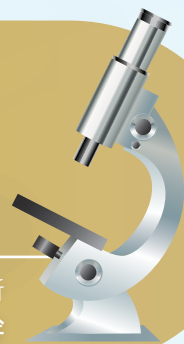


脂質バランスの乱れによる 皮膚バリア機能低下に対する 十味敗毒湯の薬効評価

クラシエ株式会社 漢方研究所

菅原 美紗、青木 やよい、宮村 優里、張 群、道原 成和、千葉 殖幹



はじめに

皮膚は人体の最も外側の器官であり、さまざまな外部刺激から身体の恒常性を保つためのバリアとしての働きをもつ。皮膚バリア機能には、化学物質や感染物、熱、紫外線、乾燥などから身体を物理的に隔絶させる機能、抗菌物質や抗酸化物質、表皮免疫を使って有害物を無効化させる機能、油脂や保湿分子を使って水の蒸散を防ぎ乾燥から保護する機能などが知られている¹⁾。これらの機能は相互に関連し、いずれかの機能が失調すると他の機能にも影響を及ぼし、皮膚機能が低下する可能性がある¹⁾。皮膚バリアの破綻は、乾燥肌や慢性皮膚炎、尋常性痤瘡などを含む様々な皮膚疾患において、発症及び病態悪化の原因になると報告されている^{1, 2)}。特に、尋常性痤瘡においては、皮膚バリア機能の低下に伴い過角化が頻繁に起こり、面皰が形成される³⁾ことから、その発症を繰り返す要因となると考えられる。

皮膚バリアの機能は、食事や運動、睡眠などの生活習慣や精神状態にも影響を受けると報告されている。食生活と肌の状態に関する報告では、例えば、ビタミンCは皮膚や結合組織のコラーゲン合成に必須の補酵素であり、不足すると皮膚の乾燥や皮下出血などの症状が報告されている^{4, 5)}。亜鉛は皮膚代謝機能に関与するため、不足すると皮膚炎の原因となる⁶⁾。また脂質においては、摂取するn-3系脂肪酸とn-6系脂肪酸の比率n-6/n-3が高いと、肌の乾燥を引き起こす経皮水分蒸散量(TEWL)が増大する傾向にあり、バリア機能を果たす皮膚構造のうち、最も外側に位置する角質層の物理的な隔絶機構や保湿因子、皮脂の維持機能低下が示唆されている⁷⁾。これらの報告から、食事の栄養バランスの維持は、皮膚バリア機能を維持するうえで重要な要素であることがわかる。

十味敗毒湯は柴胡、桔梗、川芎、茯苓、防風、甘草、生姜、荊芥、独活、桜皮の十種の生薬で構成される漢方薬であり、華岡青洲が荊防敗毒散(『万病回春』)の加減方として

考案した⁸⁾。十味敗毒湯は化膿性皮膚疾患や急性皮膚疾患の初期、じんましん、急性湿疹、水虫の効能・効果をもつ医療用漢方エキス製剤として、尋常性痤瘡をはじめとする化膿性皮膚疾患やアトピー性皮膚炎など、皮膚バリア機能の低下を伴う皮膚疾患の治療に用いられている^{9, 10)}。

以前、われわれは紫外線曝露に伴う皮膚バリア機能の低下に対する十味敗毒湯の効果を報告していた¹¹⁾。今回われわれは、栄養バランスの乱れ、特に飼料中に含まれる脂肪酸のn-6/n-3比率が高い高脂肪食を負荷したモデルで、TEWLが増大するとの報告¹²⁾に着目し、このような脂質バランスの乱れが引き起こす皮膚バリアの低下に対する十味敗毒湯の効果について検討したため報告する。

試験方法

<モデル作製>

6週齢の雄性Hos:HR-1マウスを株式会社星野試験動物飼育所より40匹購入し、1週間順化飼育の後に実験に供した。

群分けは、マウス背部の経皮水分蒸散量(TEWL)の平均が群間で同程度となるように行った:普通食(Normal)群、高脂肪食(HFD群)、高脂肪食+十味敗毒湯(lot.No. 62Q)600mg/kg投与(JHT600)群、高脂肪食+十味敗毒湯1200mg/kg投与(JHT1200)群、高脂肪食+十味敗毒湯1800mg/kg投与(JHT1800)群。Day 0より、陰性対照としてのNormal群にはCE-2飼料(日本クレア株式会社)を、他の群にはHFD-60飼料(オリエンタル酵母工業株式会社)を3週間与え、Day 7より、JHT600群及びJHT1200群、JHT1800群には十味敗毒湯エキスを、Normal群及びHFD群には同量の蒸留水を1日1回、週に6回の頻度で2週間経口投与した。Day 19に背中でのTEWL測定とテープストリッピング処理を行い、Day 21に再度TEWLを測定した。マウスは1匹ずつ床敷ケージで飼育し、飼育期間中は自由摂食・飲水とし、室温 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55\pm 10\%$ 、8:00点灯、20:00消灯の12時間サイクルで飼育した。

<TEWL測定方法>

2.0%イソフルラン麻酔下でマウス背部のTEWLをTewameter TM HEX(Courage+Khazaka)を用いて測定した。

<テープストリッピング処理>

2.0%イソフルラン麻酔下でマウス背部のTEWLを測定した後に3Mスコッチ 超透明テープS(スリーエムジャパン株式会社)をマウス背部に貼り、直ちに剥がした。この操作を二回行い、直後に再度TEWLを測定した。

<リアルタイムPCR>

Day 21にマウス背部より採取した皮膚組織よりRNAを抽出し、Keratin 10、GAPDH(Keratin 10 Forward primer 5'-CGACCAATCATCTAAAGGACCAAG-3'、Reverse primer 5'-GCCCCGTATGAAGAGACTCTTCTA-3'、GAPDH Forward primer 5'-ATTCAACGGCACAGTCAAGG-3'、Reverse primer 5'-TCACCCCATTTGATGTTAGTGG-3')の遺伝子発現量を測定し、ddCt法によって解析した。

<統計学的解析>

データは平均値±標準誤差で示した。各群の有意差検定にはStatcel 3を用い、Dunnett法により危険率が5%未満($p<0.05$)の場合を有意差ありと判定した。

試験結果

飼料中の脂肪酸比率n-6/n-3が高い高脂肪食を継続的に摂取した個体の皮膚への、物理的外部刺激に対する傷害レベルを評価するため、Day 19において、マウス背部にテープストリッピング処理を行い、皮膚バリア機能の指標として用いられるTEWLで評価した。

その結果、テープストリッピング処理によりTEWLは、Normal群と比較してHFD群では有意に増大した(図1A)一方で、JHT600群及びJHT1200群では、HFD群と比較してTEWLの増大が有意に抑制された。また、Day 21に再度TEWLを測定したところ、Normal群と比較してHFD群では有意に値が増大し、JHT600群及びJHT1200群ではその増大の有意な抑制が、同様に確認され、Normal群と同程度となった(図1B)。

さらに、皮膚バリア機能に関与する分子として知られる、Keratin 10の挙動を、Day 21に採取した皮膚中の発現量で評価したところ、Normal群と比較してHFD群で減少傾向を示したが、JHT600群では有意な改善を認めた(図2：次頁参照)。

考察とまとめ

本研究では、飼料中の脂肪酸比率n-6/n-3が高い高脂肪食を負荷したマウスの皮膚のバリア状態に対する十味敗毒湯の効果について、テープストリッピング処理を用いて

図1 十味敗毒湯の経皮水分蒸散量に及ぼす効果

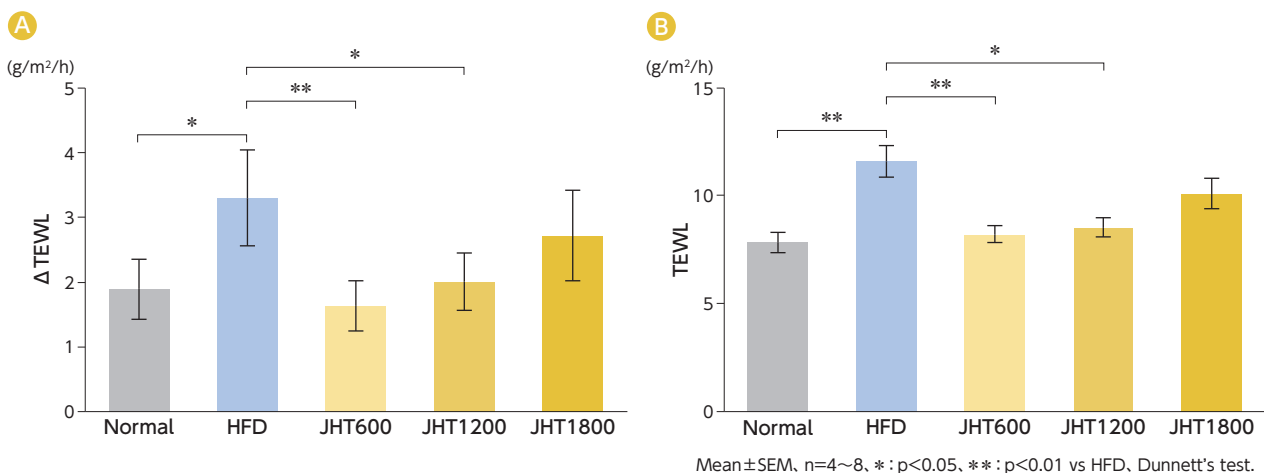
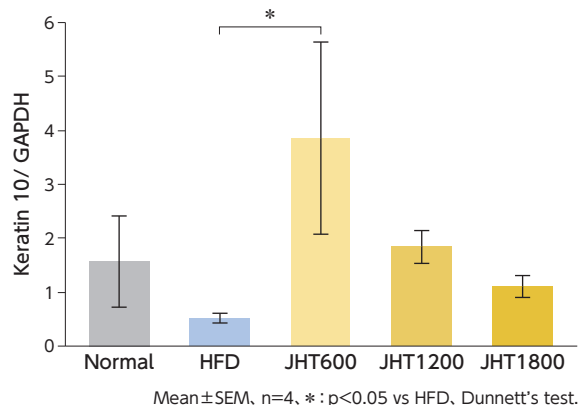


図2 十味敗毒湯のKeratin 10に及ぼす効果



検討した。テープストリッピングは角質層の表層を剥離することで皮膚バリア機能を低下させることが知られており¹²⁾、テープストリッピング処理を施した後にTEWLは増大する。今回の試験では、Normal群よりもHFD群のほうがテープストリッピング処理前後のTEWLの増大幅が大きかったことから、高脂肪食を継続的に摂取すると、脆弱な皮膚となり、外部刺激によって容易に皮膚バリアが破綻する可能性が示唆された。一方で、このモデルに十味敗毒湯を投与すると、テープストリッピング処理によるTEWLの増大幅が小さくなったため、脂質バランスの乱れに左右されず皮膚バリアを強固に維持する作用が考えられた。さらにDay 21では、テープストリッピング処理によって上昇したTEWLがNormal群と同程度まで回復したことから、皮膚バリアの損傷を修復する作用も持っている可能性が示唆された。

皮膚バリア機能は、角化や細胞間接着分子、皮脂膜など、様々な因子が関与し維持される。先行研究より、普通食のマウスと比較して、高脂肪食を負荷したマウスの皮膚では、各表皮層の角化細胞の分化マーカーとして知られているケラチン類(Keratin 5、Keratin 10、Keratin 14)の発現低下が報告されていた¹³⁾。成熟角化細胞は、基底層に存在しKeratin 5/14を発現する増殖基底細胞の一部が分化し、有棘層に移動し、Keratin 1/10を発現する有棘細胞/顆粒細胞に分化した後に、脱核して生成される¹⁴⁾。今回の試験においては、高脂肪食負荷マウスでKeratin 10の発現が低下傾向にあったが、十味敗毒湯によりその低下が有意に抑制された。このことから、十味敗毒湯は高脂肪食による角化細胞の分化の乱れを正常化することで、皮膚バリアの維持や修復に寄与したと考えられる。Keratin 10欠損マウスにおいては、テープストリッピング処理後の皮膚バリア機能修復能力の低下が報告されており、角質層内で水分保持能を担うセラミドの比率が角質層の脂質総量に対して減少すること、さらに角質細胞の周辺帯タンパク質と細胞間脂質とを架橋することで強固な皮膚バリアを維持する角層細胞脂質エンベロップ量が減少することも報告されており、これらが皮膚バリア機能低下の要因として考えられる¹⁵⁾。高脂肪食マウスの皮膚ではKeratin 10が低下し、十味敗毒湯がその低下を抑制していることから、十味敗毒湯がKeratin 10の回復を通して角質層脂質総量に対するセラミドの比率や角層細胞脂質エンベロップ量の改善にも関わっている可能性が示唆された。今後、これらを視野に入れた十味敗毒湯の皮膚バリア機能に対する詳細なメカニズムを明らかにしていく予定である。

【参考文献】

- Seung Hun Lee, Se Kyoo Jeong, Sung Ku Ahn: An Update of the Defensive Barrier Function of Skin. *Yonsei Medical Journal*. 47 (3): 293-306, 2006
- Milbrey A. Parke, Ariadna Perez-Sanchez, Dina H. Zamil, and Rajani Kattacorrresponding: Diet and Skin Barrier: The Role of Dietary Interventions on Skin Barrier Function. *Dermatol Pract Concept*. 11 (1): e2021132, 2021
- 竹之内薫子, 山本綾子: 尋常性痤瘡における角層のwater-barrier functionと脂質組成の検討. *日本皮膚科学会誌*. 104: 973-977, 1994
- 石神昭人: 災害時におけるビタミンCの不足と摂取の必要性. *ビタミン*. 85: 400-404, 2011
- 大塚 恵, 荒川信彦.: (2) コラーゲン生合成におけるビタミンCの役割. *ビタミン*. 73: 99-101, 1999
- 一般社団法人 日本臨床栄養学会: 亜鉛欠乏症の診療指針 2018. <http://www.jscn.gr.jp/pdf/aen2018.pdf>
- 高岡素子, 宮崎博隆, 別所京子, 松本 剛, 佐々木 愛: 食生活が肌の状態に及ぼす影響. *日本食生活学会誌*. 19: 44-49, 2008
- 一般社団法人 日本東洋医学会 漢方医学書籍編集委員会: 漢方医学大全. 423, 株式会社静風社, 2022, ISBN: 978-4-9911263-5-2
- 野本真由美: 難治な尋常性痤瘡に対する校皮配合十味敗毒湯の効果—短期間高用量投与について—. *西日本皮膚科*. 77: 265-269, 2015
- 高橋邦明: 皮膚疾患の漢方治療総論—中医学的理論を基礎として—. *皮膚*. 39: 1-23, 1997
- Kenta Murata, Manami Oyama, Misaki Ogata, Nina Fujita, Ryuji Takahashi: Oral administration of Jumihaikoto inhibits UVB-induced skin damage and prostaglandin E2 production in HR-1 hairless mice. *J Nat Med.*, 75: 142-155, 2021.
- Wood L.C., Emami S., Calhoun C., Brown B.E., Elias P.M., Feingold K.R.: Barrier disruption stimulates interleukin-1 alpha expression and release from a pre-formed pool in murine epidermis. *Arch. Dermatol.Res.* 106: 397-403, 1996
- M Aoki, T Murase: Obesity-associated insulin resistance adversely affects skin function. *PLoS One.*, 14 (10): e0223528, 2019
- 石塚洋典: 皮膚バリア形成とバリア不全が関与する皮膚疾患. *Jpn. J. Clin. Immunol.*, 40: 416-427, 2017
- Jensen JM, Schütze S, Neumann C, Proksch E: Impaired cutaneous permeability barrier function, skin hydration, and sphingomyelinase activity in keratin 10 deficient mice. *J Invest Dermatol.*, 115: 708-713, 2000