

論文内容要旨

論文題目

ロドデンドロール関連細胞死のメカニズムについて

責任講座： 皮膚科学講座
氏 名： 永谷 圭

【内容要旨】(1,200 字以内)

化粧品の美白成分として開発されたロドデンドロール (RD) は日本で一部の使用者に白斑を生じさせることが分かっている。この化学性白斑を予防、治療するためにはその発症メカニズムを理解することが重要である。これまでの研究から RD 誘発性白斑にはメラノサイトのチロシナーゼ活性や細胞死が関連することが示唆されている。メラノサイトの減少の原因としてアポトーシスを含むいくつかの細胞死が提案されているが、実際の細胞死メカニズムはまだ解明されていない。

鉄や銅などの遷移金属イオンは過酸化水素と反応し、最も有害な活性酸素種 (ROS) であるヒドロキシラジカルを生成する。ROS が原因となる細胞死として近年着目されているフェロトーシスでは、遊離鉄と過酸化脂質の特徴的な上昇を示し、後者は多価不飽和脂肪酸とヒドロキシラジカル反応によって主に生成される。遊離銅イオンが細胞内で増加した場合は、銅によるフェロトーシス様の細胞死が惹起される可能性が示唆されている。チロシナーゼは酸素分子と結合できる二銅活性中心を持っており、いくつかのフェノール化合物はチロシナーゼの自殺基質として作用し、1 個の銅イオン (Cu^0) が放出され、不可逆的に不活性化されると報告されている。この際、チロシナーゼ反応により過酸化水素も生成されるため、 Cu^0 と過酸化水素の反応で生じたヒドロキシラジカルがメラノサイトの死につながる可能性を考えた。RD との反応で放出された銅イオンがメラノサイトの死および化学性白斑とどのように関係するかは、これまでに検討されていない。

我々は、数種類のメラノサイトの中から最もチロシナーゼ活性の高い AA4 細胞を選別し検討を行った。AA4 に RD を添加すると細胞傷害が誘導され、これは、アポトーシス阻害薬 Z-VAD-FMK、フェロトーシス阻害薬 Ferrostatin-1 で抑制されなかった。一方で、既知のチロシナーゼ阻害薬である Phenylthiourea (PTU) は RD の有無にかかわらずチロシナーゼ活性を抑制し、RD による細胞死を抑制した。銅キレート剤である D-Penicillamine は PTU と比べ、チロシナーゼ活性に大きい影響は与えずに、RD 処理した細胞の細胞傷害を抑制し、生存率を回復した。

以上の結果から RD がチロシナーゼの自殺基質として作用し、放出された Cu^0 と過酸化水素の反応によりヒドロキシラジカルが生成し、その結果メラノサイト細胞死が引き起こされた可能性が考えられる。この細胞障害は放出された銅をキレートすることによって抑制することが可能であるため、チロシナーゼの不活性化が関与する他の化学性白斑のメカニズムの解明や、化学性白斑を発症する危険性のある開発段階の化合物をあらかじめ排除することが可能となることを示唆するものである。

令和5年 1月11日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：永谷 圭

論文題目：ロドデンドロール関連細胞死のメカニズムについて

審査委員：主審査委員 後藤 薫



副審査委員 山口 浩明



副審査委員 欠畑 誠治



審査終了日：令和5年 1月10日

【 論文審査結果要旨 】

フェノール化合物であるロドデンドロール (RD) は、化粧品の美白成分として開発されたが、一部の使用者に白斑を生じさせることが明らかになっている。これまでの研究により、RD 誘発性白斑にはメラノサイトのチロシナーゼ活性や細胞死が関連することが示唆されているが、実際の細胞死メカニズムはまだ明らかにされていない。鉄や銅などの遷移金属イオンは過酸化水素と反応し、有害な活性酸素種 (ROS) であるヒドロキシラジカルを生成する。フェロトーシスでは、遊離鉄と過酸化脂質の特徴的な上昇を示し、多価不飽和脂肪酸とヒドロキシラジカル反応によって酸化ストレスが惹起される。遊離銅イオンが細胞内で増加した場合も、銅によるフェロトーシス様の細胞死が惹起される可能性が示唆されるが詳細は不明である。チロシナーゼは、酸素分子と結合できる二銅活性中心を持っており、いくつかのフェノール化合物はチロシナーゼの自殺基質として作用し、1 個の銅 (Cu^0) が放出され、不可逆的に不活性化されることが報告されている。この時、チロシナーゼ反応により過酸化水素も生成されるため、永谷氏は Cu^0 と過酸化水素の反応で生じたヒドロキシラジカルがメラノサイトの細胞死につながる可能性を考え、実験を行った。

実験には、数種類のメラノサイト初代培養細胞を用い比較検討を行ったが、その中で最も高いチロシナーゼ活性を持つ AA4 細胞に RD を添加すると細胞死が誘導された。この時、アポトーシス阻害薬 Z-VAD-FMK、フェロトーシス阻害薬 Ferrostatin-1 による顕著な細胞死抑制効果は認められなかった。既知のチロシナーゼ阻害薬である Phenylthiourea は、チロシナーゼ活性を抑制すると同時に、RD による細胞死を抑制した。一方、銅キレート剤である D-Penicillamine は、チロシナーゼ活性に大きな抑制効果を与えないが、RD 添加による細胞死を抑制した。

以上の結果から、永谷氏は RD 添加による細胞死は、銅キレート剤である D-Penicillamine により抑制されることを明らかにした。そして、RD がチロシナーゼの自殺基質として作用し、放出された Cu^0 と過酸化水素の反応によりヒドロキシラジカルが生成し、その結果メラノサイト細胞死が引き起こされる可能性を指摘した。

これらの結果は、銅によるフェロトーシス様の細胞死メカニズム解明の一助となり、RD による化学白斑の病態解明に大きく寄与すると考えられる。しかし、一部の統計処理および表記の修正が必要であることが指摘され、これらを適切に修正することを条件に、学位審査委員会は本研究が博士 (医学) の授与に値するものと判定した。