

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：32658

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05868

研究課題名(和文)紫外線被曝が皮膚、肝臓、脂肪組織における脂質代謝に与える影響のリピドミクス解析

研究課題名(英文) Effects of ultraviolet irradiation on lipid metabolism in skin, liver, and adipose tissue

研究代表者

大石 祐一 (Yuichi, Oishi)

東京農業大学・応用生物科学部・教授

研究者番号：00313073

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：皮膚への紫外線被曝が皮膚、肝臓、脂肪組織の脂質代謝にどのような影響を与えるのかを明らかにすることを目的とした。紫外線照射は、肝臓でのドコサヘキサエン酸を含むトリアシルグリセロールを増加させる傾向があった。脂肪酸合成に関わるACACA、酸化に関わるCPT1AのmRNA量は増加傾向を示した。肝臓コレステロール合成酵素のmRNA量は増加、異化酵素は減少を示したが、肝臓コレステロール量には変化はなかった。以上より、紫外線は肝臓の脂質代謝にも大きな影響を与えることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

研究代表者は、「紫外線被曝が、皮膚だけでなく、臓器間ネットワークを介して各臓器にどのような影響を与え、メタボリックシンドロームに関わっているのか」を解決しようとしている。今回の研究結果は、紫外線の被曝は肝臓に影響を与え、コレステロール代謝、脂質代謝さらにはインスリン成長因子-1産生に大きな影響を与えることを明らかにした。このことは、紫外線の被曝がメタボリックシンドローム等に影響を与えることを明らかにし、栄養の面や医学の面から危険因子の軽減、あるいは健康を維持するかを提案することができたと考えている。

研究成果の概要(英文)：The effects of ultraviolet irradiation on lipid metabolism in skin, liver, and adipose tissue was investigated. UV exposure to skin increase triglycerides, including docosahexaenoic acid, in the liver. The mRNA levels of ACACA involved in fatty acid synthesis and CPT1 involved in β -oxidation showed increasing trends. Liver cholesterol synthase mRNA levels increased and catabolic enzymes decreased, but liver cholesterol levels were unchanged. These results suggested that UV radiation has significant effects on lipid metabolism in the liver.

研究分野：栄養生化学

キーワード：紫外線 皮膚 肝臓 コレステロール 脂質代謝

1. 研究開始当初の背景

メタボリックシンドロームは、インスリン抵抗性、糖代謝異常、脂質代謝異常、高血圧などの危険因子が一個人に存在する状態であり、その人口は、40歳以上で男性2人に1人、女性5人に1人とされている。このシンドロームの一因には、現代の食事の影響があるとされている。

ヒトの栄養状態は、成長ホルモン、インスリン、インスリン様成長因子(IGF) I やその阻害因子 IGF 結合タンパク質(IGFBPs)、レプチン、アディポネクチン、TGF β 、TNF α などによって制御されている。例えば、タンパク質栄養状態が悪くなると、血中 IGF I 量が減少し、IGFBP-1 量が増加し、様々な細胞でのタンパク質合成が抑制される (J.Nutr., **130**, 2910-2914 (2000))。また、高脂肪食摂取によって、肝臓 IGF I mRNA 量の減少、血中アディポネクチン量の減少、さらには、TGF β 量の減少、TNF α 量の増加などが言われている (Nat. Med., **7**, 941-946 (2001))。これら因子の増減は、皮膚構成成分であるコラーゲン合成、ヒアルロン酸合成の抑制につながる (Mol.Nutr.Food Res., **54**, S53-S61 (2010))。このように、栄養状態は皮膚へ大きな影響を与えている。

一方、紫外線は、メラニン合成の促進を介した皮膚の黒化さらに、真皮に存在するコラーゲンなどの異常分解によるシワの数などを亢進する。また、皮膚がんの罹患にも関与している。現在、オゾンホール拡大が南極だけでなく、北極でも認められるようになり、地上での紫外線の増加が懸念されている。

しかし、栄養による皮膚への様々な影響については明らかになりつつあるが、皮膚に関与する因子が栄養、とくにメタボリックシンドロームに関与する因子に影響を与えるか否かについては明らかになっていなかった。

研究代表者は紫外線被曝が、皮膚だけでなく、臓器間ネットワークを介して各臓器にどのような影響を与え、メタボリックシンドロームに関わっているのか」という学術的「問い」を解明している。我々は、今までに紫外線被曝が皮膚 Calcitonin gene-related peptide(CGRP)を増加させ、脳・神経系を介して、肝臓での CGRP を増加、IL-6 量増加させ、その結果急性期タンパク質 (SAA) 量が増えること、また、SAA が血液を介し脂肪組織でアディポネクチン量の減少を招くことを明らかにしてきた (Biosci Biotechnol Biochem., **77**, 2151-3 (2013)、.Biosci Biotechnol Biochem., **78**, 787-90 (2014), PLoS One., **9**, e98040 (2014))。次に、皮膚でのアミノ酸代謝が紫外線によってどのように変動するのかについて検討した。その結果、皮膚でのシステイン、グルタミン酸の有意な増加、肝臓での分枝アミノ酸、リシン、トレオニンなどの不可欠アミノ酸の有意な減少を見出した。また、皮膚への紫外線被曝が肝臓でのコレステロール代謝に影響を与えることを明らかにしている (科学研究費研究成果報告書 15K07440)。このように特定の脂質に関しては紫外線被曝による影響について明らかになっているものの、細胞膜を構成する脂質、シグナル伝達など細胞プロセスに関する脂質を含めた、全ての脂質の変動を、皮膚、肝臓、脂肪組織について網羅的に行った研究はほとんどない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、紫外線の皮膚への被曝が皮膚、肝臓、脂肪組織における脂質代謝にどのような影響を与えるのかをリポドミクスを用いて明らかにし、またその変動のメカニズムを解明することである。

3. 研究の方法

(1) 紫外線照射による皮膚、肝臓、脂肪組織の脂質代謝への影響について網羅的に検討するため、ヘアレスマウス 10 匹に紫外線(UVB)を 1.6J/cm²照射(皮膚に赤身が出る程度、Biosci Biotechnol Biochem., **77**, 2151-3(2013)) 24 時間後に皮膚、肝臓、脂肪組織を採取した。紫外線が照射されたことを確認するため、皮膚から totalRNA を抽出後、逆転写し cDNA を得、リアルタイム PCR にて keratin6 の mRNA 量を測定し、増加していることを確認した。その後、各臓器での脂質量変動をリポドミクスで検討した。

(2) 変動した脂質に関する遺伝子の変動をリアルタイム PCR で検討するため、再度ヘアレスマウスに同量の紫外線を照射 24 時間、48 時間後に皮膚および肝臓の totalRNA を抽出後、cDNA を得た。その後、各タンパク質の mRNA 量を測定した。リアルタイム PCR で用いた Primer, Probe は ThermoFisherScientific 社のキットを用いた。

(3) 血中および肝臓コレステロール量は和光純薬工業社、血中 IGF I 量は AnshLabs 社製のキットを用いて測定した。

4. 研究成果

(1) リポドミクス解析による紫外線照射による皮膚、肝臓での脂質量変化

紫外線を 1.6J/cm²照射し、24 時間後において、皮膚では、セラミドの脂肪酸において超極長鎖のものが紫外線照射によって 2.3 倍有意に増えた。また、 ω アシル・グルコシルセラミドの N アシル鎖が、飽和のものや C34 前後を境に長いものは減る傾向があり、逆に短いものや不飽和の多いものは増える傾向があった。肝臓においては、ドコサヘキサエン酸を含むトリアシルグリセロールが増える傾向があった。また、リノール酸を含むトリアシルグリセロールが増える可能性があった。脂肪組織(皮下脂肪)においては、パルミチン酸、脂肪酸(34:1)が増加したが、皮膚、肝臓に比して、有意に量の変動があった脂質が少なかった。以上のことから、皮膚への紫外線被曝は、脂質代謝に関しても、皮膚だけでなく、他の臓器、とくに肝臓に大きな影響を与えた。

(2) 脂肪酸 酸化酵素 (CPT1) および合成酵素 ACACA への影響

脂肪酸 酸化の律速酵素であるカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ (CPT1) の mRNA 量を測定したところ、非照射と比して紫外線照射 24 時間、48 時間後ともに増加傾向があった (図 1)。このことから、紫外線照射は脂質のエネルギー代謝に影響を与える可能性が考えられた。また、脂肪酸合成に関わるアセチル CoA カルボキシラーゼ 1 (ACACA) の mRNA 量は紫外線照射 24 時間、48 時間後ともに増加傾向を示した (図 2)。このことから、紫外線照射によって肝臓の脂質代謝が活性化している可能性が考えられた。今後、キロミクロン、LDL、HDL 量などの測定が必要と考えている。

(3) 肝臓ドコサヘキサエン酸量増加のメカニズム解析

紫外線照射が肝臓のドコサヘキサエン酸を増加させる傾向があったので、そのメカニズムを解明すべく、紫外線照射したマウスから肝臓を採取し、ドコサヘキサエン酸代謝に関わる酵素の変動について検討した。ドコサヘキサエン酸の代謝系は、リノレン酸 (18:3) から 4 不飽和化酵素によってステアリドン酸 (18:4)、脂肪鎖伸長酵素によってエイコサテロラエン酸 (20:4)、不飽和化酵素によってエイコサペンタエン酸 (20:5)、脂肪鎖伸長酵素によってドコサペンタエン酸 (22:5) さらに 4 不飽和化酵素によってドコサヘキサエン酸 (22:6) となる。エイコサテトラエン酸からエイコサペンタエン酸に関わる不飽和化酵素 FADS1 は 24 時間、48 時間ともに大きな変動はなかった。他の代謝で関わる

4 不飽和化酵素 FADS2 の mRNA 量は紫外線照射 24 時間後では変化なかったが、48 時間では増加傾向だった (図 3)。紫外線照射 24 時間後のリポドミクスではドコサヘキサエン酸の増加傾向があったこととの時間的な差異があるので、明確なことは言えないが、ドコサヘキサエン酸代謝には 4 不飽和化酵素の量関わっているのかもしれない。

(4) コレステロールおよび胆汁酸合成への影響

肝臓でのコレステロール合成律速酵素であるヒドロキシメチルグルタリル CoA 還元酵素 (HMGCoAR) の mRNA 量を測定したところ、紫外線照射 24 時間後には増加傾向、48 時間後には有意に増加した (図 4)。また、コレステロールから胆汁酸への合成に関わるコレステロール 7 α ヒドロキシラーゼ (CYP7 α 1) の mRNA 量は 24 時間では非照射と比して減少し (図 5)、48 時間後には変化なかった。このことは肝臓中のコレステロール量が増加している可能性があったので、肝臓および血中のコレステロール量を測定した。その結果、肝臓では照射 24 時間後は減少傾向を示し (図 6)、48 時間後は変化なかった。血中は 24 時間、48 時間後ともに変化なかった。このことから、コレステロールが他の物質へ異化されたことも考えられた。

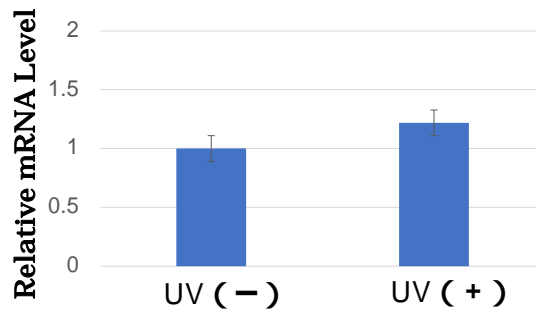


図 1 照射24時間後肝臓CPT1 mRNA量

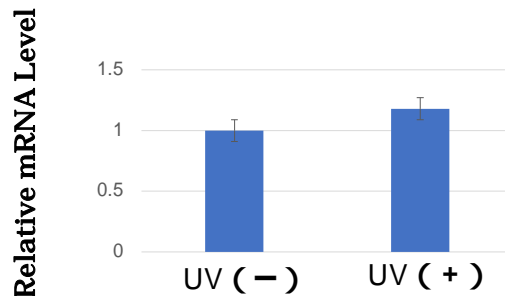


図 2 照射24時間後肝臓ACACA mRNA量

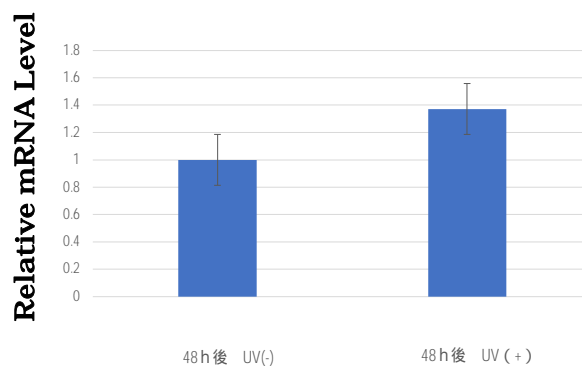


図 3 照射48時間後肝臓 4不飽和化酵素 mRNA量

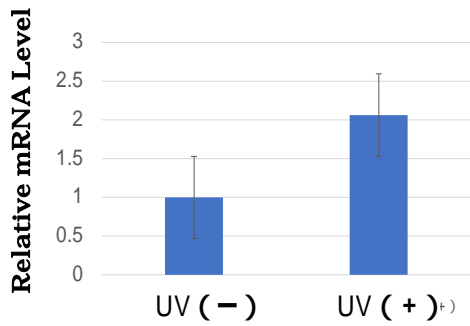


図4 照射48時間後肝臓HMGCoA還元酵素mRNA量

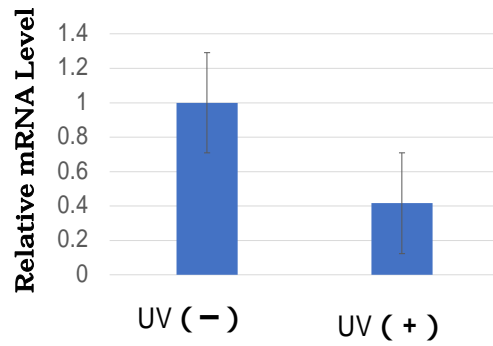


図5 照射24時間後肝臓CYP71 mRNA量

(5) 紫外線照射による肝臓インスリン様成長因子(IGF) Iおよびその結合タンパク質IGFBPsへの影響

ドコサヘキサエン酸は IGF-I を増加させる効果があるとの報告がある (Gen.Comp.Endocrinol., 250, 1-8(2017))。そこで肝臓で合成される IGF-I の mRNA 量を測定したところ、24 時間後 IGF-I mRNA 量は減少傾向を示した。一方、IGFBPs 1-6 の mRNA 量は増加した。このことは、血中活性型の IGF-I 量の減少の可能性を示唆しているため、ELISA を用いて測定したところ、紫外線照射 24 時間、48 時間後ともに減少傾向が認められた (図7)。このことは、紫外線照射でのドコサヘキサエン酸増加による IGF-I 増加よりも、他の経路による IGF-I 合成抑制および IGFBPs 合成亢進効果の方が大きいとの結果だと考えられた。

以上のことから、皮膚への紫外線被曝は、肝臓の脂質に関わるエネルギー代謝に関わる酵素量を上昇させ、コレステロール合成を促進、胆汁酸への異化を抑制させる可能性が考えられ、脂質代謝に大きな影響を与えることが分かった。今後は、IGF-I と脂質代謝、とくにドコサヘキサエン酸との関連性について解明していきたい。

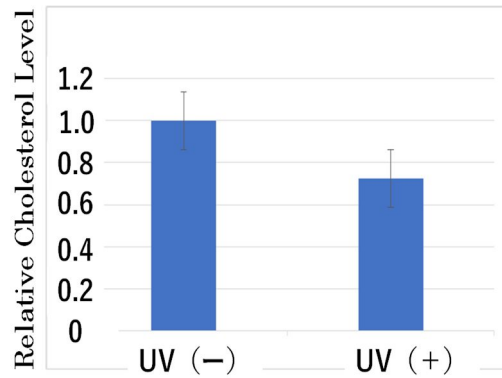


図6 照射24時間後肝臓コレステロール量

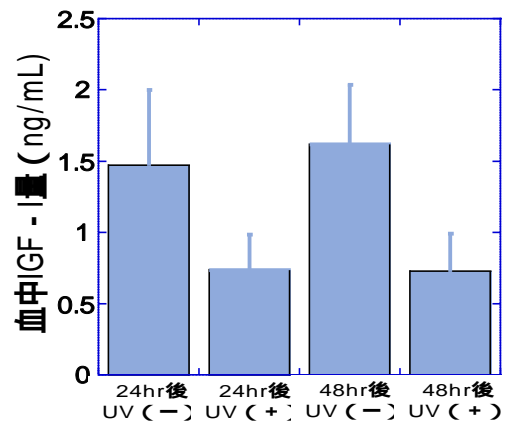


図7 血中活性IGF-I量

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yamane Takumi, Konno Ryosuke, Iwatsuki Ken, Oishi Yuichi	4. 巻 52
2. 論文標題 Negative effects of a low-quality protein diet on wound healing via modulation of the MMP2 activity in rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Amino Acids	6. 最初と最後の頁 505 ~ 510
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00726-020-02831-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamane T, Konno R, Iwatsuki K, Oishi Y.	4. 巻 83
2. 論文標題 Starvation reduces hyaluronan synthesis by suppressing TGF- β 1/IGF-I signaling in rat skin.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biosci Biotechnol Biochem.	6. 最初と最後の頁 511-517
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/09168451.2018.1491288.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamane T, Kitaura Y, Iwatsuki K, Shimomura Y, Oishi Y.	4. 巻 85
2. 論文標題 Branched-chain amino acids regulate hyaluronan synthesis and PPAR α expression in the skin	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biosci Biotechnol Biochem.	6. 最初と最後の頁 2292-2294
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/bbb/zbab160.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 2件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山根拓実、岩槻健、大石祐一
2. 発表標題 アミノ酸スコアの異なるタンパク質摂取が全層欠損傷モデルラットに及ぼす影響
3. 学会等名 2020年度日本アミノ酸学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山根拓実、馬居ちひろ、外山莉湖、天野莉夏、鈴木裕大、瀧澤絹華、金野凌介、岩槻健、大石祐一
2. 発表標題 メタボリックシンドロームにおける0b-Rbシグナル阻害が皮膚中I型コラーゲン合成に及ぼす影響
3. 学会等名 第74回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大石 祐一
2. 発表標題 食品素材が皮膚に及ぼす影響
3. 学会等名 日本食品科学工学会第66回大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大石 祐一、山根 拓実
2. 発表標題 皮膚と脂肪組織、肝臓との相互作用
3. 学会等名 日本栄養食糧学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------