

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 4 年 4 月 22 日現在

機関番号：33304

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05902

研究課題名（和文）ビタミンCがヒト表皮の遺伝子発現に与える影響の解明

研究課題名（英文）Mechanism of vitamin C on gene expression in human epidermis

研究代表者

佐藤 安訓（Sato, Yasunori）

北陸大学・薬学部・講師

研究者番号：40582367

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）：ビタミンCは抗酸化、コラーゲン重合などの作用に加えて遺伝子発現調節に関与することがわかってきた。しかしビタミンCの遺伝子発現に関する知見は正常組織ではよく分かっていない。そこで我々はヒト表皮を模倣したヒト培養表皮にビタミンCを投与することで遺伝子発現が大きく変化することを明らかにした。すなわち、ビタミンCは正常組織においても遺伝子発現調節という新たな作用を持つことが強く示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで抗酸化作用やコラーゲン重合などが大きく注目されていたビタミンCについて、遺伝子発現調節という新たな生理作用を有することが強く示唆された。本研究成果を表皮再生医療や皮膚科学の進展に寄与し、国民の栄養素に対する意識改善につながることを強く期待される。

研究成果の概要（英文）：Vitamin C acts as an antioxidant and as a cofactor for collagen polymerization reaction. Besides these functions, vitamin C may regulate gene expression via epigenetic modification. However, the function of vitamin C on gene expression is not fully elucidated in normal tissue. In this study, we found that vitamin C regulate gene expression using human epidermis equivalent model. Our results indicate that vitamin C may regulate gene expression in normal tissue.

研究分野：衛生化学、薬学

キーワード：表皮 ビタミンC エピジェネティクス

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

(1) エピジェネティクスとは

エピジェネティクスは、塩基配列の変化を伴わない遺伝子発現制御機構である。代表例に DNA メチル化がある。DNA メチル化は 5'-CG-3' という配列中のシトシンの炭素 5 位がメチル化される反応である。DNA がメチル化されると転写因子が結合できず遺伝子発現が抑制されるが、脱メチル化で発現が回復する。この DNA メチル化と脱メチル化による遺伝子制御機構は、細胞の分化や初期化、癌の発症などに重要な役割を果たす。

(2) ビタミン C とエピジェネティクスの関係およびこれまでの問題点

2013 年、ビタミン C は DNA 脱メチル化酵素 Ten-eleven translocation(Tet)の補酵素と判明した(Minor et al. J Biol Chem.)。これはビタミン C が Tet の酵素活性を介して遺伝子発現に寄与することを示す。すなわちビタミン C は抗酸化やコラーゲン重合など従来の作用に加えて、遺伝子発現調節という新たな生理作用を持つ。実際ヒト ES 細胞にビタミン C を添加すると 1847 種の遺伝子が脱メチル化され、ヒト肝癌細胞では冠動脈疾患のリスク因子であるリポ蛋白 a の発現が抑制した(Chung et al. Stem Cells. 2010. Qu et al. Int J Biol Macromol. 2017)。しかし、今までのビタミン C の遺伝子発現に関する知見は、ES 細胞や癌など組織が限定しており正常組織では未解明という問題点があった。また、二万以上の遺伝子群のうち特定の遺伝子しか解析されていない。

今回、現在未解明の問題である正常組織でのエピジェネティクスを介した遺伝子発現を解明するために、これまでの申請者の経験を生かせる表皮にて本研究計画を立案した。

2. 研究の目的

本研究はヒト正常表皮細胞を重層培養したヒト表皮三次元培養モデルにビタミン C を投与する。その時の遺伝子変化を網羅解析し検証することでビタミン C の遺伝子発現機構を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) ゲノム全体の DNA メチル化変化解析

エピジェネティクスの代表的機構である DNA メチル化変化について解析するため、ヒト表皮三次元培養モデルにビタミン C を投与して培養後、DNA を抽出した。

得られた DNA 産物についてドットプロット法を用いてゲノム全体の DNA メチル化変化を解析した。

(2) 表皮の組織学的解析

表皮の組織学的変化を解析するため、ヒト表皮三次元培養モデルにビタミン C を投与して培養した。その後パラフィンに包埋して薄切後、HE 染色を行い組織学的変化の解析を行った。

(3) ナトリウム塩を用いた検証

本研究では pH 変化を除外するためビタミン C としてナトリウム塩を用いたため、ゲノム全体の DNA メチル化変化と表皮の組織学的解析をビタミン C と同濃度のナトリウム塩でも行った。

(4) 遺伝子発現の網羅解析

ビタミン C による遺伝子発現変化を明らかにするため、ヒト表皮三次元培養モデルにビタミン C を投与して培養後、RNA を抽出した。

得られた RNA から蛍光標識 cDNA を作成しマイクロアレイによる遺伝子発現の網羅解析を実施した。

4. 研究成果

(1) ゲノム全体の DNA メチル化変化解析

DNA メチル化変化を、ドットプロット法を用いてゲノム全体で解析した結果、DNA メチル化状態はビタミン C によって大きく変化することがわかった。

(2) 表皮の組織学的解析

ヒト表皮三次元培養モデルに HE 染色を行い、組織学的解析を行った結果、表皮の厚さなど組織学的にも明らかな変化を認めた。

すなわち、ビタミン C は DNA メチル化および組織学的にも変化を認めることが確認できた。

(3) ナトリウム塩を用いた検証

本研究では pH 変化を除外するためビタミン C としてナトリウム塩を用いた。そこでこれまでの結果はナトリウムによる可能性も否定できない。

そこでヒト表皮三次元培養にビタミン C と同濃度のナトリウムを添加後、ゲノム全体の DNA メチル化変化および組織学的解析を行った。その結果ナトリウム単独では、DNA メチル化は変化せず、組織学的にも変化を認めなかった。すなわち、これまで認められた表皮の変化はビタミン C を介したものだと確認できた。

(4) 遺伝子発現の網羅解析

これまで認められたゲノム全体の DNA メチル化変化や組織学的変化が、遺伝子発現に影響を及ぼすか確認するため、マイクロアレイを用いて遺伝子発現を網羅解析した。その結果、ビタミン C により増減する遺伝子を多く見出すことができた。階層的クラスタリングの結果からも、ビタミン C 投与の有無で遺伝子発現を大別できるなど、ビタミン C は表皮の遺伝子発現を大きく変化させることがわかった。本研究により、ビタミン C は正常組織においてエピジェネティクスを介して遺伝子発現に関与することが強く示唆された。

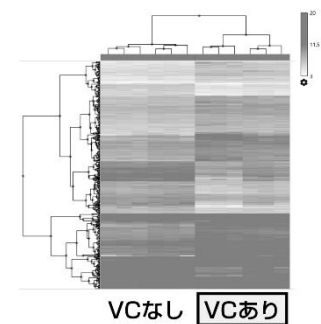


図
ビタミン C(VC)
投与後の階層的
クラスタリング
結果

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 佐藤安訓	4. 巻 -
2. 論文標題 ビタミン・バイオフィクターとエピジェネティクス.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ビタミン	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 2件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 佐藤安訓
2. 発表標題 ビタミン・バイオフィクターとエピジェネティクス.
3. 学会等名 日本ビタミン学会第73回大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 皮膚、特に表皮におけるビタミンCの機能解析.
2. 発表標題 佐藤安訓
3. 学会等名 第165回ビタミンC研究委員会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松井美緒、浦澤佳苗、佐藤綾美、滝野有花、佐藤安訓、斉藤紀克、大澤肇、相垣敏郎、石神昭人
2. 発表標題 ビタミンCによる表皮角化細胞のエピジェネティクス変化.
3. 学会等名 第73回日本ビタミン学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤綾美、松井美緒、滝野有花、佐藤安訓、斉藤紀克、大澤肇、石神昭人
2. 発表標題 ビタミンCによる表皮角化過程でのエピジェネティクス制御.
3. 学会等名 第74回日本ビタミン学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ayami SATO, Mio MATSUI, Kanae URASAWA, Nanako MAEDA, Yuka Takino, Yasunori SATO, Jaewon LEE, Akihito ISHIGAMI
2. 発表標題 Epigenetic regulation by vitamin C in epidermal keratinization.
3. 学会等名 第45回日本基礎老化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 幸地真吾、佐藤安訓、木村駿、高木恭子、石井強、木村敏行、石神昭人
2. 発表標題 ヒト三次元培養表皮モデルに及ぼすアスコルビン酸の影響
3. 学会等名 日本薬学会北陸支部第131回例会
4. 発表年 2020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
---------	---------