察

皮膚におけるオートファジーの役割には不明な点が多い。今回の研究で、AHR がオートファジーを制御する受容体である可能性が示唆された。これまでの研究成果で、AHR は、AHR の下流にある Ovo-like 1(OVOL1)、Ovo-like 2(OVOL2)遺伝子を介して細胞の分化・増殖や酸化ストレスによる炎症反応をコントロールすることが明らかになっている。今後は、OVOL1-OVOL2 が AHR の刺激によるオートファジーの誘導に関与していないか、検討していく予定である。

E . 結論

AHR はオートファジーが誘導するための重要な受容体である可能性があり、今後は、AHR の刺激によって誘導されるオートファジーのメカニズムと最終的にどのようにして酸化ストレスを調節するのかをさらに明らかにしたい。

F . 研究発表

1 . 論文発表

Upregulation of FLG, LOR, and IVL Expression by Rhodiola crenulata Root Extract via Aryl Hydrocarbon Receptor: Differential Involvement of OVOL1.

Hashimoto-Hachiya A, Tsuji G, Murai M, Yan X, Furue M.

Glyteer, Soybean Tar, Impairs IL-4/Stat6 Signaling in Murine Bone Marrow-Derived Dendritic Cells: The Basis of Its Therapeutic Effect on Atopic Dermatitis.

Takemura M, Nakahara T,

Hashimoto-Hachiya A, Furue M, Tsuji G.

Int J Mol Sci. 2018 Apr 12;19(4). pii: E1169. doi: 10.3390/ijms19041169.

The role of the OVOL1-OVOL2 axis in normal and diseased human skin.

Tsuji G, Ito T, Chiba T, Mitoma C, Nakahara T, Uchi H, Furue M.

J Dermatol Sci. 2018 Jun;90(3):227-231.

2 . 学会発表

DNP-MRI 撮像解析によるアトピー性皮膚炎モデルマウスの皮膚深部の酸化ストレス評価

江藤 比奈子(九州大学先端医療イノベーションセンター), 辻 学, 千葉 貴人, 古江 増隆, 兵藤 文紀

日本薬学会年会要旨集 (0918-9823)138 年会 2 号 Page264(2018.03)

アトピー性皮膚炎の皮膚バリア機能障害における芳香族炭化水素受容体と Ovo-like 1 遺伝子の役割

日本皮膚科学会雑誌 (0021-499X)128 巻 5 号 Page1253(2018.05)

G . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1 . 特許取得

なし

2 . 実用新案登録

なし

3 . その他

なし