

(様式 1 1)

博士学位論文審査結果要旨

平成 28 年 9 月 12 日

研究科, 専攻名 バイオ・情報メディア研究科 バイオニクス 専攻

学位申請者氏名 寺澤 周子

論文題目 アスタキサンチンとウィザフェリン A による紫外線 UVB 誘導皮膚障害の抑制：炎症・角化亢進・色素沈着抑制の分子機構

審査結果の要旨

平成 28 年 9 月 1 日に東京工科大学において、学位申請者 寺澤 周子の学位審査公开发表会が開催され、以下の要旨に示す博士論文に関する発表と関連する質疑応答が行われた。

本学位論文は、紫外線 UVB で誘導される皮膚障害(炎症, 角化亢進, 色素沈着)に対するアスタキサンチン(AX)とウィザフェリン A(WFA)の抑制効果とその抑制分子機構の解析を目的としている。まず表皮細胞を用いた *in vitro* 試験であるものの、実際に起こりうる現象に沿った評価系を構築して解析することに重きを置き、さらに AX については画期的な UVB 照射後の皮膚障害抑制剤としての評価を行っている。

第 1 章では研究の背景としての UVB 誘導の皮膚障害の発症機序について詳細に述べ、また AX 及び WFA の現在までの知見と不明な点について詳細に述べ、本論文の意義と目的を明らかにしている。

第 2 章では UVB 誘導の皮膚炎症抑制剤として PGE₂ 及び IL-8 分泌亢進に対する AX の抑制効果とその作用機序を解析している。AX の抗炎症効果はすでに知られており、それらのすべては炎症誘導因子による刺激の前に AX で処理をしているが、本研究では UVB 照射後に AX を添加している点が他の研究と大きく違っている。UVB 照射後の添加でも AX は PGE₂ 及び IL-8 分泌亢進を抑制することを見出し、その解析結果を報告している。UVB 誘導 PGE₂ 及び IL-8 分泌亢進抑制の AX の作用点は、今まで報告されていない MSK1 という核内酵素の活性抑制であるとし、その結果 NF- κ B の DNA 結合活性を弱め、PGE₂ 合成の律速酵素である COX2 の遺伝子及びタンパク発現、IL-8 の遺伝子及びタンパク発現を抑制し、PGE₂ 及び IL-8 分泌亢進を抑制したと結論し

ている。AX は UVB 照射後処理でも抗炎症効果を有し、補修効果が期待できるユニークな素材であると評価している。

第 3 章では UVB 誘導の角化亢進は Transglutaminase1 (TGase1) の発現増強が要因の一つであると申請者らは考え、第 2 章で得られた AX の知見を利用し、UVB 誘導 TGase1 発現のシグナル伝達経路の解明を試みている。UVB 誘導の TGase1 発現増強が UVB 照射後の AX 処理によって抑制されることと、AX が UVB 照射後処理で唯一 MSK1 以降のシグナル経路を阻害することから、UVB 誘導の TGase1 発現の転写因子は NF- κ B であると推察している。さらに MSK1 阻害剤及び MSK1 siRNA により UVB 誘導 NF- κ B の活性(リン酸化)が抑制されるとともに、TGase1 の遺伝子及びタンパク発現が抑制されることから、UVB 誘導の TGase1 発現増強には MSK1 の活性化が必須であると結論している。またこの結果が UVB 誘導角化亢進の発症機序解明の一助になりうるとしている。

第 4 章では UVB 誘導色素沈着に対する WFA の抑制効果とその作用機序を解析している。UVB 誘導色素沈着モデルとして 3 次元培養表皮モデルを用い、UVB 曝露によりケラチノサイトから産生亢進されるメラニン産生誘導サイトカインの一つである SCF を添加することで色素沈着を誘導し、WFA の抑制効果を評価している。その解析の結果、WFA は SCF の受容体である c-Kit のリン酸化を抑制することで以降のシグナル分子活性を阻害し、色素沈着を抑制することを明らかにしている。また WFA は SCF 誘導のシグナル分子活性を阻害することによりチロシナーゼ活性を抑制し、チロシナーゼ自体には直接阻害しないことから、白斑の恐れがなく安全で有用性の高い色素沈着抑制剤になりうると結論している。

第 5 章ではまず UVB がもたらすパラクライン的色素沈着の評価システムを構築し、そのシステムにより AX 及び WFA の抑制効果と作用機序の解明を行っている。UVB 曝露ケラチノサイトを、セルインサートを用いてメラノサイトと共培養することにより、メラノサイトのチロシナーゼ活性が増強され、それを誘導する液性因子が Endothelin1 (EDN1) であることを明らかにしている。この結果がパラクライン的色素沈着を生じさせるシステムとして機能していると結論し、AX 及び WFA のその抑制効果を評価した結果、いずれも UVB 曝露ケラチノサイトからの EDN1 分泌亢進を抑制することを明らかにしている。さらに WFA は EDN1 誘導のシグナル分子活性に対し、上流部の Raf1 活性(リン酸化)を抑制することによりチロシナーゼ活性を抑制することを明らかにしている。本セルインサート共培養システムでは、共培養でありながら、個々の細胞への影響を評価でき、より幅広くより詳細にパラクライン的色素沈着抑制の作用点の特定が可能な機能性の高いシステムを構築したとしている。また WFA は SCF 及び EDN1 誘導の色素沈着の両方に抑制効果を持つことから、強力

な色素沈着剤であることが示唆され、UVB 誘導の色素沈着のみならず、改善困難な老人性色素斑等の抑制剤としても効果が期待できるとしている。

第 6 章では総合考察として第 2 章から第 5 章までの結果をまとめ、その考察と本研究の意義を述べている。

上記の研究に対する学位審査公開発表および応答も妥当なものであり、審査員会は、本論文の著者に対し、博士(工学)の学位を授与するための十分な学力と能力を有しているものと認める。

審査委員 主査

東京工科大学 東京工科大学 教授 山本順寛 印