

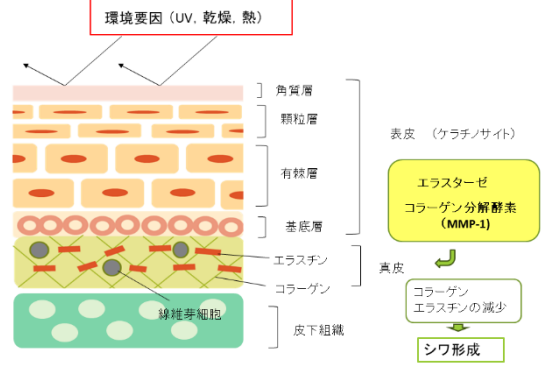
「しわ」や「たるみ」を予防・改善する 新しいスキンケア製品の開発

研究期間：2019～2023年

研究背景・目的

近年、オゾン層の破壊により、「しわ」や「たるみ」の原因となる紫外線量は増えている。また、「しわ」や「たるみ」などの肌トラブルは年齢とともに増加し、外出を控えたり、人と会うのがおっくうになるなど、運動不足や社会活動の減少を引き起こして、高齢者が家に引きこもる原因のひとつになっている。これらの「しわ」や「たるみ」は真皮のコラーゲンやエラスチンが分解されることにより生じることが知られている。しかし、真皮の約70%はコラーゲンで、エラスチンは数%であるにもかかわらず、現在市販されているシワ予防化粧品はエラスチンを分解するエステラーゼをターゲットとしており、コラーゲン分解酵素を（MMP-1）をターゲットとしているものはない。そこで、人々がいつまでも健やかに長生きできる「**健康長寿社会の実現**」に貢献するため、MMP-1の発現を抑制することにより、「しわ」や「たるみ」を予防・改善するスキンケア商品の開発を試みた。

皮膚の構造とシワ形成



実験概要

ヒト表皮細胞 (HaCaT) やノックアウトマウスを用いて、紫外線 (UV) や加齢によって誘導されるMMP-1発現メカニズムを調べた。その結果、PKC δ がMEKやERKを介して、老化やUVによるMMP-1の発現 (しわの形成) を正に調節することが明らかとなった (図1)。またDGK γ はPKC δ の活性を抑制し、MMP-1の発現 (しわの形成) を負に調節することが明らかとなった (図1)。

ついで、PKC δ を阻害あるいは、DGK γ を活性化することにより、MMP-1発現を抑制できる植物エキスを調べたところ、YとHなどが効果を示すことが明らかになった (特許出願)。

そこで、これらの植物エキスを含む化粧水、美容液、乳液を40代～60代約50名に1か月使用してもらったところ、シワ面積率及びシワの深さが有意に減少した (図3)。

現在、それぞれのエキスに含まれる有効成分の同定を試みている。

結果

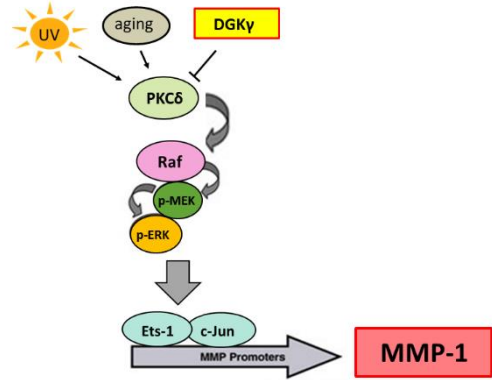


図1. UVなどによるMMP-1の発現機構

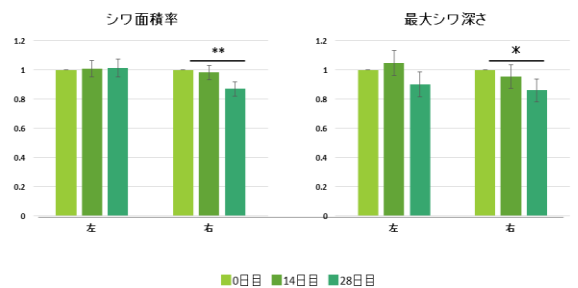


図2. ヒト試験結果

学会発表

- 1, ○近藤 可奈子、菊永 佐紀子、山之上 稔、上田 修司、菅澤 薫、白井 康仁
皮膚老化におけるDGK γ の機能解析、135回薬理学会近畿部会、2019年6月
- 2, ○近藤可奈子、菊永佐紀子、上田修司、山之上稔、白井康仁
皮膚の分化及び老化におけるDGK γ の機能解析、第60回 日本組織細胞化学会総会、
2019年9月

特許

- 1, マトリックスメタロプロテアーゼ1 発現抑制剤、皮膚外用剤、及びマトリックスメタロプロテアーゼ1 発現抑制のための使用

■案件番号：KP20-023PCT
出願番号：PCT/JP2021/039566
出願日：2021/10/26

■案件番号：KP20-023PCT-JP(日本)
出願番号：2022-559182
出願日：2021/10/26

■案件番号：KP20-023PCT-US(米国)
出願番号：18/033964
出願日：2021/10/26

共同研究先

(有) DSR、 神戸大学医学研究科皮膚科

日本の魅力ある動物資源の発掘とバリューチェーンの構築

研究期間：2021～2025年

研究背景・目的

近年、分析技術の向上は目覚ましく、様々な食品に含まれる微量な栄養成分や、食品組織の特性を科学的に分析し、その品質を客観的に評価することが可能となってきた。しかし、食品毎に生体組織の構造が異なり、栄養成分が偏在するため、食品に求められる価値に合わせた分析手法の選定と評価法の開発が必要であることも分かってきた。

我々は、共同利用可能な研究施設と産官学連携を図り、質量分析計や次世代シーケンサーなどの精密機器を活用した動物性食品の新しい品質評価の開発に取り組んでいる。

職人・生産者の経験



栄養成分、組織構造の数値化



広報・ブランド活動



商品化・バリューチェーンの開拓



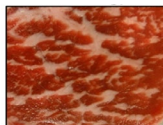
食資源の次世代継承に向けて、優れた研究技術を取り入れ新たな商流の構築を目指しています

実験概要

黒毛和種牛肉の脂質は、他の品種に比べて融点が低く、口溶けが良いことが知られている。これは牛肉の脂質の大半を占めるトリアシルグリセロールの脂肪酸に不飽和脂肪酸のオレイン酸が多く含まれているため、脂質分子間の結晶形成が立体的に抑えられるためと考えられる。

我々は、黒毛和種牛肉の牛肉に含まれる様々な脂質の分子種を液体クロマトグラフ質量分析計で解析した。牛肉に含まれる微量元素については、誘導結合プラズマ質量分析で解析し、アミノ酸、有機酸などの栄養成分はガスクロマトグラフ質量分析計で網羅的に解析した。 Ueda. et al., *Metabolites*. 12(9), 777.

豪州産Wagyu

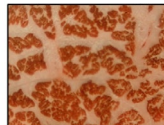


黒毛和種牛肉より抽出した牛脂



一般牛脂と黒毛和牛脂の違い

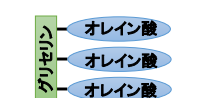
黒毛和種牛肉



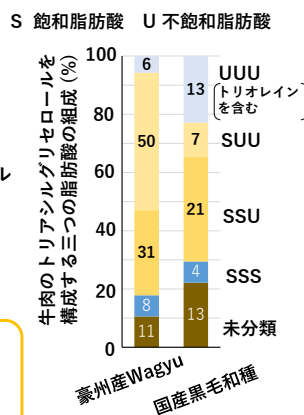
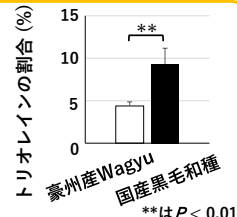
トリアシルグリセロールの構造



トリオレインについて



融点が氷点下であるため室温では脂が固化しない



外国産Wagyuに対して国産黒毛和種は融点の低いトリオレインなどのトリアシルグリセロールが多く含まれる

結果と考察

黒毛和種牛肉には脂質融点の低いトリオレインが多く存在し、豪州産Wagyuに比べて有意に多いことが示された。また、黒毛和種牛肉は微量元素のリチウム、ルビジウム、セシウム含量が豪州産Wagyuに比べて低いことが示された。本研究により、従来の遺伝子解析に加え、脂質、微量元素の違いによって黒毛和種牛肉の生産地の判別が可能であることが明らかとなった。

一方、牛肉は保管時の状態によって、筋組織の代謝（低温熟成）の影響によるアミノ酸、有機酸の増減が大きいことが示された。

現在は、黒毛和種牛肉を加熱調理した時に生じる甘い香りである和牛香（わぎゅうこう）の発生機序について、匂い成分分析と遺伝子解析の両面から取り組んでいる。

Wagyu Authentication: Omics analysis using mass spectrometry to determine the geographic production area of Wagyu cattle.

1. PCR analysis based on genetic background (DNA marker)
2. Lipid analysis based on fatty acids and triacylglycerides (oleic acid, palmitoleic acid, triolein)
3. ICP-MS analysis based on elements dependent on geographic region (Lithium, Rubidium, Cesium)

Triolein

Scientific Analysis Supporting Geographical Indications Protection

発表論文

- 1) Ueda S, Takashima Y, Gotou Y, Sasaki R, Nakabayashi R, Suzuki T, Sasazaki S, Fukuda I, Kebede B, Kadowaki Y, Tamura M, Nakanishi H, Shirai Y. (2022): Application of Mass Spectrometry for Determining the Geographic Production Area of Wagyu Beef. *Metabolites*. 12(9), 777.
- 2) Ueda S, Yoshida Y, Kebede B, Kitamura C, Sasaki R, Shinohara M, Fukuda I, Shirai Y. (2024): New Implications of Metabolites and Free Fatty Acids in Quality Control of Crossbred Wagyu Beef during Wet Aging Cold Storage. *Metabolites* 2024, 14(2), 95.
- 3) Ueda S, Hosoda M, Kasamatsu K, Horiuchi M, Nakabayashi R, Kang B, Shinohara M, Nakanishi H, Ohto-Nakanishi T, Yamanoue M, Shirai Y. (2022): Production of Hydroxy Fatty Acids, Precursors of γ -Hexalactone, Contributes to the Characteristic Sweet Aroma of Beef. *Metabolites*. Apr 6;12(4):332.
- 4) 上田 修司 「畜産物の品質評価、付加価値の向上に向けたメタボロミクス技術の応用に関する研究」日本食肉科学会報 食肉の科学 第64巻 第1号

学会発表

1. Ueda S, Gotou Y, Takashima T, Suzuki T, Kitamura C, Fukuda I, Shirai Y. ICoMST2023 Meeting, Padova, (Italy)
2. Ueda, S., Kitamura, C., Hosoda, M. Fukuda, I. and Shirai Y. ASCB/EMBO Meeting CELL BIO 2023, Boston, (USA)

共同研究先

1. 神戸大学大学院農学研究科 鈴木 武志 先生
2. 神戸大学大学院農学研究科 笹崎 晋史 先生
3. 神戸大学大学院医学研究科 篠原 正和 先生

研究費

1. 兵庫県COEプログラム推進事業
2. 日本中央競馬会畜産振興事業
3. 国産食肉等新需要創出緊急対策事業
4. 畜産物輸出特別支援事業
5. 大学発アーバンイノベーション神戸

細胞ストレスの低減に繋がる細胞保護機能の探索

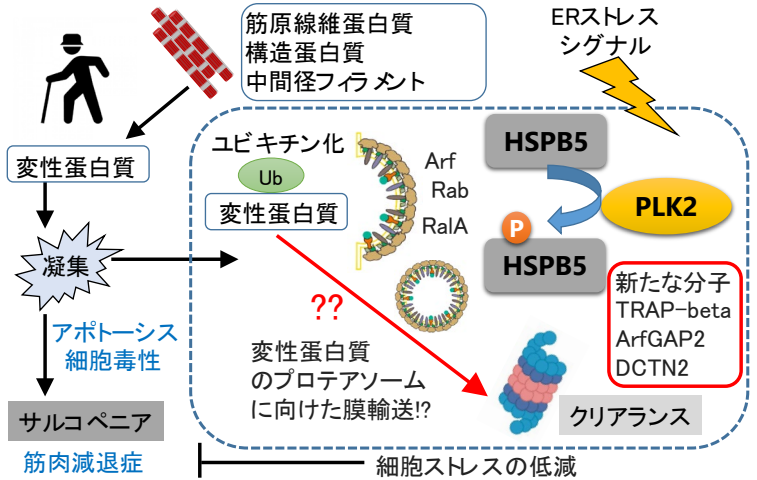
研究期間：2022～2024年

研究背景・目的

中高年以降になると、我々の細胞には数百も遺伝子変異が蓄積する。この加齢による変異蓄積は、細胞障害による変性蛋白質の増加の原因となり、細胞ストレスを高める。健康長寿の実現には、高齢者の筋肉減退症の原因となる変性蛋白質の蓄積を抑え、筋線維の頑強性を高めるアンチエイジング戦略が必要である。

低分子量ヒートショック蛋白質であるHSPB5は、骨格筋に多く存在し、細胞ストレスから生じる変性蛋白質を抑える働きがある。我々は、小胞体ストレス依存的に筋細胞内でHSPB5と相互作用するリン酸化酵素（PLK2）を発見した。

本研究では、HSPB5の役割の解明を通して、高齢者の筋肉減退症の予防機構を考案する。

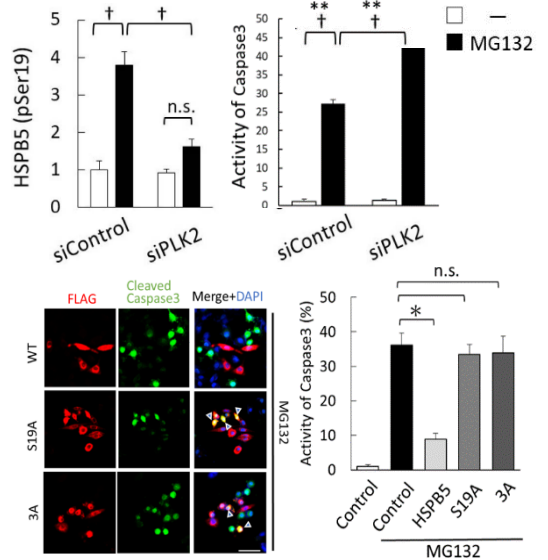


実験概要

筋細胞株L6細胞に、プロテアソーム阻害剤（MG132）を添加したところ、PLK2の発現が上昇し、PLK2をsiRNAでノックダウンすると、小胞体ストレスによるHSPB5のリン酸化（pSer19）が減少し、カスパーゼ-3の活性化によるアポトーシスが増加した。HSPB5（野生型）の過剰発現は、小胞体ストレスによるカスパーゼ-3の活性を抑制するのに対して、HSPB5のリン酸化部位をアラニンに置換したHSPB5（S19A）、およびトリプル変異体のHSPB5（3A）を過剰発現した細胞では、カスパーゼ-3の抑制が認められなかった。

これらの結果は、小胞体ストレスにおいてHSPB5のリン酸化の重要性を示しており、PLK2/HSPB5経路がプロテアソーム阻害による小胞体ストレスに対する細胞保護に何かしら不可欠な役割を果たしていることを示唆している。

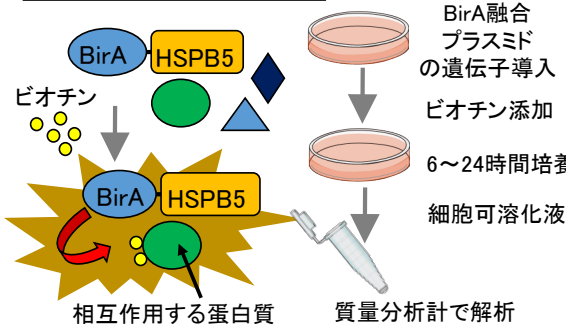
Ueda. et al., *Int. J. Mol. Sci.* 2022. 23(19), 11257



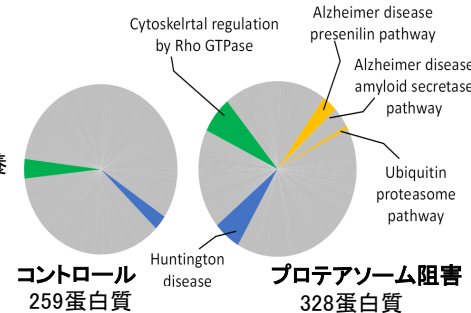
結果と考察

我々は、近接依存性標識法を用いて、HSPB5と結合する蛋白質を網羅的に探索し、PLK2以外にも、TRAP-beta、ArfGAP2、DCTN2などの結合蛋白質を明らかにしている。これらの蛋白質は膜輸送に関わることから、我々はHSPB5が膜輸送を介した変性蛋白質の回収と分解を行うことで細胞保護効果が発揮されると仮説を立てて、現在、研究を進めている。

近傍蛋白質のビオチン標識



HSPB5の結合蛋白質として検出された分子



また、我々は、これ以外にも、高齢者の筋細胞における細胞保護機能の研究のため、DNA複製阻害剤マイトマイシンCを用いた細胞老化モデルの作成を行っており、オメガ7系脂肪酸の栄養補助による筋肉減退の予防効果について取り組んでいる。

発表論文

- 1) Ueda S, Takashima Y, Gotou Y, Sasaki R, Nakabayashi R, Suzuki T, Sasazaki S, Fukuda I, Kebede B, Kadowaki Y, Tamura M, Nakanishi H, Shirai Y. (2022): Polo-Like Kinase 2 Plays an Essential Role in Cytoprotection against MG132-Induced Proteasome Inhibition via Phosphorylation of Serine 19 in HSPB5. *Int. J. Mol. Sci.* 23(19), 11257
- 2) Cheah JS, Jacobs KA, Lai TW, Caballelo R, Yee JL, Ueda S, Heinrich V, Yamada S. (2021): Spatial proximity of proteins surrounding zyxin under force-bearing conditions. *Mol Biol Cell.* 15;32(13):1221-1228.

学会発表

1. 桑田 夏希、火岡 優希、三谷 由芽乃、福田 伊津子、白井 康仁、上田 修司「HSPB5の発現誘導によるMG132依存的な細胞ストレスに対する細胞保護効果」第46回日本分子生物学会発（神戸）ポスター発表形式
2. 大濱 美優、火岡 優希、福田 伊津子、白井 康仁、上田 修司「筋細胞で生じるにおける脂質毒性に対するオレイン酸の細胞保護機能」第46回日本分子生物学会発（神戸）ポスター発表形式
3. 植原 美遊、原 和花、福田 伊津子、白井 康仁、上田 修司「DNA損傷誘発性の細胞老化に関連するタンパク質の探索」日本生化学会近畿支部例会（大阪）ポスター発表形式
4. 火岡 優希、上田 修司、西原 萌華、福田 伊津子、白井 康仁「低分子量ヒートショックタンパク質HSPB5による小胞体ストレス抑制メカニズムの解明」第95回日本生化学会大会（名古屋）ポスター発表形式
5. 福島 国光、上田 修司、福田 伊津子、白井 康仁「筋線維芽細胞の力伝達における低分子量ヒートショック蛋白質HSPB1の機能解析」第95回日本生化学会大会（名古屋）ポスター発表形式

共同研究先

1. カリフォルニア州立大学デービス校 Dr. Yamada Soichiro
2. 神戸大学大学院医学研究科 吉野 健一 先生

研究費

1. 基盤研究（C）令和5年～7年
2. 伊藤記念財団 令和6年度