The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	(+)-Catechin protects dermal fibroblasts against oxidative stress-induced apoptosis
Author(s)	谷川, 知子
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/50498
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	谷川　知子
論文題名 Title	(+)-Catechin protects dermal fibroblasts against oxidative stress-induced apoptosis ((+)-Catechinは線維芽細胞における酸化ストレス誘導性アポトーシスを抑制する)

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

活性酸素をはじめとしたフリーラジカルは生体の様々な物質に対して非特異的な酸化反応をもたらし細胞機能を障害することで癌や生活習慣病など様々な疾患の原因となっている。また、活性酸素は皮膚においては「しみ」や「くすみ」などの原因となるメラニンの増加や「しわ」といった皮膚の老化に関与していると考えられている。

皮膚の老化において主要な役割を担っている細胞の一つに皮膚線維芽細胞がある。皮膚においてコラーゲンやエラスチンなどのタンパクは皮膚の弾力を構成する重要なタンパクであるが、それらを産生しているのが線維芽細胞である。皮膚における線維芽細胞の数の減少や活性化の減弱はコラーゲンやエラスチンなどのタンパクの減少を誘発し皮膚の老化の原因となっているものと考えられている。

ワイン、茶、リンゴ、ブルーベリーなどに含まれる(+)-catechinは抗酸化作用をもつことが知られており、皮膚の老化を予防しうる可能性がある。

本研究では培養皮膚線維芽細胞を用いて、(+)-catechinが線維芽細胞における酸化ストレス誘導性アポトーシスに及ぼす影響をアポトーシス関連細胞内シグナル伝達機構に注目して検討した。

〔方法ならびに結果〕

1．酸化ストレスおよび(+)-catechinが細胞増殖におよぼす影響

線維芽細胞を96ウェルプレートに1×10^5 /mlの細胞数で培養し、ワインに多く含まれる(+)-catechin (C:0、1、10および100μM) と茶に多く含まれるエピガロカテキンガレート(EGCG: 0、1、10および100μM) を添加し、24時間後の細胞数を吸光度490 nmとして表されるホルマザン産物の量を測定することで比較した(MTT assay)。なお、(+)-catechinとEGCGについては線維芽細胞に過酸化水素 (0.1 mM) による酸化ストレス負荷をかけた後に実験を行った。その結果、酸化ストレス下では(+)-catechinとEGCGは濃度依存性に線維芽細胞の生存を促進 (細胞死を抑制) した。しかし酸化ストレス非存在下ではEGCGは線維芽細胞に細胞毒性を示したため、これ以降の実験は(+)-catechinのみで行った。

2．(+)-catechinが線維芽細胞の酸化ストレス誘導性アポトーシスに及ぼす影響

(+)-catechinが線維芽細胞の酸化ストレス誘導性アポトーシスに及ぼす影響をTerminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL)法を用いて検討した。過酸化水素 (0.1 mM) による酸化ストレス負荷条件において(+)-catechin (10 μM) を加え24時間後のTUNEL染色陽性細胞の数を測定した。その結果、酸化ストレス負荷条件において(+)-catechinはTUNEL染色陽性細胞数の割合を減少させた。以上より、(+)-catechinは酸化ストレスにより誘導されるアポトーシスを抑制することが示された。

3．酸化ストレスおよび(+)-catechinが細胞内mitogen-activated protein kinase (MAPK)シグナル伝達系およびcaspase-3に及ぼす影響

線維芽細胞を過酸化水素 (0.1 mM) による酸化ストレス条件の下で(+)-catechin (10 μM) で線維芽細胞を30分間刺激した後c-Jun N-terminal kinase (JNK), p38-MAPKおよびカスパーゼカスケードの一つであるCaspase-3の活性化を検討した。その結果、過酸化水素による酸化ストレス負荷はJNK、p38-MAPK、およびcaspase-3の活性化を誘導したが、(+)-catechinはこれらの活性化を抑制した。以上より、(+)-catechinは酸化ストレスによるJNK、p38MAPK、caspase-3の活性化を抑制することが示された。

〔総　括(Conclusion)〕

カテキンは線維芽細胞において酸化ストレス誘導性アポトーシスを抑制することが明らかとなった。その抑制機序として、酸化ストレスによるJNKやp38といったMAPKシグナル伝達経路の活性化を抑制する可能性が考えられた。以上より、カテキンは皮膚のアンチエイジングに有用である可能性が示唆された。

[Format-H07]

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）谷川　知子

		（職）	氏　　名
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	細川 亘
	副　査	大阪大学教授	浜田 一朗
	副　査	大阪大学教授	板見 智

論文審査の結果の要旨

(+)-catechinは抗酸化作用をもつことが知られており、皮膚の老化を予防しうる可能性がある。本研究では培養皮膚線維芽細胞を用いて、(+)-catechinが線維芽細胞における酸化ストレス誘導性アポトーシスに及ぼす影響をアポトーシス関連細胞内シグナル伝達機構に注目して検討した。細胞増殖試験において、酸化ストレス下では(+)-catechinとEGCGは濃度依存性に線維芽細胞の生存を促進（細胞死を抑制）した。タネル試験においては、酸化ストレス負荷条件において(+)-catechinはTUNEL染色陽性細胞数の割合を減少させ、(+)-catechinは酸化ストレスにより誘導されるアポトーシスを抑制することが示された。また、western blotting法において、過酸化水素による酸化ストレス負荷はJNK、p38-MAPK、およびcaspase-3の活性化を誘導したが、(+)-catechinはこれらの活性化を抑制した。以上より、(+)-catechinは酸化ストレスによるJNK、p38MAPK、caspase-3の活性化を抑制することが示された。本研究は博士（医学）の学位を授与するに値するものと認める。