



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Inhibitory effect of grape skin extracts on DNA damage caused by UV irradiation and development of cosmetics using the waste skin [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	宋, 雨桐
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(環境科学)
Dissertation Number	甲第14186号
Issue Date	2020-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/79704
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Song_Yutong_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士（環境科学）

氏 名 宋 雨桐

審査委員	主査	特任准教授	藏 崎 正 明
	副査	教 授	沖 野 龍 文
	副査	教 授	野 呂 真一郎
	副査	教 授	露 崎 史 朗
	副査	准教授	藤 井 賢 彦
	副査	客員教授	奥 野 勉

学 位 論 文 題 名

Inhibitory effect of grape skin extracts on DNA damage caused by UV irradiation and development of cosmetics using the waste skin

（紫外線照射によるDNA損傷に対するブドウの皮の抽出物の抑制効果および廃棄果皮を用いた化粧品の開発）

太陽から放射される紫外線（UV）に生体が曝露されると、皮膚細胞内に活性酸素種が増えDNA損傷等を引き起こすことが報告されています。太陽からの紫外線はその波長によりUVAからUVCに分類されていますが、オゾン層によりUVCはその全て、UVBは大部分が地表に到達しません。しかし、太陽光からのUVあるいは医療用のUV照射は皮膚の損傷の主な原因であり、じんま疹、がん等のいくつかの健康疾患の原因となっています。

一方、果物およびハーブ類に豊富に含まれるポリフェノール化合物は、紫外線による障害を抑える有力な候補となっています。ブドウの果皮には多量のポリフェノール類、ことに赤ブドウ種には長寿遺伝子を活性化させるレスベラトロールやアントシアニンを多く含んでいることが良く知られています。抗酸化作用のあることで著名なレスベラトロールの経口摂取により肥満の抑制、長寿遺伝子であるSirt1の活性等の効果があることがこれまで報告されています。またUV曝露における皮膚癌の増加、白内障、免疫能の低下および成長障害等が明らかにされていますが、抗酸化作用のあるポリフェノール類のUV由来の損傷に関する効果はよく分かっていません。さらに、ワイン醸造課程で排出されるブドウ果汁圧搾後のブドウ果皮はポリフェノール類を多く含む素材としての有効な利用法が期待されています。ワイン製造会社にとってワイン圧搾後のブドウ果皮残渣は処理に苦慮する産業廃棄物であり、その有効な利用法の開発も期待されています。本研究において、ブドウ果汁圧搾後の抽出物が、UV曝露による皮膚のDNA損傷および酸化ストレス増大の抑制効果があるのではないかと、申請者の着想のもとに、正常ヒト表皮角化（NHEK）細胞を用いてUV照射におけるDNA損傷の指標としてピリミジンダイマー（CPD）生成量および6-4光化合物生成量を用い、ブドウ果汁圧搾後ブドウ果皮のDNA損傷抑制効果およびその機構の解明を目的としました。また、その効果をブドウ果皮残渣の有効利用として薬用化粧品の開発への応用を試みました。

第2章において、まずワイン圧搾後のブドウ果皮抽出物にUV照射由来のDNA損傷抑制効果があるのか否かを確かめました。サンプルとしては赤ブドウ種のツヴァイゲルトおよび白ブドウ種としてナイアガラ果皮残渣を用い、80%メタノール抽出物をUV照射前後にNHEK細胞に投与し細胞生存率とCPD生成量の変化を調べたところ両ブドウ種の果皮抽出物の投与により250 nmおよび290 nmのUV照射による24時間後細胞生存率の低下および1時間後のCPD生成量の増加がともに有意に抑えられました。またその効果はナイアガラ種よりツヴァイゲルト種の方が有意に高いことが確認されました。第2章の結果は、UV照射によってDNA損傷が増加し、その損傷がナイアガラまたはツヴァイゲルト抽出物の投与によって大幅に改善されたことを意味します。

第3章において、NHEK細胞におけるUV誘発細胞毒性のブドウ果皮抽出物の影響を深く調べるために、250 nm, 270 nm, 290 nmおよび310 nmのUV照射の影響をCPD生成量のみでなく6-4光化合物生成量も調査しました。その結果、全ての照射波長においてブドウ果皮抽出物がDNA損傷による細胞死を防ぐこと、その効果はツヴァイゲルト抽出物が優勢であることが再度確認されました。また ツヴァイゲルト抽出物の最も有効な抽出法は80%エタノールを用いて60℃で2時間であること、また各条件でのポリフェノール類の量の定量から、赤ブドウ種で最も効果があるポリフェノールと期待されているレスベラトロール単独による改善効果ではなくポリフェノール類複数の複合影響であることが推定されました。UV照射前後に投与されているブドウ果皮抽出物は、CPDおよび6-4光化合物生成のレベルの変化を比較することによって、UV照射後に加えるより照射前に加えたほうがより効果的でした。このことからブドウ果皮抽出物は修復効果よりも予防効果に優れていると推定できます。さらに細胞死に至るアポトーシス関連因子をウェスタンブロット法等で調べたところ、UV照射によるBax / Bcl-2比の増加とサイトゾルのチトクロームc量の増加が、ブドウ果皮抽出物の投与により大幅に低減しました。このことにより、UV照射による内因性経路のアポトーシスがブドウ果皮抽出物により有意に抑えられたことが示唆されます。

4章において、ツヴァイゲルトブドウ果皮抽出物のUV照射によるDNA損傷の抑制効果を踏まえ、化粧品や医薬品への応用の可能性を検討しました。この目的を達成するために、DNA損傷における抑制能力を比較するために、ワイン醸造後の異なる日の採集されたワイン圧搾後のブドウ果皮およびブドウ種子抽出物を用いて実験を行いました。また、ブドウ果皮抽出物と市販の化粧水あるいはUV防御クリームを用いてDNA損傷抑制効果が比較検討され、それらの結果をもとにUVプロテクション効果のあるプロトタイプクリームが試作されました。4章末尾に試作品の詳細な成分表が添付されています。

以上本論文の結論として、ワイン製造工程の産業廃棄物であるブドウの果皮からの抽出物は、UV照射によるDNA損傷を抑制する効果があることが明らかになりました。その効果はナイアガラ種よりも ツヴァイゲルト種が優れていました。ブドウ果皮抽出物を使用したクリームマーシャルは、UVによって引き起こされる皮膚の障害から皮膚を保護するための効果的かつ安全なアプリケーションに成り得る可能性も示されました。

審査委員一同は、これらの成果を評価し、また研究者として誠実かつ熱心な人柄であり、大学院博士課程における研鑽や修得単位などもあわせ、申請者が博士（環境科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定しました。