

# カシスに含まれる新規フィトエストロゲン分子の評価とヒト皮膚線維芽細胞に対する美容効果

七島直樹<sup>1)</sup>、堀江香代<sup>2)</sup>

1) 青森県立保健大学 健康科学部 栄養学科、2) 弘前大学 大学院保健学研究科

**Key Words** ①カシス ②フィトエストロゲン ③皮膚線維芽細胞

## I. はじめに

植物にはエストロゲン様作用を有する分子が含まれており、これらはフィトエストロゲンと総称される。更年期になると特に女性の場合、女性ホルモンであるエストロゲンが急激に減少する。皮膚、心血管系、骨はエストロゲンの影響を受けやすい臓器であり、閉経後の女性はエストロゲンの分泌量が減少するために骨粗鬆症や心血管系疾患のリスクが高くなり、皮膚の老化も亢進する事が知られている。これらの更年期障害症状を軽減するため、食生活においては、イソフラボン等のフィトエストロゲンを含有する大豆製品の摂取が有効であることが広く知られている。

18世紀半ばのフランスではカシスを薬用として摂取していたとの記録もあるほど、カシスは古来より健康に対する効果が高いと考えられてきた。そのためカシスには他の植物には存在しない新規の機能を有するフィトケミカルが秘められている可能性が高いと推測される。リグノイドはフェニルアラニンを起源とする、1-フェニルプロパン (C<sub>6</sub>C<sub>3</sub>) が複数縮合した形の化合物およびその化合物の誘導体の総称である。カシスには複数のリグノイドが含有されているという報告がある<sup>1)</sup>。しかしながらリグノイドのフィトエストロゲン効果に関する報告は無い。

## II. 目的

カシスに含有されるリグノイド (以下リグノイド A とする) には抗酸化作用があるという報告はあるものの、それ以外の機能の報告はない。本研究ではリグノイド A が秘めるフィトエストロゲン作用を評価するとともに、エストロゲンの影響を受けやすいヒト皮膚線維芽細胞を用いて、更年期に産生量が低下するコラーゲンやヒアルロン酸などのいわゆる美容成分の産生量の変化を評価することを目的とした。

## III. 研究方法 (または「研究の経過」等)

### 1. リグノイド A のフィトエストロゲン作用の評価

- 1) エストロゲン受容体が強く発現している MCF7 細胞にリグノイド A (最終濃度 1nM-10μM) を投与し、5 日間培養後、細胞数を計測した。また、エストロゲン受容体阻害剤である Fulvestrant で処理した MCF7 細胞やエストロゲン受容体が発現していない MDA-MB-231 細胞でも同様の実験を行った。
- 2) エストロゲン受容体の下流遺伝子の発現変動をリアルタイム PCR 法で評価した。
- 3) エストロゲンが存在するとアルカリホスファターゼ (ALP) の活性が亢進するヒト子宮内膜腺癌細胞である Ishikawa 細胞に、最終濃度 (0、1、10、100、1000nM) のリグノイド A を添加した培地で 72 時間培養後に細胞の ALP 活性を測定した。

## 2. ヒト皮膚線維芽細胞 (HSF) におけるフィトエストロゲン作用

- 1) 最終濃度 1nM-10 $\mu$ M となるようにリグノイド A を HSF に投与し、細胞の増殖率、I 型コラーゲン、ヒアルロン酸の産生を定量した。
- 2) 同様に、HSF にリグノイド A を投与し、I 型コラーゲン、ヒアルロン酸合成酵素、ヒアルロン酸分解酵素、マトリックスメタロプロテアーゼなどの遺伝子発現の変化をリアルタイム PCR 法で解析した。

## IV. 結果および考察

MCF7 細胞を用いて、細胞の増殖を評価すると、最終濃度 1nM、10nM、100nM、1 $\mu$ M、10 $\mu$ M のリグノイド A 含有培地で有意に細胞が増加した。一方で、エストロゲン受容体阻害剤である Fulvestrant を 100nM 添加すると細胞の増殖は抑制された。エストロゲン受容体が発現していない MDA-MB-231 細胞にリグノイド A を添加しても上記のすべての濃度において細胞増殖は認められなかった。以上より、リグノイド A はエストロゲン受容体を介して細胞増殖を誘導していることが示唆された。

リアルタイム PCR 法により遺伝子の発現を解析すると、エストロゲン受容体の下流遺伝子として知られている pS2、Cathepsin D、PGR の遺伝子発現が、1nM、10nM、100nM、1000nM のリグノイド A において亢進した。

リグノイド A を添加した Ishikawa 細胞の ALP 活性評価を行った結果、最終濃度 1nM、10nM、100nM および 1000nM のリグノイド A の添加において活性が亢進した。しかし、この活性は Fulvestrant を添加すると低下した。これらの結果より、リグノイド A はエストロゲン受容体と結合し、フィトエストロゲンとして機能していることが示唆された。

リグノイド A をヒト皮膚線維芽細胞へ投与すると、細胞の増殖は認められなかったが、最終濃度 1nM、1nM、10nM、100nM、1 $\mu$ M、10 $\mu$ M のリグノイド A の添加によって I 型コラーゲンの産生量が亢進した。しかしながら、現時点では統計的有意差が得られていないため、さらなる検討が必要である。なお、ヒアルロン酸分解酵素、コラーゲン分解酵素などの遺伝子発現についても減少の傾向にあった。

以上より、リグノイド A はフィトエストロゲン活性を有していることが明らかとなったが、ヒト皮膚線維芽細胞に対する効果については、さらなる検討が必要である。

## V. 文献

1) Tatsunori Sasaki, Wei Li, Shinnosuke Zaike, Yoshihisa Asada, Qin Li, Fenghua Ma, Qingbo Zhang, Kazuo Koike., Antioxidant lignoids from leaves of *Ribes nigrum*, *Phytochemistry*, 95,333-40, 2013.

## VI. 発表 (誌上発表、学会発表)

2022 年度青森県保健医療福祉研究発表会・日本ヒューマンケア科学学会第 15 回学術集会  
第 45 回日本分子生物学会年会