

氏名（本籍）	作 山 秀（東京都）		
学位の種類	博 士（工学）		
学位授与番号	甲第 1 号		
学位授与日付	平成 22 年 3 月 25 日		
専 攻	創薬科学専攻		
学位論文題目	F T I Rによるヒト顔面皮膚生体分子に関する研究 (Analyses of human face skin surface molecules using Fourier-transform Infrared Spectroscopy)		
学位論文審査委員	(主査) 教授 北 出 幸 夫 (副査) 教授 稲 垣 直 樹 (副査) 教授 吉 田 敏		

#### 論文内容の要旨

もともと生体表面の成分分析は、皮膚組織の切除や溶媒で抽出することで行われていたが、痛みを伴うことや抽出することによる成分の変化などの要因で真なる評価は難しいと考えられる。一方で代謝物質のラベル化による評価も行われているがすべての組織に利用可能ではない。

フーリエ変換赤外全反射分析法 (FTIR-ATR) による計測技術は、化学的あるいは生物学的物質の分析のために確立した測定システムであり、固体や液体の中の多くの種類の物質に対し、この FTIR-ATR 技術は非破壊的に適用可能である。この特徴をもった FTIR 技術には、非侵襲的に容易に生体、特に皮膚や組織の表面を診断するために大きな潜在的可能性がある。もしこの装置がすべての人々に利用可能であるなら、例えば血圧測定器具が理化学的診断装置として使用されているように、人体の化学的診断のために活用されるようになって考えている。特に近年は代謝のメカニズムの研究を行う上で、生体表面の挙動は重要な研究対象となってきている。

そこで本研究では、市販の FTIR 測定装置と我々が新しく開発した顔面用の ATR（全反射）プローブにより、皮膚表面の生体成分をそのままの状態で測定することを可能にした。そして、成分の表面における挙動を詳細に明らかにできた。

10 ヶ月にわたり顔面皮膚表面の赤外スペクトルの変化を観察したところ、1000~1200 $\text{cm}^{-1}$  の領域で、約 1 カ月周期で変動（概月周期的変動）するスペクトル変化が観察でき、その変化する成分の強度は 6 月頃最大になり 12 月頃最小になる傾向にあった。

概月周期的変動する差赤外スペクトルを求めると、1124 $\text{cm}^{-1}$ 、1084 $\text{cm}^{-1}$ 、1039 $\text{cm}^{-1}$  に特徴的な赤外吸収をもつことが分かった。この差赤外スペクトルに対応する成分は、テープストリッピングにより額の皮膚角質層を 1 回分剥がした後の皮膚表面で増大していたが、水洗浄によって容易に除去できたので、水溶性成分であることが示唆された。その成分の特徴的な赤外スペクトルから、乳酸を主要成分として含むことが示唆された。その成分に乳酸が含まれていることは LDH を用いた酵素法によってでも確認され、概月周期的に変動することを確認した。また、皮膚抽出物中には乳酸マグネシウム会合体が存在していることを HPLC および TOF-MS 法で確認した。

さらに、その成分を陰イオン交換カラムを使って分析したところ、乳酸を含むピーク部分と、より強い陰電荷を持ち遅れて出てくる複数成分を持つピーク部分とに分離できた。乳酸を含む物質の赤外スペクトルと、その遅れて出てきた成分の赤外スペクトル（糖 OH 基が強く観測される）を計算によって合

成したところ、上述の概月周期的変動を示す成分の赤外差スペクトルをほぼ再現することができた。また額から剥離した角質層を、Alcian Blue 染色法で調べ、陰性荷電糖鎖が存在することが示唆された。以上より、顔面皮膚表面の概月周期的に変動する成分としては、主に乳酸マグネシウムを含む物質と糖鎖を含む物質が同調して現われていることが強く示唆された。このように我々が新しく開発した FTIR は、安全にかつ正確に皮膚表面の代謝物質を捉えることが可能なことを明らかにした。そして今後、様々な代謝物質の計測に活用し、上記物質が皮膚機能改善に有効かどうかの検討など、さらに研究を深めて行く予定である。

#### 論文審査結果の要旨

本申請者は本学位論文によって以下のことを明らかにした。

市販の FTIR 測定装置と本申請者らが新しく開発した顔面用の ATR（全反射）プローブにより、皮膚表面の生体成分をそのままの状態に測定することを可能にした。そして、成分の表面における挙動を詳細に明らかにできた。10 ヶ月にわたり顔面皮膚表面の赤外スペクトルの変化を観察したところ、1000~1200 $\text{cm}^{-1}$  の領域で、約 1 カ月周期で変動（概月周期的変動）するスペクトル変化を観察でき、その変化する成分の強度は 6 月頃最大になり 12 月頃最小になる傾向にあった。概月周期的変動する差赤外スペクトルを求めると、1124 $\text{cm}^{-1}$ 、1084 $\text{cm}^{-1}$ 、1039 $\text{cm}^{-1}$  に特徴的な赤外吸収をもつことが分かった。この差赤外スペクトルに対応する成分は、テープストリッピングにより額の皮膚角質層を 1 回分剥がした後の皮膚表面で増大していたが、水洗浄によって容易に除去できたので、水溶性成分であることが示唆された。その成分の特徴的な赤外スペクトルから、乳酸を主要成分として含むことが示唆された。また、皮膚抽出物中には乳酸マグネシウム会合体が存在していることを HPLC および TOF-MS 法で確認した。その成分を陰イオン交換カラムを使って分析したところ、乳酸を含むピーク部分と、より強い陰電荷を持ち遅れて出てくる複数成分を持つピーク部分とに分離できた。乳酸を含む物質の赤外スペクトルと、その遅れて出てきた成分の赤外スペクトル（糖 OH 基が強く観測される）を計算によって合成したところ、上述の概月周期的変動を示す成分の赤外差スペクトルをほぼ再現することができた。以上より、顔面皮膚表面の概月周期的に変動する成分としては、主に乳酸マグネシウムを含む物質と糖鎖を含む物質が同調して現われていることが強く示唆された。

このように本申請者はその分野の研究の進展に重要な貢献をしたと考えられ、審査会発表においても、また学位論文においてもその内容を十分示すことができていたので、博士（工学）の学位を授与されるに相応しいと結果を得た。

#### 最終試験結果の要旨

本申請者は本学位論文および審査会発表によって以下のことを明らかにした。

市販の FTIR 測定装置と本申請者らが新しく開発した顔面用の ATR（全反射）プローブにより、皮膚表面の生体成分をそのままの状態に測定することを可能にした。そして、成分の表面における挙動を詳細に明らかにできた。10 ヶ月にわたり顔面皮膚表面の赤外スペクトルの変化を観察したところ、1000~1200 $\text{cm}^{-1}$  の領域で、約 1 カ月周期で変動（概月周期的変動）するスペクトル変化を観察でき、その変化する成分の強度は 6 月頃最大になり 12 月頃最小になる傾向にあった。概月周期的変動する差赤外スペクトルを求めると、1124 $\text{cm}^{-1}$ 、1084 $\text{cm}^{-1}$ 、1039 $\text{cm}^{-1}$  に特徴的な赤外吸収をもつことが分かった。

その成分の特徴的な赤外スペクトルから、乳酸を主要成分として含むことが示唆された。また、皮膚抽出物中には乳酸マグネシウム会合体が存在していることを HPLC および TOF-MS 法で確認した。その成分を陰イオン交換カラムを使って分析したところ、乳酸を含むピーク部分と、より強い陰電荷を持ち遅れて出てくる複数成分を持つピーク部分とに分離できた。乳酸を含む物質の赤外スペクトルと、その遅れて出てきた成分の赤外スペクトル（糖 OH 基が強く観測される）を計算によって合成したところ、上述の概月周期的変動を示す成分の赤外差スペクトルをほぼ再現することができた。以上より、顔面皮膚表面の概月周期的に変動する成分としては、主に乳酸マグネシウムを含む物質と糖鎖を含む物質が同調して現われていることが強く示唆された。

このように本申請者は、審査会発表においても、また学位論文においてもその分野において重要な研究内容を十分示すことができていたので、最終試験に合格との結論を得た。