

10. 正常ヒト由来線維芽細胞の石灰化に対する海洋深層水の抑制機序

○山田勝久・柴田雄次・山本樹・野村道康¹⁾、今田千秋²⁾

(¹⁾ (株)ディーエイチシー、²⁾ 東京海洋大学)

1. 目的

海洋深層水（以後、DSW）のヒトの皮膚科学的有用性に関する研究報告は未だ数少ない。前回我々は正常ヒト皮膚由来線維芽細胞（以後、NB1細胞）を用いた研究で、UVA照射が石灰化を誘導することに加えて、DSWがこの現象を軽減することを報告した¹⁾。そこで今回は、UVAが照射されたことにより細胞に生じる活性酸素分子種（以後、ROS）の動態²⁾および石灰化の主要因子である細胞におけるCa変動について観察すると共に、DSW添加によるこれら因子の変化について調べることを目的とした。

2. 方法

DSWおよび表面海水（以後、SSW）は伊豆赤沢で同日（日付を入れる）に取水したものをを用いた。また全ての評価系において、NB1細胞は96穴マイクロプレートに2万個/穴となるように播種した後、2日間前培養を行った。前培養後、培地をPBS(-)（日水製薬）に置換してUVA（FL15BLB, 東芝）を照射（0.8 J/cm²）したのち、Ca/Mg=2に調整した10%FBS含有イーグルMEM培地（日水製薬）培地（2倍希釈品）を用いて1晩培養した。培養後、細胞を冷メタノールで固定したのち、ROS発生による酸化ストレスマーカーである蛋白質のカルボニル化およびCaの蓄積を各々の選択的蛍光プローブ（カルボニル化蛋白質, FTCZ; Ca, Fura-2）を用いて調査した。

次にDSWの石灰化抑制機序を調査するために、UVA照射後にDSWを添加して1晩培養した細胞について、ROSおよびCaの変化をSSWと比較した。またDSW, SSWにかかわらず海

水中に豊富に存在するMgがCa蓄積に影響を及ぼす可能性が推察されたので、Mgの蓄積変動を調べるために、Mg選択的プローブ（KMG-20）を用いて観察した。なお、細胞の観察には蛍光顕微鏡（オリンパス）を用いた。

3. 結果および考察

NB1細胞に対するUVA照射は、ROSの発生を示唆するカルボニル化蛋白質の生成を促した。また併せて、石灰化現象の本質成分であるCaの蓄積が誘導されることがわかった。UVA照射後にDSWを含む培地で培養すると、DSWの添加濃度に依存してNB1細胞へのCaの蓄積が抑制された。その効果は、比較対照として設定したSSWに比べて強かった。これは前回の本大会で報告したアリザリンレッド-Sを用いた石灰化抑制効果の判定結果と一致した。

次にDSWが有する石灰化抑制作用機序を調査したところ、UVA照射後のカルボニル化蛋白質の生成状態から考えて、DSWはUVA照射に伴うROSに対して制御できないことがわかった。またDSW中に豊富に存在するMgの影響について検討した結果、UVA照射後のNB1細胞に対するDSWのCa蓄積抑制作用とMgの間には相関が見られなかった。これらのことからDSWは、UVA照射後のNB1細胞に対してCaおよびMgの細胞への蓄積を共に抑制する作用が示唆された。今後はDSWの石灰化抑制機序解明に向けて、分子生物学的なアプローチを計画している。

4. 参考文献

- 1) 山田ら(2017) 海洋深層水研究, 18, 1-7.
- 2) 正木 仁(2013)日本化粧品学会誌, 37, 11-16.