

Title	微生物および栄養素の皮膚に対する衛生化学的研究
Author(s)	池田, 紀和
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38554">https://hdl.handle.net/11094/38554</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	池 田 紀 和
博士の専攻分野の名称	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 0 8 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 6 年 2 月 18 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	微生物および栄養素の皮膚に対する衛生化学的研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 近 藤 雅 臣 (副査) 教 授 三 村 務 教 授 三 浦 喜 温 教 授 西 原 力

### 論 文 内 容 の 要 旨

老化に伴う皮膚の変化を予防するための化粧品の開発は、これまであらゆる角度から検討が加えられてきた。特に表皮細胞の分化と増殖に関する研究は化粧品科学分野のみならず、皮膚科学分野においても極めて重要な研究課題であるが、今もって完全には究明されていないのが実状である。皮膚の老化は基底細胞から角質層に至るまでの分化段階において、細胞および間質の変化によって発生するといわれており、この分化のしくみを解明することが重要である。さらに皮膚の分化に関してはビタミン A 誘導体が表皮細胞の分化調節作用や抗腫瘍効果を持ち、ビタミン D<sub>3</sub> 誘導体も表皮細胞の分化、増殖に密接に関与していることが報告されている。このほか皮膚上より分離された *Staphylococcus aureus* の培養上清に、表皮角化細胞に対する分化抑制因子が存在することが報告されている。このように表皮角化細胞の増殖および分化は、栄養素として日常摂取しているビタミン類や、皮膚上の表在菌によって生体の内外から調節されていると考えられる。したがって皮膚の老化を防止するための化粧品を開発するためには、皮膚に対するビタミン類および皮膚上細菌の影響を検討することが重要と考えて本研究を行った。

ビタミン A が表皮角化細胞の分化調節因子であることは広く知られている。また、ビタミン A 類縁化合物である E-5166 は合成ポリプレイン酸誘導体で、レチノイン酸に類似した構造をもち、レチノイン酸に匹敵する抗ガン作用などが報告されている。したがって E-5166 がヒト表皮角化細胞の分化に対してレチノイン酸と同様の効果を及ぼすことが推察されたので、培養ヒト表皮角化細胞を用いてレチノイン酸と比較検討した。その結果、E-5166 は  $10^{-7}$  M の濃度で培養ヒト表皮角化細胞の細胞形態に対してはレチノイン酸と同様の効果は示さなかったが、角質層の形成を抑制することが明らかになった。さらに E-5166 が培養ヒト表皮角化細胞の分化の指標となる 67KD の高分子ケラチン蛋白の合成を抑制したことから、E-5166 が培養ヒト表皮角化細胞の分化を抑制することが明らかになった。

ビタミン A と同じく表皮細胞の分化に影響を及ぼすことが知られているビタミン D<sub>3</sub> のうち活性型である 1, 25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> は、角化異常を病態とする乾癬の治療に効果を示すことも報告されている。そこで活性型ビタミン D<sub>3</sub> のヒト表皮角化細胞の増殖および分化に対する影響を調べることを目的に、まず乾癬病巣に対する 1, 25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> の影響を組織学的に検討した。その結果、1, 25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> の乾癬治療に対する効果は主に表皮角化細胞の過剰な増殖

の抑制であることが認められた。そこでヒト表皮角化細胞の増殖に対する $1, 25-(OH)_2-D_3$ の影響を検討したところ、 $10^{-7}M$ の濃度で増殖抑制が発現した。さらに増殖抑制の機構を解明するために、培養ヒト表皮角化細胞に対する $1, 25-(OH)_2-D_3$ の影響をオートラジオグラフィを用いて検討した。その結果、 $1, 25-(OH)_2-D_3$ は $10^{-7}M$ の濃度で培養ヒト表皮角化細胞の増殖を阻害し、添加12時間後には阻害効果が最大になるものの $1, 25-(OH)_2-D_3$ を除去すると6時間後には無添加のレベルまで回復した。この結果から $1, 25-(OH)_2-D_3$ が細胞自体に損傷を与えることなく増殖を抑制することが明らかになった。また、オートラジオグラフィおよびフローサイトメトリーによって細胞周期の解析を行ったところ、 $1, 25-(OH)_2-D_3$ は細胞の世代時間に影響を及ぼすことなくS期の細胞を減少させ、 $2c$ 細胞を増加させた。すなわち $1, 25-(OH)_2-D_3$ は $G_1$ 期における細胞周期の妨害によってヒト表皮角化細胞の増殖を抑制することが明らかになった。

表皮細胞の増殖や分化に影響を及ぼす因子はビタミン類以外にも報告されており、皮膚から分離された *Staphylococcus aureus* の培養上清に表皮角化細胞に対する分化抑制因子が存在することが報告されている。さらに細菌や真菌の中には各種のプロビタミンを合成する菌の存在も知られていることを考え合わせると、皮膚上の常在菌が表皮細胞の増殖および分化に関与している可能性が推察できる。そこで常在菌と表皮細胞との相互関係を解明するに先立って、常在菌の存在状態について検討を行った。まず皮膚から6回連続して菌を採取しても、採取された菌数に変化がなかったことから、皮膚常在菌は表皮細胞に何らかの機構で結合し、定着していることが示唆された。さらに日常生活における洗顔や消毒の繰り返しが皮膚上細菌数に及ぼす影響を検討したところ、洗顔の前後において菌数および一般細菌、嫌気性細菌、耐塩性細菌のバランスに大きな差はなく経時的にもほぼ一定していた。また消毒を毎日繰り返したところ、消毒によって直後の菌数は減少したが、一般細菌、嫌気性細菌、耐塩性細菌のバランスに変化はなく、さらに翌日の洗顔前には消毒によって減少した菌数は完全に回復した。これらの結果から皮膚常在菌は洗顔および消毒処置によって一時的には菌数が減少するが菌叢は変化せず、日常生活において保持者に特有の恒常性を保っていることが示唆された。そこで皮膚常在菌の恒常性と保持者の関係についてさらに検討を加えたところ、皮膚から分離した菌株の85%以上は *Staphylococcus* 属に属しており、他の好気性細菌は極めて少なかった。また被験者別に *Staphylococcus* 属の中の *S. epidermidis*, *S. capitis* の構成比に特徴が認められ、*S. epidermidis* あるいは *S. capitis* が保持者に特異的な常在菌として定住し続けていることが明らかとなった。このように皮膚常在菌は何らかの特異的因子によって表皮細胞と共存関係を保っていると考えられ、増殖や分化など表皮細胞の生理を知る上において常在菌の存在が重要であることが示唆された。

したがって皮膚の老化を防止する化粧品の開発にあては、ビタミンAやビタミン $D_3$ のように表皮細胞の増殖や分化に直接影響を与える因子はもちろんのこと、皮膚常在菌の存在状態やその役割について重要視しなければならないことが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

培養ヒト表皮角化細胞に対するビタミンA類縁化合物E-5166及び $1, 25$ -ジヒドロキシビタミン $D_3$ の影響に関し検討し、前者が角化細胞の分化を抑制すること、後者は角化細胞の増殖を可逆的に抑制するが、その機構は $G_1$ 期における細胞周期の妨害であることなどを明らかにした。一方、皮膚表皮細胞における常在菌について検討し、両者は共存関係にあることを明らかにした。これらの研究は皮膚細胞における栄養ならびに衛生的な保持に関する新しい知見として学位授与に値するものと判定した。