

皮膚の細胞老化における中心体制御を介した タンパク質の品質管理機構の解析

[1] 組織

代表者：岡田 麻衣子
(東京工科大学応用生物学部)
対応者：千葉 奈津子
(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 10 万円

[2] 研究経過

老化やアルツハイマー病、パーキンソン病などの神経変性疾患では、細胞内で異常タンパク質が凝集して形成されるアグリソームが蓄積することが知られている。一般に、アグリソームは微小管に沿って微小管形成中心である中心体へ輸送され、選択的オートファジー機構を介して分解される。しかし、アグリソームの集積や分解過程における中心体の構造的・機能的役割、特に中心体制御異常がアグリソーム動態に及ぼす影響は十分に明らかになっていない。

受入教員である千葉奈津子教授らは、がん抑制因子 BRCA1 と OLA1 を主要構成因子とする BRCA1-OLA1 複合体を同定し、この複合体が中心体数や中心体構造の維持に重要な役割を果たすことを示してきた。昨年度までの共同研究では、OLA1 変異体を過剰発現させた細胞系を用いて、中心体成熟異常とアグリソーム蓄積との関連性を解析した。その結果、G2 期における中心体成熟不全がアグリソームの異所性蓄積を誘導することを見出した。また、選択的オートファジーの基質認識因子である p62 を指標とした解析から、中心体異常がアグリソームクリアランスに影響する可能性が示唆された。

これらの成果を踏まえ、本共同研究では、BRCA1-OLA1 複合体による中心体制御機構の破綻が、アグリソームの異常蓄積および分解異常を引き起こす分子機序を明らかにすることを目的とした。当初は、ヒト不死化ケラチノサイトを用いて、皮膚細胞における中心体制御機構とアグリソームクリアランス機構との関連を解析する計画であった。

一方で近年、パーキンソン病などの神経変性疾患患者において、アグリソーム様の異常タンパク質凝集体が皮脂中から検出されることが報告されている。神経変性疾患の多くは加齢に伴って発症頻度が上昇する late-onset 疾患であり、その背景にはタンパク質恒常性の破綻、オートファジー機能の低下、細胞老化、慢性炎症が関与すると考えられる。皮脂は、脂腺細胞がホロクライン分泌により細胞死を伴って崩壊し、細胞成分が皮脂腺から放出することで形成される。したがって、皮脂中に検出される異常タンパク質凝集体の由来や意義を理解するためには、脂腺細胞におけるアグリソーム形成、細胞死、タンパク質品質管理機構を解析する必要がある (図1)。

脂腺細胞におけるアグリソームクリアランス機構の解明



図1 本研究の概念図

そこで本年度は、昨年度までに得られた「中心体成熟異常がアグリソームの異所性蓄積を誘導する」という知見を、毛包の付属器官である脂腺細胞へ発展させた。具体的には、解析対象をヒトケラチノサイトからヒト脂腺細胞へ変更し、脂腺細胞における中心体制御機構、アグリソーム形成、細胞死との関連を検討した。この変更により、皮膚老化研究に加えて、神経変性疾患に関連する異常タンパク質凝集体の皮脂中検出という近年の知見とも融合可能な研究展開を目指した。

本研究の打合せは、受入教員である千葉奈津子教

授とメール等で適宜実施した。打合せでは、昨年度までの OLA1 変異体発現細胞における中心体成熟異常とアグリソーム蓄積の結果を踏まえ、本年度の解析対象を皮膚へ変更する妥当性について検討した。

〔3〕 成果

（3－1）研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

まず第1に、ヒト不死化脂腺細胞の培養系を立ち上げ、脂腺細胞の特徴である脂肪滴の蓄積を確認した。これにより、皮脂分泌とタンパク質凝集体形成との関連を解析するための基盤となる細胞モデルを確立した。

第2に、脂腺細胞の細胞死を誘導する植物由来成分を見出した。脂腺細胞は成熟後に、細胞死を伴って皮脂を分泌するため（ホロクライン分泌）、本結果は、皮脂分泌過程と細胞内凝集体形成との関連を解析する上で重要な知見である。

第3に、当該成分により細胞死が誘導された脂腺細胞において、免疫染色法によりアグリソーム様凝集体を検出した。これにより、脂腺細胞においても細胞死過程に伴いタンパク質凝集体が形成される可能性が示された。

第4に、より生体に近い解析系として、ヒト正常脂腺細胞を用いた老化誘導実験を開始し、老化過程におけるタンパク質凝集体の動態解析に着手した。脂腺は毛包の付属器官であり、毛包幹細胞から分化した脂腺前駆細胞が増殖・分化を繰り返し、最終的に脂肪滴を大量に蓄積した脂腺細胞へと成熟する。成熟脂腺細胞は増殖を停止し、細胞体積が著しく増大した後、ホロクライン分泌により細胞死を伴って皮脂を放出する。このような脂腺細胞の分化過程は、増殖停止や細胞機能変化を伴う点で細胞老化との関連が示唆される。一方、本研究で用いている不死化脂腺細胞は増殖能を保持しているため、老化に伴うアグリソーム形成やクリアランス異常を評価するには限界がある。そこで、より生体に近い正常細胞系で検証するため、ヒト正常脂腺細胞の培養および老化誘導条件の検討を開始した。これにより、脂腺細胞の成熟・老化に伴うアグリソーム形成およびクリアランス異常を評価するための実験系を拡充した。さらに今後は、iPS 細胞から脂腺細胞への分化誘導系を活用し、脂腺細胞の分化・成熟・老化の各段階におけるアグリソームクリアランス機構の変化についても解析を進める予定である。

一方、ヒト不死化脂腺細胞を用いて、当初計画していた BRCA1 および OLA1 のノックダウンによるアグリソーム蓄積評価を行ったところ、ノックダウン条件下で細胞死が強く誘導され、アグリソーム蓄

積を安定して定量評価する条件の確立には至らなかった。しかしこの結果は、BRCA1 および OLA1 が脂腺細胞の生存維持やタンパク質恒常性の制御に関与する可能性を示唆するものである。現在は、BRCA1 および OLA1 の発現抑制効率と細胞生存率のバランスを考慮し、アグリソーム形成を観察可能なノックダウン条件の最適化を進めている。

（3－2）波及効果と発展性など

本共同研究により、昨年度までに見出した中心体成熟異常とアグリソーム蓄積との関連性を、皮脂分泌を担う脂腺細胞へと発展させることができた。これにより、中心体制御、選択的オートファジー、皮膚老化、脂腺機能、神経変性疾患を結びつける新たな研究基盤が形成された。

神経変性疾患の多くは加齢に伴って発症する late-onset 疾患であり、細胞老化やタンパク質恒常性の破綻と密接に関係する。本研究は、皮脂分泌過程におけるアグリソーム様凝集体の形成を解析することで、化粧品科学と老化研究を融合する新たな研究領域の開拓につながる。

申請者は、2024 年 9 月に本学応用生物学部の化粧品コースにおいて独立し、2025 年度より配属学生とともに新たな研究室を始動した。本研究室では、神経変性疾患マーカーを皮脂成分から簡便に検出する系の構築を進めている。そのため、脂腺細胞におけるアグリソームクリアランス機構の解明は、本研究室の中核的研究課題を支える重要な基盤である。本共同研究で得られた知見は、新研究室の研究基盤形成および若手人材育成にも大きく貢献した。

加齢に伴う神経変性疾患による疾病指標成分
(タンパク質凝集体)の蓄積



図 2 今後の展望

今後は、BRCA1 および OLA1 の機能解析を進め、脂腺細胞におけるタンパク質恒常性破綻の分子基盤を明らかにすることで、皮膚老化の理解を深め、神経変性疾患マーカー探索へと展開することが期待される。

〔4〕 成果資料

特になし