

【奨励賞受賞者研究トピックス】

## FoxO3a は皮膚老化による萎縮や色素沈着を抑制する因子である

金 周元<sup>1,2</sup>、Choi Hyunjung<sup>1</sup>、清水 孝彦<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>R&D center, Amorepacific corporation

<sup>2</sup>千葉大学大学院医学研究院

<sup>3</sup>国立長寿医療研究センター研究所

### はじめに

長寿遺伝子として知られる Forkhead box O3a (FoxO3a) は、様々な実験動物で加齢に伴う臓器の機能低下を遅らせることや、寿命を延長させることが報告されている [1, 2]。この加齢による身体機能の減弱や減衰は、無脊椎動物のみならず脊椎動物においても観察されるため、様々な器官における FoxO3a の機能を明らかにすることは、健康寿命延長のために重要である [3]。皮膚は身体の外最外部に存在し、老化現象が可視化出来る器官である。皮膚は加齢や外部刺激によって老化し、真皮の萎縮によるしわの形成や過剰なメラニン蓄積によるシミの出現が起きるが、これらを効果的に遅延できる方法は明らかにされていない。我々は、FoxO3a が皮膚萎縮や色素沈着の抑制に重要な因子であることを見出した。すなわち、皮膚のメラニンを産生するメラノサイトにおいて FoxO3a の発現をノックダウンするとメラニン生成が増加し、逆に FoxO3a を過剰発現させるとメラニンの産生量が減少することを確認した。従来より、抗酸化物質の投与によるメラニン生成の抑制が知られていたが、この過程に FoxO3a の活性化が関与することも明らかとした。また、FoxO3a を活性化する天然の phytochemical である syringaresinol 摂取によって老化による皮膚萎縮が遅延できることも見出した。本稿では、皮膚老化現象における FoxO3a の役割について、筆者の最新の研究成果を紹介する。

### FoxO3a による Melanogenesis の制御

皮膚老化の代表的な現象の一つである色素沈着はメラニンの過剰産生と蓄積に由来するものであり、シミを含む様々な老化様の病態を併発する [4]。メラニンは光老化から皮膚を保護する役割を果たすが、過剰なメラニン形成は皮膚癌のリスクを高める危険性がある [5]。本研究では皮膚老化を防ぐ因子としての FoxO3a の役割解明

のため、まずメラニン産生量の異なる3種のメラノサイト及びメラノーマ細胞を用いて各々の FoxO3a 発現量を調べた。その結果、色素量増加に反比例して、FoxO3a の発現が低下することを新たに見出した (図 1 A)。また、siRNA 法による FoxO3a の枯渇は、色素生成増加とメラニン産生関連タンパク質群 microphthalmia-associated transcription factor (MITF), tyrosinase (TYR), tyrosinase related protein 1 (TYRP1), dopachrome tautomerase (DCT) の発現を増加させた。逆に PI3K および AKT 阻害剤の処理は、FoxO3a の核内移行 (活性化) を促進し、その結果色素生成は減少した。FoxO3a の核移行配列への変異導入により、核への移行を出来なくした状況では色素生成に変化が生じなかったことから、色素生成の抑制には核内移行による FoxO3a の活性化が重要であることが示唆された [6]。

メラニン産生経路には酸化反応が含まれることから、抗酸化物質等を用いた予防が従来は試みられてきたが、その詳細なメカニズムは不明であった [7]。これまでの研究で抗酸化物質による抗老化のメカニズムには、長寿遺伝子として知られる FoxO3a を含むインスリン様シグナルが関与するとの知見が得られていたため [8, 9]、本研究では抗酸化物質によるメラニン抑制機構と FoxO3a の関連性を調べることで、FoxO3a の活性化による皮膚老化過程の効果的な軽減を確認した (図 1 B)。この現象は FoxO3a をノックダウンした際には生じないことから、抗酸化物質によって FoxO3a が活性化され melanogenesis が調節出来る事が明らかとなった。抗酸化物質処理によるメラニン合成抑制の作用機序には、FoxO3a の核内移行による活性化経路が推定され、抗酸化物質による色素沈着予防メカニズムの機序解明が期待される。

連絡先：金 周元

〒 17074 1920 Yonggu-daero, Giheung-gu, Yongin-si, Gyeonggi-do, Korea

TEL : +82-31-280-5964

E-mail : jwkim@amorepacific.com

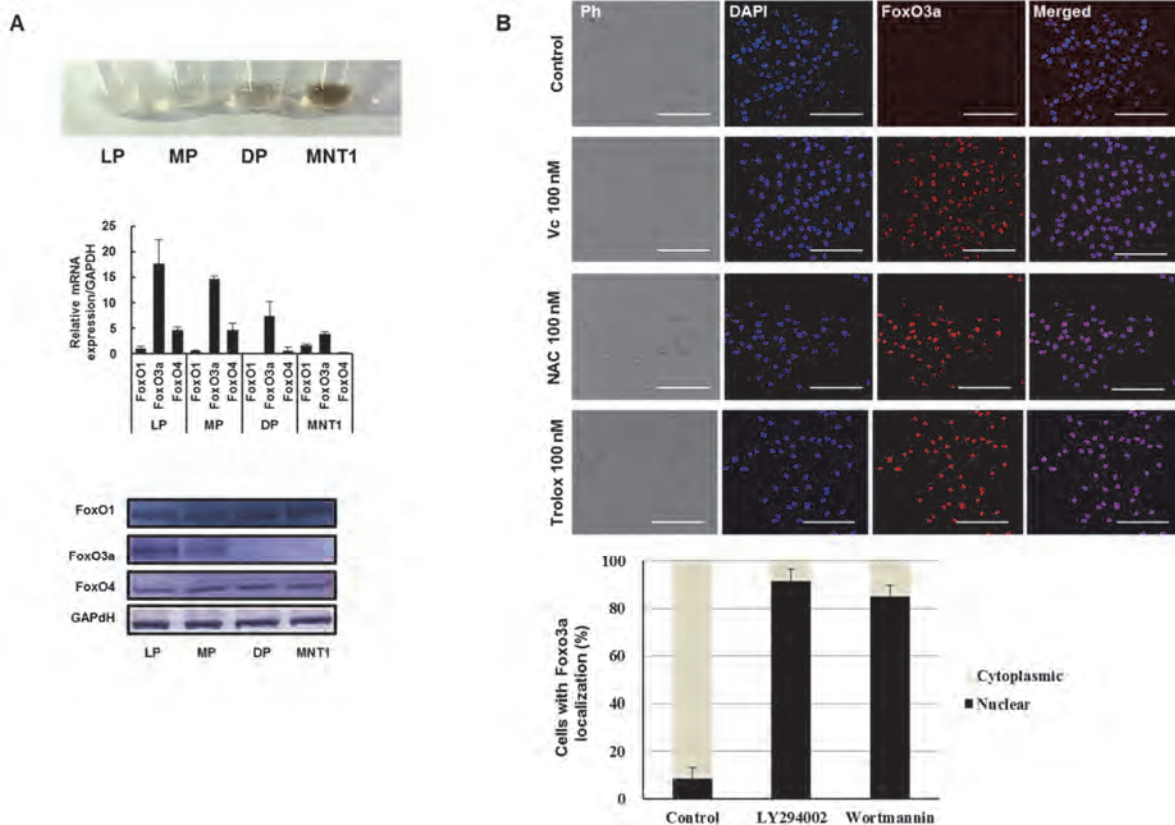


図1 FoxO3aによるメラニン産生調節

(A) 色素産生の異なる細胞株 (LP, Light Pigmented; MP, Moderate Pigmented; DP, Darkly Pigmented melanocyte; MNT1, human melanoma) において、FoxO3aの発現量はメラニン生成レベルと反比例する。(B) 抗酸化物質 (ビタミンC (Vc)、N-アセチルシステイン (NAC)、Trolox) により、MNT1細胞でFoxO3aの核移行が増加する (scale bar, 100  $\mu$ m) [論文6より引用改変]。

### 抗老化物質による皮膚萎縮抑制

これまでに我々は、FoxO3aを活性化する食品物質として高麗人参由来の syringaresinol を同定している [10]。FoxO3aが皮膚老化に関与している可能性が示唆されたため、本物質の老化様皮膚萎縮への効果を検証した。通常、皮膚老化によって皮膚表皮と真皮は段々薄くなる萎縮過程を辿る。早期老化モデルである superoxide dismutase 1 (SOD1) 欠損マウスに抗老化効能を持つリグナン系物質の syringaresinol (50 mg/kg) を8週間摂取させると、老化による皮膚真皮の萎縮は大いに軽減された (図2A)。また、syringaresinol 摂取により、皮膚真皮で酸化ストレスが軽減され、皮膚線維芽細胞増殖能も増加した。免疫組織染色やウェスタンブロット法でFoxO3aのリン酸化の減少、また、syringaresinol 摂取によるFoxO3aの活性化を確認したが (図2B)、興味深いことに、皮膚を構成するコラーゲンの発現やFoxO3aの下流で免疫に関与する interleukin-6 (IL-6)、さらには nuclear factor-kappa B (NF- $\kappa$ B) の発現には変化が無かった。更に、皮膚タンパク質発現量に対する影響を調べた結果、syringaresinolによるFoxO3aの活性化が、皮膚のコラーゲンの主な分解を担う matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) 発現を特異的に阻害し、

皮膚萎縮を抑制することを明らかにした。また同時に行った免疫組織染色では、MMP-2発現の著しい減少を確認した (図2C) [11]。

### おわりに

身体の最外部にある皮膚は様々な外部刺激から体を守る一次防御器官であり、皮膚の老化は皮膚層の萎縮や色素沈着など肉眼で観察される以外に、皮膚器官の恒常性を乱し疾病の原因ともなりうる。皮膚の老化を遅延することは身体機能の維持だけでなく、quality of lifeにも影響する。本研究より、syringaresinolによる皮膚萎縮抑制は、FoxO3aを介したMMP-2の発現抑制によるものであり、また、FoxO3aの脱リン酸化を介した核内移行による活性化は、メラニン形成を調節する要因であることも示された。FoxO3aの活性化により、皮膚萎縮やメラニン産生の抑制が示唆されることから、FoxO3aの活性化物質は、皮膚老化を防止する有効な手段となる可能性がある (図3)。抗酸化物質等、FoxO3aを活性化する物質の開発は皮膚細胞の過剰なメラニン産生や皮膚萎縮を防止する有効な手段となりうるであろう。

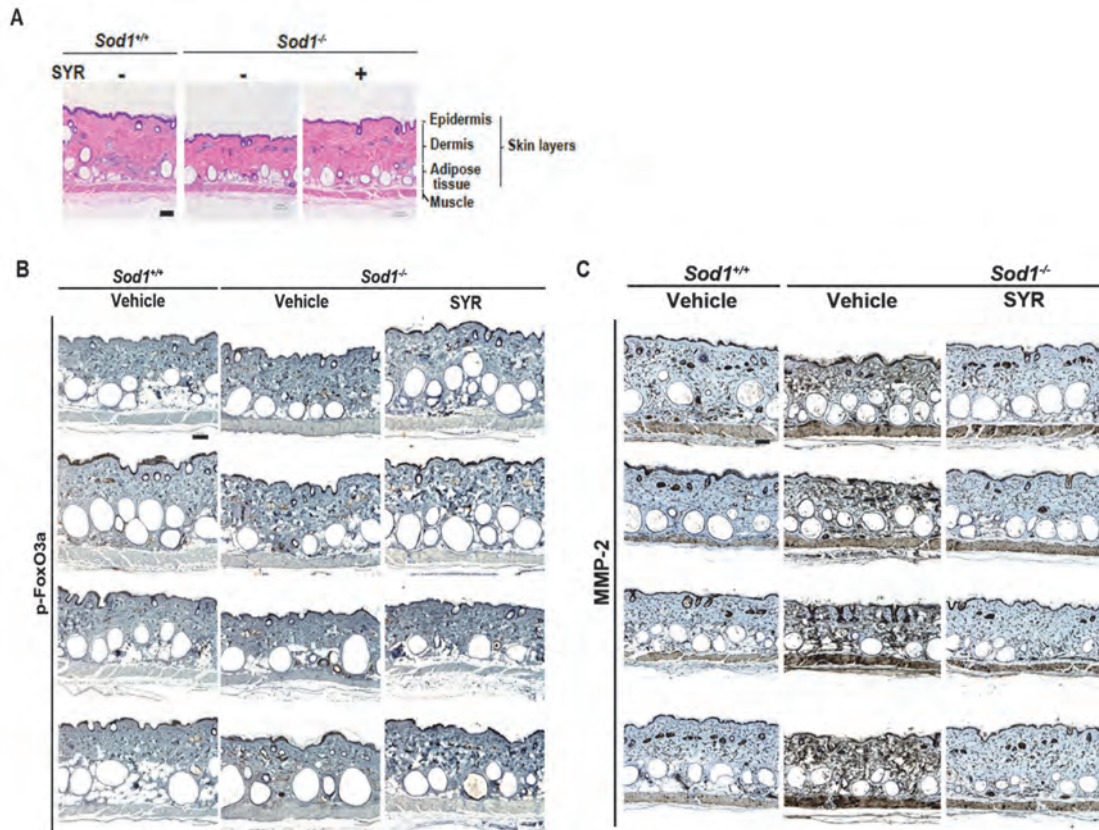


図2 FoxO3a 活性化物質による皮膚萎縮抑制効果

(A) SOD1 欠損マウスに Syringaresinol (50 mg/kg) を8週間、経口摂取させると、皮膚真皮の萎縮が大いに抑制された (scale bar, 100 μm)。 (B) Syringaresinol による FoxO3a のリン酸化減少 (活性化) と (C) MMP-2 発現抑制が観察された (scale bar, 100 μm) [論文 11 より引用改変]。

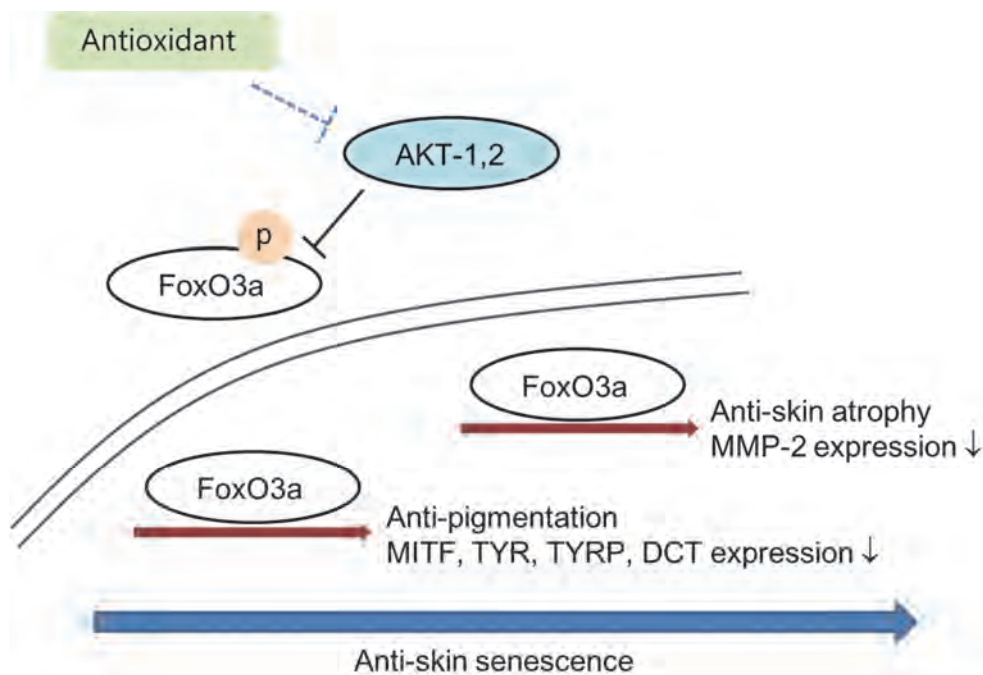


図3 FoxO3a の皮膚老化抑制メカニズム

FoxO3a の活性化による MMP-2 の発現抑制は皮膚萎縮を、メラニン産生抑制機構は過剰なメラニン沈着を遅延する [論文 6,8,11 より引用改変]。

## 謝辞

本研究を行うにあたり、生化学実験やマウス実験に御協力頂いた多くの先生方にこの場をお借りして御礼申し上げます。特に、千葉大学大学院医学研究の小澤裕介 研究員、戸田 年彦 研究員、澁谷 修一 博士、渡辺憲史 博士、泉尾 直孝 博士、横手 幸太郎 教授に、また Amorepacific R&D center の Cho Siyoung 博士、Kim Hyung-June 博士に深謝いたします。

## 参考文献

1. Burgering BM and Kops GJ. Cell cycle and death control: long live forkhead. *Trends. Biochem. Sci.* 27: 352-360, 2002.
2. Sanese P, Forte G, Disciglio V, et al. FOXO3 on the Road to Longevity: Lessons From SNPs and Chromatin Hubs. *Comput Struct Biotechnol J.* 17 : 737-745, 2019.
3. Patrige L and Bruning JC. Forkhead transcription factors and ageing. *Oncogene* 27: 2351-2363, 2008.
4. Shoag J, Haq R, Zhang M, et al. PGC-1 coactivators regulate MITF and the tanning response. *Mol Cell* 49: 1-13, 2013.
5. Lerner AB and Fitzpatrick TB. Biochemistry of melanin formation. *Physiol. Rev.* 30: 91-126, 1950.
6. Kim J, Choi H, Cho E, et al. FoxO3a is an antimelanogenic factor that mediates antioxidant-induced depigmentation. *J Invest Dermatol* 134: 1378-138, 2014.
7. Hu ZM, Zhou Q, Lei TE, et al. Effects of hydroquinone and its glucoside derivatives on melanogenesis and antioxidation: biosafety as skin whitening agents. *J Dermatol Sci* 55: 179-184, 2009.
8. Kim J, Ishihara N, Lee TR. A DAF-16/FoxO3a-dependent longevity signal is initiated by antioxidants. *Biofactors* 40: 247-257, 2014.
9. Kim J, Cho SY, Kim SH, et al. Effects of Korean ginseng berry on skin antipigmentation and antiaging via FoxO3a activation. *J Ginseng Res* 41: 277-283, 2017.
10. Cho SY, Cho MO, Seo DB, et al. Identification of a small molecule activator of SIRT1 gene expression. *Aging* 5: 174-182, 2013.
11. Kim J, Toda T, Watanabe K, et al. Syringaresinol reverses age-related skin atrophy by suppressing FoxO3a-mediated matrix metalloproteinase-2 activation in copper/zinc superoxide dismutase-deficient mice. *J Invest Dermatol.*139: 648-655, 2019.