

# 博士學位論文

内容の要旨及び審査結果の要旨

第 38 号

2015 年 3 月

京都産業大学

— は し が き —

本号は、学位規則（昭和 28 年 4 月 1 日 文部省令第 9 号）第 8 条の規定による公表を目的とし、平成 27 年 3 月 21 日に本学において博士の学位を授与した者の論文内容の要旨及び論文審査結果の要旨を収録したものである。

学位番号に付した甲は学位規則第 4 条第 1 項によるもの（いわゆる課程博士）であり、乙は同条第 2 項によるもの（いわゆる論文博士）である。

---

---

# 目 次

---

---

## 課程博士

1 . 周 艷	〔博士（経済学）〕	.....	1
2 . 佐 藤 雅 俊	〔博士（法律学）〕	.....	5
3 . 新 中 善 晴	〔博士（物理学）〕	.....	11
4 . 新 崎 貴 之	〔博士（物理学）〕	.....	15
5 . <small>シーモントリー</small> SRIMONTRI <small>パイトゥーン</small> PAITOON	〔博士（生物工学）〕	.....	19

## 論文博士

1 . 佐 倉 正 明	〔博士（生物工学）〕	.....	25
2 . 鶴 村 俊 治	〔博士（生物工学）〕	.....	29

氏名（本籍）	佐倉 正明（群馬県）
学位の種類	博士（生物工学）
学位記番号	乙工5号
学位授与年月日	平成27年3月21日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
論文題目	SAMP1 mice as a new animal model for photoaging of the skin associated with spontaneous higher oxidative stress status
論文審査委員	主 査 竹内 実 教授
	副 査 松本 耕三 教授
	” 板野 直樹 教授

## 論文内容の要旨

Aging of the skin is a process in which both intrinsic and extrinsic determinants lead to a progressive loss of structural integrity and physiological function. The intrinsic aging process is characterized by slow and irreversible tissue degeneration, and affects the skin as well as the whole body. The extrinsic aging process, i.e. “photoaging”, is provoked by chronic exposure to sunlight, and especially ultraviolet (UV) light. The long latency period and slow evolution of photoaging make human studies difficult. Therefore, the development of a reliable animal model is necessary to systematically study the pathogenesis of photoaged skin. At present, UV-irradiated skh-hairless mice are widely used as an animal model for skin photoaging. This model recapitulates many features of human photoaging. However, it mimics only the extrinsic aspects of the pathogenesis of photoaging, and the contribution of the intrinsic aging process is difficult to study. It is important to elucidate how the intrinsic aging process contributes to the pathogenesis of photoaging in vivo, since intrinsic factor(s) seems to be essential for the manifestation of skin photoaging phenotypes in humans. As for the pathogenesis of photoaging, reactive oxygen species (ROS) generated by UV radiation are thought to play an integral role. UV-induced ROS can exert a multitude of effects such as lipid peroxidation, the activation of transcription factors and the generation of DNA strand breaks.

In the present study, I show that the skin from old senescence-accelerated mouse-prone 1 (SAMP1) mice, a model for accelerated senescence and higher oxidative status, exhibited histological and gene expression changes similar to those in human photoaged skin without UV irradiation. Histopathological analysis revealed an age-associated increase in the elastic fiber and glycosaminoglycan content of the dermis of 48- to 70-week-old SAMP1 mice. An upregulation of several pro-inflammatory cytokines and matrix metalloproteinases-7 and -12 with advancing age were observed in SAMP1 skin. This mouse may be a useful model to study the contribution of intrinsic aging processes in the pathogenesis of photoaging. Furthermore, I attempted to clarify factor(s) that differentiate photoaging from chronological aging phenotypes. Histological changes and cytokine expression patterns were compared among UV-irradiated hairless mice (18 weeks of age), a standard photoaging model, non-irradiated mice of 18 weeks of age and chronologically-aged hairless mice (70 weeks of age). Histopathologies revealed that the flattening of dermal-epidermal junctions and epidermal thickening were observed only in UV-irradiated mice. Decreases in fine elastic fibers just beneath the epidermis, the thickening of elastic fibers in the reticular dermis, and the accumulation of glycosaminoglycans were more prominent in UV-irradiated mice as compared to non-irradiated aged mice. Quantitative PCR analyses revealed that UV-irradiated mice showed an increase in the expression of IFN- $\gamma$ . In contrast, aged mice exhibited proportional upregulation of both pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines. The IFN- $\gamma$ /IL-4 ratio, an indicator for the balance of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines, was significantly higher in UV-irradiated mice as compared to control and non-irradiated aged mice. An elevated IFN- $\gamma$ /IL-4 ratio was also observed in aged SAMP1 mice. Thus, an imbalance between pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines might be a key factor to differentiate photoaged skin from chronologically-aged skin.

## 論文審査結果の要旨

皮膚の老化は内因性因子と外因性因子が複合的に作用し、皮膚構造や機能変化を引き起こす。内因性老化（自然老化）は加齢による老化であり、すべての臓器と同様に皮膚においても生じる。一方、外因性老化、すなわち光老化は日光照射、特に紫外線 (ultraviolet: UV) によって慢性的に照射される露光部で引き起こされる。光老化で認められる皮膚変化は慢性的に UV が照射されることで生じるため、ヒト皮膚において短期間で再現することが困難である。したがって、動物モデルの開発は、光老化を研究する上で非常に意義があり必須である。現在、ヘアレスマウス皮膚に UV 照射する系が光老化モデルとして広く用いられている。しかしながら、このモデルは外因性因子である UV のみの影響を反映したモデルであり、自然老化に関する因子が含まれていない。光老化は、日光などの外因性因子が長期間繰り返されることによって加速され、その形成には内

因性因子が関与する。また光老化による皮膚変化は、UV 照射により生じる活性酸素種 (ROS) が重要な役割を果たすことが知られている。しかし、まだ正確な光老化メカニズムの解明はされておらず、また内因性因子を加味したモデル系の確立もされていないのが現状である。

そこで、本研究では老化促進モデルマウス SAMP1 (senescence-accelerated mouse-prone 1) を用いて、光老化メカニズムの解明と内因性因子を加味したモデル系の確立について研究を行った。その結果、高酸化ストレス状態を自然発症し、促進老化を示すモデルマウスである老化促進モデルマウス SAMP1 (senescence-accelerated mouse-prone 1) の高齢期皮膚において、UV 照射なしにヒトの光老化で認められる組織学的変化や遺伝子発現変化と類似の変化を示すことを新しく見出した。組織学的検討では、光老化で生じる皮膚真皮層での弾性線維の増加や glycosaminoglycans (GAGs) の沈着が 48 週齢から 70 週齢にかけて加齢に伴い増加することを発見した。また、遺伝子発現解析においては、炎症性サイトカインの発現や弾性線維を分解する MMP-7 (matrix metalloproteinases-7)、MMP-12 (matrix metalloproteinases-12) の発現が加齢とともに上昇することが認められた。組織学的変化や遺伝子発現変化が光老化に認められる変化と類似していること、また SAMP1 マウス皮膚変化が高齢期で認められることから SAMP1 マウス皮膚は自然老化含む光老化モデルとして有用であることを証明した。さらに、自然老化と光老化の過程で異なる組織変化を生じる要因について、光老化モデルとして広く用いられているヘアレスマウス系を用いて検討を行った。本検討では、UV 照射群 (18 週齢)、UV 非照射群 (18 週齢) に加え、自然老化群 (70 週齢) で比較した。組織学的検討では、UV 照射群のみに皮膚小稜の消失、表皮肥厚が認められた。また、真皮層においては、表皮直下の弾性線維の減少、GAGs の沈着が認められた。自然老化群では皮膚小稜の消失や表皮肥厚は認められず、真皮層における弾性線維、GAGs 変化はわずかであった。この点に関しては、UV 照射期間を長くするなど今後の検討に期待したい。定量的 PCR による検討では、UV 照射群で、炎症性サイトカインである IFN- $\gamma$  の発現が上昇したが、抗炎症性サイトカインの発現上昇は認められず、結果として IFN- $\gamma$ /IL-4 比が有意に上昇した。一方、自然老化群では炎症性サイトカインの上昇とともに抗炎症性サイトカインの上昇も認められ、IFN- $\gamma$ /IL-4 比は UV 非照射群と同等であった。IFN- $\gamma$ /IL-4 比の上昇は高齢期の SAMP1 マウス皮膚においても認められることを証明した。

以上のように、本論文の成績にはまだ報告されていない新知見が多く、内因性因子を加味したモデル系を新しく確立し、さらに光老化メカニズムを詳細に解明した論文は、本論文が初めてで、実験データがやや少ない点はあるが、光老化の病態を解明するうえで大変意義がある論文である。

尚、本論文の要旨は、日本基礎老化学会、The International Federation of Societies of Cosmetic Chemists、日本薬学会において発表された。また、筆頭著者として国際専門雑誌である *Experimental Dermatology*, 22: 62-64, 2013.、*Modern Research in Inflammation*, 3: 82-89, 2014. に計 2 報の論文が掲載された。

その他に共著者として、*Journal of Advances in Bioscience and Biotechnology*, 4:1-7,2013.、*International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*, 3:125-128, 2013.、*Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications*, 3:12-17, 2013.、*Journal of*

Toxicology and Environmental Health, Part A, 74: 1240-1247, 2011.、.Journal of ApiProduct and ApiMedical Science. 2:149-154,2010 の国際専門雑誌に計 5 報の論文が掲載された。

主査、副査の博士論文本調査委員による論文審査において、論文内容は論理的で良くまとめられていることから、本調査委員全員一致で合格と判定され、博士論文に十分に値すると判定された。また、博士論文公聴会においても、発表内容は良くまとめられており、発表態度も誠実で、質問に対して的確に答えしており、専門分野の知識を十分に兼ね備えていることから合格と判定され、博士の学位を授与するに値すると判断された。