

令和5年度 学内研究助成金 研究報告書

研究種目	<input checked="" type="checkbox"/> 奨励研究助成金	<input type="checkbox"/> 研究成果刊行助成金
	<input type="checkbox"/> 21世紀研究開発奨励金 (共同研究助成金)	<input type="checkbox"/> 国際共同研究推進助成金
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
研究課題名	皮膚の老化抑制における有機アニオントランスポーターの役割	
研究者所属・氏名	研究代表者：薬学部医療薬学科 薬物動態学研究室・島田紘明 共同研究者：	

1. 研究目的・内容

Organic anion-transporting polypeptide (OATP) 2B1 は表皮のケラチノサイトに発現するが、皮膚における生理的役割や疾患との関連は不明である。OATP2B1 は乳がん細胞においてエストロゲン前駆体の硫酸エストロンの細胞内への取込み過程に寄与し、細胞内に取り込まれた硫酸エストロンは活性型のエストロンに変換されてエストロゲンとして作用する。皮膚においてエストロゲンはケラチノサイトや線維芽細胞に作用して皮膚の老化現象を抑制することが知られている。そこで本研究は、皮膚における OATP2B1 の生理的役割として硫酸エストロン取込みを介した皮膚の老化抑制に寄与を明らかにすることを目的とする。

2. 研究経過及び成果

1) LC-MS/MS による硫酸エストロンおよびエストロンの定量法の確立
 ヒトケラチノサイトによる硫酸エストロンの取込みと、その後のエストロンやエストラジオールへの変換を評価するために、LC-MS/MS による定量法の確立を試みた。硫酸エストロン、エストロンは、2% formic acid 添加による酸性条件下で ethyl acetate:hexane (75:25)により液-液抽出した。また、LC-MS/MS の測定条件は既報を参考に設定し、5 nM 以上で硫酸エストロン、エストロン共に定量性があることを確認した。液-液抽出による抽出効率は約 7-8 割程度であり、LC-MS/MS による定量条件を確立できた。

2) ヒトケラチノサイトによる硫酸エストロンと取込み試験
 ヒト初代培養ケラチノサイトを入手し、硫酸エストロンの OATP2B1 介在性の取込み活性を評価することを試みた。硫酸エストロンを細胞外に添加し、所定時間で細胞を回収して上記方法で抽出し、LC-MS/MS により定量したが、硫酸エストロンおよびエストロンのいずれも検出できなかった。また、細胞外に添加する硫酸エストロン濃度を OATP2B1 による硫酸エストロン輸送のミカエリス定数値まで増大させたが、硫酸エストロンおよびエストロンのいずれも検出できなかった。同時に抽出した内部標準物質 (硫酸エストロンの重水素体)は十分に検出されたことから、抽出や定量上の方法に問題はなく、取込み量が少なく検出下限以下であったと考えられる。硫酸エストロンの取込み試験は既報では放射性同位体で実施されており、より検出感度の高い方法で再評価する必要がある。

3) Keratinocyte 増殖に対する硫酸エストロンの影響
 ヒト初代培養ケラチノサイトに対し、硫酸エストロンを添加することで細胞増殖や細胞遊走が促進されるか検討した。しかし、硫酸エストロンによるヒトケラチノサイトの増殖や遊走の促進は見られなかった。そこで活性型であるエストロンを添加して細胞増殖に対する影響を評価したが、同様に影響は見られなかった。上記取込み試験実施のために細胞の継代を重ねてしまったことによる細胞の老化が原因として考えられるため、再検討の必要がある。

3. 本研究と関連した今後の研究計画

ケラチノサイトにおける OATP2B1 を介した硫酸エストロンの取り込み活性が低いことから、その老化抑制作用への寄与は小さい可能性がある。しかし、本検討により硫酸エストロンおよびエストロンの定量形が確立したことから、皮膚以外の組織におけるこれらの取り込みが老化抑制に関わる可能性を検討する。

申請者は既に肝臓における OATP2A1 を介したプロスタグランジン E2 の取り込み輸送を明らかにしており、同様の方法で OATP2B1 を介した肝臓内への硫酸エストロンの輸送を評価し、肝細胞に対するエストロゲン作用調節におけるトランスポーターの役割について評価する。具体的には肝臓においてエストロゲンは組織修復や抗炎症作用に関与することから、OATP2B1 を介した硫酸エストロン輸送の組織修復に対する寄与について今後検討する。

4. 成果の発表等

発表機関名	種類 (著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)
日本脂質生化学会	口頭	2023年6月8日
日本薬学会関西支部大会	口頭	2024年10月8日