

CLINIQUE

《 クリニック研究所が解明した肌の筋収縮と肌老化の関連性 》 筋収縮に係る神経シグナル伝達を 阻害する分子の働きについて

— 日本研究皮膚科学会 (2020年) にて発表 —

クリニック研究所の科学者が、権威ある日本臨床研究皮膚科学会 年次学術大会 (2020年12月) にて、顔の筋収縮と肌老化の関連性に焦点を当てたデータを発表しました。

【神経筋接合部におけるシナプス伝達について】

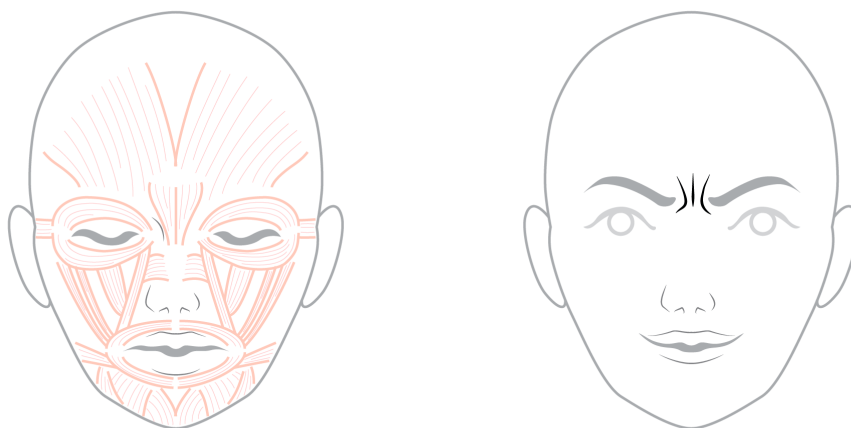
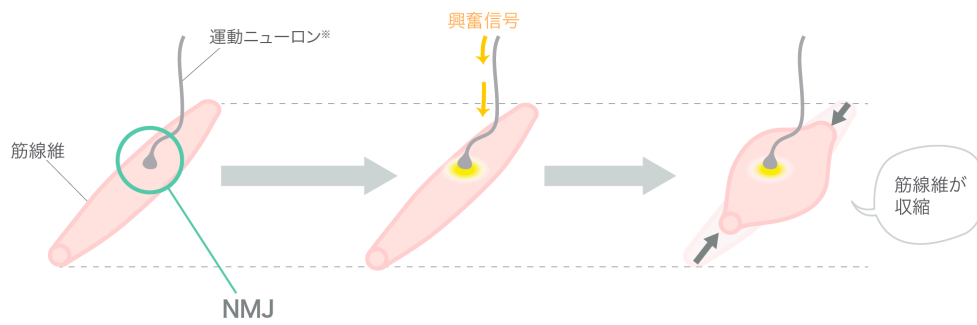


図1. 顔の筋肉と表情によってできるしわ

顔には42の筋肉があり、そのうち35の筋肉の収縮が顔の表情に影響を及ぼします(図1)。身体の他の部位の筋肉と同様、顔面の筋繊維は接触点(シナプス)で運動ニューロン^{*}により刺激されます。ニューロン^{*}と筋細胞の間にあるこの相互作用点を神経筋接合部(Neromuscular junction, NMJ)と呼びます。大部分の興奮性細胞と同様、筋繊維(筋細胞)は興奮信号に反応し、生理的反応として収縮をもたらします。収縮信号はNMJより送られます。神経伝達物質のアセチルコリン(ACh)と呼ばれるシグナル伝達分子が神経細胞から放出され、筋肉の受容体に結合。これら受容体の活性化により、筋細胞内のカルシウム(Ca²⁺)レベルが上昇します。細胞内のカルシウム(Ca²⁺)が増加すると筋フィラメントが相互に作用し滑り込み運動が起こり、筋収縮あるいは痙攣が誘発されるのです(図2)。

^{*}神経細胞



神経筋接合部 (NMJ) で起きていること

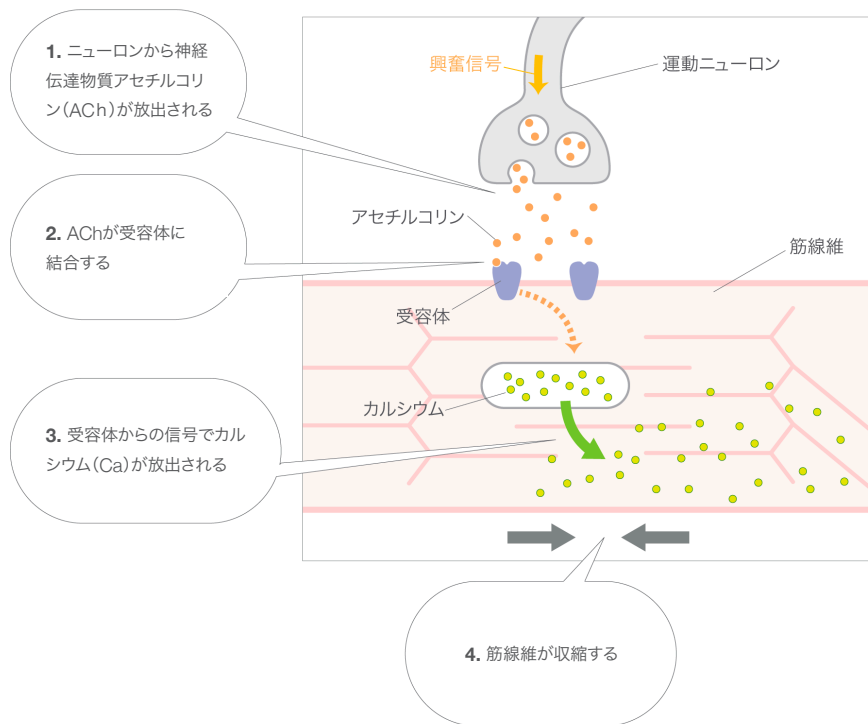


図2. 筋肉、運動ニューロン、NMJの構造とメカニズム

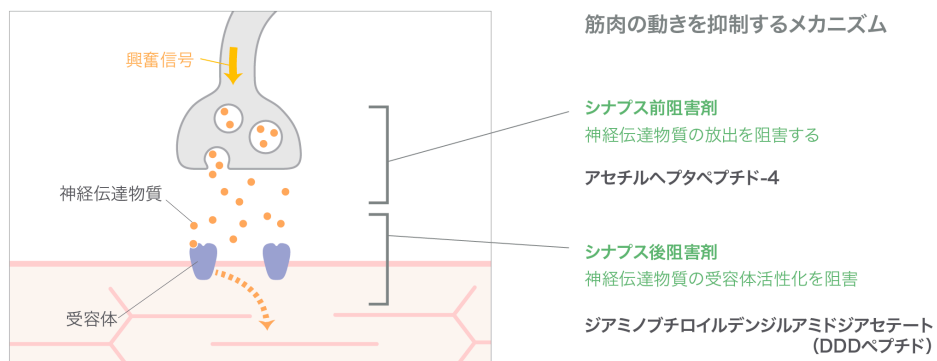


図3. 筋肉の動きを抑制するメカニズムと検証されたペプチド

筋肉の動きを抑制するメカニズムには、シナプス前またはシナプス後の2つが考えられます。シナプス前阻害剤は神経筋接合体 (NMJ) で作用して神経伝達物質のニューロン放出を防ぎ、シナプス後の調整は筋肉の神経伝達物質受容体の活性化を阻害することで起こるのです (図3)。

**【2種類のペプチド (①アセチルヘptaペプチド-4
②ジアミノブチロイルデンジルアミドジアセテート) を用いた実験】**

シナプス前とシナプス後での筋収縮の阻害について、2種類のペプチドを in vitro で評価しました。アセチルヘptaペプチド-4はシナプス前阻害剤であり、神経伝達物質の放出に必要とされる主要なタンパク質を阻害します。ジアミノブチロイルデンジルアミドジアセテート (DDDペプチド)は神経伝達物質受容体に拮抗し、筋肉へのシグナル伝達を遮断します。これら2種類のペプチドの有効性を評価するため、神経細胞に類似した細胞と筋細胞をアセチルヘptaペプチド-4またはDDDペプチドで前処理。神経伝達物質の放出およびCa²⁺の流動を興奮と収縮のカップリングの指標とし、それぞれ測定しました (図4)。

実験1【アセチルヘptaペプチド-4はシナプス前神経伝達物質の放出を抑制する】

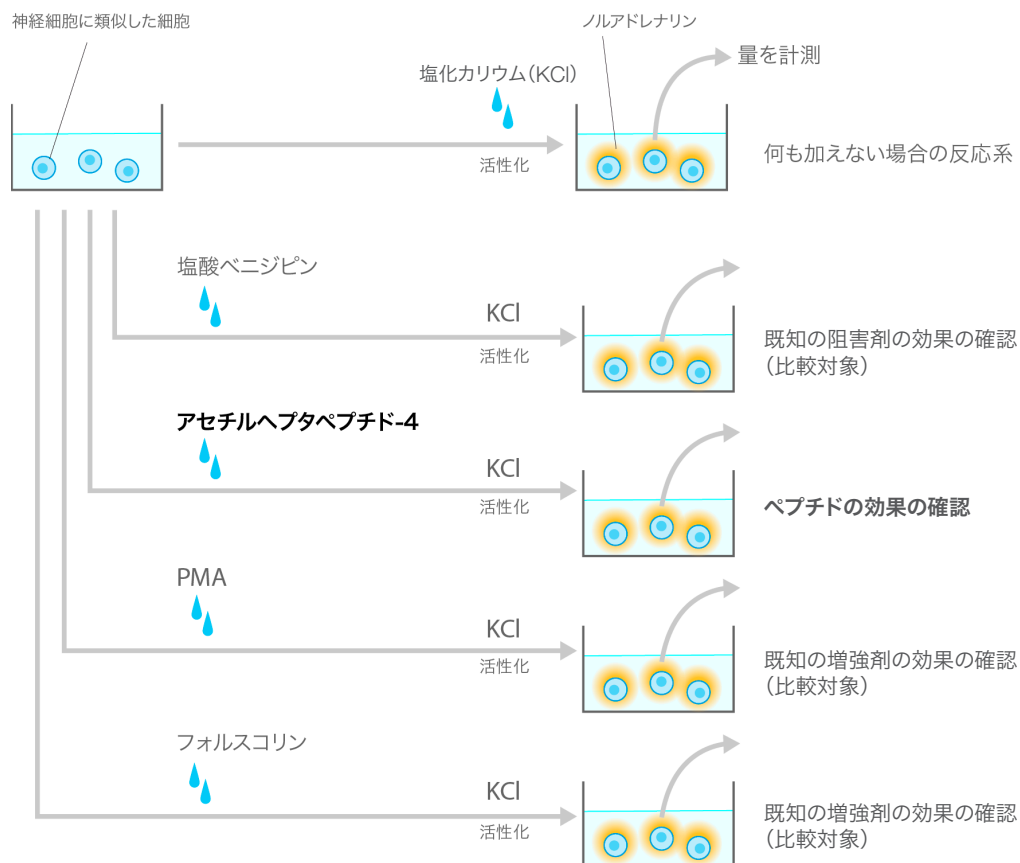


図4. アセチルヘptaペプチド-4 のシナプス前効果の評価方法

神経伝達物質の放出におけるアセチルヘptaペプチド-4のシナプス前の効果を評価するため、アセチルヘptaペプチド-4または神経伝達物質放出の阻害剤として知られる塩酸ベニジピン(コントロール)を用いて神経細胞に類似した細胞を90分間前培養しました。前培養後、細胞を塩化カリウム(KCl)で活性化し、ノルアドレナリン(神経伝達物質)の放出を誘導。上清を採取後、ノルアドレナリンの放出を測定しました(表1)。

アセチルヘptaペプチド-4によるシナプス前神経伝達物質の放出の阻害

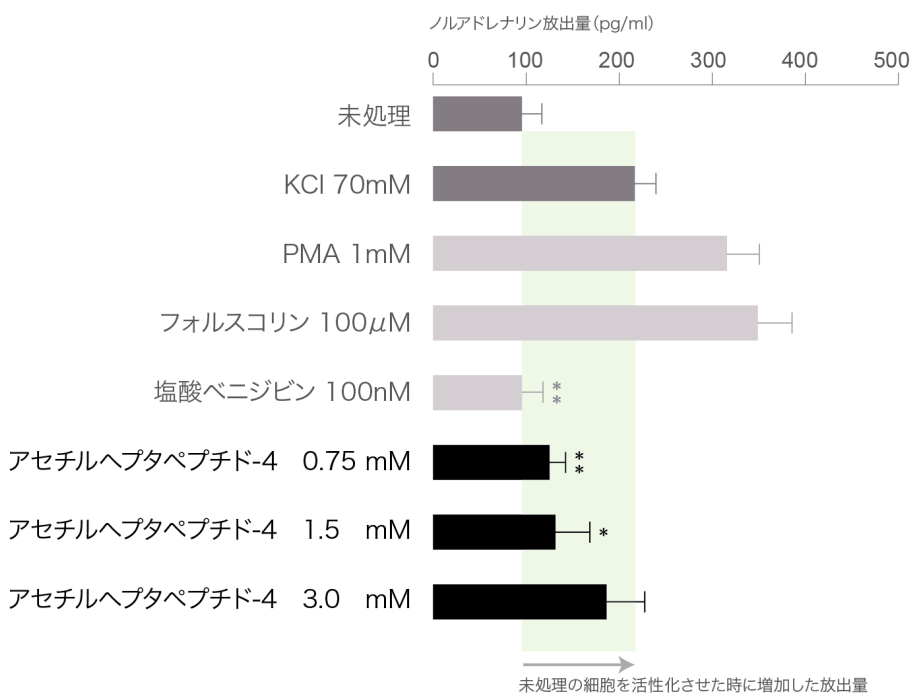


表1. アセチルヘptaペプチド-4はシナプス前神経伝達物質の放出を阻害する。* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

【結果】

神経細胞に類似した細胞をKClで活性化すると、自然に放出された細胞と比較してノルアドレナリンの放出量が有意に増加しました(123%増加、未処理と比較時 $p < 0.01$)。本試験法の有効性を評価するため、神経伝達物質反応の増強剤として知られるホルボール 12-ミリストート 13-アセタート(PMA)およびフォルスコリンでもKClで活性化した神経細胞に類似した細胞を処理しました。KClと単独で比較すると、塩酸ベニジピンはノルアドレナリン放出の有意な減少を誘導誘導しました(123%減少、 $p < 0.05$)。アセチルヘptaペプチド-4は3mM、1.5mM、0.75mMでそれぞれ33%、88%、103%の神経伝達物質の放出を減少させるという逆用量反応を示し、低濃度のペプチドの方がより効果的であることを示したのです。さらに低用量での有効性を検証するため、今後も研究が行われる予定です。

実験2【DDDペプチドは筋細胞のシナプス後の興奮を抑える】

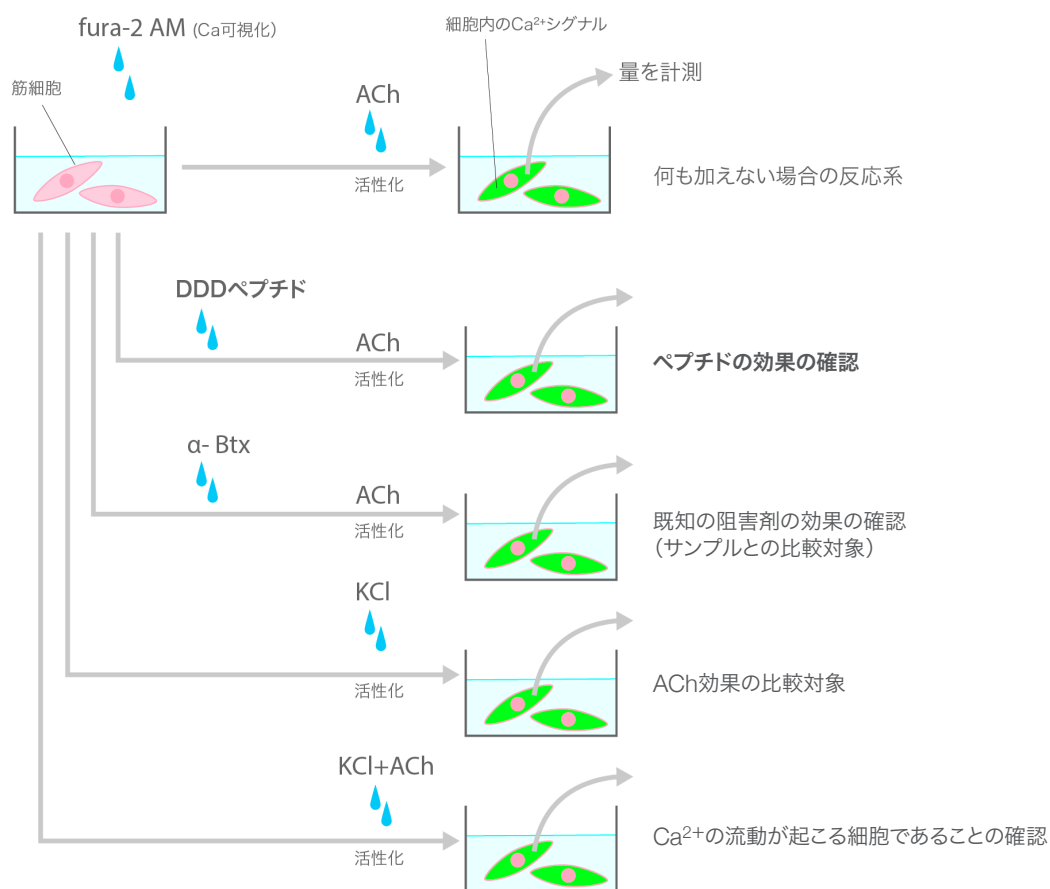


図5. DDDペプチドのシナプス後効果の評価方法

神経伝達物質受容体拮抗剤としてのDDDペプチドのシナプス後効果を評価するため、 Ca^{2+} 流動の測定に使用される色素である $4\mu M$ fura-2 AMで筋細胞を前処理しました。筋細胞をアセチルコリン(ACh)塩化物($20\mu M$)で処理し、筋細胞の収縮を誘導。DDDペプチドの阻害特性を評価するため、 $20mM$ のAChで活性化する前に0.25%、0.5%、1%のペプチドで筋細胞を60分間前処理しました。コントロールとして既知の受容体阻害剤である α -ブングアロトキシン(α -Btx、 $5\mu M$)をACh処理と同時に添加。最後に、ACh誘発活性化のコントロールとして細胞をKCl($125mM$)で処理しました。AChとKClを同時に添加し、 Ca^{2+} 流動が起こる細胞であることを評価しました(図5)。シナプス後の興奮に対するDDDペプチドの効果を確認するため、筋細胞の一過性のカルシウムレベルを測定しました(表2)。

DDDペプチドによる筋細胞のシナプス後の興奮の減少

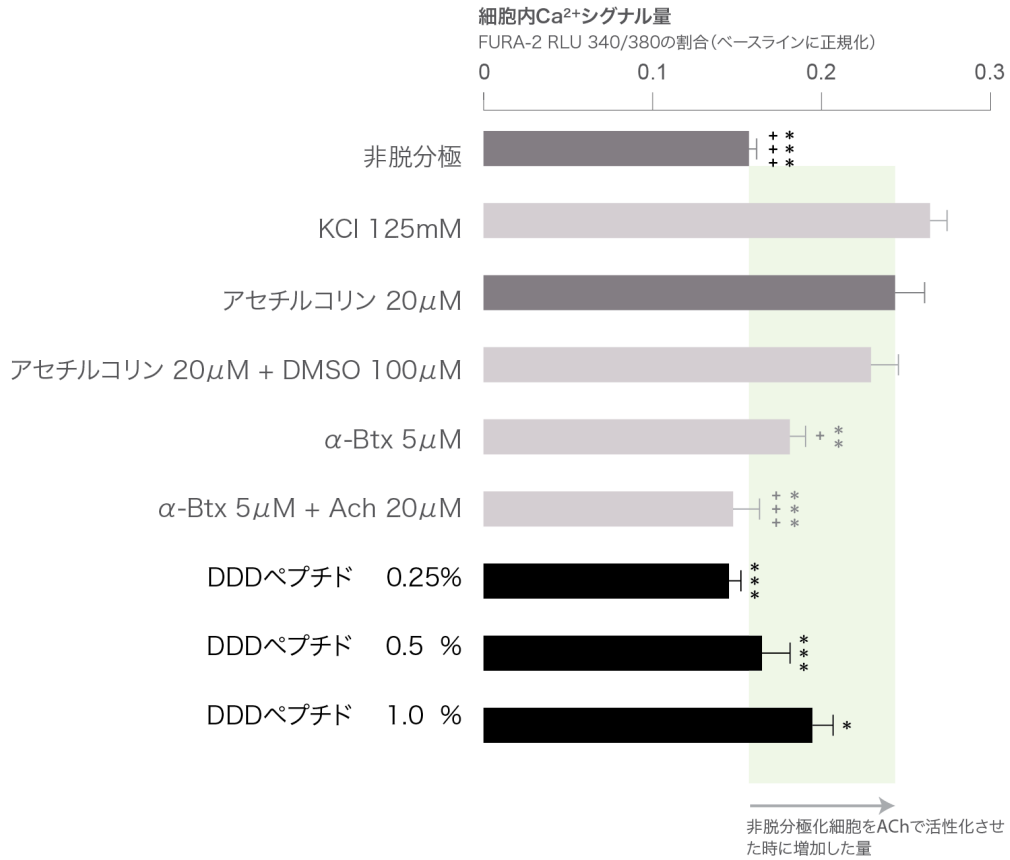


表2. DDDペプチドは筋細胞のシナプス後の興奮を減少させる。
*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001

【結果】

非活性化筋細胞では、細胞内Ca²⁺シグナルの基底値が得られました。予想通りACh、ACh + DMSOもしくはKClでの活性化により、非活性化細胞と比較して細胞内のCa²⁺シグナルが有意に増加。ACh活性化細胞と比較すると、0.25%、0.5%および1%のDDDペプチドを用いた60分間の前処理は競合アゴニストであるα-Btxに類似したCa²⁺シグナルの有意な減少をもたらしました。DDDペプチドの濃度が高くなると逆用量反応が起こりましたが、活性化細胞と比較するとすべて有意に減少し、DDDペプチドは収縮中に相互作用する筋フィラメントに必要なCa²⁺シグナルを減少させることが実証されました。

— 結 論 —

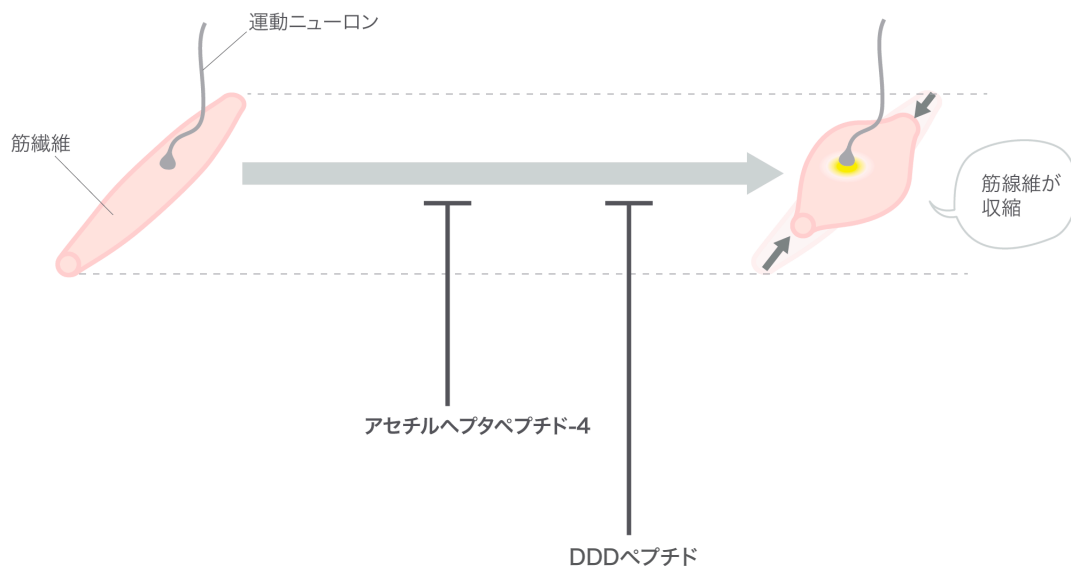


図6. アセチルヘキサペプチド-4とDDDペプチドは培養時において神経調節効果を有する

シナプス前とシナプス後で、アセチルヘキサペプチド-4とDDDペプチドは培養時において神経伝達阻害効果を有することが明らかになりました。筋収縮の生理を理解することで、動的なしわの出現など筋収縮の皮膚への影響についてより詳しい研究が可能となります。

【このリリースに関するお問い合わせ先】

ELCジャパン株式会社 サイエнтиフィック コミュニケーションズ
TEL: 03-6625-1910

【クリニック ブランド・製品に関するお問合せ先】

クリニック事業部 コンシューマー エンゲージメント グループ
TEL: 03-6625-1202 FAX: 050-3737-5139 PR 代表 email: clpr@clinique.co.jp

ESTÉE
LAUDER
COMPANIES

クリニックについて

理想のあなたを、肌からつくる。クリニックは、皮膚科学から生まれた化粧品ブランド。半世紀に渡り、肌に真摯に向き合ってきたからこそ、アドバースできることがあります。あなたが憧れる、なりたい人になるために。クリニックは、日々の肌変化に寄り添いながら、思わず自分でほめたくなるような、いつでも自信が持てる、健康で美しい肌づくりをご提案いたします。アレルギーテスト済み^{*1}。パラベン（防腐剤）、フタル酸エステル、香料不使用^{*2}。Just happy skin. ^{*1}ただし、すべての方にアレルギーが起きないというわけではありません。^{*2}フレグランス「クリニック ハッピー」関連製品を除く。