

46    ミトコンドリア賦活剤の開発	柳 茂
---------------------	-----

**【目的】** MITOL はミトコンドリア外膜に局在する膜型 E3 ユビキチンリガーゼであり、ミトコンドリアの品質管理に重要な役割を果たしている。皮膚組織特異的 *MITOL* 欠損マウスを作製したところ、生後 6 ヶ月頃から肉眼的に白髪・脱毛・皮膚炎症が観察され、病理組織解析においても皮脂腺の増加・表皮の肥厚・細胞死の増加など顕著な老化所見が観察された。また、正常のマウス皮膚組織においても *MITOL* の発現が老化と共に有意に減少することより、*MITOL* の発現低下は活性酸素の産生を誘導し老化を引き起こしていることが示された。そこで、本研究では *MITOL* 発現を上昇させる薬剤を探索することにより、ミトコンドリアを標的にした新たな創薬を目指す。

**【方法】** 1. 表皮角化細胞に対する *MITOL* 遺伝子発現上昇作用素材の評価：ヒト表皮角化細胞を、被験物質を含有する培地に交換し 24 時間培養した。リアルタイム PCR システムにより、*GAPDH*、*MITOL* のそれぞれの mRNA の発現量を測定し、*MITOL* の発現量を *GAPDH* 発現量により補正した。測定した mRNA 発現量を Control 群と比較し、被験物質による *MITOL* 遺伝子の発現の影響を評価した。2. マウスへのベルベリン投与による *MITOL* 発現促進作用の評価：ベルベリン塩酸塩を、純水を用いて 0.2% (w/v) に溶解し、9 日間または 8 週間自由摂水させた。ベルベリン非投与群には純水を自由摂水させた。8 週間の自由摂水後、マウス耳を採取した。心臓・脳・骨格筋サンプルの採取は 9 日間の自由摂水後、臓器を摘出した。それぞれの臓器における *MITOL* 発現量をウェスタンブロット法にて解析した。3. 紫外線照射ヘアレスマウスへのベルベリン投与による影響評価：紫外線照射は、UVB (1 週目：70 mJ、2 週目：80 mJ、3 週目：90 mJ、4 週目以降：100 mJ)、3 回/週の照射を行った。8 週の照射完了後に皮膚組織をカミソリで 5 mm 幅に切り分け、パラフィンで包埋した。レプリカ解析は、UVB 照射時に週一回及び 8 週間の UVB 照射後、反射用レプリカ作製キットを用いてレプリカを採取した。レプリカ画像の取得及び解析には反射用レプリカ解析システムを用いた。

**【結果】** 1. 表皮角化細胞に対する *MITOL* 遺伝子発現上昇作用素材の評価：表皮角化細胞の *MITOL* 遺伝子発現上昇素材として、コメヌカ発酵エキス、オウバク抽出液、オウレン抽出液、センブリ抽出液、ハマメリス抽出液、ボタンピ抽出液、モモ抽出液などの 12 種が見出された。2. マウスへのベルベリン投与による *MITOL* 発現促進作用の評価：各種組織のウェスタンブロット及びバンドを定量化した。マウスにベルベリン塩酸塩を投与することにより、ベルベリン非投与群 (control) と比較して *MITOL* のタンパク発現量が有意に上昇することが確認された。3. 紫外線照射ヘアレスマウスへのベルベリン投与による影響評価：紫外線照射 8 週間後の外観写真、レプリカ写真、レプリカ解析結果を示す (下図)。レプリカ解析により、control 群と比較してベルベリン投与群においてシワの形成が有意に抑制されていることが確認された。以上のことから、ミトコンドリア賦活剤としてベルベリンは有望であると思われる。一方、ベルベリンには抗炎症作用があることも知られているので、本当に *MITOL* の発現増加を介して作用したかどうかは不明である。今後、*MITOL* 欠損マウスにベルベリンを投与して今回の効果が消失するかどうか判定することが必要である。

レプリカ写真とシワ面積率の比較

