

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 大石 祐一

皮膚は、体内の水分の蒸散抑制と外界からの生体防御という役割を担う臓器である。これらの機能を果たすうえで、コラーゲン、ヒアルロンタンなどの細胞外マトリックスが適切に維持されることが不可欠である。栄養やホルモンは、皮膚の機能に大きな影響を与えるが、それらが皮膚の細胞による細胞外マトリックスの合成や代謝をどう制御するかについては、未知の点が多い。申請者は、タンパク質栄養状態の変化、および皮膚疾患等の治療薬として頻用されるグルココルチコイドの投与によって、コラーゲンとヒアルロンタンの代謝がどのような影響を受けるか、さらにその機構について分子生物学的に解析し、その結果を4章にまとめた。

序論では、皮膚でのコラーゲンおよびヒアルロンタンの役割および制御機構についてこれまでの知見をまとめ、本研究の意義について記している。

第一章では、タンパク質栄養状態が皮膚の主要なコラーゲンの代謝におよぼす影響について述べている。Wistar 系雄ラットに 12% グルテン食および無タンパク質食を一週間給与してタンパク質栄養状態を悪化させ、真皮コラーゲン代謝に関わる分子の変化について 12% カゼイン食との比較により解析した。合成系については、I 型および III 型トロポコラーゲン量が顕著に減少すること、 $\alpha 1(I)$  および  $\alpha 1(III)$  コラーゲン mRNA 量が顕著に減少することを明らかにした。分解系に関しても、コラーゲン分解酵素コラゲナーゼと 2 種類の組織由来コラゲナーゼ阻害物質 (TIMP) の mRNA 量が減少することを示した。これらのうち、III 型コラーゲンの合成系が最も顕著な影響を受けており、III 型トロポコラーゲン量減少と代謝速度減少は、タンパク質栄養条件の悪化に伴う創傷治癒の遅延の原因となることが示唆された。

第二章では、グルココルチコイドが真皮コラーゲン代謝に与える影響について述べている。抗炎症剤として多用される合成グルココルチコイドであるデキサメタゾン (1 mg/kg 体重) を、ラット皮下に一週間投与し、皮膚の萎縮を誘導した。この際、I 型および III 型トロポコラーゲン量低下と III 型線維性コラーゲン量の減少、 $\alpha 1(I)$  および  $\alpha 1(III)$  コラーゲンの mRNA 量の極端な減少、コラゲナーゼおよび 2 種類の TIMP の mRNA 量の減少が生じることを明らかにした。分解と合成はいずれも減少したが、分解系よりも合成系への影響が大きく、とりわけコラーゲン mRNA 量は対照の約 1% まで減っており、合成はほとんど止まっていると考えられた。コラーゲン量の減少には分解の亢進は伴っていないことから、架橋を有する老化したコラーゲンの割合は増えていると予想された。以上の結果によって、グルココルチコイド投与の副作用についての新しい機構を提唱した。

第三章では、タンパク質栄養条件の悪化やグルココルチコイド投与により mRNA 量が減少した  $\alpha 1(III)$  コラーゲンの遺伝子の制御領域を明らかにする目的で、上流域の 3 kb 弱の配列を決定したことが述べられている。TATA ボックス、AP-1 あるいはそれに類似するタンパク質の結合部位、SP-1 結合部位と考えられる配列を明らかにし、これらの部位が  $\alpha 1(III)$  コラーゲン制御に関わっている可能性について議論している。

第四章では、タンパク質栄養の悪化による皮膚ヒアルロナン代謝への影響について述べている。まず、ラット皮膚中のヒアルロナン量を測定し、これがタンパク質栄養の悪化で有意に減少することを明らかにした。この場合、ヒアルロナン合成酵素 rhas2 および rhas3 mRNA 量の顕著な減少が伴っていることを示し、これらの遺伝子の発現が哺乳類の生理条件により制御されることを初めて明らかにした。ヒアルロナンは水を多量に保持し、皮膚重量の多くを占めることから、タンパク質栄養条件の悪化による皮膚の萎縮とバリアー機能の低下にヒアルロナン量の減少が大きく寄与している可能性が示された。

総合討論では、本研究での結果をまとめ、タンパク質栄養条件の悪化やグルココルチコイド投与が、コラーゲン量減少やヒアルロナン量減少など皮膚の老化で認められる現象と似た結果を生じることや、これらが創傷治癒の遅延や免疫機能の低下を引き起こす機構の一端である可能性について述べられている。また、コラーゲンやヒアルロナン代謝の変化を仲介する因子について考察し、展望が述べられている。

以上、本論文はタンパク質栄養条件およびグルココルチコイドが皮膚の構造と機能に影響をおよぼす機構について分子レベルでの解明を試みたものであり、特にコラーゲンとヒアルロナンの合成・分解系の遺伝子の調節に関して多くの新しい知見が得られた。これらの知見は、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士(農学)の学位論文として価値があるものと認めた。