

皮膚の老化による VII 型コラーゲンの代謝及び 遺伝子発現調節機構について

今 淳

弘前大学医学部生化学第1講座

【目的・背景】

皮膚の VII 型コラーゲンは表皮角化細胞及び真皮線維芽細胞により生合成され、細胞外に移動した後、基底膜(BM)に結合してアンカーリングフィブリル(AF)を形成する。この VII 型コラーゲン/AF は基底膜と真皮との結合を強固にし、皮膚の構築を維持する重要な役割を担っていると考えられている。皮膚の老化には加齢に伴い全身の皮膚に生じる自然老化と紫外線暴露により生じる露光部の光老化が存在するが、何れの老化した皮膚においても AF の減少が認められ、しかも光老化皮膚ではその程度が更に増強していることから、所謂“皺”など皮膚の老徴出現には VII 型コラーゲンが何らかの関与をしていると考えられる。本研究では、いつまでも“皺”を生じない若々しい皮膚を保つ方法の確立を目指し、その一端として VII 型コラーゲンタンパク質及びコードする遺伝子 COL7A1 の発現と老化との関係について解析した。特に、1)皮膚の COL7A1 基本転写調節機構、2)光老化に関与する各種炎症性サイトカイン(TNF- α 、IL-1)による皮膚の COL7A1 発現調節機構の解析し、皮膚の老徴との関連についても考察した。

【結果・考察】

プロモーター領域 -1804/+92(転写開始点を+1 とする)の領域が挿入されたコンストラクト(-1804COL7A1/Luc)を用いてルシフェラーゼアッセイ法を行い、皮膚の COL7A1 基本転写調節機構を解析した。その結果 -155/-150 に Sp1 の結合し得る GC box が存在し、これが COL7A1 の転写に重要であることが知られた。ゲルシフトアッセイ法ではこの領域に Sp1-family の Sp1 及び Sp3 が結合、Sp1 は転写を促進、Sp3 は Sp1 の作用を抑制していた。この GC box に変異を入れたコンストラクトを導入してルシフェラーゼアッセイ法を行った結果、活性は著しく低下するが完全には消失しなかった。即ち GC box はエンハンサーとして COL7A1 の転写を制御していた。

皮膚が紫外線に暴露されると、“皺”などの老徴に代表される光老化が生じる。この光老化の生じた皮膚では AF の形成は低下し、VII 型コラーゲンが関与が考えられる。最近、紫外線 UVA が表皮角化細胞における COL7A1 の発現を抑制、逆に真皮線維芽細胞は促進することが明らかになった。更に、紫外線により誘導される炎症性サイトカイン TNF- α 、IL-1 も COL7A1 の発現を制御することが報告され、真皮線維芽細胞では COL7A1 の発現を転写レベルで促進することが明らかになっ

た。しかし表皮角化細胞に対する機構は全く不明でありその詳細を解析した。培養ヒト表皮角化細胞に TNF- α 、IL-1 β を添加して COL7A1 の発現変動をノーザンブロット法で解析した。その結果、両者とも COL7A1 の発現を抑制した。核 run-on アッセイを行った結果、各炎症性サイトカインの抑制作用は転写レベルで行われていた。また、培地中に分泌される VII 型コラーゲンタンパク量を解析したところ、発現は抑制されており、遺伝子レベルのみならずタンパクレベルでも抑制効果を認めた。この様に炎症性サイトカインの表皮角化細胞及び真皮線維芽細胞における COL7A1 発現調節機構は全く異なり組織特異的であった。

以上から、光老化の原因となり紫外線で誘導される炎症性サイトカイン TNF- α 及び IL-1 β も、紫外線 UVA の場合と同様に表皮角化細胞の COL7A1 の発現を抑制し、AF の低形成への関与が考えられた。AF の低形成は基底膜領域を脆弱にし、そこに外力が掛かることで深い溝ができ、皺形成に繋がる可能性が考えられた。しかし、真皮線維芽細胞における効果も UVA と同様促進的であり、発現した VII 型コラーゲンがどのような機構で AF を形成するのか、今後更なる解析が必要である。事実、表皮角化細胞と真皮線維芽細胞の何れが AF を形成するのかなど不明な部分が多く、今後は VII 型コラーゲンの生合成、COL7A1 の発現調節機構のみならず、異化分解系を含めた更なる解析が必要と考えられた。