

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：10106

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K02370

研究課題名(和文) 二酸化チタンによる皮膚の酸化ストレス障害と天然抗酸化物質による予防

研究課題名(英文) Titanium dioxide-induced oxidative stress damage to skin and prevention with natural antioxidants

研究代表者

新井 博文(Arai, Hirofumi)

北見工業大学・工学部・教授

研究者番号：70295848

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)：日焼け止めなどの化粧品に含まれる二酸化チタン(TiO₂)ナノ粒子は、その被膜が十分ではない場合、UV照射によって活性酸素種(ROS)を放出し、皮膚の酸化ストレスの原因となる。本研究は、TiO₂/UVによる酸化ストレスを抑制する抗酸化物質を明らかにすることを目的とした。TiO₂/UVによる脂質およびタンパク質酸化in vitro実験および皮膚細胞実験条件を構築し、主要天然抗酸化物質の活性を評価したところ、ミリセチン等のフラボノール類に強い酸化ストレス抑制効果が認められた。TiO₂を含む化粧品へのフラボノール類の添加が、UVによる皮膚の酸化ストレス軽減に有効であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

被膜が十分ではないTiO₂ナノ粒子がUV照射によりROSを放出することについてはこれまで示唆されていたが、その抑制方法に関しては調べられていなかった。本研究では、TiO₂/UV誘導性酸化ストレスのin vitro評価系を確立し、これまで化粧品に用いられている抗酸化物質よりも天然物由来のフラボノール類がその抑制に有効であることを明らかにした。本研究の成果は、その抗酸化機能性を活かした化粧品の開発に資すると考えられる。培養細胞のバイアピリティーに対する影響も調べることにより、安全性の評価にもつながる。

研究成果の概要(英文)：Titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles in cosmetics such as sunscreens can release reactive oxygen species (ROS) upon UV irradiation if their coating is not sufficient, causing oxidative stress in the skin. The purpose of this study is to identify antioxidants that inhibit TiO₂/UV-induced oxidative stress.

The evaluation experimental systems of the suppressive activity of major natural antioxidants against TiO₂/UV-induced oxidation of lipids and proteins in vitro as well as oxidative stress of a skin cell line were established. We found that flavonols such as myricetin showed strong oxidative stress inhibitory activity, suggesting that the addition of flavonols to cosmetics containing TiO₂ is effective in reducing UV-induced oxidative stress in the skin.

研究分野：食品機能学

キーワード：二酸化チタン 紫外線 活性酸素種 化粧品 皮膚 抗酸化 細胞 ポリフェノール

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

(1) 二酸化チタンの化粧品素材としての利用

二酸化チタン (TiO_2) は、禁制帯をもつ半導体であり、短波長の UV を吸収すると価電子帯の電子が励起され、伝導帯に移行して自由電子となるとともに、価電子帯に正孔が生じる。この自由電子は周囲の酸素分子を還元し、スーパーオキシドが生成する。一方、正孔は周囲の水から解離した水酸化物イオンを酸化し、ヒドロキシラジカルが生成する。スーパーオキシドやヒドロキシラジカルなどの活性酸素種 (ROS) は反応性が高いため、光触媒作用を持つ塗料として利用されている。

TiO_2 は UV を強く吸収する一方で可視光は吸収しないことから日焼け止め作用を持つ化粧品素材として広く使われている。市販の化粧品に含まれるルチル型 TiO_2 ナノ粒子は、水酸化アルミニウム等で被膜されており、周囲の酸素や水から TiO_2 を遮断することで細胞傷害性がある ROS の生成が抑制されている。しかし、被膜された TiO_2 ナノ粒子でも UV 照射により微量の ROS を放出することが示唆されている。

(2) 活性酸素種による皮膚の障害

生体内で生成する ROS はさまざまな疾病の発症や老化への関与が示唆されている。スーパーオキシドは、スーパーオキシドジスムターゼにより過酸化水素に変換され、さらに遷移金属による分解反応を介してヒドロキシラジカルが生成される。ヒドロキシラジカルは、極めて反応性が高く、リノール酸等の不飽和脂肪酸から水素原子を引き抜くことで、連鎖的な脂質過酸化反応を誘導する。この一連の反応で脂質ヒドロペルオキシドが生成し、さらに遷移金属による二次分解反応によりアルデヒド類が生成する。脂質ヒドロペルオキシドやアルデヒドは、タンパク質のリジン、ヒスチジン、システイン残基に付加して機能障害をもたらす。したがって、日焼け止めに含まれるルチル型 TiO_2 ナノ粒子への UV 照射 (TiO_2/UV) によって放出されるスーパーオキシドなどの ROS は、皮膚の脂質過酸化およびタンパク質酸化を誘導し、炎症などを伴う皮膚障害を引き起こす恐れがある。

2. 研究の目的

本研究では、 TiO_2/UV によって誘導される皮膚の酸化ストレスを最も効果的に軽減する天然抗酸化物質を *in vitro* 実験系で探索し、その作用機序を明らかにすることを目的とした。また、培養細胞への酸化ストレスに対する天然抗酸化物質の効果についても検討した。

3. 研究の方法

(1) TiO_2/UV による脂質およびタンパク質酸化

オゾン層を通過して UV は、地表に到達する UV の 99% が UVA (315~400 nm) である。脂質の不飽和脂肪酸の主成分であるリノール酸をルチル型 TiO_2 とともに 37°C、pH 7.4 でインキュベートし、UVA を照射して経時的に生成する脂質ヒドロペルオキシドをロダン鉄法で定量した。さらに可溶性ヒトコラーゲンを加えて同様に TiO_2/UV で反応を誘導し、生成する酸化タンパク質を SDS-PAGE およびイムノブロットングによって分析した。また、 TiO_2/UV によって生成するヒドロキシラジカルを電子スピン共鳴 (ESR) によって測定した。

(2) TiO_2/UV による脂質過酸化およびタンパク質酸化に対する天然抗酸化物質の効果

(1) で確立した脂質およびタンパク質酸化条件に天然抗酸化物質を添加し、脂質過酸化およびタンパク質酸化に対する抑制活性を評価した。

(3) TiO_2/UV による皮膚細胞への酸化ストレスに対する天然抗酸化物質の効果

ヒト由来皮膚研究モデルとして用いられるヒト表皮角化細胞株 (HaCaT) に各種フラボノイドを加えて前培養した。(1) と同様に TiO_2/UV によって酸化ストレスを与え、(2) で高い活性が認められた天然抗酸化物質が細胞の生存率に及ぼす影響を調べた。

4. 研究成果

(1) TiO_2/UV による脂質およびタンパク質酸化

化粧品に一般的に用いられる 1,3-ブタンジオールを緩衝液に添加することによってリノール酸を反応溶液中に適切に分散することができた。UVA 照射波長は 365 nm が適しており、晴天時の自然光よりも低い強度の照射によって、検出可能量の脂質ヒドロペルオキシドおよび酸化タンパク質の生成を誘導することができた。反応溶液の構成成分（リノール酸濃度、1,3-ブタンジオール濃度、TiO₂濃度、抗酸化物質濃度、紫外線照射強度、紫外線照射時間）の条件を検討して最適な実験条件を確立した。TiO₂/UV に由来するヒドロキシルラジカルが ESR によって検出され、本実験系における脂質過酸化がラジカル連鎖反応で誘導されていることが示唆された。

(2) TiO₂/UV による脂質過酸化およびタンパク質酸化に対する天然抗酸化物質の効果

(1) で確立した TiO₂/UV による脂質およびタンパク質酸化の *in vitro* 実験条件を用い、アスコルビン酸、 α -トコフェロール、アスタキサンチン、カテキン、イソフラボン、フラボノールなどの主要抗酸化物質の活性を評価した。その結果、フラボノールの一種であるミリセチンに強い抗酸化活性があることが明らかとなった (図 1)。その作用機序の一つとして、TiO₂/UV が生ずる活性酸素種の一つであるヒドロキシルラジカルの捕捉反応が示唆された。

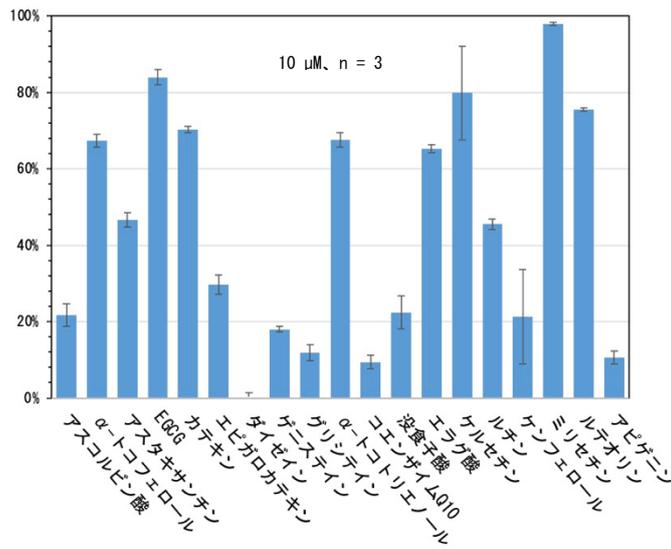


図 1. TiO₂/UV による脂質過酸化に対する天然抗酸化物質の効果 (4 時間酸化)

(3) TiO₂/UV による皮膚細胞への酸化ストレスに対する天然抗酸化物質の効果

TiO₂/UV 暴露によって、HaCat 細胞生存率の減少が認められた。フラボノール共存下では、細胞生存率の低下が抑制される傾向が認められた (図 2)。

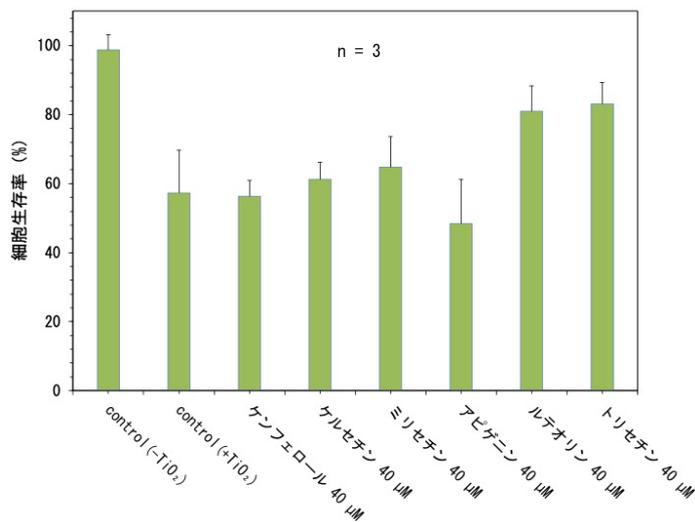


図 2. TiO₂/UV による細胞酸化ストレスに対する天然抗酸化物質の効果 (2 時間暴露)

(4) 結論

TiO₂ を含む化粧品へのフラボノール類の添加が、UV 暴露による皮膚の酸化ストレス軽減に有効であることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 H. Arai, J. Hara, S. Morisaki, S. Asano, N. Ohtsu, M. Takasugi
2. 発表標題 Effect of flavonoids on oxidation of lipid and protein mediated by titanium dioxide with ultraviolet rays
3. 学会等名 International Conference on Functional Materials and Chemical Engineering (国際学会)
4. 発表年 2019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
研究分担者	寺尾 純二 (Terao Jyunji) (60093275)	甲南女子大学・医療栄養学部・教授 (34507)	
研究分担者	高杉 美佳子 (Takasugi Mikako) (60305802)	九州産業大学・生命科学部・准教授 (37102)	

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
---------	---------