

光老化に対する HSP70 の保護効果

熊本大学大学院薬学教育部 分子機能薬学専攻 創薬化学講座
薬学微生物学分野 博士後期課程 3年 松田 実

皮膚は、表皮角化細胞によって構成される「表皮」と繊維芽細胞によって構成される「真皮」からなり、生体内部の保護、体温調節など様々な役割を果たしている。皮膚機能は加齢とともに低下するだけでなく、最も外側に位置している臓器のため様々な外部環境の変化がストレスとなり機能低下に大きく影響する。外部環境の中でも特に主要な因子として ultraviolet (UV) が挙げられる。UV が皮膚に繰り返し暴露されると、傷害が蓄積し、光老化と呼ばれる皮膚の老化現象を引き起こす。光老化の主な特徴はシワやシミの形成であり、美容上大きな問題となっている。シワやシミが形成された皮膚では、collagen や elastic fiber などの extracellular matrix (ECM) の分解、およびメラニンの過剰産生が引き起こされている。これらの現象は、UV による細胞死や炎症反応を介した、matrix metalloproteinases (MMPs) や elastase の過剰な活性化が原因であると考えられている。

分子シャペロン的一种である HSP70 は、種々のストレスにより誘導され、細胞保護効果や抗炎症効果を示すことが報告されている。しかしながら、これまでに皮膚における HSP70 の役割は明らかにされていない。そこで本研究において私は、HSP70 過剰発現マウスなどを用いて、UVB 依存の皮膚傷害およびシワ形成に対する HSP70 の役割を調べた。

野生型マウスに、UVB を照射し、48 時間後の皮膚組織像を調べた結果、顕著な皮膚傷害が確認された。一方、HSP70 過剰発現マウスでは、この皮膚傷害が顕著に抑制された。この結果から HSP70 は皮膚を保護していることが明らかになった。さらに、HSP70 による皮膚傷害抑制メカニズムを明らかにするため、細胞死、炎症反応、DNA 傷害に注目し、実験を行った。

まず、UVB 依存の細胞死に対する HSP70 の効果を調べた。野生型マウスでは、表皮において UVB 照射依存の細胞死が見られたが、HSP70 過剰発現マウスではこの細胞死が顕著に抑制された。次に、UVB 依存の炎症反応に対する HSP70 の効果を調べた。野生型マウスでは、UVB 照射依存に NF- κ B 活性化の指標である I κ B- α 量の低下や炎症性サイトカインの上昇などが見られたが、HSP70 過剰発現マウスでは、これらが顕著に抑制された。続いて、UVB による直接的な DNA 傷害である cyclobutane pyrimidine dimers (CPDs)、および ROS を介した DNA 傷害である 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) に対する HSP70 の効果を調べた。その結果、野生型マウスに比べ、HSP70 過剰発現マウスでは、CPDs の産生量は変化しないが、その修復機構が促進されること、および 8-OHdG の産生とその修復機構が促進されることを見出した。

以上の結果から私は、HSP70がUVB依存の皮膚傷害を抑制するメカニズムとして、細胞保護作用、炎症抑制作用、DNA傷害抑制作用を介していると考えている。また、これらの結果から、皮膚にHSP70を誘導することで、光老化が抑制される可能性が示唆された。そこで私は、HSP70過剰発現マウスおよびheat shock (HS)を与えたヘアレスマウスを用いて、シワ形成に対するHSP70の効果を調べた。

まず始めに、ヘアレスマウスにHSを与えることで、皮膚においてHSP70が誘導されるか調べた。その結果、確認した全ての細胞種（表皮角化細胞、繊維芽細胞、マクロファージ）においてHSP70の発現誘導が見られた。HSによってHSP70が誘導された皮膚に、UVBを照射する組み合わせを週3回、10週間継続し、シワの形成を行った。その結果、HSを与えていないマウスではUVB反復照射依存に顕著なシワ形成が見られた。さらに、シワ形成と関連性が高い皮膚弾性の低下、および表皮の肥厚も確認された。一方、HSを与えていたマウスでは、これらの現象が顕著に抑制された。シワ形成が見られた条件において、ECMを免疫染色法で確認した結果、HSを与えていないマウスではcollagenやelastin fiberの減少、および基底膜の分解が見られたが、HSを与えていたマウスでは、これらの現象が顕著に抑制された。

次に、HSP70過剰発現マウスを用いて、同様の実験を行った。その結果、野生型マウスでは、UVB反復照射依存に皮膚弾性の低下、表皮の肥厚、ECMの減少が見られたが、HSP70過剰発現マウスではこれらの現象が顕著に抑制された。シワ形成時のECM減少は、ECMの産生と分解のバランスが崩れることが原因であると考えられる。そこで、ECMの産生能に対するHSP70を明らかにするために、collagenおよびtropoelastinのmRNA量を測定した。その結果、HSP70を高発現しても各種mRNA量に変化は見られなかった。次に、ECMの分解に注目して実験を行った。その結果、野生型マウスでは、UVB反復照射依存のMMP-2、MMP-9、elastaseの活性上昇が確認されたが、HSP70過剰発現マウスではこれらが顕著に抑制された。さらに、UVB単回照射依存の細胞死（繊維芽細胞）やUVB反復照射依存の炎症性細胞の浸潤もHSP70過剰発現マウスでは抑制された。以上の結果から、HSP70は細胞保護および炎症反応抑制を介し、ECMの分解を抑制することで、UVB依存のシワ形成を抑制したと考えている。

これまでに当研究室では、HSP70がメラニン産生を抑制することを*in vivo*および*in vitro*で示している。これらの研究および本研究の結果から、HSP70誘導剤は光老化対策化粧品として有望であると考えている。