

水溶性UV-B吸収剤添加によるリボフラビン光増感活性酸素の生成抑制効果と抑制機構

株式会社資生堂 みらい開発研究所

宮沢 和之

横浜国立大学大学院工学研究院 化学系

八木 幹雄・菊地 あづさ

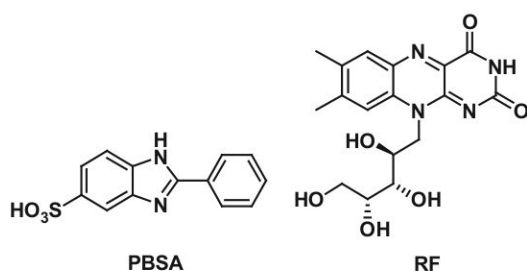
1. はじめに

地球温暖化の進行に伴い地表に到達する紫外線量は年々増加傾向にある。気象庁の報告によれば、日本国内において過去約10年間で紫外線量は 33.0kJ/m^2 増加したことが確認されている¹⁾。紫外線は細胞のDNAに直接的な損傷を与えるのみならず、皮膚老化、いわゆる光老化の主要な誘因として知られている²⁾³⁾。サンケア製品による紫外線防御は不可欠であるが、それに加えて皮膚細胞自体の機能を積極的に賦活化し、外的環境因子に対する抵抗性を高める新たなアプローチも重要である。

ヒトの皮膚や眼に分布している水溶性ビタミンB₂であるリボフラビン(RF、図1)は、生体内に

おいて多岐にわたる生理機能を担う必須栄養素であり、抗老化にかかわる性質も明らかになるなど生物学的側面から大変興味深い分子である^{4~9)}。具体的には、①炭水化物、脂質、タンパク質代謝にかかわる酸化還元酵素の補酵素としてのエネルギー産生促進、②グルタチオンレダクターゼの補酵素としての抗酸化作用、③皮膚及び粘膜の恒常性維持、などが知られている¹⁰⁾。また近年の報告では、細胞が老化ストレスに曝露された際、RF取り込みに関与するトランスポーターの発現が増加し、細胞内に取り込まれたRFがフラビンアデニンヌクレオチド(FAD)へと変換されることでミトコンドリア機能を活性化し、結果として細胞老化の抑制に寄与するメカニズムが示されている⁴⁾。我々の検討においても、線維芽細胞に対する20mJの紫外線照射ストレスによりRF輸送体であるSLC52A1の発現増加が確認された。さらに、細胞内に取り込まれたRFはFADへと変換された後、ヒストン脱メチル化酵素であるLysine-specific demethylase 1 (LSD1)の補酵素として機能し、ヒストン及びがん抑制遺伝子p53の脱メチル化を介して、老化促進に関与する遺伝子発現を抑制する分子機構も報告されている¹¹⁾。

一方、物理化学的な側面では、RFは光照射条件下において抗酸化作用を示すことが知られている反面、特定の条件下では酸素と反応して活性酸



■図1 PBSAとRFの分子構造

素（一重項酸素、 $^1\text{O}_2$ ）を産生する光増感物質としての性質を有することも報告されている¹²⁾。その活性酸素発生の程度は、周囲の環境条件や共存する化学物質に大きく依存すると考えられる。

一重項酸素は酸素分子の最低電子励起状態であり、 $^1\text{O}_2$ ($^1\Delta_g$) と表され、活性酸素種 (ROS) の1つである。基底状態の酸素分子 $^3\text{O}_2$ ($^3\Sigma_g^-$) と $^1\text{O}_2$ ($^1\Delta_g$) との間の電気双極子遷移は、電子スピン、軌道角運動量、パリティの観点から厳密に禁制である¹³⁾。そのため、基底状態酸素分子の直接光励起により $^1\text{O}_2$ が生成することはほとんど起こらない。 $^1\text{O}_2$ を生成する最も一般的な方法は、光増感剤の最低励起三重項 (T_1) 状態から基底状態酸素分子へのエネルギー移動である¹⁴⁾。RFをUV-A (320~400 nm) や青色光に曝露すると、スピン許容の最低励起一重項 (S_1) 状態への遷移が起こる。RFの S_1 状態は項間交差 (ISC) により T_1 状態へ移行し、空気飽和水溶液 (pH 6.8) 中で $3.0\ \mu\text{s}$ という長い寿命を持つ¹⁵⁾。この長寿命のRFの T_1 状態が基底状態酸素と相互作用し、エネルギー移動を通じて $^1\text{O}_2$ を生成する。RFによる $^1\text{O}_2$ 生成の量子収率 (ϕ_Δ) は $0.58\sim 0.61$ と報告されている¹⁶⁾。ヒトの皮膚や眼は、日常的に太陽光や人工光に曝されており、これらには相当量の

層を通過して地表に到達する太陽紫外線の約90%はUV-Aである²⁰⁾。したがって、水溶性RFと水溶性PBSAがUV-A照射下でどのように相互作用するか知見を得ることは重要である。

2. 研究の目的

本研究では、RFの光化学的特性をより詳細に理解することを目的として、化粧品原料として用いられる各種化合物の中から、RFと共存することで活性酸素の発生を抑制する物質の作用機構について検討を行った。

3. 実験方法

実験は空気飽和のpH 7.4リン酸緩衝液中で行った。RF及びPBSAの光励起状態について明らかにするため、蛍光、りん光、及び過渡吸収測定を行った。 $^1\text{O}_2$ による1274 nmの近赤外発光に着目し、Nd:YAGレーザーの第3高調波を使用したパルスレーザー励起による時間分解近赤外発光測定を行い²¹⁾、PBSAがRF光増感 $^1\text{O}_2$ 生成に及ぼす影響を調べた。

紫外可視吸収スペクトルはJASCO V-550分光光度計を用いて測定した。蛍光寿命は、Horiba NAES-700F 時間分解フォトルミネッセンス分光

これ以降の閲覧を希望の場合は、本誌をご購読ください。