

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 1 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K01848

研究課題名（和文）XVIII型コラーゲンに注目した皮膚基底膜の老化機構の解明

研究課題名（英文）The functions of collagen XVIII in skin aging

研究代表者

百田 龍輔（Momota, Ryusuke）

岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：80263557

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：ヒトの皮膚で発現している遺伝子の中から、加齢と共に発現が有意に変化する遺伝子群を網羅的に解析し、影響が及ぶ生物学的経路（RNAの転写、スプライシング、膜貫通型糖タンパク、リポタンパク、ミトコンドリア、表皮の角化、微小管形成）を明らかにした。三次元皮膚培養系により、植物のある成分によりUVによるダメージを軽減できることがわかった。また、簡便な方法を用いて、皮膚のXVIII型コラーゲン、IV型コラーゲン、幼弱な上皮細胞を検出する方法と定量的に評価するスクリプトを確立することができた。皮膚の拡大画像とこれらの検出方法を組み合わせた人工知能のプロトタイプを作成した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

人体で最大の臓器であり、社会との境界にある皮膚を若々しく健康に保つことは、肉体的・精神的な自信となり外出頻度の増加、筋力増加と認知症の予防につながる。ヒトの皮膚で発現している遺伝子の中から、加齢と共に発現が有意に変化する遺伝子群を網羅的に解析し、影響が及ぶ生物学的経路を明らかにした。植物のある成分によりUVによるダメージを軽減できることがわかった。また、非侵襲的に幼弱な上皮細胞の検出方法を確立することができた。今後、これらの知見を生かして新たなスキンケア方法、皮膚の加齢・ダメージの指標、肉眼では判別が難しい皮膚の細胞・組織レベルでの機能低下を予知する人工知能の開発が可能となる。

研究成果の概要（英文）：We analyzed transcriptomic data of human skin to find transcripts whose expression levels showed significant changes in age-dependent manner. These transcripts involve in biological functions such as RNA transcription, splicing, transmembrane, lipoproteins, mitochondrial components, epithelial keratinization, and microtubules. We found that fresh unripe peach extract significantly improved mRNA levels and partially localizations of basement membrane components. We had established a very simple less invasive method to detect collagen types XVIII and IV. In addition, we had established a method to detect immature epidermal cells which appear during barrier formation after skin damage and wrote a computational script for quantification.

研究分野：解剖学、分子生物学、人工知能

キーワード：XVIII型コラーゲン 皮膚 加齢 基底膜 人工知能 トランスクリプトーム

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

団塊世代が後期高齢者となる今後 10 年間、世界に例を見ない高齢化社会を迎える日本において、介護・医療費の急増を抑えるためにも健康寿命を延ばすことは急務である。人体で最大の臓器であり、社会との境界にある皮膚を健康に保つことは、高齢者の肉体的・精神的な自信となり外出頻度も増加し、筋力増加と認知症の予防につながる。

構造的によく似た XV/XVIII 型コラーゲン分子は基底膜に存在し、マルチプレキシンファミリーを構成する。これまでの研究より、XVIII 型コラーゲン遺伝子が網膜変性を起こす Knobloch 症候群(KN01:OMIM#267750)の原因遺伝子であること(Fukai 等,2002)、XV 型コラーゲン欠損マウスでストレスによる筋変性・心機能低下が見られたこと (Eklund 等, 2001; Rasi 等,2010)から、XV/XVIII 型コラーゲンは網膜や筋組織で重要であることが分かった。私達のグループは基底膜成分 XVIII 型コラーゲン分子がヒト表皮下基底膜に存在すること、そしてショウジョウバエ XVIII 型コラーゲン相同分子の変異体で加齢に伴い著しくミトコンドリア機能が低下することなどを報告した(Momota 等, 2011;2013)。

このように、XVIII 型コラーゲンは表皮下基底膜で顕著に存在するにも関わらず、KN01 患者や欠損マウスで顕著な症状が見られないため、あまり検討されておらず皮膚におけるその役割は不明であった。

## 2. 研究の目的

本研究は、XVIII 型コラーゲンの変化が皮膚の老化を進める原因の一つであるとの仮説に基づき、XVIII 型コラーゲンの変化が皮膚の細胞に与える影響を検討し、簡便な皮膚のダメージ診断法と皮膚の老化予防法の開発を目指す。

すなわち、

1. 加齢皮膚における XVIII 型コラーゲンタンパク局在の検討
2. XVIII 型コラーゲン遺伝子改変動物を用いた検討
3. 非侵襲的な XVIII 型コラーゲン検出法の開発
4. 加齢皮膚マーカー分子の検索とそれらを用いた非侵襲的な皮膚診断法の開発

## 3. 研究の方法

ヒト皮膚標本を用いて、XVIII 型コラーゲンや IV 型コラーゲンなどの遺伝子発現、分子の分布が年齢と共にどのように変化するか検討する。

公開されている公的大規模遺伝子発現データベースにあるトランスクリプトームの情報から、皮膚のデータを抽出し、各標本の年齢・光照射など利用可能な属性データと結合し、加齢・光照射で遺伝子発現量に統計的に有意差がある転写産物を検索し、それらが関与する生物学的経路の検索を行う。

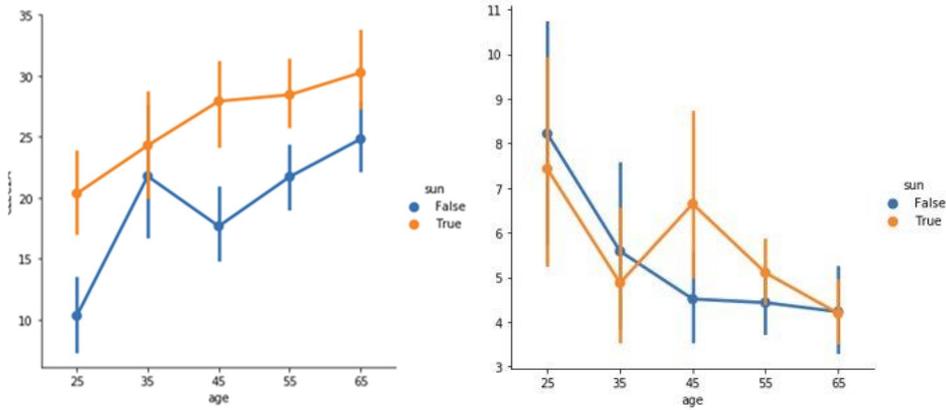
さらに、これらの加齢感受性の高い転写産物のつくるタンパクを、皮膚の加齢マーカー候補としてダメージを見積もる方法の開発をすすめる。

## 4. 研究成果

大規模トランスクリプトームデータの結果から、XVIII 型コラーゲンの発現が真皮と表皮でど

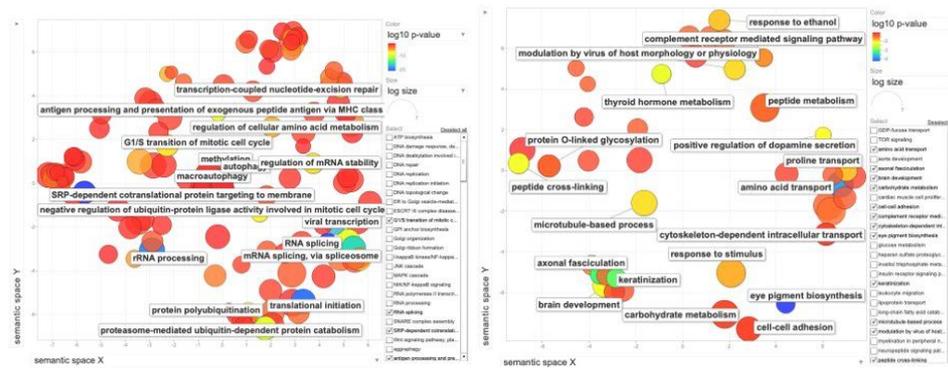
のように異なるか比較・検討を行った。その結果、光照射部位における真皮の XVIII 型コラーゲンの遺伝子発現が年齢と共に減少することがわかった。また、植物のある成分により UV によるダメージを軽減できることがわかった。

皮膚で発現する 56000 の転写産物から加齢に伴い統計的に差を生じる遺伝子群を抽出した (図 1 : 年齢とともに上昇 (左) 下降 (右) する転写産物の例)。



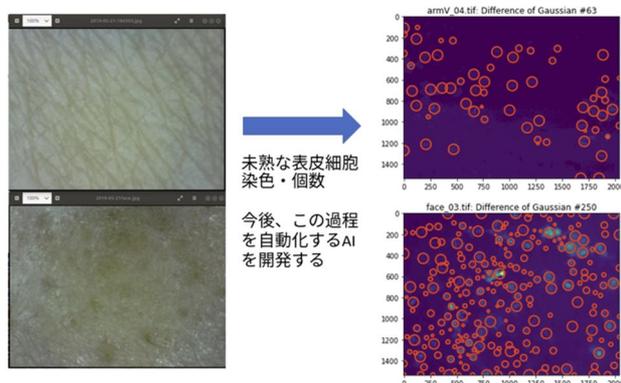
(図 1)

それぞれの遺伝子の GO タームから加齢と共に変化する生物学的な機能を明らかにした。これによると、RNA の転写、スプライシング、膜貫通型糖タンパク、リボタンパク、ミトコンドリア、角化、微小管などに関わる遺伝子が加齢と共に変化する事がわかった (図 2 : 年齢とともに上昇 (左) 下降 (右) する遺伝子群の生物学的機能を REVIGO により可視化した例)。



(図 2)

また、簡便な方法を用いて、皮膚の XVIII 型コラーゲン、IV 型コラーゲン、幼弱な上皮細胞を検出する方法と定量的に評価するスクリプトを確立することができた。皮膚の拡大画像とこれらの検出方法を組み合わせた人工知能のプロトタイプを開発を進めている (図 3)。これにより、スマートフォン等で簡単に正確な皮膚のダメージを見積もることが可能となる事が期待される。



(図 3)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tomoko Yonezawa, Ryusuke Momota, Hideki Iwano, Steven Zhao, Tomohiro Hakozaiki, Chieko Soh, Shigetoyo Sawaki, Kazumi Toyama, Toshitaka Oohashi	4. 巻 18(5)
2. 論文標題 Unripe peach (Prunus persica) extract ameliorates damage from UV irradiation and improved collagen XVIII expression in 3D skin model	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Cosmetic Dermatology	6. 最初と最後の頁 1507-1515
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) DOI: 10.1111/jocd.12841	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 該当する

1. 著者名 Taishi Komori, Mitsuaki Ono, Emilio Satoshi Hara, Junji Ueda, Ha Thi Thu Nguyen, Ha Thi Nguyen, Tomoko Yonezawa, Takahiro Maeba, Aya Kimura-Ono, Takeshi Takarada, Ryusuke Momota, Kenji Maekawa, Takuo Kuboki, Toshitaka Oohashi	4. 巻 8(1)
2. 論文標題 Type IV collagen 6 chain is a regulator of keratin 10 in keratinization of oral mucosal epithelium	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific reports	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) DOI: 10.1038/s41598-018-21000-0	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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Tomoko Yonezawa, Ryusuke Momota, Hideki Iwano, Steven Zhao, Tomohiro Hakozaiki, Chieko Soh, Shigetoyo Sawai, Kazumi Toyama, Toshitaka Oohashi
2. 発表標題 Effects of unripe peach extract on gene expression and histological localization in UVB irradiated 3D skin model
3. 学会等名 第50回日本結合組織学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ryusuke Momota, Tomoko Yonezawa, Toshitaka Oohashi, Zenzo Isogai
2. 発表標題 Transcriptional changes of the skin during aging process
3. 学会等名 第51回日本結合組織学会学術大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

[アウトリーチ活動] 岡山市ふれあい公社 ふれあいシニアカレッジ  
百田龍輔 演題 シニアのための解剖生理学  
[http://www.okayama-fureai.or.jp/sitetop1/kousha\\_top/topics/R1\\_shiniakk.html](http://www.okayama-fureai.or.jp/sitetop1/kousha_top/topics/R1_shiniakk.html)  
2020.2.4

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
研究分担者	大塚 愛二 (OHTSUKA AIJI) (50168986)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授  (15301)	
研究分担者	大橋 俊孝 (OOHASHI TOSHITAKA) (50194262)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授  (15301)	
研究分担者	内藤 一郎 (NAITO ICHIRO) (60362993)	岡山大学・医学部・客員研究員  (15301)	
研究協力者	磯貝 善蔵 (ISOGAI ZENZO) (20285208)	国立研究開発法人国立長寿医療研究センター・病院・部長  (83903)	
研究協力者	竹田 哲也 (TAKEDA TETSUYA) (30302368)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教  (15301)	