岐阜大学機関リポジトリ
Gifu University Institutional Repository

新規角層水分量制御因子に関する研究

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2008-02-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 酒井, 進吾 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/3118

[4]

氏　　名（本㊟籍）	酒　井　進　吾　（神奈川県）
学　位　の　種　類	博士（農学）
学　位　記　番　号	農博乙第101号
学位授与年月日	平成17年9月14日
学位授与の要件	学位規則第3条第2項該当
学　位　論　文　題　目	新規角層水分量制御因子に関する研究
審　査　委　員　会	主査　静岡大学　教　授　河　岸　洋　和
	副査　信州大学　助教授　橋　本　博　之
	副査　静岡大学　助教授　森　田　達　也
	副査　岐阜大学　教　授　加　藤　宏　治

論　文　の　内　容　の　要　旨

角層は厚さ 20μm 程度であるが、体内の水の蒸散、異物混入防止と生体の最外に位置する非常に重要な防御壁である。その角層は表皮細胞の増殖、分化（角化）による厳密な制御によって供給され、自らの蛋白質分解酵素によって剥離をし、常に置き換わっている動的器官である。角層の水分量維持は皮膚表面の柔らかさ、滑らかさつまりは角層の強度維持に極めて重要であり、角層の水分量の制御因子はこれまでアトピックドライスキン、老人性乾皮症等、いわば正常範囲を逸脱する対象が主に検討されてきた。それらの研究より天然保湿因子（特に角層アミノ酸）と細胞間脂質（特にセラミド）が非常に重要な因子であることがわかっている。しかし、健常人においても季節変動、身体部位差、飲酒、生活習慣等、角層水分量変動要因はまだまだ十分に検討されていない。実際、我々は角層アミノ酸ではなく、Kイオンと乳酸が冬期の角層水分量の維持に重要であることを見出した。

今後、角層水分量制御メカニズムは、角層アミノ酸、セラミドだけではなく、様々な保湿因子、生体の生理状態が複合的に作用していると考えるべきである。本研究は新しい角層水分量制御因子を見出すことを目的に行われた。

1．糖尿病誘発ヘアレスマウスの表皮及び角層の特性に関する検討

糖尿病誘発ヘアレスマウスの表皮及び角層の特性に関する検討を行った結果、誘発によって経皮水分蒸散量(バリア機能の指標のひとつ)は変化しなかったが、角層水分量は有意に減少した。誘発によるセラミド1や脂肪酸等の細胞間脂質量や角層アミノ酸量の低下は認められなかったが、皮脂腺由来と考えられるトリグリセリドの有意な減少と角層乳酸、Kイオン量の減少が認められた。マウスの角層乳酸量はヒトに比べて著しく低く、本モデルの角層水分量の低下をどれほど担っているかは今後の検討を待たねばならないが、角層乳酸、Kイオンは角層表層に局在することから皮脂腺からの分泌の可能性を初めて示すことができた。皮脂腺機能（特にトリグリセリド代謝）と角層乳酸、Kイオン量が関連する可能性があり、今後、健常人での検討が期待できる。更には、本モデルで老化表皮に類似

する表皮細胞ターンオーバーの遅延化がおこることが分かったことは表皮老化モデルとしての有用性を示すこともできた。

2．糖尿病患者の角層の機能特性に関する検討

糖尿病患者の皮膚は老化症状を示すという報告、糖尿病モデルマウス（1で報告）の角層水分量が低下することから、糖尿病患者の皮膚機能を検討した。糖尿病患者49名を対象に空腹時血糖値(FPG)と糖化ヘモグロビン量(HbA_{1C})、角層水分量、経皮水分蒸散量、額皮脂量を測定した。その結果、高 FGP 群(＞110mg/dL)は低 FGP 群より有意に前腕と下腿の角層水分量が減少していた。しかし、高 HbA_{1C} 群（＞5.8%）と低 HbA_{1C} 群では差は見られなかった。また、経皮水分蒸散量は、低 HbA_{1C} 群に比べ高 HbA_{1C} 群前腕のみ低下を認めた。皮脂量においては、高 FGP 群は低 FGP 群より有意に低下し、高 HbA_{1C} 群は低 HbA_{1C} 群より低下傾向を認めた。糖尿病患者の角層水分量低下と皮脂量の低下は老人性乾皮症の症状と類似する点があることが分かった。また、糖尿病患者では過去の高血糖状態より現在の高血糖状態が角層水分状態に影響することが示唆された。さらに、健常人の糖負荷試験において一時的な血糖値の上昇が角層水分量の低下を引き起こすことが判った。以上のことから、角層成分変化だけではなく、血糖値変化が角層水分量に影響を及ぼすことを明らかにした。

3．正常皮膚角層中のヒアルロン酸存在証明について

ヒアルロン酸は高水分保持能がある細胞外マトリクス成分高分子多糖として知られている。ヒアルロン酸は真皮や角層下の表皮細胞間に存在が報告されていたが、正常角層での存在に関する報告はなかった。我々は角層直下の表皮細胞にヒアルロン酸合成酵素の遺伝子発現を見出したので、角層におけるヒアルロン酸の存在可能性を検討した。ヘアレスマウス表皮をトリプシン処理することによって角層を分離し高速液体クロマトグラフィーで定量を行ったところ、角層、表皮にそれぞれ、22.3±2.9 μg/g, 15.1±1.5μg/g のヒアルロン酸が含まれることが分かった。次に皮膚をパンチアウトし器官培養し、放射ラベルグルコサミンを添加して、ヒアルロン酸の角層への移行と移行された分子量を検討した。放射ラベルグルコサミンは直線的に表皮の HA に取り込まれ、3 日後では真皮に比べ乾物あたり 2 倍の取り込み活性が認められた。一方、角層への移行は真皮と同程度であった。真皮で新規合成されたヒアルロン酸は最も分子量が大きく($>1.0\times10^6$)、角層に移行したヒアルロン酸は分子量が最も小さかった($<6.0\times10^4$)。以上のことより、正常皮膚において角層下の表皮細胞で合成された HA が角層に移行し、存在することをはじめて見出した。角層に存在するヒアルロン酸は角層水分制御やバリアー機能などの角層機能と関連することが推測される。

これらの研究によって新規水分制御因子として皮脂腺からの乳酸、K イオン分泌、血糖値、角層ヒアルロン酸を新規ターゲットとして提案できることができた。

審　査　結　果　の　要　旨

本論文では新規角層水分量制御因子に関する以下のような研究を行った。

角層水分量は皮膚表面の強度維持に重要である。これまで主に病的皮膚を研究対象とし，角層アミノ酸とセラミドの重要性が報告されてきたが，健常人の冬期角層水分量低下に角層乳酸，Kイオンが重要であることを見出した。角層水分量は，様々な保湿因子と生体の生理状態により複合的に制御されていると思われる。

また，糖尿病誘発ヘアレスマウスの角層を解析した結果，角層水分量の低下にともなうセラミドや角層アミノ酸量の低下はなく，皮脂腺由来であるトリグリセリド，角層乳酸，Kイオン量の低下を見出した。乳酸，Kイオンは角層表層に局在し，皮脂腺からの分泌の可能性を示唆した。

次に，糖尿病患者の角層機能を検討した。高血糖状態によるバリアー機能障害はなく，皮脂量の低下を認めた。また，高空腹時血糖群は低空腹時血糖群より角層水分量が低下していた。健常人を用いた糖負荷試験においても一時的な血糖値の上昇に伴う角層水分量の低下を見出した。

最後に高保湿能をもつヒアルロン酸の正常角層中での存在を検討した。ヘアレスマウスの角層には表皮の約50%のヒアルロン酸が存在し，低分子化されていることを見出した。

以上のことから皮脂腺からの乳酸，Kイオン分泌，血糖値，角層ヒアルロン酸を新規角層水分制御因子に関わる研究対象として提案できた。

以上について，審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合農学研究科の学位論文として十分価値あるものと認めた。

基礎となる学術論文

1) Characteristics of the epidermis and stratum corneum of hairless mice with experimentally induced diabetes mellitus.
Sakai, S., Endo, Y., Ozawa, N., Sugawara, T., Kusaka, A., Sayo, T., Tagami, H. and Inoue, S.
Journal of Investigative Dermatology (2003) 120(1):79-85.

2) Functional properties of the stratum corneum in patients with diabetes mellitus: similarities to senile xerosis
Sakai S., Kikuchi, K, Satoh, J., Tagami, H. and Inoue, S.
British Journal of Dermatology: accepted 2004

3) Orirubenones D to G, novel phenones from the mushroom *Tricholoma orirubens*
Sakai, S., Tonomura, Y., Yoshida, H., Inoue, S. and Kawagishi, H.
Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry: accepted May, 2005

4) Hyaluronan exists in the normal stratum corneum
Sakai, S., Yasuda, R., Sayo, T., Ishikawa, O. and Inoue, S.
Journal of Investigative Dermatology (2000) 114(6):1184-7.

既発表学術論文

1) Putative hyaluronan synthase mRNA are expressed in mouse skin and TGF-beta upregulates their expression in cultured human skin cells.
Sugiyama, Y., Shimada, A., Sayo, T., Sakai, S., Inoue, S.
Journal of Investigative Dermatology (1998), 110(2):116-21.

2) *N*-Methyl-L-serine stimulates hyaluronan production in human skin fibroblasts.

Sakai S, Sayo T, Kodama S, Inoue S.
Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology (1999), 12(5):276-283.
3) Characterization of the physical properties of the stratum corneum by a new tactile sensor.
Sakai, S., Sasai, S., Endo, Y., Matsue, K., Tagami, H., Inoue, S.
Skin Research and Technology (2000), 6:128-134.
4) Hyaluronan synthase 3 regulates hyaluronan synthesis in cultured human keratinocytes. Sayo, T., Sugiyama, Y., Takahashi, Y., Ozawa, N., Sakai, S., Ishikawa, O., Tamura, M., Inoue, S.
Journal of Investigative Dermatology (2002), 118:43-8.
5) Synergistic effect of N-acetylglucosamine and retinoids on hyaluronan production in human keratinocytes.
Sayo T, Sakai S, Inoue S.
Skin Pharmacology and Physiology (2004), 17:77-83.
6) Relationship between NMF (lactate and potassium) content and the physical properties of the stratum corneum in healthy subjects.
Nakagawa, N., Sakai, S., Matsumoto, M., Yamada, K., Nagano, M., Yuki, T., Sumida, Y., Uchiwa, H.
Journal of Investigative Dermatology (2004), 122:755-63.
7) Orirubenones A, B and C, novel hyaluronan-degradation inhibitors from the mushroom *Tricholoma orirubens*.
Kawagishi, H., Tonomura, Y., Yoshida, H., Sakai, S., Inoue, S.
Tetrahedron (2004), 60:7049-7052.