

(J.Soc.Cosmet.Chem.Jpn.)
報 文
47(4) 278 — 284 (2013)

加齢にともなうⅢ型コラーゲン/ Ⅰ型コラーゲンの比率の減少メカニズム ～Ⅲ型コラーゲンプロペプチド切断酵素 meprin の加齢変化～*

村上 祐子, 足立 浩章, 坂井田 勉,
田中 浩, 八代 洋一, 中田 悟

日本メナード化粧品株式会社 総合研究所**

真皮のコラーゲン線維はⅠ型およびⅢ型コラーゲンから構成されており、加齢とともにⅢ型コラーゲン/Ⅰ型コラーゲンの比率が減少する。また、これが真皮の物性に影響を及ぼすと考えられている。コラーゲン分子は、線維芽細胞において、プロ体として合成、分泌されたのち、酵素によりN末端およびC末端のプロペプチドが切断されることで互いに会合し、コラーゲン線維を形成する。今回、コラーゲン線維におけるⅢ型コラーゲン/Ⅰ型コラーゲンの比率の加齢にともなう減少メカニズムを調べる目的で、Ⅰ型およびⅢ型コラーゲンのプロペプチド切断酵素の加齢変化について検討した。また、Ⅲ型コラーゲンのプロペプチド切断酵素である meprin に及ぼすスクシニルブリオノール酸 2 K の効果についても検討した。その結果、Ⅲ型コラーゲンのプロペプチド切断酵素 meprin の発現は、Ⅰ型コラーゲンのプロペプチド切断酵素 BMP-1 および ADAMTS-14 よりも加齢とともに顕著に減少した。また、スクシニルブリオノール酸 2 K は、meprin の発現を促進した。以上から、Ⅲ型コラーゲンのプロペプチド切断酵素がⅠ型のそれよりも顕著に減少するということが、コラーゲン線維中のⅢ型コラーゲン/Ⅰ型コラーゲンの比率を低下させる一因であると考えられた。また、スクシニルブリオノール酸 2 K に meprin を増加させる効果が認められたことから、加齢による meprin の減少を防ぐことでⅢ型コラーゲン/Ⅰ型コラーゲンの比率の減少を抑制し、真皮の物性変化を改善できると示唆された。

1. 緒 言

コラーゲンは皮膚の真皮、靭帯、腱、骨、軟骨などを構成するタンパク質の一つであり、生体の全タンパク質の約 30% を占めている¹⁻³⁾。現在までに、コラーゲンは約 30 種類知られており、線維を形成する線維性コラーゲン(Ⅰ型, Ⅱ型, Ⅲ型, Ⅴ型など)、シートを形成したり、線維形成を補助したりする非線維性コラーゲン(Ⅳ型, Ⅵ型, ⅩⅡ型など)がある。真皮のコラーゲン線維は、主にⅠ型コラーゲンとⅢ型コラーゲンにより構成

されており、皮膚のハリを支えている。そして、コラーゲン線維は真皮乾燥重量の約 70% を占めており、真皮の物性に多大な影響を及ぼしている。

真皮のコラーゲン線維は、Ⅰ型およびⅢ型コラーゲン分子が一定の割合で会合することにより構成されている⁴⁾。そして、加齢とともにⅢ型コラーゲン/Ⅰ型コラーゲンの比率が減少することが知られており、これが真皮の物性変化に関係すると考えられている⁵⁾。真皮におけるコラーゲン線維の形成メカニズムであるが、線維芽細胞において、コラーゲンの遺伝子を基に、転写、翻訳が行われたのち、-グリシン-アミノ酸 X-アミノ酸 Y- というグリシンが 3 残基ごとに繰り返す一次構造を有するペプチド鎖(α 鎖)が作られる。この α 鎖が 3 本、らせん状に絡みあうことで、プロ体のコラーゲン分子(プ

* 2013.2.18 受付, 2013.7.2 採用

** 〒451-0071 名古屋市西区鳥見町 2-7 : 2-7, Torimi-cho, Nishi-ku, Nagoya 451-0071, Japan

ロコラーゲン)が合成される。プロコラーゲンが細胞外に分泌されたのち、N 末端および C 末端に存在するプロペプチドが、特定のプロペプチド切断酵素により切断除去され、コラーゲン分子同士が会合する。すなわち、コラーゲン分子が少しずつずれてたくさん集まり、より太く長いコラーゲン細線維(collagen fibril)を形成する。そして、さらに多くのコラーゲン細線維が寄り集まることで、強大なコラーゲン線維(collagen fiber)となる。プロコラーゲンのプロペプチドが切断されないと、コラーゲン分子同士は会合することができないので、プロペプチド切断酵素はコラーゲン線維形成に重要な役割を果たしている。

今までのところ、加齢にともなう III 型コラーゲン/I 型コラーゲンの比率の減少メカニズムは明らかになっていない。そこで、そのメカニズムを調べる目的で、I 型および III 型コラーゲンのプロペプチド切断酵素の加齢変化について検討した。また、III 型コラーゲンのプロペプチド切断酵素である meprin に及ぼすスクシニルブリオノール酸 2 K の効果についても検討した。

2. 実 験

2.1. 試 料

ブリオノール酸と無水コハク酸をピリジンに溶解し、100℃で反応させた。放冷後、希塩酸に反応液を加え、3℃で放置した。その後、析出した結晶をろ別し、精製水で洗浄した。ろ別した固形分をジエチルエーテルに溶解し、精製水で洗浄後、ジエチルエーテルを留去し、乾燥させて固形分を得た。固形分をエタノールに加熱溶解して再結晶させることにより、白色のスクシニルブリオノール酸を得た。

次に、スクシニルブリオノール酸を脱水テトラヒドロフランに溶解し、水酸化カリウム水溶液を添加した。さらに、脱水テトラヒドロフランを加えて沈殿を生成させたのち、3℃で1日間放置、ろ別し、黄色固形分を得た。黄色固形分をエタノールに加熱溶解させたのち、脱水テトラヒドロフランを加えてろ過し、そのろ液を3℃で1日間放置した。固形分をろ別してエタノールに加熱溶解させたのち、3℃で1日間放置、ろ別、乾燥し、白色~微黄色のスクシニルブリオノール酸 2 K を得た。スクシニルブリオノール酸 2 K の構造式を Fig.-1 に示す。

2.2. 細胞の培養

理化学研究所細胞開発銀行(茨城)において、男性新生児皮膚より調製、確立された正常ヒト皮膚線維芽細胞(NB1RGB)を、10% Fetal Calf Serum (FCS) を含む Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) により 5% CO₂,

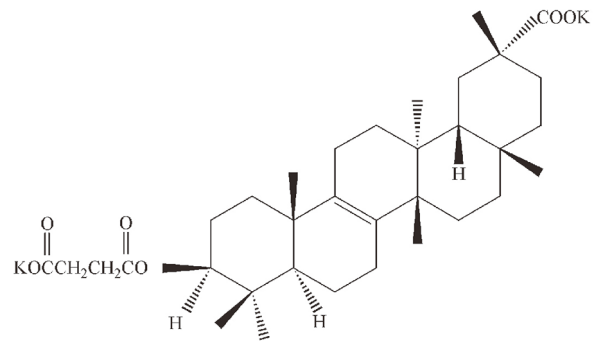


Fig.-1 The structural formula of dipotassium bryonolyl succinate.

37℃の条件下で培養した。継代培養を繰り返すことで、population doubling level (PDL) = 26 (early passage), 29 (early passage), 44 (middle passage), 52 (middle/late passage) および 65 (late passage) の細胞を得た。なお、PDL = 40 で老化マーカーである β -galactosidase の発現を⁶⁾、PDL = 70 で β -galactosidase の強発現および分裂能の喪失を確認した。

2.3. I 型および III 型コラーゲンのプロペプチド切断酵素 mRNA 発現量の加齢変化

PDL = 29, 44 および 65 の正常ヒト皮膚線維芽細胞から、RNA iso (TaKaRa) を用いて総 RNA を抽出した。分光光度計 (NanoDrop) を用いて 260 nm における吸光度により、総 RNA 量を求めた。総 RNA を基に、リアルタイム RT-PCR 法により、mRNA 発現量の測定を行った。リアルタイム RT-PCR 法には、SuperScript III Platinum Two-Step qRT-PCR Kit with SYBR Green (invitrogen) を用いた。すなわち、500 ng の総 RNA を逆転写反応後、PCR 反応 (95℃ : 15 秒間, 60℃ : 30 秒間, 40 cycles) を行った。ターゲットの遺伝子は、I 型コラーゲンのプロペプチド切断酵素である BMP-1 および ADAMTS-14, III 型コラーゲンのプロペプチド切断酵素である meprin α および meprin β であり、以下にこれらのプライマー配列を示す。その他の操作は定められた方法に従い、mRNA の発現量を内部標準である β -actin mRNA の発現量に対する割合として求めた。

BMP-1 : 5'-CCTCTGGCTCAAGTTCGTCTCT-3'
5'-TGAAAAAGTTGACGGCAAAGC-3'
ADAMTS-14 : 5'-TTCGCCTTCTTCTCGTTTGG-3'
5'-CTCCCACCCCGCTTTGT-3'
meprin α : 5'-GCACCACAACCTCACACTCTTTT-3'
5'-TTCCACAGATGTTTGCCCTTC-3'
meprin β : 5'-AAACACGGTGCCCTCATCA-3'

5'-TGGGCTGCCAATGAACTGT-3'
 β-actin : 5'-CACTCTTCCAGCCTTCCTTCC-3'
 5'-GTGTTGGCGTACAGGTCTTTG-3'

**2.4. ウェスタンブロッティングによる
 meprin αタンパク質の定量**

PDL=26 および 52 の正常ヒト皮膚線維芽細胞から、1% SDS 溶液を用いて総タンパク質を抽出した。総タンパク質を基に、ウェスタンブロッティング法により、meprin αタンパク質量の測定を行った。すなわち、細胞から抽出したタンパク質を SDS 電気泳動後、トランスファーメンブレン(Immobilon-P, MILLIPORE)にブロッティングした。次に、anti meprin α抗体(Anti Meprin α Subunit, コスモバイオ, ×200 希釈)と室温で1時間反応させたのち、Peroxidase-AffiniPure F(ab')₂ Fragment Rabbit Anti-Goat IgG (H+L) (Jackson ImmunoResearch LABORATORIES, ×5000 希釈)と室温で1時間反応させた。その後、ECL™ Prime Western Blotting Detection Reagent (Amersham)と室温で5分間反応させ、ライトキャプチャー(ATTO)で発光パターンを撮影した。撮影後、現れたバンドをCS Analyzerで定量化した。

2.5. meprin αタンパク質の免疫組織染色

PDL=26 および 52 の正常ヒト皮膚線維芽細胞をカバースリップ上に播種し、セミコンフルエントになるまで培養した。その後、各々の細胞を、10%ホルマリン溶液を用いて室温で10分間固定した。そして、0.2% Triton X-100により8分間の透過処理を行い、1% BSA in PBSを用いて室温で15分間ブロッキングした。次に、anti meprin α抗体(Anti Meprin α Subunit, コスモバイオ, ×50 希釈)と37℃で1時間反応させたのち、Alexa Fluor 594 Donkey Anti-Goat IgG (H+L) (Life Technologies, ×500 希釈)と37℃で1時間反応させた。その後、fluorescence mounting mediumを用いて封入し、蛍光顕微鏡(IX71/DP70, オリンパス)で染色像を撮影した。

2.6. meprin α mRNA 発現に及ぼすスクシニルブリオノール酸 2 K の影響

PDL=44 の正常ヒト皮膚線維芽細胞に0.16 μMのスクシニルブリオノール酸 2 Kを加えて6時間培養後、2.3.の操作と同様に総RNAを抽出し、リアルタイムRT-PCR法により、meprin α mRNA 発現量の測定を行った。

2.7. 統計学的検定

実験結果は平均値±標準偏差で示した。また、統計学的有意差検定には、多重比較の場合 Williams 法による *post hoc test* を、2群比較の場合 Student's *t-test* を用い、

p < 0.05 の場合を有意差ありと判断した。

3. 結 果

3.1. I型およびIII型コラーゲンのプロペプチド切断酵素 mRNA 発現量の加齢変化

PDL=29, 44 および 65 の正常ヒト皮膚線維芽細胞における、I型コラーゲンのプロペプチド切断酵素である BMP-1 および ADAMTS-14 mRNA 発現量について検討した結果を Fig.-2 に示す。BMP-1 および ADAMTS-14 mRNA 発現量は、PDL=65 の細胞で有意に減少した。

また、III型コラーゲンのプロペプチド切断酵素である meprin α および meprin β mRNA 発現量について検討した結果を Fig.-3 に示す。meprin α および meprin β mRNA 発現量は、PDL=44 および 65 の細胞で有意に減少し、加齢にともなう減少がI型コラーゲンのプロペプチド切断酵素よりも顕著であった。

3.2. meprin αタンパク質量の加齢変化

PDL=26 および 52 の正常ヒト皮膚線維芽細胞における、meprin αタンパク質量について検討した結果を Fig.-4 に示す。PDL=26 の細胞と比較して、PDL=52 の細胞では meprin αタンパク質量が有意に減少した。

3.3. meprin αタンパク質の免疫組織染色

PDL=26 および 52 の正常ヒト皮膚線維芽細胞における、meprin αタンパク質の免疫組織染色像を Fig.-5 に

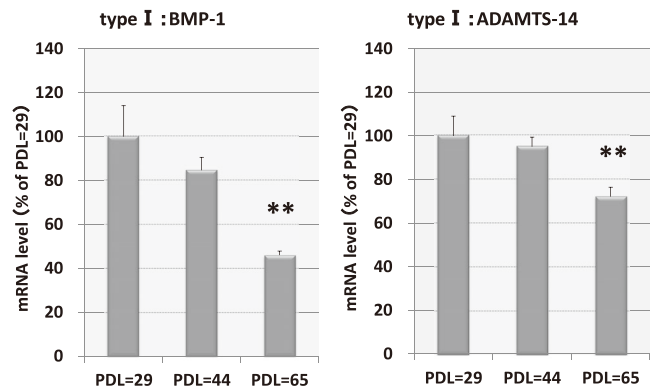


Fig.-2 Age-related change of type I collagen propeptide cleavage enzyme mRNA levels.

Human dermal fibroblasts were repeatedly-subcultured and the cells of PDL=29, 44 and 65 were obtained. BMP-1 and ADAMTS-14, type I collagen propeptide cleavage enzyme, mRNA levels were quantitated by real-time RT-PCR, normalized to mRNA level of the housekeeping gene, β-actin, and represented as percentage to PDL=29. Each value was expressed as mean ± S.D., n=3. **: *p* < 0.01.

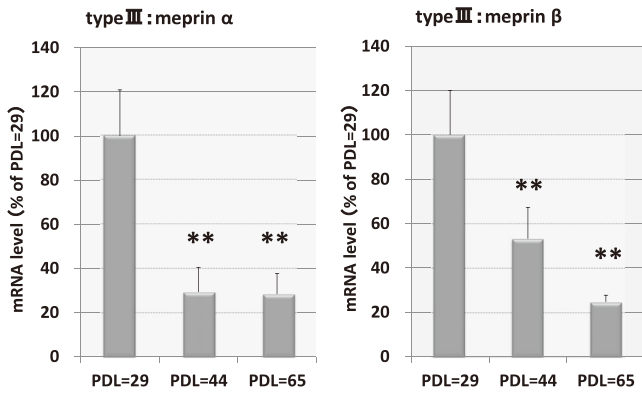


Fig.-3 Age-related change of type III collagen propeptide cleavage enzyme mRNA levels. Human dermal fibroblasts were repeatedly-subcultured and the cells of PDL=29, 44 and 65 were obtained. Meprin α and meprin β , type III collagen propeptide cleavage enzyme, mRNA levels were quantitated by real-time RT-PCR, normalized to mRNA level of the housekeeping gene, β -actin, and represented as percentage to PDL=29. Each value was expressed as mean \pm S.D., $n=3$. **: $p<0.01$.

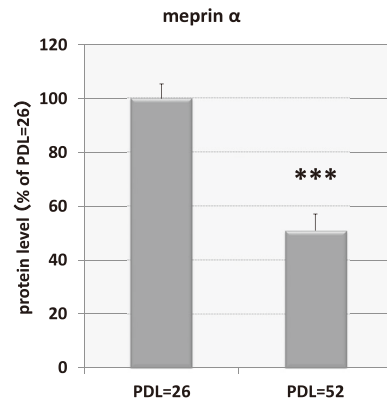


Fig.-4 Age-related change of meprin α protein level. Human dermal fibroblasts were repeatedly-subcultured and the cells of PDL=26 and 52 were obtained. Meprin α protein level was determined by western blotting and represented as percentage to PDL=26. Each value was expressed as mean \pm S.D., $n=4$. ***: $p<0.001$.

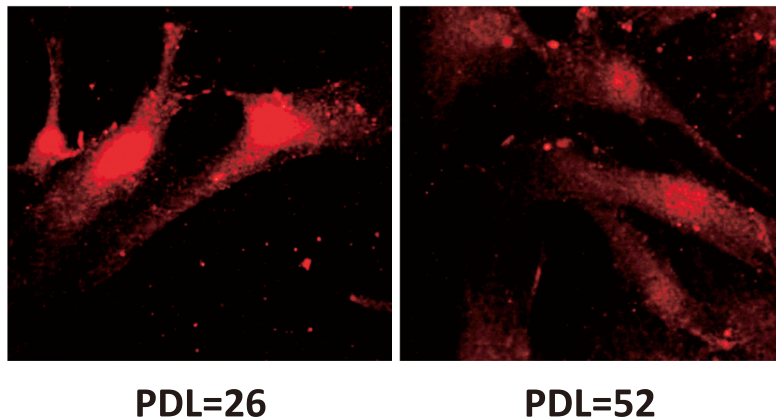


Fig.-5 Typical immunohistochemical staining images of meprin α in PDL=26 and 52 human dermal fibroblasts.

示す。PDL=26の細胞と比較して、PDL=52の細胞では染色性の低下が認められた。

3.4. meprin α mRNA 発現に及ぼすスクシニルブリオノール酸 2 K の影響

PDL=44の正常ヒト皮膚線維芽細胞における、meprin α mRNA 発現に及ぼすスクシニルブリオノール酸 2 K の影響について検討した結果を Fig.-6 に示す。スクシニルブリオノール酸 2 K 添加群では無添加群に対し、meprin α mRNA 発現量の有意な増加が認められた。

4. 考 察

真皮のコラーゲン線維は、主に I 型コラーゲンと III 型コラーゲンにより構成されている。I 型コラーゲンは皮膚や骨に最も豊富に存在するコラーゲンであり、強靭性や弾力性をもたせたり、組織の構造を支えたりする働きがある。I 型コラーゲンは、 $\alpha 1$ 鎖 (I 型) 2 本と $\alpha 2$ 鎖 (I 型) 1 本の 3 本鎖がらせん構造を形成することで構成される。一方、III 型コラーゲンは細い線維からなり、しな

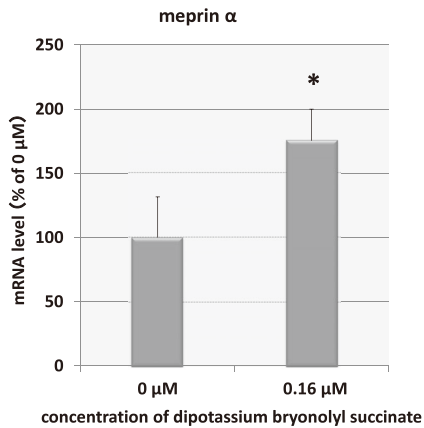


Fig. 6 Effect of dipotassium bryonolyl succinate on meprin α mRNA expression in human dermal fibroblasts.

Human dermal fibroblasts (PDL=44) were exposed to 0.16 μ M dipotassium bryonolyl succinate for 6 h. Meprin α mRNA level was quantitated by real-time RT-PCR, normalized to mRNA level of the housekeeping gene, β -actin, and represented as percentage to 0 μ M. Each value was expressed as mean \pm S.D., $n=3$. *: $p < 0.05$.

やかさや柔軟性をもたらしている。III型コラーゲンは、 $\alpha 1$ 鎖(III型)の3本鎖がらせん構造を形成することで構成される。

健常人の皮膚では、I型コラーゲンが80~85%、III型コラーゲンが10~15%の割合から成るといわれているが、加齢とともにIII型コラーゲン/I型コラーゲンの比率が減少し、柔らかさの低下や硬さの上昇といった皮膚の物性変化に影響を及ぼすことが知られている^{7),8)}。そこで、加齢とともにIII型コラーゲン/I型コラーゲンの比率が減少する原因について検討した。正常ヒト皮膚線維芽細胞は有限の分裂能を有しており、PDLの増加にともなって老化することが知られている^{6),9)~11)}。今回、PDLの増加にともない、ヒトの皮膚組織での老化ともよく相関する老化マーカーである β -galactosidaseの発現がみられ⁶⁾、また、PDL=70で分裂能の喪失がみられたことから、PDLの異なる正常ヒト皮膚線維芽細胞を用いた系は加齢モデルとして妥当であると考えられる。まず、I型およびIII型プロコラーゲンのmRNA発現量の変化について検討したところ、両者とも加齢とともに減少したが、その程度に明らかな差はみられなかった(data not shown)。したがって、III型コラーゲン/I型コラーゲンの比率の低下原因は、その発現量変化以外のあるところにあるのではないかと推察した。

I型およびIII型プロコラーゲンのmRNA発現量の加齢変化に顕著な差が認められなかったことから、次に、I型およびIII型コラーゲンのプロペプチド切断酵素に着目した。I型コラーゲンのプロペプチド切断酵素としてBMP-1およびADAMTS-14、III型コラーゲンのプロペプチド切断酵素としてmeprin α およびmeprin β の加齢変化について検討した。meprinはアスタチンファミリーに属するマトリックスメタロプロテアーゼの一種であり、腸管や腎臓の上皮細胞、白血球などで発現が確認されている¹²⁾。最近、皮膚において、keratinocyteやfibroblastでmeprinの発現が確認された^{13),14)}。meprinは α と β のsubunitが存在し、タンパク質構造やIII型プロコラーゲンの切断箇所など、互いに異なる性質をもつ^{12),15)~18)}。また、meprin α とmeprin β はジスルフィド結合によりホモオリゴマーあるいはヘテロオリゴマーを形成する^{12),13),15),19)}。meprin Aはmeprin α 同士のホモオリゴマーあるいはmeprin α とmeprin β のヘテロオリゴマー、meprin Bはmeprin β 同士のホモオリゴマーから構成されている。meprin α とmeprin β のsubunitは、各々約80 kDaである。多量のmeprin α 同士のホモオリゴマーからなるmeprin Aオリゴマーは、ring, circle, spiralおよびtube-likeなどの多くの巨大な構造をとる分泌型タンパク質である。一方、meprin α とmeprin β のヘテロオリゴマーからなるmeprin Aおよびmeprin β 同士のホモオリゴマーからなるmeprin Bは、二量体もしくは四量体の構造をとる膜結合型タンパク質である。BMP-1(bone morphogenetic protein-1)はTGF- β ファミリーに属するタンパク質であり、骨や軟骨形成に関与しているだけでなく、I型プロコラーゲンのC末端を切断する働きもあることが見出された²⁰⁾。また、ADAMTS(a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin-like motifs)はペプチダーゼの一種であり、いくつかのタイプが存在するが、ADAMTS-2, 3および14はI型プロコラーゲンのN末端を切断する酵素であることが知られている²¹⁾。meprin α 、meprin β 、BMP-1およびADAMTS-14 mRNA発現量を調べたところ、meprin α およびmeprin β mRNA発現量はBMP-1およびADAMTS-14 mRNA発現量よりも、加齢とともに顕著に減少した。また、正常皮膚において優位であることが知られているmeprin α について¹⁴⁾、タンパク質レベルでの加齢変化についても検討したところ、meprin α タンパク質量も加齢とともに減少した。以上から、加齢とともにIII型コラーゲンのプロペプチド切断酵素が顕著に減少し、コラーゲン線維に組み込まれるIII型コラーゲンの割合が低下するために、皮膚のしなやかさや柔軟性が失われる

と推察された。

スクシニルブリオノール酸 2 K はブリオノール酸, コハク酸およびカリウムから成る化合物である。ブリオノール酸自体は水に対する溶解性が低いため, スクシニルブリオノール酸 2 K にして溶解性を高めた。middle passage の細胞において, meprin α mRNA 発現に及ぼす効果について検討したところ, スクシニルブリオノール酸 2 K は meprin α mRNA 発現量を増加させた。以上から, スクシニルブリオノール酸 2 K は meprin を増加させ, III 型プロコラーゲンから III 型コラーゲンへの変換を促進させる。そして, コラーゲン線維に組み込まれる III 型コラーゲンの割合を増加させることにより, 皮膚老化を予防・改善する作用を有することが推察された。

5. 結 論

加齢とともに真皮コラーゲン線維中の III 型コラーゲン/I 型コラーゲンの比率が減少し, 皮膚のしなやかさや柔軟性が失われる。このメカニズムについて検討したところ, III 型コラーゲンのプロペプチド切断酵素が I 型コラーゲンのそれよりも加齢とともに顕著に減少することが明らかとなった。すなわち, III 型コラーゲンのプロペプチド切断酵素の減少が, コラーゲン線維中の III 型コラーゲン/I 型コラーゲンの比率を低下させる一因であると考えられた。また, スクシニルブリオノール酸 2 K に III 型コラーゲンのプロペプチド切断酵素である meprin を増加させる効果が認められたことから, 加齢による meprin の減少を防ぐことで III 型コラーゲン/I 型コラーゲンの比率の減少を抑制し, 真皮の物性変化を改善できることが示唆された。

引用文献

- 1) 山村雄一, 久木田淳, 佐野榮春, 清寺 眞 責任編集, 現代皮膚科学大系 3A 皮膚の構造と機能 I, 中山書店, 1982, p.272-275
- 2) 池田重雄 監修, 標準皮膚科学 第 6 版, 医学書院, 2001, p.13, p.226-227
- 3) 大塚藤男 著・編, 皮膚科学 第 9 版, 金芳堂, 2012, p.33-34
- 4) D. R. Keene, L. Y. Sakai, H. P. Bächinger, R. E. Burgeson, J.

- Cell Biol., 105(5), 2393-2402(1987)
- 5) C. Wang, Y. H. Rong, F. G. Ning, G. A. Zhang, Afr. J. Biotechnol., 10(13), 2524-2529(2011)
- 6) G. P. Dimri, X. Lee, G. Basile, M. Acosta, G. Scott, C. Roskelley, E. E. Medrano, M. Linskens, I. Rubelj, O. Pereira-Smith, M. Peacocke, J. Campisi, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 92(20), 9363-9367(1995)
- 7) R. Riekkki, M. Parikka, A. Jukkola, T. Salo, J. Risteli, A. Oikarinen, Arch. Dermatol. Res., 294(4), 178-184(2002)
- 8) C. F. Liu, X. F. Zhao, A. Li, Modern Rehabilitation, 5, 36-37(2001)
- 9) L. Hayflick, Exp. Cell Res., 37, 614-636(1965)
- 10) B. M. Stanulis-Praeger, Mech. Ageing Dev., 38(1), 1-48(1987)
- 11) S. Goldstein, Science, 249(4973), 1129-1133(1990)
- 12) G. P. Bertenshaw, M. T. Norcum, J. S. Bond, J. Biol. Chem., 278(4), 2522-2532(2003)
- 13) C. Becker-Pauly, M. Höwel, T. Walker, A. Vlad, K. Aufenvenne, V. Oji, D. Lottaz, E. E. Sterchi, M. Debela, V. Magdolen, H. Traupe, W. Stöcker, J. Invest. Dermatol., 127(5), 1115-1125(2007)
- 14) D. Kronenberg, B. C. Bruns, C. Moali, S. Vadon-Le Goff, E. E. Sterchi, H. Traupe, M. Böhm, D. J. Hulmes, W. Stöcker, C. Becker-Pauly, J. Invest. Dermatol., 130(12), 2727-2735(2010)
- 15) C. Becker, M. N. Kruse, K. A. Slotty, D. Köhler, J. R. Harris, S. Rösmann, E. E. Sterchi, W. Stöcker, Biol. Chem., 384(5), 825-831(2003)
- 16) C. Becker-Pauly, B. C. Bruns, O. Damm, A. Schütte, K. Hammouti, T. Burmester, W. Stöcker, J. Mol. Biol., 385(1), 236-248(2009)
- 17) M. N. Kruse, C. Becker, D. Lottaz, D. Köhler, I. Yiallourous, H. W. Krell, E. E. Sterchi, W. Stöcker, Biochem. J., 378(Pt2), 383-389(2004)
- 18) E. E. Sterchi, W. Stöcker, J. S. Bond, Mol. Aspects Med., 29(5), 309-328(2008)
- 19) F. T. Ishmael, V. K. Shier, S. S. Ishmael, J. S. Bond, J. Biol. Chem., 280(14), 13895-13901(2005)
- 20) E. Kessler, K. Takahara, L. Biniaminov, M. Brusel, D. S. Greenspan, Science, 271(5247), 360-362(1996)
- 21) A. Colige, I. Vandenberghe, M. Thiry, C. A. Lambert, J. Van Beeumen, S. W. Li, D. J. Prockop, C. M. Lapiere, B. V. Nusgens, J. Biol. Chem., 277(8), 5756-5766(2002)

The Reduction Mechanism of the Type III/I Collagen Ratio with Aging: Age-related Change in Meprin, a Type III Collagen Propeptide Cleavage Enzyme*

Yuhko Murakami, Hiroaki Adachi, Tsutomu Sakaida,
Hiroshi Tanaka, Youichi Yashiro, Satoru Nakata

Research Laboratories, Nippon Menard Cosmetic Co., Ltd. **

Collagen fibers in the dermis consist of type I and type III collagen, and the ratio of type III/ I collagen decreases with aging. This is thought to affect the physical properties of the dermis. Collagen molecules are synthesized and secreted as pro-collagen by dermal fibroblasts. Then their N- and C-propeptides are cleaved by enzymes. Consequently, collagen molecules are engaged with each other and form collagen fibers. To elucidate the reduction mechanism of the type III/ I collagen ratio in collagen fibers with aging, we investigated the age-related change in type I and type III collagen propeptide cleavage enzymes. Moreover, we examined the effect of dipotassium bryonolyl succinate on meprin, a type III collagen propeptide cleavage enzyme. As a result, mRNA expression of meprin reduced with aging more significantly than BMP-1 and ADAMTS-14, type I collagen propeptide cleavage enzymes. Meprin mRNA expression was increased by dipotassium bryonolyl succinate. On the basis of these results, it was concluded that the more significant decrease of type III collagen propeptide cleavage enzyme was a cause of the decrease in the type III/ I collagen ratio in collagen fibers. Since dipotassium bryonolyl succinate enhanced meprin mRNA level, it may prevent and improve age-related change in dermal physical properties to control the ratio of type III/ I collagen by preventing the reduction of meprin with aging.

Key words : meprin, type III collagen, propeptide cleavage enzyme, dipotassium bryonolyl succinate, type I collagen, BMP-1, ADAMTS-14, pro-collagen, collagen fiber, aging