

平成 30 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：2015～2017

課題番号：15K07440

研究課題名(和文) 皮膚におけるアミノ酸代謝の紫外線被曝による影響のオミクス解析

研究課題名(英文) The effects of UVB irradiation on amino-acid metabolism in the skin

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) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)： Ultraviolet B(UVB)照射がアミノ酸代謝に及ぼす影響を検討した。UVB照射により、皮膚中システイン量、グルタミン酸量、グルタチオン量が増加し、タウリン量が減少した。UVB照射により増加した活性酸素除去のため皮膚中にグルタチオンが蓄積したことが推察された。また、システインからタウリンへの合成が抑制され、システインが蓄積したと考えられ、その結果、タウリンが減少し皮膚機能悪化を引き起こす一つの要因になったことが示唆された。UVB照射により肝臓中グルタミン量が増加し、3つの分岐鎖アミノ酸量が減少した。このことからUVB照射は肝臓のアミノ酸代謝にも影響を及ぼす可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)： Ultraviolet B (UVB) is a major environmental factor that affects the structure and function of the skin. UVB irradiation had profound effects of mRNA levels in skin and liver, but not skeletal muscle. While UVB irradiation decreased the level of taurine, it increased the level of glutathione as well as glutamate and cysteine in skin. Glutathione degrading enzyme (GGT) and taurine synthesizing enzyme (CSAD) that utilize cysteine as enzyme substrate were significantly decreased by UVB irradiation. These results suggest that UVB irradiation suppresses glutathione and cysteine degradation and taurine synthesis. In liver, the level of glutathione did not change.

Branched chain amino acids (BCAA) decreased by UVB irradiation in liver. BCAA are known to improve liver function and regeneration. These results suggest that UVB irradiation suppresses liver regeneration and function.

研究分野：栄養生化学 皮膚科学

キーワード：紫外線 皮膚 肝臓 アミノ酸 グルタチオン BCAA コレステロール

1. 研究開始当初の背景

皮膚には、表皮と真皮が存在し、表皮には、表皮細胞、色素細胞などが存在する。表皮細胞ではセラミド合成のためにセリン、色素細胞ではメラニン合成のためにチロシンが重要な基質となっている。真皮には、繊維芽細胞とともに、この細胞が代謝するコラーゲン、エラスチン、ヒアルロン酸が大きな割合を占める。コラーゲン、ヒアルロン酸代謝は、摂取するアミノ酸の質によって大きく変動する^{1,2)}。

アミノ酸は、タンパク質の構成成分としてだけでなく、尿素合成や、mammalian Target of Rapamycin (mTOR) の活性化因子であり、生理活性物質としての役割を担うことが明らかとなっている³⁾。各アミノ酸は、ビタミンなどのアミノ酸以外の物質にも変換されるとともに、他のアミノ酸に変換される。しかし、アミノ酸代謝の研究は、分子レベルでの研究を含めて、肝臓、骨格筋、脳、腎臓が主であり、皮膚に関する研究は少ない。

現在、オゾンホールが南極だけでなく、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。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増加などを亢進し、乾燥肌などの症状を惹起する。アミノ酸は天然保湿因子として、肌の潤いに大きく関わるが、紫外線被曝がアミノ酸代謝にどのような影響を与えるのかわかっていない。

2. 研究の目的

本研究では、紫外線被曝によるアミノ酸代謝への影響を皮膚、肝臓、骨格筋において、分子レベルで比較し、皮膚と他臓器との違いを明らかにし、そのメカニズムを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

6週齢の雌性 Hos:HR-1 ヘアレスマウスに 1.6J/cm² (翌日赤みを帯びる程度の照射量) になるように UVB を照射し、24 時間後に背部皮膚、肝臓、骨格筋を採取、-80 にて保存した。なお、動物実験に当たっては、東京農業大学の倫理委員会によって定められた、実験動物の飼育及び取扱いガイドラインに従った。

皮膚、肝臓、骨格筋から ISOGEN を用いて RNA を抽出した。

各臓器の RNA を DNA マイクロアレイ (Agilent2100 バイオアナライザ) に供した。

mRNA 量測定は、RNA を cDNA に逆転写後、Real time PCR 法 (StepOnePlus) にて測定した。

皮膚、肝臓におけるメタボローム解析は、皮膚および肝臓の組織を CE-TOF/MS に供し、代謝物の網羅的解析を行い、CE-TOF/MS により検出されたピーク面積値を相対的面積値

に変換し、アミノ酸および代謝関連分子の変動を解析した。

4. 研究成果

皮膚への UVB 照射後の各臓器の mRNA 量変化量を検討したところ、肝臓の変動量は、皮膚ほどではないが大きかった。骨格筋は肝臓よりも変動が小さかった (図 1)

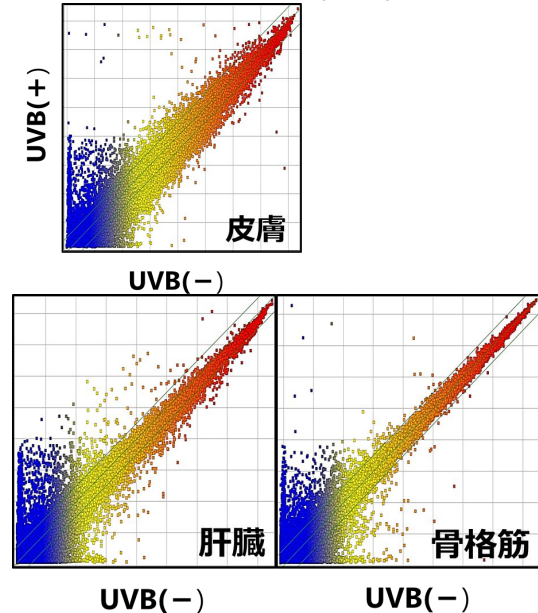


図1 各臓器での UVB 照射有無での mRNA 量の変動

次にアミノ酸に着目し、メタボローム解析を行った結果、20 種類のアミノ酸のうち、UVB 非照射に対し、照射において皮膚ではグルタミン酸、システインが有意に増加した。肝臓では、グルタミンおよびアラニンが有意に増加、バリン、ロイシン、イソロイシン、リシン、トレオニンが有意に減少した。皮膚および肝臓で変動したアミノ酸には一致したものはなかった (図 2)。

皮膚においては、グルタミン酸、システインおよびグリシンのトリペプチドであるグルタチオンが顕著に UVB 照射で増加した。この変動は、肝臓では認められなかった (図 3)。そこで、グルタチオン合成酵素 mRNA 量をみたところ、変動は認められず、一方、分解酵素である γ -glutamyltransferase および cysteinylglycine dipeptidase の発現量が減少傾向を示した。また、グルタミンからグルタミン酸への合成酵素 (GLS)、システインからタウリンへの合成酵素の発現量が減少傾向を示していた。皮膚でのタウリン量は有意に減少していた。

このことから、UVB 照射によりグルタチオンが皮膚に蓄積したメカニズムとして、分解酵素量の減少による可能性が考えられた。また、タウリン合成酵素の減少がタウリン量を減少させ、このことがシステインを蓄積させ、GLS の発現量の増加がグルタミン酸を増加させたと考えられた。システインはグルタミン

酸やグリシンよりも存在量が少ないためグルタチオン合成の律速となっているアミノ酸であり、システインの増加は少量ではあるもののグルタチオンを増加させた要因であると考えられる。さらにタウリンは皮膚において、浸透圧調整や保湿、創傷治癒に関わる分子であり、UVB 照射にタウリンの減少は皮膚機能の低下を引き起こす可能性が示唆された。

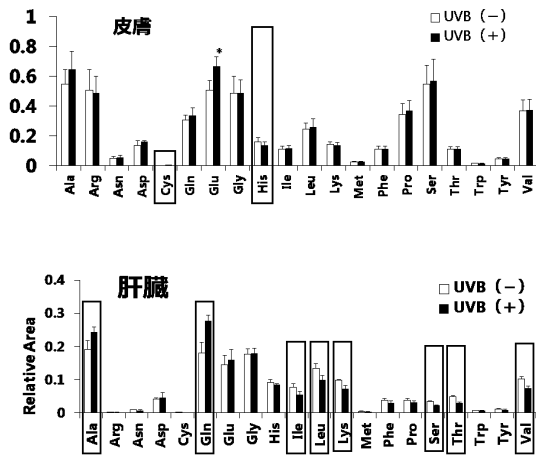


図2 皮膚、肝臓における UVB 照射有無によるアミノ酸量の変動

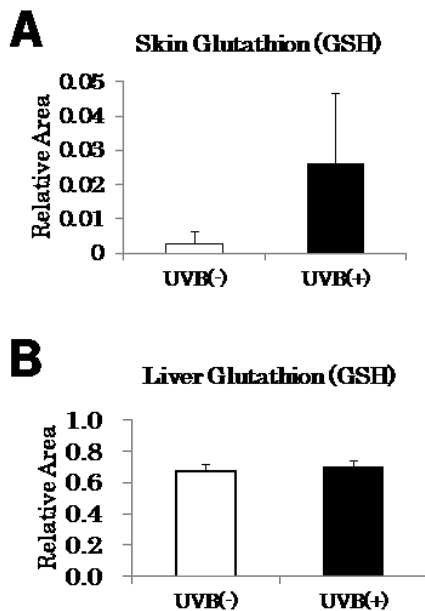


図3 皮膚および肝臓における UVB 照射有無によるグルタチオン量の変動

肝臓においては、分岐鎖アミノ酸 (BCAA) であるバリン、ロイシン、イソロイシン量が減少した。その原因を検討するべく、BCAA の分解系に関わる酵素の mRNA 量を測定した。

BCAA は、branched chain aminotransferase で分岐鎖 α -ケト酸、活性型 branched chain ketoacid dehydrogenase でさらに分解される。これらの酵素の mRNA 量は UVB 照射で減少傾向が認められ(表 1)、分解系が促進されていることはなかった。よって、BCAA の減少に分解系酵素が関わっている可能性は低いと考えている。

表1 BCAA 分解系に関わる酵素の UVB 照射による影響

Gene Name	Gene Symbol	Fold Change
branched chain aminotransferase	Bcat	0.75
branched chain ketoacid dehydrogenase	Bckdh	0.76
branched chain ketoacid dehydrogenase kinase	Bckdk	0.96

肝臓コレステロール代謝に関わる遺伝子等が UVB 照射によって変動した。UVB 照射によってコレステロール量は増加し、コール酸も増加した。しかし、コレステロール合成に関わる HMG-CoA 還元酵素 mRNA 量は変動していなかった。一方、コレステロール異化に関わる CYP7A1 は減少していた。このことから、コレステロール量の増加は、CYP7A1 の減少により、異化が抑制されていたためと考えられた。一方、コール酸の増加に関しては、今後血中の胆汁酸量の測定などを行い、解明していく予定である。

以上の結果から、皮膚への紫外線照射は、皮膚だけでなく、肝臓での mRNA 量にも影響を与えることが明らかになった。我々のこれまでの研究から、紫外線は、肝臓の IL-6、急性期タンパク質などを上昇させることも分かっている⁴⁾。皮膚だけでなく、他の臓器の機能を守る意味でも紫外線の過剰の被曝は避けることが良いと考えられた。今後は、肝臓だけでなく、他の臓器への影響についても検討していきたい。

<引用文献>

- 1) Oishi Y, Kato H, Noguchi T. Dietary protein as a potent regulator of the hyaluronan synthase gene in rat skin. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 67, 736-742 (2003),
- 2) Oishi Y, Fu Z, Ohnuki Y, Kato H, Noguchi T. Effects of protein deprivation on alpha1(I) and alpha1(III) collagen and its degrading system in rat skin. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 66, 117-126(2002)
- 3) 岸恭一、西村敏英監修、(社)日本必須アミノ酸協会編、タンパク質・アミノ酸の科学、工業調査会 144-149, (2007)
- 4) Matsui S, Yamane T, Kobayashi-Hattori K, Oishi Y, Ultraviolet B irradiation reduces the expression of adiponectin in ovarian adipose tissues through endocrine actions of calcitonin gene-related peptide-induced serum amyloid A. *PLoS One*, 9, e98040 (2014)

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 9 件)

Yamane T, Morioka Y, Kitaura Y, Iwatsuki K, Shimomura Y, Oishi Y., Branched-chain amino acids regulate type I tropocollagen and type III tropocollagen syntheses via modulation of mTOR in the skin., *Biosci Biotechnol Biochem.*, 査読有, 82 巻, 611-615 (2018) doi: 10.1080/09168451.2017.1386084.

Yoshizaki T, Kimira Y, Mano H, Ota M, Iwatsuki K, Oishi Y., Yamane T., Association between Skin Condition and Sleep Efficiency in Japanese Young Adults., *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 査読有, 63 巻, 15-20 (2017) doi: 10.3177/jnsv.63.15.

Yamane T, Muramatsu A, Yoshino S, Matsui S, Shimura M, Tsujii Y, Iwatsuki K, Kobayashi-Hattori K, Oishi Y., mTOR inhibition by rapamycin increases ceramide synthesis by promoting transforming growth factor- β 1/Smad signaling in the skin., *FEBS Open Bio.*, 査読有, 6 巻, 317-325 (2016) doi: 10.1002/2211-5463.12039

Yamane T, Muramatsu A, Shimura M, Kobayashi-Hattori K, Oishi Y., Transforming growth factor- β 1 induces cholesterol synthesis by increasing HMG-CoA reductase mRNA expression in keratinocytes. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 査読有, 80 巻, 1379-1381 (2016) doi: 10.1080/09168451.2016.1153960.

Tominaga M, Momonaka Y, Yokose C, Tadaishi M, Shimizu M, Yamane T, Oishi Y., Kobayashi-Hattori K., Anorexic action of deoxynivalenol in hypothalamus and intestine., *Toxicon.*, 査読有, 118 巻, 54-60 (2016) doi: 10.1016/j.toxicon.2016.04.036

Yoshino S, Nakagami G, Ohira T, Kawasaki R, Shimura M, Iwatsuki K, Sanada H, Kobayashi-Hattori K, Oishi Y., Yamane T., Hydrocellular foam dressing increases the leptin level in wound fluid., *Wound Repair Regen.*, 査読有, 23 巻, 703-710 (2015) doi: 10.1111/wrr.12349.

Yamamoto J, Yamane T, Oishi Y., Shimizu M, Tadaishi M, Kobayashi-Hattori K., Chrysanthemum promotes adipocyte differentiation, adiponectin secretion and glucose uptake., *Am J Chin Med.*, 査読有, 43 巻,

255-67(2015) doi: 10.1142/S0192415X15500172.

Yamamoto J, Tadaishi M, Yamane T, Oishi Y., Shimizu M, Kobayashi-Hattori K., Hot water extracts of edible *Chrysanthemum morifolium* Ramat. exert antidiabetic effects in obese diabetic KK-Ay mice., *Biosci Biotechnol Biochem.*, 査読有, 79 巻, 1147-1154 (2015) doi: 10.1080/09168451.2015.1008975

Yamamoto J, Yamane T, Oishi Y., Kobayashi-Hattori K., Perfluorooctanoic acid binds to peroxisome proliferator-activated receptor γ and promotes adipocyte differentiation in 3T3-L1 adipocytes., *Biosci Biotechnol Biochem.* 79 巻, 査読有, 185-189 (2015) doi: 10.1080/09168451.2014.968088

[学会発表](計 20 件)

山根拓実、秋葉萌子、勝亦祥己、佐藤珠美、岩槻健、大石祐一、摂取するタンパク質のアミノ酸スコアが創傷治癒に及ぼす影響、日本栄養・食糧学会(2018)

中嶋ちえみ、神元健児、美谷島克宏、山根拓実、大石祐一、岩槻健、蛍光胆汁酸を利用した新規膵管可視化法の開発、日本農芸化学会 2018 年度大会(2018)

山根拓実、金野俊介、岩槻健、大石祐一、飢餓が皮膚中ヒアルロン酸合成に及ぼす影響、日本農芸化学会 2018 年度大会(2018)

戸田怜花、岩立紗恵、潮泉希、中口恵理子、真下なつみ、山根拓実、岩槻健、大石祐一、卵殻膜ペプチドの摂取による皮膚への影響、日本栄養・食糧学会(2018)

山根拓実、石井穂波、小坂橋美帆、岩槻健、大石祐一、授乳期に摂取するタンパク質の量及び質が仔マウスの皮膚に及ぼす影響、日本栄養・食糧学会(2017)

岩槻健、難波みつぎ、熊木俊佑、大木淳子、今井啓雄、山根拓実、大石祐一、霊長類味蕾オルガノイド培養系の確立、日本農芸化学会 2017 年度大会(2017)

大石祐一、安田恵理、川崎瑠以、山根拓実、岩槻健、大庭崇嗣、諸富勝成、コゴミエキスの皮膚繊維芽細胞および表皮細胞に与える影響、日本食品科学工学会(2016)

大木淳子、坂下陽彦、山根拓実、松本征仁、大石祐一、岩槻健、オルガノイド培養系を用いた消化管内分泌細胞の解析、日本食品科学工学会(2016)

奥本貴裕、石田康晃、加藤由依、山根拓実、岩槻健、大石祐一、紫外線照射による皮膚のアミノ酸代謝に及ぼす影響、日本食品科学工学会(2016)

岩槻健、粟飯原永太郎、Jiang Peihua、大木淳子、山根拓実、松本征仁、大石祐

二、消化管オルガノイドを用いた新たな消化管栄養素受容細胞の解析、日本栄養・食糧学会 (2016)

川崎瑠以、熊澤悠、岩槻健、大石祐二、山根拓実、タンパク質栄養悪化に伴う Wnt シグナルの変動による皮膚中 I 型コラーゲン合成への影響、日本栄養・食糧学会 (2016)

山根拓実、吉崎貴大、君羅好史、岩槻健、大石祐二、食生活状況及び身体の健康が若年層における皮膚機能に及ぼす影響、日本農芸化学会 2016 年度大会 (2016)

大木淳子、熊木竣佑、小村汐里、山根拓実、松本征仁、大石祐二、粟飯原永太郎、岩槻健、オルガノイド培養系を用いた消化管インクレチン分泌細胞の同定、日本農芸化学会 2016 年度大会 (2016)

岩槻健、大木淳子、熊木竣佑、山根拓実、Jiang Peihua、大石祐二、オルガノイド培養系を用いた味蕾および消化管の機能解析、日本農芸化学会 2016 年度大会 (2016)

川崎瑠以、岩槻健、大石祐二、山根拓実、タンパク質欠乏期間の違いにおける皮膚中 I 型コラーゲン合成への影響、日本アミノ酸学会 (2016)

奥本貴裕、石田康晃、加藤由依、山根拓実、岩槻健、大石祐二、UBV 照射が肝臓の BCAA に及ぼす影響、日本アミノ酸学会 (2016)

森岡由夏、岩槻健、大石祐二、北浦靖之、下村吉治、山根拓実、分岐鎖アミノ酸 (BCAA) が皮膚機能に及ぼす影響、日本農芸化学会 2016 年度大会 (2016)

志村茉莉、岩槻健、大石祐二、山根拓実、タンパク質栄養の悪化による滲出液の成分変化が創傷治癒に与える影響、日本農芸化学会 2016 年度大会 (2016)

上岡美沙、山根拓実、岩槻健、大石祐二、食餌中のタンパク質の質の違いが創傷治癒に及ぼす影響、日本農芸化学会 2016 年度大会 (2016)

Yamamoto J, Tadaishi M, Yamane T, Oishi Y, Shiizu M, Kobayashi-Hattori K, Hot water extract of edible chrysanthemum morifolium rammat. Exert antidiabetic effects in obese diabetic KK-Ay mice. 12th Asian Congress of Nutrition (2015)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大石 祐一 (Oishi, Yuichi)
東京農業大学・応用生物科学部・教授
研究者番号：00313073

(2) 研究協力者

奥本 貴裕 (Okumoto, Takahiro)