

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：82674

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K17697

研究課題名（和文）表皮角化のエピジェネティクス制御機構及びその加齢変化におけるビタミンCの意義

研究課題名（英文）Implications of vitamin C on epigenetic regulation of epidermal keratinization and its aging changes

研究代表者

佐藤 綾美（Sato, Ayami）

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター（東京都健康長寿医療センター研究所）・東京都健康長寿医療センター研究所・研究員

研究者番号：30897476

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：新生児ラット表皮角化細胞を用い、ビタミンC添加による遺伝子発現変化をTetノックダウンの有無により網羅的に解析した。その結果、コーニファイドエンベロープ（CE, cornified envelope）形成に関与する遺伝子群に顕著なmRNA発現の違いが認められた。CE形成は、皮膚バリア機能に重要である。本研究により、ビタミンCはエピジェネティクスを介したCE形成に関与する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、皮膚疾患の予防・治療や肌の老化防止に向けたビタミンCの表皮への新たな作用機構を明らかにした。また、将来的に表皮角化エピジェネティクスの理解を基にした皮膚疾患の診断や表皮再生医療の進展などの応用も期待できる。

研究成果の概要（英文）：We comprehensively analyzed gene expression changes induced by vitamin C in neonatal rat epidermal keratinocytes under Tet knockdown. We found significant differences in mRNA expression of genes involved in cornified envelope (CE) formation, which is important for skin barrier function. This study suggests that vitamin C may be involved in CE formation through epigenetics.

研究分野：食品機能学

キーワード：ビタミンC 表皮角化 エピジェネティクス

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、ビタミン C は DNA 脱メチル化酵素 Ten-eleven translocation (TET) の補因子であり、哺乳動物の発生や幹細胞の分化における遺伝子発現を制御することが報告された (DiTroia ら, Nature, 2019). DNA メチル化は、塩基配列中のシトシンの炭素 5 位にメチル基が付加される反応である。DNA の転写活性領域においてシトシンが高メチル化されると、転写因子が結合できず遺伝子発現が抑制される。しかし、ビタミン C 存在下、TET による脱メチル化により転写が可能となり、遺伝子が発現される。この DNA メチル化と脱メチル化による遺伝子制御機構は、細胞の分化や初期化、癌の発症などに重要な役割を果たす。DNA メチル化のように、DNA 塩基配列の変化を伴わない遺伝子発現制御機構は 'エピジェネティクス' と呼ばれ、突然変異と違って可逆的であることから、近年、新たな疾病予防・治療戦略の標的として期待されている。

表皮を構成する細胞の 95% を占める角化細胞は、基底細胞層で増殖し、基底層から遊離すると増殖から分化に転じる。基底層から分化した角化細胞は、有棘層、顆粒層、角層へと移行する。この過程を '角化' と呼び、最終分化までの角化を経た後、表皮表面から脱落する。このように、表皮は分化段階の異なる細胞が層状に配列した構造をもつ、ユニークかつ高次に制御された器官である。代表的な角化マーカーとして、角化細胞は基底層でケラチン K5/K14 を高発現している。分化に伴い有棘層ではケラチン K1/K10 を発現する。また、顆粒層ではロリクリンやフィラグリンが発現する。これらは、角化の段階を知る指標に用いられる。このように表皮では、遺伝子発現および分化が高度に制御されている。そのため、正常表皮の恒常性維持におけるエピジェネティクスの役割は大きいと考えられる。最近、皮膚疾患の一種である乾癬では、病変部のゲノム全体に DNA 高メチル化がみられることが報告された (Li ら, J Invest Dermatol., 2020)。また、加齢による罹患率の増加が大きい皮膚がんにおいて、エピジェネティクス異常が関係することが複数報告されている (Nobeyama ら, PLoS One, 2016; Sang Y ら, Dermatol Ther., 2019)。故に、皮膚疾患の発症には、DNA メチル化異常のようなエピジェネティクス制御の破綻が密接に関与すると考えられる。一方、正常な表皮角化における各分子のエピジェネティクスに注目した研究は極めて少ない。表皮角化はエピジェネティクスによりどのように制御されているのか、また、ビタミン C は TET の補因子として角化細胞の分化に必須なのかについては明らかではない。本研究では、研究期間内にこれらの点を重点的に明らかにすることを目的とした。

2. 研究の目的

本研究では、表皮角化のエピジェネティクス制御機構におけるビタミン C の意義を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、新生児ラット表皮角化細胞 (NRK, newborn rat keratinocyte) を用いた。ビタミン C の添加条件の検討として、WST-8 および LDH アッセイによる細胞毒性試験と HPLC による細胞内ビタミン C 定量解析を行った。また、ビタミン C 添加の有無によるゲノム全体の 5-メチルシトシン (5-mC) および 5-ヒドロキシメチルシトシン (5-hmC) レベルを DNA ドットプロット法にて調べた。さらに、ビタミン C 添加による遺伝子発現変化を Tet ノックダウンの有無により DNA マイクロアレイにより網羅的に解析した。また、複数のタイムポイントとして、培養時間 24, 96, 168, 264 h の 4 点でビタミン C 添加と非添加による遺伝子発現の違いを網羅的に解析した。角化関連遺伝子や DNA メチル化関連遺伝子の mRNA 発現は qPCR により解析した。同定された遺伝子群のタンパク質発現は Western blot 法により解析した。

4. 研究成果

ビタミン C の添加は、グローバル DNA の 5-hmC を有意に増加した。また、siRNA を用いた Tet ノックダウンにより、ビタミン C 添加による 5-hmC の増加は消失した。よって、表皮角化細胞において、ビタミン C は Tet を介した DNA 脱メチル化作用をもつことが示された。また、ビタミン C が Tet を介して発現を制御する遺伝子群として、Loricrin や Cornifelin などのコーニファイドエンベロップ (CE, cornified envelope) 形成に関与する遺伝子群を同定した。CE 形成は、水分保湿や微生物や細菌などの異物の侵入を防ぐ皮膚バリア機能に重要である。実際に、ビタミン C を添加した条件で培養を続けると、非添加群よりもそれらのタンパク質発現の増加が認められた。以上より、ビタミン C はエピジェネティクスを介した CE 形成に関与する可能性が示唆された。

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 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Sato Ayami, Takino Yuka, Yano Tomohiro, Fukui Koji, Ishigami Akihito	4. 巻 128
2. 論文標題 Determination of tissue-specific interaction between vitamin C and vitamin E <i>in vivo</i> using senescence marker protein-30 knockout mice as a vitamin C synthesis deficiency model	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 British Journal of Nutrition	6. 最初と最後の頁 993 ~ 1003
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1017/S0007114521004384	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 Doshida Yuta, Itabashi Mitsuyo, Takei Takashi, Takino Yuka, Sato Ayami, Yumura Wako, Maruyama Naoki, Ishigami Akihito	4. 巻 11
2. 論文標題 Reduced Plasma Ascorbate and Increased Proportion of Dehydroascorbic Acid Levels in Patients Undergoing Hemodialysis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Life	6. 最初と最後の頁 1023 ~ 1023
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/life11101023	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10件（うち招待講演 4件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 佐藤綾美
2. 発表標題 ビタミン C -なぜ摂る必要があるのか？-
3. 学会等名 第42回 都市高齢者の健康長寿医療研究会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ayami Sato, Yuka Takino, Tomohiro Yano, Koji Fukui, Akihito Ishigami
2. 発表標題 Tissue-specific interaction between vitamin C and vitamin E in senescence marker protein-30 knockout mice
3. 学会等名 22nd World Congress of Gerontology and Geriatrics (IAGG 2022)（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤綾美, 松井美緒, 滝野有花, 佐藤安訓, 斉藤紀克, 大澤肇, 石神昭人
2. 発表標題 ビタミンCによる表皮角化過程でのエピジェネティクス制御
3. 学会等名 日本ビタミン学会第74回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤綾美
2. 発表標題 ビタミンとエピジェネティクスに関する研究
3. 学会等名 第166回 ビタミンC研究委員会(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ayami Sato, Mio Matsui, Kanae Urasawa, Nanako Maeda, Yuka Takino, Yasunori Sato, Jaewon Lee, Akihito Ishigami
2. 発表標題 Epigenetic regulation by vitamin C in epidermal keratinization
3. 学会等名 第45回 日本基礎老化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 前田菜々子, 佐藤綾美, 滝野有花, 石神昭人
2. 発表標題 たばこ煙抽出液によるエピジェネティクスの変化に及ぼすビタミンCの影響
3. 学会等名 第95回 日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤綾美
2. 発表標題 Possibility of a new anti-aging mechanism of vitamin C
3. 学会等名 日本生理学会第100回記念大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐藤綾美, 矢野友啓, 福井浩二, 石神昭人
2. 発表標題 抗酸化ビタミン、CとEの不足が及ぼす生体への影響
3. 学会等名 第34回 日本酸化ストレス学会関東支部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐藤綾美
2. 発表標題 がん研究におけるエピジェネティクスとビタミンE類縁体
3. 学会等名 日本ビタミン学会第73回大会シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松井美緒, 浦澤佳苗, 佐藤綾美, 滝野有花, 佐藤安訓, 斉藤紀克, 大澤肇, 相垣敏郎, 石神昭人
2. 発表標題 ビタミンCによる表皮角化細胞のエピジェネティクス変化
3. 学会等名 日本ビタミン学会第73回大会
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
---------	---------