

論文内容要旨

論文題目

ローズマリー抽出物及びロスマリン酸は真皮線維芽細胞において弾性線維関連因子の発現を増加させることにより弾性線維形成を促進する

指導（紹介）教授： 鈴木 民夫
氏 名 ： 笠松 慎也

【内容要旨】（1，200字以内）

紫外線による皮膚の光老化は、コラーゲン線維や弾性線維などの真皮細胞外マトリックス成分の質的・量的低下によって引き起こされる。弾性線維は、皮膚中の量が少ないにもかかわらず、皮膚の弾力性を維持するために重要である。これまで、光老化した真皮において発現低下する Microfibril-associated protein 4 (MFAP-4) は、弾性線維の中心成分である Fibrillin-1 や Elastin と相互作用し、弾性線維の形成に必須であることが見出されてきた。さらに、ヒト皮膚を移植したマウスを用いた光老化モデルにおいて、皮膚の MFAP-4 発現を亢進させることで、紫外線の照射によって誘導される弾性線維の分解及び皮膚弾力性の低下が抑制された。

そこで、我々は、真皮線維芽細胞において MFAP-4 の発現を増加させることにより、弾性線維の形成をより効率的に促進する可能性があるという仮説を立て、正常ヒト皮膚線維芽細胞 (NHDFs) において MFAP-4 発現促進活性を指標に植物エキスをスクリーニングした。その結果、ローズマリー抽出物は、NHDFs において MFAP-4 の発現を有意に増加させることを見出した。さらに、ローズマリー抽出物は NHDFs において MFAP-4 のみならず、Fibrillin-1 や Elastin の発現も有意に増加させることが明らかとなり、弾性線維形成の初期ステップであるミクロフィブリルの形成、並びに、成熟弾性線維の形成を顕著に促進することも確認した。

ローズマリー抽出物にはロスマリン酸が多量に含まれる報告があることから、ロスマリン酸の作用について検討したところ、ロスマリン酸は NHDFs において MFAP-4、Fibrillin-1、Elastin の発現を有意に増加させると共に、ミクロフィブリル及び成熟弾性線維の形成を促進したことから、ロスマリン酸はローズマリー抽出物中の有効成分の 1 つであることが示された。ロスマリン酸を用いて作用メカニズムを検討したところ、NHDFs においてロスマリン酸は Protein kinase A の活性化を誘導し、cAMP response element-binding protein のリン酸化を促進することで、Transforming growth factor β -1 の産生量が増加し、MFAP-4 をはじめとする弾性線維関連因子の発現を促進し、弾性線維形成が誘導されることが示唆された。

本研究で得られた知見に基づき、ローズマリー抽出物及びロスマリン酸は、弾性線維の形成を促進することにより、皮膚の光老化の予防または改善効果を発揮する有望な素材であると考えられた。

2024年 7月 16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： 笠松 慎也

論文題目： ローズマリー抽出物及びロスマリン酸は真皮線維芽細胞において弾性線維関連因子の発現を増加させることにより弾性線維形成を促進する

審査委員：主審査委員 藤井 順逸



副審査委員 高木 理彰



副審査委員 小原 祐太郎



審査終了日：2024年 7月 12日

【 論文 審査 結果 要 旨 】

身体を外的刺激から護る最初の防御系としてはたらく皮膚組織は、紫外線などの化学的および物理的刺激に対して強度を与える分子や細胞層を備えている。表皮の下層を形成する真皮には、線維芽細胞をはじめとする各種細胞成分に加えて、細胞の分泌するコラーゲンや弾性線維などがマトリックスを構成して、弾力性や保水性といった重要な役割を担っており、老化に伴うその減少は皮膚の機能低下や各種皮膚疾患の原因となる。申請者らは長年に渡り皮膚の光による老化促進反応（光老化）について研究を行い、Microfibril-associated protein 4 (MFAP-4)の発現が光老化により特異的に低下することを見出し、その機能解析から MFAP-4 が弾性線維の形成に必須の役割を担う事を報告している。本研究では、培養ヒト線維芽細胞を用いて、光老化による MFAP-4 の発現低下を改善する植物由来成分を検索し、ローズマリー抽出物に大量に含まれるロスマリン酸が有効であることを見出し、その効果がどのようにして発揮されるかについて検討を行った。

培養正常ヒト皮膚線維芽細胞に様々な植物の抽出液を添加した後、定量的PCR法を用いて MFAP-4 の遺伝子発現を調べた結果、その mRNA 発現誘導能はローズマリー抽出物で最も高かった。特異的抗体を用いた検討でもタンパク量の増加を認め、Fibrillin-1 や Elastin といった弾性線維形成に関わる関連遺伝子の発現も上昇させた。ローズマリー抽出物にはロスマリン酸が大量に含まれることから、弾性線維形成に関連する遺伝子発現に対するロスマリン酸の効果を検討した。その結果、ローズマリー抽出物に含まれる程度のロスマリン酸が、こうした遺伝子の発現を高め、Microfibril の量を増加させて弾性線維の成熟を促進した。また、こうした遺伝子の発現を誘導することが知られている Transforming growth factor β 1 (TGF β 1) の mRNA ならびにタンパクと、その受容体および下流ではたらく情報伝達タンパクの mRNA 量も、ロスマリン酸添加により増加した。ロスマリン酸は cAMP 応答エレメント結合タンパク質 (CREB) のリン酸化を促進したため、活性化 CREB が TGF β 1 の発現に関与した可能性が考えられる。以上の結果は、ロスマリン酸は cAMP を増加させることで TGF β 1 の発現を誘導し、その標的となる弾性線維形成関連タンパクの発現を誘導させた可能性を示唆している。しかし、ロスマリン酸の作用機構に関しては、その受容体や細胞内情報伝達系などについて不明な点が残されており、今後の解明が必要である。

本研究は、申請者らの研究グループの見出した皮膚の光老化に関係する MFAP-4 の発現低下をロスマリン酸が改善し、その機構に TGF β 1 の発現誘導の関与を示唆する独創性の高い研究であることから、博士（医学）の学位に値すると判断する。

(1, 200字以内)