

令和 4 年 5 月 20 日現在

機関番号：23803

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K15792

研究課題名(和文)食品成分は皮膚線維芽細胞の化学感覚受容体を標的として肌老化を抑制する

研究課題名(英文)Anti-aging effect of food components via the regulation of chemosensory receptors expressed to dermal fibroblast.

研究代表者

寺田 祐子(Terada, Yuko)

静岡県立大学・食品栄養科学部・助教

研究者番号：80767632

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)：ヒト皮膚線維芽細胞における味覚・嗅覚関連受容体434種の発現を網羅的に解析し、13種類についてmRNAが高レベルに発現していることを明らかにした。それら受容体に対する食品・天然リガンドを、受容体発現細胞を用いて探索し、見出したリガンドを皮膚線維芽細胞に投与して、細胞外マトリクス産生に与える影響を解析することで、皮膚老化抑制効果を評価した。その結果、バラの香気成分であるゲラニオールが、嗅覚受容体の一種OR1A1の活性化を介して、コラーゲン産生を促進させる可能性が示唆された。分子メカニズムの解析により、コラーゲン産生の主要な経路であるTGFβ/smadシグナル経路が活性化されている可能性を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の遂行により、バラの香気成分であるゲラニオールが、皮膚線維芽細胞に発現する嗅覚受容体の一種OR1A1の活性化を介して、コラーゲン産生を促進させる可能性が示された。皮膚コラーゲンの減少は、シワ、シミの原因となることから、皮膚老化の抑制において、コラーゲン量を増加させることが重要である。本成果は、香り成分を活用した新たな機能性食品、化粧品、薬剤等への開発へとつながることが期待される。

研究成果の概要(英文)：The mRNA expression of 434 kinds of chemosensory receptors in the human normal dermal fibroblast was comprehensively analyzed by RT-PCR. The analysis showed that 13 of them were expressed at a high level. Receptor ligands for these receptors were screened using the receptors-expressing HEK cells and their anti-aging activity was tested on the human dermal fibroblast. Geraniol, a rose fragrance, was suggested to induce collagen synthesis via the activation of OR1A1, an olfactory receptor. Molecular biological analysis indicated that TGFβ/smad signal, one of the representative collagen synthesis pathways, was activated by geraniol.

研究分野：食品化学

キーワード：化学感覚受容体 皮膚老化 皮膚線維芽細胞 コラーゲン産生 嗅覚受容体 天然物

1. 研究開始当初の背景

高齢化社会の到来に伴い、見た目を若々しく保ちたいという“外面のアンチエイジング”への需要が高まっている。伝統的に皮膚老化抑制効果があるとされる食品は数多く存在するものの、いずれも有効性や作用メカニズムなどの科学的根拠が不足しているのが現状である。近年、口や鼻で食品の味・香り物質の受容を担う化学感覚受容体（温度感受性 TRP チャネル・味覚受容体・嗅覚受容体）が、皮膚細胞にも発現することが明らかとなりつつある。しかし、それら受容体を介した味、香り物質の皮膚細胞における機能性はほとんど明らかにされていない。

2. 研究の目的

皮膚細胞における化学感覚受容体（温度感受性 TRP チャネル・味覚受容体・嗅覚受容体）の発現プロファイルを網羅的に解析し、それら受容体を作用標的とした味、香り物質による皮膚老化抑制効果を解析することを目的とする。

3. 研究の方法

（1）皮膚細胞における化学感覚受容体の発現プロファイルの網羅的解析

日本人女性由来正常ヒト皮膚線維芽細胞を培養して mRNA を抽出し、リアルタイム RT-PCR 法を用いて、化学感覚受容体 434 種（味覚受容体 25 種、嗅覚受容体 384 種、TRP チャネル 25 種）の発現を網羅的に解析した。

（2）化学感覚受容体に対する天然物リガンドの探索

化学感覚受容体（温度感受性 TRP チャネル・味覚受容体・嗅覚受容体）を発現させた HEK 細胞を用い、Ca²⁺イメージングもしくは cAMP イメージング法により、受容体の活性化を評価した。

（3）皮膚線維芽細胞における化学感覚受容体リガンドの機能性解析

化学感覚受容体リガンドを皮膚線維芽細胞に投与し、細胞外マトリクス（コラーゲン、エラスチン、ヒアルロン酸）産生に関わる分子の発現変化をリアルタイム RT-PCR 法とエライザ法により解析した。

4. 研究成果

（1）皮膚細胞における化学感覚受容体の発現プロファイルの網羅的解析

日本人女性由来正常ヒト皮膚線維芽細胞から mRNA を抽出し、リアルタイム RT-PCR 法を用いて、化学感覚受容体 434 種（味覚受容体 25 種、嗅覚受容体 384 種、TRP チャネル 25 種）の発現を網羅的に解析した。その結果、味覚受容体 2 種、嗅覚受容体 5 種、TRP チャネル 6 種の mRNA が高レベルに発現していることが明らかとなった。

（2）化学感覚受容体に対する天然物リガンドの探索

化学感覚受容体（温度感受性 TRP チャネル・味覚受容体・嗅覚受容体）を発現させた HEK 細胞を用い、Ca²⁺イメージングもしくは cAMP イメージング法により、受容体の応答を定量的に評価できる測定系を構築した。続いて、食品、天然由来の味、香り物質から受容体リガンドをスクリーニングし、カンキツ精油、鶏卵卵白などから受容体リガンドを 16 化合物見出した。本研究では、化学感覚受容体に対するリガンドを探索し、見出したリガンドを皮膚細胞に投与して受容体の機能性解析を行うことから、受容体リガンドを効率的に探索するための手法の開発も行った。具体的には、発光タンパク質イクオリンを用いた受容体の応答評価系（図 1）、マイクロアレイに一細胞分取システムを組み合わせた応答受容体の迅速なスクリーニング技術（図 2）、*in silico* 機械学習モデルを用いた受容体リガンドの効率的な探索法の構築を行った。

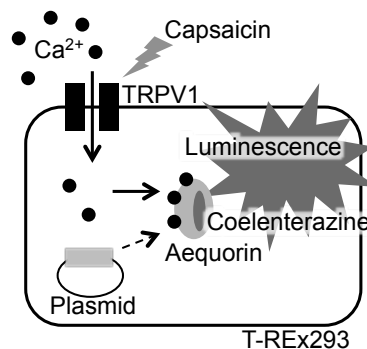


図 1 発光タンパク質イクオリンを用いた受容体の応答評価系

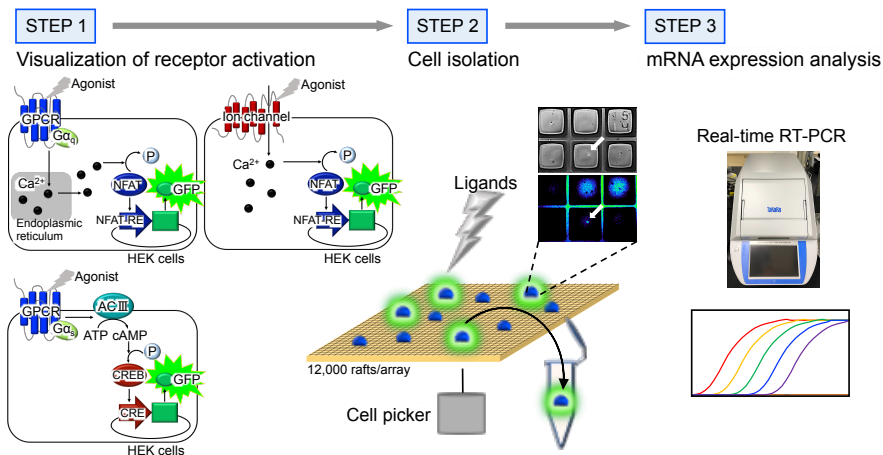


図2 マイクロラフトアレイに一細胞分取システムを組み合わせた応答受容体の迅速なスクリーニング技術

(3) 皮膚線維芽細胞における化学感覚受容体リガンドの機能性解析

化学感覚受容体（温度感受性 TRP チャンネル・味覚受容体・嗅覚受容体）のリガンドを皮膚線維芽細胞に投与し、細胞外マトリクス産生に関わる分子の発現変化をリアルタイム RT-PCR 法とエライザ法により解析することで、味、香り物質による皮膚老化抑制効果を解析した。その結果、嗅覚受容体 OR1A1 アゴニストであるバラ香気ゲラニオールが、I 型コラーゲン遺伝子 Col1A1, Col1A2 の mRNA 発現を増加させることを明らかにした（図3）。さらに、I 型コラーゲンタンパク質を検出するエライザ法を用いた測定においても、ゲラニオールによるコラーゲンタンパク質の増加効果が認められた。続いて、ゲラニオールによるコラーゲン遺伝子発現促進の分子機序を解析するため、RNA シークエンスとウェスタンブロットを用いた解析を行った。その結果、コラーゲン産生の主要な経路である TGFb/smad シグナル経路が活性化されている可能性を得た。

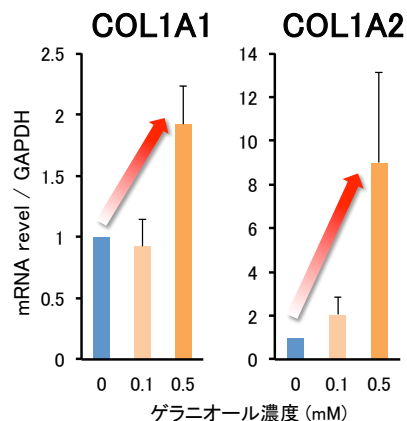


図3 ゲラニオールは皮膚線維芽細胞においてコラーゲン遺伝子の発現を増加させた。

これらの研究成果は、香り成分が皮膚に発現する嗅覚受容体を介して、コラーゲン産生を促進する可能性を示唆しており、香り成分を活用した機能性食品、化粧品、薬剤等への開発へとつながることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Terada Y, Tanaka K, Matsuyama M, Fujitani M, Shibuya M, Yamamoto Y, Kato R, Ito K	4. 巻 12
2. 論文標題 Collection of Data Variation Using a High-Throughput Image-Based Assay Platform Facilitates Data-Driven Understanding of TRPA1 Agonist Diversity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Applied sciences	6. 最初と最後の頁 1622
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/app12031622	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 -
1. 著者名 Tsuchiya S, Terada Y, Matsuyama M, Yamazaki-Ito T, Ito K	4. 巻 85
2. 論文標題 A new screening method for identifying chemosensory receptors responding to agonist	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioscience, biotechnology, and biochemistry	6. 最初と最後の頁 1521-1525
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/bbb/zbab035	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 -
1. 著者名 Matsuyama M, Terada Y, Yamazaki-Ito T, Ito K	4. 巻 10
2. 論文標題 A Luminescence-Based Human TRPV1 Assay System for Quantifying Pungency in Spicy Foods	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Foods	6. 最初と最後の頁 151
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/foods10010151	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 -
1. 著者名 Terada Y, Yamashita R, Ihara N, Yamazaki-Ito T, Takahashi Y, Masuda H, Sakuragawa S, Ito S, Ito K, Watanabe T.	4. 巻 83
2. 論文標題 Human TRPA1 activation by terpenes derived from the essential oil of daidai, Citrus aurantium L. var. daidai Makino.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioscience, biotechnology, and biochemistry	6. 最初と最後の頁 1721-1728
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/09168451.2019.1611405	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 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yoshino A, Yamanaka R, Tsuchiya S, Ito I, Terada Y, Ito K.
2. 発表標題 Expression and functional analysis of chemosensory receptors in normal human dermal fibroblasts
3. 学会等名 The 24nd Shizuoka Forum on Health and Longevity (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
---------	---------------------------	-----------------------	----

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