

コンドロイチン硫酸の軟骨及び皮膚に与える影響

ゼリア新薬工業株式会社は、城西大学(埼玉県、坂戸市)薬学部 和田政裕教授と共同で、コンドロイチン硫酸の軟骨及び皮膚に対する影響について研究を行ってきました。

今回、コンドロイチン硫酸が(1)軟骨細胞の分化を抑制して軟骨細胞であることを維持し、軟骨形成を盛んにする作用を有することおよび(2)皮膚の弾力性を向上させる働きを担っていることを示唆する研究結果が、日本薬学会第133年会で発表されましたのでお知らせします。

【発表1：コンドロイチン硫酸の軟骨細胞に対する影響】

軟骨細胞が、成熟軟骨細胞または前駆肥大軟骨細胞の分化段階にあると、軟骨を構成する細胞外マトリックス成分であるグリコサミノグリカン、アグリカンおよびコラーゲンを産生します。しかし、前駆肥大軟骨細胞から肥大軟骨細胞に分化すると細胞外マトリックス成分の産生量が減り、さらに、石灰化軟骨細胞を経て骨化することが知られています。

今回、コンドロイチン硫酸が、培養した軟骨細胞が肥大軟骨細胞に分化することを抑制し、グリコサミノグリカン産生量を増加させることが見出されました。コンドロイチン硫酸を構成する糖を添加した場合には、軟骨細胞から肥大軟骨細胞への分化を抑制する作用は示されませんでした。これらの結果から、コンドロイチン硫酸は軟骨細胞であることを維持し、軟骨形成を盛んにする作用を有すると考えられます。

一方、ヒアルロン酸も軟骨細胞から肥大軟骨細胞への分化を抑制しましたが、グリコサミノグリカン産生量には影響を与えませんでした。

【発表2：コンドロイチン硫酸の皮膚線維芽細胞に対する影響】

培養した皮膚線維芽細胞にコンドロイチン硫酸を適用する研究を行いました。その結果、コンドロイチン硫酸は、皮膚線維芽細胞の増殖を促進し、ヒアルロン酸およびコンドロイチン硫酸の合成に関わる酵素の mRNA 発現レベルを有意に増加させ、コラーゲン、ヒアルロン酸およびコンドロイチン硫酸の産生量を有意に増加させる作用が見いだされました。また、コンドロイチン硫酸は、細胞外マトリックス成分の分解酵素である ADAMTS5 の mRNA 発現レベルを減少させました。このように、コンドロイチン硫酸が皮膚線維芽細胞の細胞外マトリックス産生を増加させる作用を示したことから、コンドロイチン硫酸は皮膚の弾力性を向上させる働きを担っていると考えられます。

当社は、コンシューマーヘルスケア事業においてコンドロイチン製品を主力製品として展開しており、今後もコンドロイチン硫酸に関する研究を行ってまいります。

学会発表の詳細は、別紙を参照下さい。

発表 1

【演題名】コンドロイチン硫酸が軟骨細胞の増殖および分化に与える影響

【発表者】新井 愛衣、古旗 賢二、中谷 祥恵、和田 政裕（城西大学）

【概要】

コンドロイチン硫酸(CS)は、関節軟骨においてヒアルロン酸(HA)に結合しているアグリカンの主糖鎖であり、水分保持機能を有することから関節に対する物理的刺激を緩和しています。CS は HA と同様に軟骨細胞が産生していますが、加齢に伴い CS の産生量が減少することが報告されています。CS の摂取が軟骨の CS 量を増加させると報告されていますが、そのメカニズムは不明です。本研究では、前駆軟骨細胞株(ATDC5)を用いて CS および CS の構成糖の添加が軟骨細胞の増殖および分化に与える影響を検討しました。

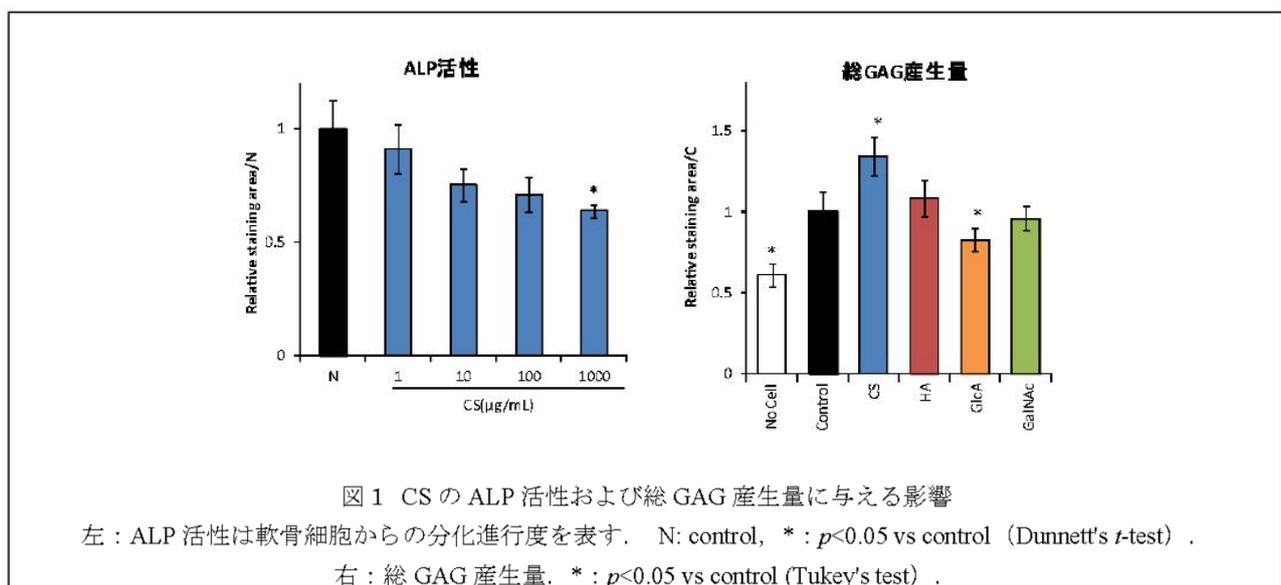
【実験方法】

ATDC5 を、CS、HA、グルクロン酸 (GlcA) および *N*-アセチルガラクトサミン(GalNAc)を各々添加した培地で培養しました。培養 2 日目の細胞数は WST-1 法、培養 3 日目のアグリカンおよび HA 合成酵素である *HAS2* の mRNA 発現レベルは RT-PCR 法、培養 4 日目の軟骨細胞からの分化はアルカリフォスファターゼ (ALP) 染色法、培養 10 日目の総グリコサミノグリカン (GAG) および硫酸特異的 GAG 産生量はアルシアンブルー (AB) 染色法で、コラーゲン (COL) 産生量はアザン染色で評価しました。RT-PCR の内部標準 mRNA には GAPDH mRNA を用いました。

【実験結果および考察】

細胞数には各条件で違いが無く、細胞増殖への効果は認められませんでした。CS 添加により ALP 活性は濃度依存的に抑制され、1,000 $\mu\text{g/mL}$ CS で有意な減少が示されました。また、CS 添加により総 GAG 産生量および硫酸特異的 GAG 産生量が有意に増加し、アグリカン mRNA 発現レベルおよび COL 産生量に増加傾向、*HAS2* mRNA 発現レベルに減少傾向が示されました。HA 添加により ALP 活性は有意に抑制され、*HAS2* mRNA 発現レベルに減少傾向が示されましたが、総 GAG 産生量には変化が認められませんでした。GalNAc 添加は硫酸特異的 GAG 量を増加させましたが、GlcA および GalNAc により、ALP 活性の減少および総 GAG 産生量の増加は示されませんでした。

以上のことから、CS は軟骨細胞から肥大化軟骨細胞への分化を抑制させることで軟骨細胞の状態を保ち、その結果、GAG 産生量を増加させたと考えられました。また、CS の構成糖には軟骨細胞からの分化を抑制する作用は示されませんでした。



発表 2

【演題名】コンドロイチン硫酸が皮膚線維芽細胞に与える影響

【発表者】荷田 亮、中谷 祥恵、古旗 賢二、和田 政裕 (城西大学)

【概要】

皮膚は表皮と真皮で構成される保水性および弾力性に富んだ組織で、皮膚の保水性は皮膚線維芽細胞が産生するコンドロイチン硫酸 (CS) やヒアルロン酸 (HA) などのグリコサミノグリカン (GAG) が担っています。CS は皮膚において、HA 結合プロテオグリカンの主糖鎖として存在しています。最近の報告で、HA は線維芽細胞の遺伝子発現レベルを増加させ、GAG などの産生量を調節していることが報告されていますが、CS が線維芽細胞の遺伝子発現に与える影響は検討されていません。そこで、本研究では CS がヒト皮膚線維芽細胞の GAG 産生量に与える影響を検討しました。

【実験方法】

ヒト皮膚線維芽細胞株 (HDF) を CS、HA、CS の構成糖であるグルクロン酸 (GlcA) および *N*-アセチルガラクトサミン (GalNAc) の各存在下で培養しました。細胞増殖は WST-1 法、培地および細胞のコラーゲン (COL)、HA および CS 産生量は ELISA 法を用いて測定しました。また、GAG 合成関連酵素の mRNA 発現レベルを RT-PCR 法を用いて測定しました。RT-PCR の内部標準 mRNA には GAPDH mRNA を用いました。

【実験結果および考察】

CS および HA は皮膚線維芽細胞の細胞増殖を有意に促進し、COL および HA 産生量を有意に増加させました。また、CS および HA は HA 合成酵素である *HAS2* の mRNA 発現レベルを有意に増加させました。さらに、CS は CS 合成酵素である *CHSY1* の mRNA 発現レベルおよび CS の産生量も増加させました。この他に、CS はプロテオグリカンの分解酵素である *ADAMTS5* の mRNA 発現レベルを減少させました。

本研究の結果、CS が皮膚線維芽細胞の遺伝子発現を介して COL、HA および CS 産生量を増加させていることが明らかになりました。

