

皮膚保湿に関与する酵素、カスパーゼ 14 の合成促進剤

○長原 礼宗^{*1)}、須永 圭典^{*1)}、川上 慶^{*1)}

1. 目的・背景

細胞死の一種であるアポトーシス時に活性化する特有なタンパク質分解酵素として、カスパーゼが存在する。カスパーゼは、これまでに 14 種類存在することが明らかになっている。しかし、最近になってカスパーゼ 14 は皮膚角化細胞に豊富に存在し、アポトーシスとは無関係にタンパク質であるフィラグリン前駆体を分解して天然保湿因子をつくり、角質層のバリア機能、水分保持機能の維持に関与することが明らかになってきた。つまり、カスパーゼ 14 を効果的に発現誘導、活性化させる化合物は、皮膚機能の改善につながる。しかしながら、どのような化合物がカスパーゼ 14 発現促進を引き起こすのかについて、これまで数少ない化合物しか報告されていない。今回我々は、スフィンゴイド骨格含有化合物がカスパーゼ 14 の発現促進効果を有することを見出した。

2. 研究内容

(1) 実験方法

ヒト角化細胞 HaCaT から全 RNA を抽出し、逆転写反応 (RT) による cDNA 合成を行った。cDNA を鋳型とし、Polymerase chain reaction (PCR) 反応で DNA を増幅、アガロースゲル電気泳動により DNA サンプルを泳動し、カスパーゼ 14 mRNA 発現を確認した。また、細胞を PBS で遠心洗浄後、タンパク質可溶化液を用いてタンパク質を可溶化した。可溶液中のタンパク質濃度は BCA 法を用いて測定し、各サンプルを一定濃度のタンパク質に調整後、SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行った後、PVDF 膜に転写した。一次抗体としてカスパーゼ 14 に結合する抗体を用いてウェスタンブロットティングを行い、化学発光法にてタンパク質バンドを検出した。

(2) 結果及び考察

図 1 にスフィンゴイド骨格含有化合物の一種、フィトスフィンゴシン (PHS) を HaCaT に作用させ、48 時間後のカスパーゼ 14 の mRNA 量を RT-PCR 法にて観察した結果を示す。その結果、1 μ M という濃度から顕著なカスパーゼ 14 の mRNA 発現増強が確認された。

また、カスパーゼ 14 のタンパク質発現をウェスタンブロット法にて検出したところ、PHS を 48 時間 HaCaT 細胞に作用させた結果、カスパーゼ 14 が活性化する前の前駆体タンパク質の発現増強が起きたことから、PHS はカスパーゼ 14 の転写を促し、タンパク質の発現増強を引き起こしていることと推察された。

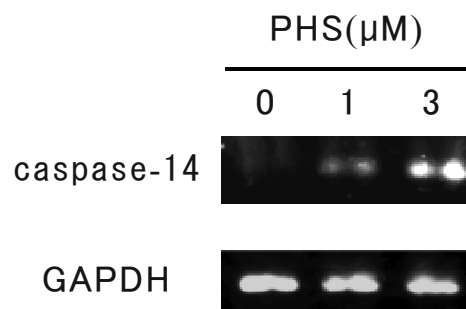


図 1. PHS によるカスパーゼ 14 mRNA 増強

3. 今後の展開

現時点では株化細胞を用いた研究段階であり、今後正常細胞における研究、また動物実験研究を行い、効果や安全性を確立する必要がある。生体においても本技術の効果や安全性が証明された後、皮膚保護用クリーム組成物として製造を行えるようにすることで、化粧品をはじめとするにきび、アトピー、乾癬などの皮膚疾患治療剤にも広く応用できると考える。

*1)東京電機大学