九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

真皮線維芽細胞におけるオートファジーの加齢変化と真皮構造に及ぼす影響

南, 佳奈江

https://hdl.handle.net/2324/1485064

出版情報：九州大学, 2014, 博士（薬学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（4）

KYUSHU UNIVERSITY

南佳奈江

論文審査の結果の要旨

女性にとっての大きな悩みである皮膚の加齢変化のうち、シワやたるみなどは真皮の構造変化に起因すると考えられている。しかし、このような皮膚老化を引き起こす詳細な分子機構は明らかにされていない。オートファジーはリソソームにおける自己構成成分の分解システムであり、栄養飢餓への適応、細胞内タンパク質やオルガネラの品質管理、発生、分化、細胞内侵入細菌の分解および抗原提示などの多彩な生命現象に寄与している。また、オートファジーは、老化自体および老化関連疾患である神経変性疾患や癌との関係が示唆されているが、皮膚、とりわけ真皮でのオートファジーの機能および老化との関係についても未知である。本研究は、皮膚の加齢変化メカニズムを解明するため、オートファジーに着目し、真皮線維芽細胞におけるオートファジーの加齢変化およびオートファジー変化が真皮成分に与える影響について検討した。さらに化粧品への応用を目指し、オートファジーを良化する植物抽出物の探索を行った。

25、29、35、39、45、50、55および60歳の白人女性腹部の皮膚組織を電子顕微鏡にて観察し、オートファジーの過程であらわれる特徴的な構造物であるオートファゴソーム／オートリソソーム（AVs; autophagic vacuoles）の数を比較したところ、皮膚組織中の真皮線維芽細胞のAVs数は年齢とともに増加した。続いて、培養真皮線維芽細胞を使用して、オートファゴソームのマーカータンパク質であるLC3の細胞内局在を共焦点レーザー顕微鏡で観察したところ、高齢細胞では若齢細胞と比較し、LC3陽性の顆粒状シグナルが増加していた。ウエスタンブロッティングによる解析でも、若齢細胞に比べ、高齢細胞でオートファゴソーム膜結合型のLC3-II量が増加することが判明した。

オートファゴソームの増加は、その形成が促進された場合と形成後の分解過程（オートファゴソームとリソソームの融合以降のプロセス）が抑制された場合のいずれによっても引き起こされる。高齢真皮線維芽細胞で認められたオートファゴソームの増加がどちらに起因するのかを検討した結果、高齢細胞では若齢細胞に比べてオートファジーの分解過程が抑制されていることが判明した。

オートファジー分解過程の抑制が真皮成分に及ぼす影響を明らかにするため、真皮線維芽細胞によって産生される真皮構成成分の発現量をLeu/Pep処理した若齢細胞で解析した。その結果、Leu/Pep処理細胞において、α1プロコラーゲンおよびエラスチンのmRNA発現量が未処理細胞の約80%および55%にそれぞれ減少した。一方、コラーゲン線維の断片化に関与するコラゲナーゼは、Leu/Pep処理細胞において、そのmRNA発現量が未処理細胞の約2倍に増加した。さらに、Leu/Pep処理を開始して24時間後の細胞培養液中に分泌されたI型プロコラーゲンおよびヒアルロン酸量を定量した結果、Leu/Pep処理細胞では未処理細胞の約65%および40%にそれぞれ減少した。一方、Leu/Pep処理した細胞培養液中のプロコラーゲンの酵素活性は、未処理細胞の約1.3倍に増加した。

未送付ページ

真皮の物性や構造を再現した実験モデルとして、コラーゲンゲル内で真皮線維芽細胞を培養する方法がある。コラーゲンゲル中で Leu/Pep 処理細胞を培養し、4 日間培養した後のコラーゲンゲルの線維状態を電子顕微鏡で観察したところ、コラーゲン線維に多数の切断箇所が認められた。

さらに、高齢細胞のオートファジーの分解過程の抑制を改善する植物抽出物をスクリーニングした結果、ユキノシタ科アマチャ、イチョウ科イチョウ、シソ科コガネバナ、フトモモ科テンニンカ、バラの混合抽出物に有意な改善効果が認められた。

本研究は、真皮線維芽細胞において加齢に伴いオートファジーの分解過程が抑制されること、そして分解過程の抑制が真皮構成成分に影響を及ぼすことを明らかにした初めての研究である。

以上のことから、学位論文調査委員会で評価した結果、博士（薬学）の学位を与えるに相応しいと判断した。