

令和 4 年 5 月 23 日現在

機関番号：34428

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K19420

研究課題名（和文）ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の非意図的曝露によるNAFLD増悪化に関する研究

研究課題名（英文）Study on exacerbation of NAFLD by unintentional exposure to benzotriazole UV absorbers

研究代表者

杠 智博（YUZURIHA, TOMOHIRO）

摂南大学・薬学部・助教

研究者番号：10783011

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤（BUVSs）の糖・脂質代謝恒常性に対する毒性影響に関する基礎的知見の集積、及びBUVSsと非アルコール性脂肪肝疾患（NAFLD）の病態機序との因果関係の解明を目的とし、種々の検討を行った。その結果、BUVSsが核内受容体および芳香族炭化水素受容体を介してNAFLDにおける脂質蓄積および線維化を増悪化させる可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は日用品等に汎用されるBUVSsの糖・脂質代謝恒常性に対する毒性影響に関する基礎的知見を提供するものである。また、日本におけるNAFLDの罹患率は約30%とされているものの、現在までにNAFLDに対して承認された医薬品はなく、NAFLDの予防及び治療法の確立のためにはその病態機序の解明が急務である。本研究成果は我々が日々曝露されうるNAFLD発症・増悪化リスクの一端を明らかにするものであり、本疾患に対する予防医学的知見の提供が期待できる。

研究成果の概要（英文）：In this study, various investigations were conducted to accumulate basic knowledge on the toxic effects of benzotriazole UV absorbers (BUVSs) on glucose and lipid metabolic homeostasis and to clarify the causal relationship between BUVSs and the pathogenetic mechanisms of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). We found that BUVSs may exacerbate lipid accumulation and fibrosis in NAFLD via nuclear receptors and aromatic hydrocarbon receptors.

研究分野：毒性学

キーワード：NAFLD ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤 (BUVSs) は、工業用原料として汎用されているものの、一部の BUVSs は化審法等により規制されている。しかしながら、現在使用が禁止されている UV-320 を含む種々の BUVSs が室内大気や底質などの環境試料中から検出されていることから、BUVSs が呼吸や食事を介して非意図的に人体を汚染する可能性が推察される。BUVSs の生体毒性影響としては、ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体 α (PPAR α) や芳香族炭化水素受容体 (AhR) 等を介した生体恒常性攪乱作用が報告されている。

非アルコール性脂肪肝疾患 (NAFLD) は我が国の成人の約 30% が罹患しているとされる生活習慣病のひとつである。NAFLD は進行すると一定の割合で肝硬変や肝癌を発症するものの、現在までに承認された医薬品はなく、その病態機序の解明が急務である。NAFLD の発症には、肥満やインスリン抵抗性等のエネルギー代謝異常に加え、炎症や酸化ストレス等の様々なリスク因子が複合的に作用することが知られている。

以上より、BUVSs が生体内受容体活性に影響を及ぼし、糖・脂質代謝恒常性を攪乱することで、NAFLD の発症、増悪に關与する可能性が推察される。

2. 研究の目的

第 1 の目的として、化審法で規制ならびに現在も汎用されている BUVSs の糖・脂質代謝関連受容体活性化作用を解明する。第 2 の目的として、関連遺伝子や酸化ストレス等の NAFLD リスク因子に対する BUVSs の関連性を解明する。第 3 の目的として *in vitro* NAFLD モデルに対する BUVSs の影響を明らかにする。これらを総合的に解析することにより、BUVSs と NAFLD の病態機序との因果関係を明らかにするとともに、BUVSs が有する糖・脂質代謝攪乱作用及び生体恒常性に対する毒性影響に関する基礎的知見の集積を試みる。

3. 研究の方法

(1) BUVSs のうち化審法で規制されている 2 種 (UV-320、-327)、及び未規制の 9 種 (UV-P、-PS、-9、-090、-234、-326、-328、-329、-360) を対象とし (図 1)、ヒト肝癌由来 HepG2 細胞を用いたレポーター遺伝子アッセイにより PPAR の各サブタイプ (α 、 δ 、 γ) 及びファルネゾイド X 受容体 (FXR) に対する活性化作用を評価した。

(2) NAFLD の代表的なリスク因子である、糖・脂質代謝異常及び酸化ストレスに対する BUVSs の影響を検討した。HepG2 細胞に BUVSs を曝露させ、PPAR 標的遺伝子である糖・脂質代謝関連遺伝子及び抗酸化酵素遺伝子発現量等を測定した。

(3) HepG2 細胞をオレイン酸/パルミチン酸溶液で刺激したものを脂肪肝モデルとした。また、不死化ヒト肝星細胞株 LX-2 細胞を TGF- β 1 で刺激したものを肝線維症モデルとした。これらのモデル細胞の培養培地中に BUVSs を添加し、関連遺伝子・タンパク質発現量、脂肪蓄積量等を測定した。

4. 研究成果

(1) 糖・脂質代謝の主要調節因子である PPAR の各サブタイプ及び FXR に対し、BUVSs の活性化作用を検討するために、レポーター遺伝子アッセイを行った。その結果、多くの BUVSs に関して PPAR α 、PPAR δ 、PPAR γ 、及び FXR の有意な活性化あるいは活性化傾向が観察された。このことより、これら UVSs が核内受容体を介して脂質代謝恒常性を攪乱し、代謝性疾患の発症及び増悪に關与する可能性が示唆された。

Hirata-Koizumi らの先行研究において、UV-320 は、長期曝露により体内に蓄積し肝臓障害を惹起することが報告されている¹⁾。本研究において、UV-320 を含む多くの BUVSs が PPAR α 活性化傾向を示し、とりわけ、UV-P、UV-9、UV-326、UV-327、UV-360 は UV-320 より大きなシフェラーゼ活性を示した。また、PPAR γ の活性化は脂肪肝の発症及び増悪と強く関連し

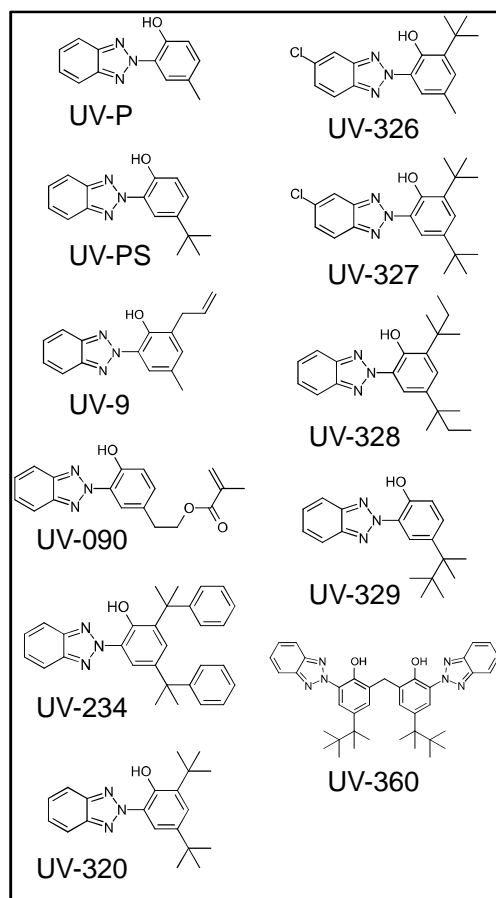


図 1 BUVSs の構造

ている。これらのことから、UV-320 及び UV-327 以外の現状では規制の対象ではない BUVSs であっても、長期曝露により体内に蓄積し、PPAR α 及び PPAR γ 経路を介して肝障害等の健康毒性影響を及ぼす可能性が推察される。

(2) BUVSs が NAFLD のリスク因子に及ぼす影響を明らかにするために、NAFLD のリスク因子である糖・脂質代謝関連遺伝子及び抗酸化酵素遺伝子発現量に及ぼす影響を検討した。HepG2 細胞に種々の濃度の BUVSs を刺激し、関連遺伝子発現量を測定した結果、複数の BUVSs が PPAR γ 、CD36、及びステロール調節配列結合蛋白-1c (SREBP1c) 遺伝子発現量を濃度依存的に増加させた。とりわけ、監視化学物質である UV-327 は他の BUVSs と比較し大きく変動させた。これらの遺伝子は NAFLD で増加することが知られている。さらに、抗酸化酵素スーパーオキシドジムスターゼ (SOD1) 遺伝子発現量を濃度依存的に減少させた。これらのことから、BUVSs が肝臓への脂肪蓄積や酸化ストレスを亢進し、NAFLD の発症、増悪に参与する可能性が示唆された。

(3) BUVSs が NAFLD に及ぼす影響を検討するために、HepG2 細胞をオレイン酸/パルミチン酸で刺激して作製した脂肪肝モデルに対し、BUVSs を曝露させ種々の検討を行った。その結果、多くの BUVSs は脂肪肝モデルの脂肪蓄積量及びトリグリセリド蓄積量を増加させ、細胞生存率を低下させた。また、LX-2 細胞を TGF- β 1 で刺激して作製した肝線維症モデルに対し、BUVSs を曝露させ種々の検討を行った。その結果、複数の BUVSs が Collagen Type 1 遺伝子発現量を増加させた。

これらの結果より、BUVSs が NAFLD の主症状である脂肪蓄積及び肝線維化を増悪化させる可能性が示唆された。注目すべきは、現在様々な製品に使用されている UV-P や UV-9 等の未規制 BUVSs が規制されている UV-320 及び UV-327 と同程度の NAFLD 増悪化作用を示したことである。

BUVSs は様々な生活用品中に使用され、その製造、使用、及び廃棄の過程で環境中に放出され、呼吸や食事を介して人体に曝露される。実際に、複数の国と地域において、環境試料及び生体試料から規制対象を含む種々の BUVSs が検出されることが報告されている。本研究において、非意図的に曝露される BUVSs が生体内で糖・脂質代謝関連受容体に作用すること、その下流の遺伝子発現を攪乱すること、その結果として脂肪蓄積や線維化を誘導し、NAFLD の増悪化に参与することが示唆された。本研究成果は、未だ治療薬が上市されていない NAFLD において、その病態機序の一端を明らかにし、予防及び治療法の確立に資する有用な知見を提供できるものと確信される。

< 引用文献 >

- 1) Hirata-Koizumi M., Ise R., Kato H., Matsuyama T., Nishimaki-Mogami T., Takahashi M., Ono A., Ema M., Hirose A., *J. Toxicol. Sci.*, **41**, 693-700 (2016).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 杠 智博、角谷 秀樹、中尾 晃幸、太田 壮一
2. 発表標題 紫外線吸収剤による肝脂質代謝系攪乱影響に関するin vitro検討
3. 学会等名 第28回環境化学討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 杠 智博、荒木 瑞久、角谷 秀樹、中尾 晃幸、太田 壮一
2. 発表標題 紫外線吸収剤が有する核内受容体活性化作用の評価
3. 学会等名 第69回日本薬学会関西支部総会・大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 杠 智博、田中 寧々、角谷 秀樹、中尾 晃幸、太田 壮一
2. 発表標題 ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤のNAFLD増悪への関与
3. 学会等名 第69回日本薬学会関西支部総会・大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 杠 智博、角谷 秀樹、中尾 晃幸、太田 壮一
2. 発表標題 紫外線吸収剤の核内受容体活性化作用
3. 学会等名 第29回環境化学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 杠 智博、田中 寧々、角谷 秀樹、中尾 晃幸、太田 壮一
2. 発表標題 紫外線吸収剤によるNAFLDの増悪化への関与
3. 学会等名 第29回環境化学討論会
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
---------	---------