

分担研究報告書

ベンゾピレンによる皮膚障害に対する生薬成分バイカレインの効果の検討

研究分担者 古江 増隆 九州大学大学院医学研究院皮膚科学 教授
 研究協力者 田中 由香 九州大学大学院医学研究院皮膚科学 学術研究員

研究要旨 環境汚染物質の多くはダイオキシン受容体 AhR を介して皮膚細胞を障害する。生薬黄芩の有効成分バイカレインは AhR リガンドの作用に拮抗することから、本研究では環境汚染物質・ベンゾピレンの障害に対するバイカレインの影響の評価と、その作用機序の解明を目的とした。表皮細胞の解析により、バイカレインが Src リン酸化の抑制を介した AHR 経路阻害と NRF2-HMOX1 抗酸化経路活性化により、ベンゾピレンによる炎症・酸化ストレスから皮膚を保護することを明らかにした。またバイカレインを含む方剤も同様の作用を示したことから、炎症初見の強い油症患者に対してはバイカレインを含む黄連解毒湯とシナムアルデヒドを含む桂枝茯苓丸を組み合わせることで、より大きな効果が得られる可能性が示唆された。

A. 研究目的

ダイオキシン類を含む環境汚染物質の多くは、ダイオキシン受容体 AhR を介して毒性を発揮することが知られており、AhR を阻害することでその障害を緩和できる可能性がある。生薬黄芩の有効成分であるバイカレインは、AhR リガンドの作用に拮抗することから、本研究では環境汚染物質ベンゾピレンの障害に対するバイカレインの影響の評価と、その作用機序の解明を目的とした。

B. 研究方法

培養ヒト表皮細胞にベンゾピレンを作用させ、CYP1A1 発現、炎症性サイトカイン(IL-1A、IL-1B)発現、Src リン酸化、抗酸化酵素 HMOX1 発現、NRF2 核内移行、活性酸素種(ROS)産生、AhR 核内移行、に対するバイカレインの影響を定量 RT-PCR、ウエスタンブロット、フローサイトメトリー、蛍光免疫染色法を用いて評価した。

また、バイカレインを含有する生薬(黄芩)と漢方薬(黄連解毒湯)にも、ベンゾピレンの作用を抑制する効果があるか検討

した。

(倫理面への配慮)

本研究では、研究目的での使用に関して同意を得て販売されている培養ヒト表皮細胞を使用しており、倫理面の問題はないと判断した。

C. 研究結果

ベンゾピレンの作用に対するバイカレインの影響を評価するため、培養ヒト表皮細胞(NHEK、HaCaT)を用いてベンゾピレン及びバイカレインの添加培養を行い、CYP1A1 及び炎症性サイトカインの発現を評価した。その結果、バイカレインは培養ヒト表皮細胞においてベンゾピレン誘導性の CYP1A1 発現を抑制しており(図 1A、B)、バイカレインを含有する黄芩と黄連解毒湯も、バイカレイン同様の効果を示した(図 1C)。またバイカレインは、ベンゾピレン誘導性の IL-1A・IL-1B の発現も有意に抑制した(図 1D-I)。

次に、抗酸化経路に対するバイカレインの効果の評価した。その結果、表皮細胞にバイカレインを作用させることで抗酸化

遺伝子を誘導する転写因子である NRF2 の核内移行が誘導され(図 2A、B)、NRF2 下流の抗酸化酵素 HMOX1 の発現が誘導された(図 2C、D)。この結果と一致して、バイカレインを添加することでベンゾピレン誘導性の ROS 産生が有意に抑制された(図 3A、B)。

バイカレインが AhR リガンドの作用に拮抗する作用機序を明らかにするため、AhR と複合体を形成し AhR の核内移行に関与するタンパク質 Src のリン酸化状態を評価したところ、バイカレインはベンゾピレンによる Src リン酸化を抑制しており、それに伴って AhR の核内移行が抑制されていることが明らかになった(図 4A-C)。

以上の結果から、バイカレインは Src リン酸化の抑制を介して AhR 経路を阻害するとともに、NRF2-HMOX1 抗酸化経路を活性化することで、ベンゾピレンの作用を阻害し、ベンゾピレンが引き起こす障害から皮膚細胞を保護することが示唆された。

D. 考察

ダイオキシン類を含む環境汚染物質の多くは AhR を介して毒性を発揮するため、AhR を阻害することでその障害を緩和できる可能性がある。これまでも、植物・生薬由来の成分が AhR を阻害し、ベンゾピレンの作用を阻害することが明らかにされている。

本研究では、生薬黄芩の主要な有効成分バイカレインが AhR 経路と抗酸化経路の両者に作用することで、ベンゾピレンによる障害を抑えることを明らかにした。通常 AhR は複数のタンパク質と複合体を形成し細胞質に留まるが、AhR リガンドの刺激を受けることで複合体から切り離されて核内へ移行し、CYP1A1 など薬物代謝酵素の転写を誘導する。この複合体を構成するタンパク質のうち、Src のリン酸化を阻害すると AhR の核内移行が抑制されることが知られている。バイカレインはベンゾピレンによって誘導された Src のリン酸化を

抑制していたことから、Src の阻害を介して AhR の核内移行を妨げ、ベンゾピレンの作用を減弱させた可能性が示唆される。

また、これまでの研究において、桂皮の香り成分であるシンナムアルデヒドがベンゾピレンの作用に拮抗し、シンナムアルデヒドを含有する桂枝茯苓丸が油症患者において皮膚症状を緩和することを明らかにしてきたことから、炎症初見の強い油症患者に対しては、バイカレインを含む黄連解毒湯とシンナムアルデヒドを含む桂枝茯苓丸を組み合わせることで、より大きな効果が得られると期待される。

E. 結論

バイカレインが Src を介した AHR 経路の阻害と、NRF2-HMOX1 抗酸化経路の活性化によって、ベンゾピレンによる炎症・酸化ストレスから皮膚細胞を保護し得ることを明らかにし、バイカレインを含む黄連解毒湯が油症の症状を緩和する可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Baicalein inhibits benzo[a]pyrene-induced toxic response by downregulating Src phosphorylation and by upregulating NRF2-HMOX1 system.

Antioxidants, 9:507, 2020.

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図 1

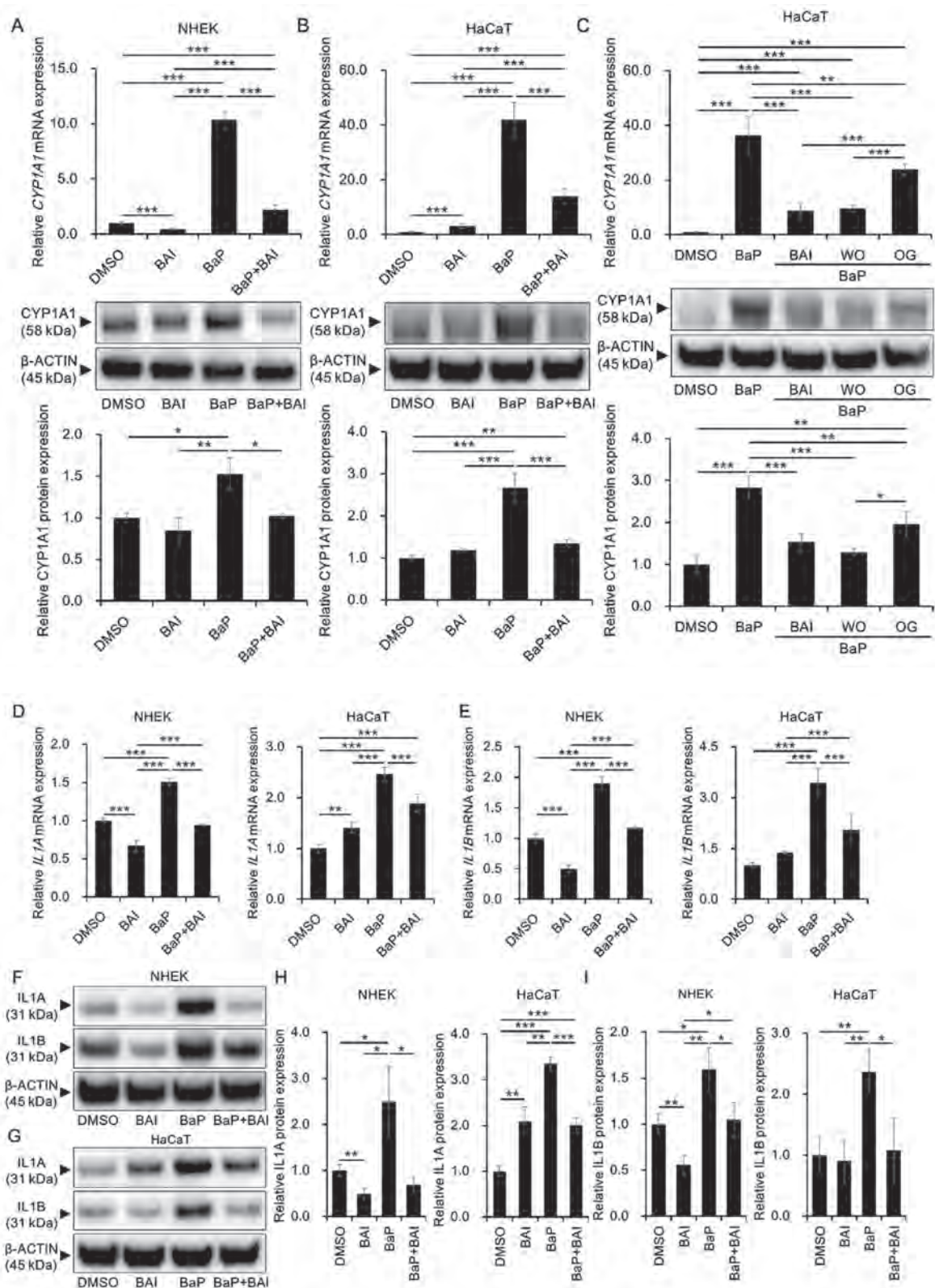


図 1 バイカレインはベンゾピレン誘導性の CYP1A1、及び炎症性サイトカインの発現を抑制する (BAI : バイカレイン、BaP : ベンゾピレン、WO : 黄芩、OG : 黄連解毒湯。* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$ 、*** $P < 0.001$)

図 2

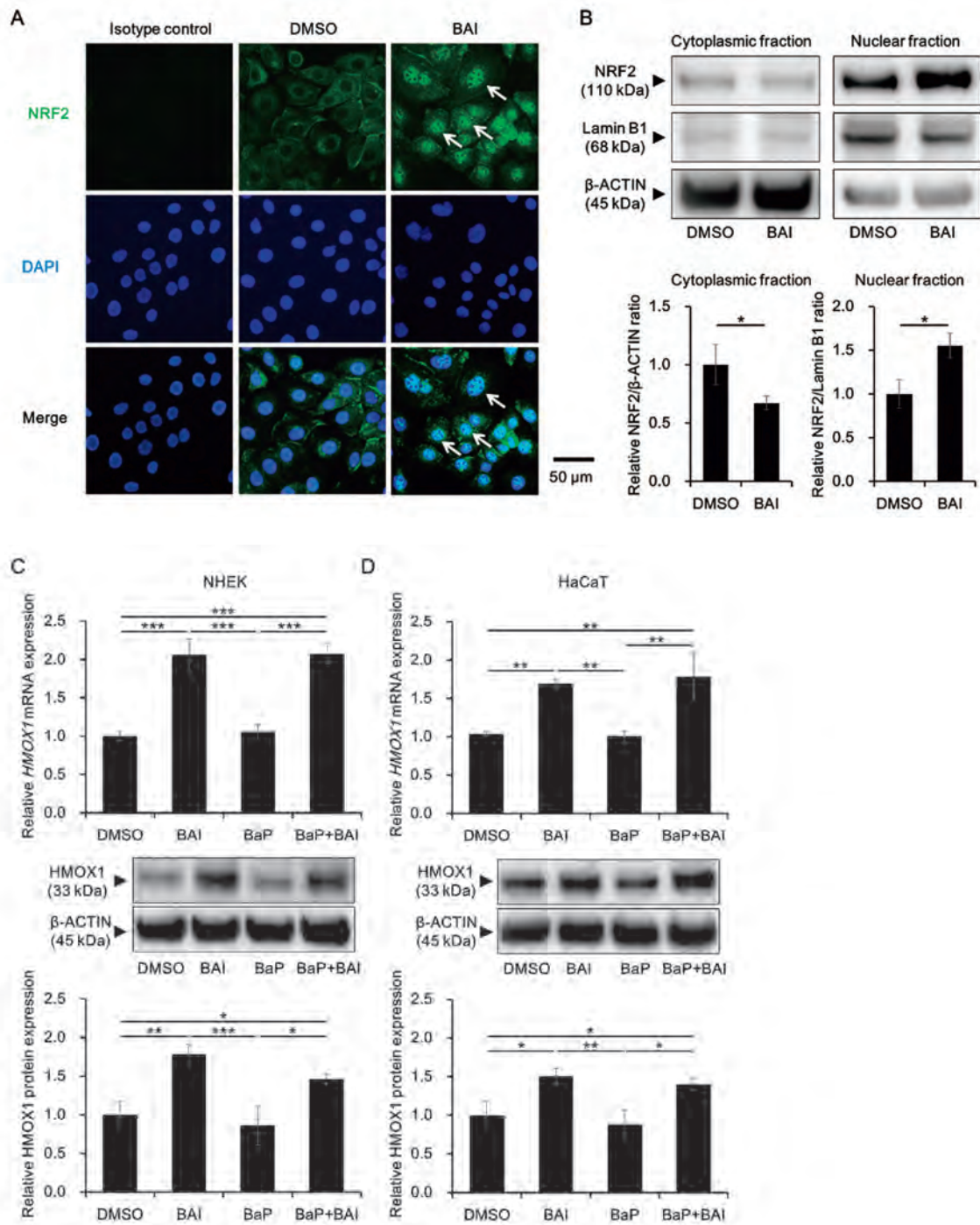


図 2 バイカレインは NRF2 の核内移行を誘導し、抗酸化酵素 HMOX1 の発現を誘導する (矢印 : 核内移行した NRF2、BAI : バイカレイン、BaP : ベンゾピレン。* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$ 、*** $P < 0.001$)

図3

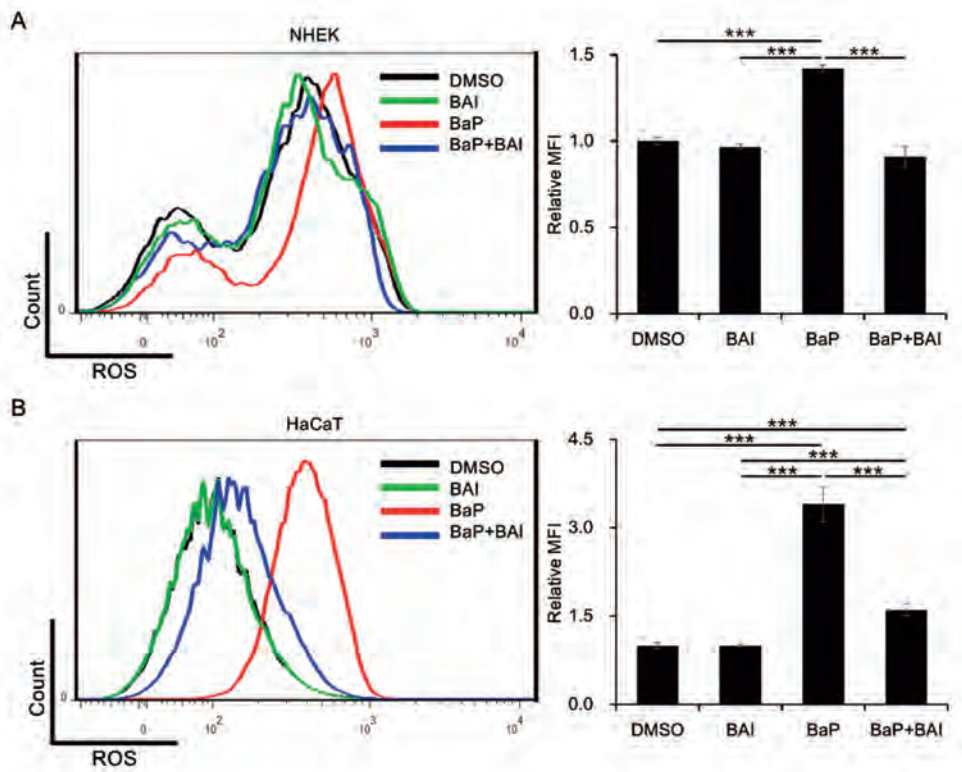


図3 バイカレインはベンゾピレン誘導性の ROS 産生を抑制する
(BAI : バイカレイン、BaP : ベンゾピレン。*** $P < 0.001$)

図4

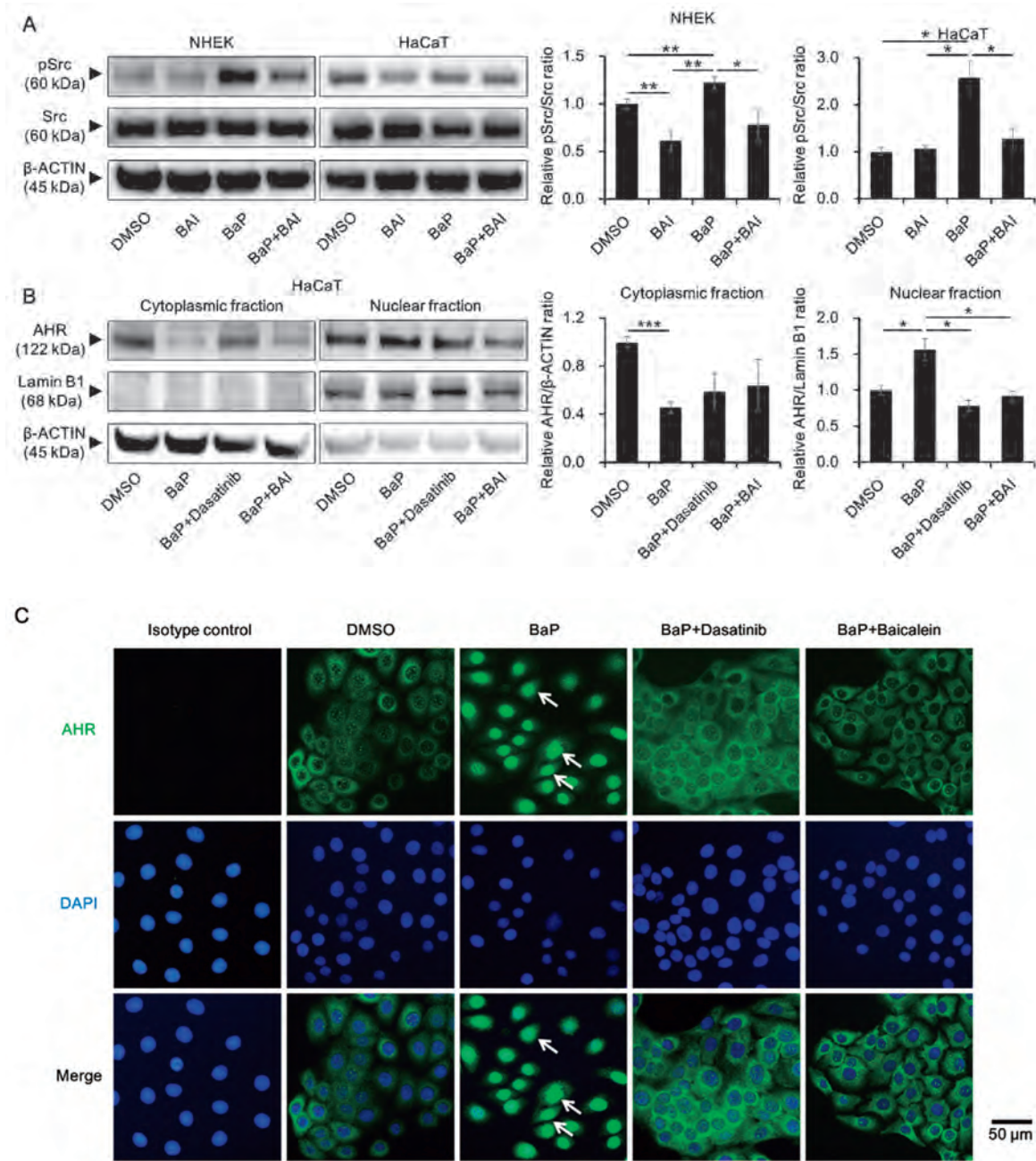


図4 バイカレインはSrcリン酸化の抑制によりベンゾピレン誘導性のAhR核内移行を阻害する(矢印:核内移行したAhR、BAI:バイカレイン、BaP:ベンゾピレン。* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$)