

尋常性痤瘡による癬痕形成に 対する桜皮の抑制作用

クラシエ株式会社 ウェルビーイングRC
松本 萌、篠原 健志、藤田 日奈



はじめに

尋常性痤瘡(一般にニキビと呼称される)は、脂質代謝異常、角化異常、細菌増殖が関与する慢性炎症性疾患である。日本では90%以上の方が罹患する身近な肌疾患であり、炎症が治まっても癬痕として皮膚に凹凸が残る場合がある¹⁾。尋常性痤瘡患者は、重症度に関わらず早期から微小な癬痕が形成されることが報告されており、発症初期からの適切な治療の重要性が示唆されている²⁾。しかし、その罹患率の高さ故に軽視される傾向があり、医療機関を受診する患者は全体の10%に過ぎない¹⁾。こうした治療の遅れは癬痕形成のリスクを高め^{2, 3)}、癬痕は患者の生活の質(quality of life ; QOL)に大きな影響を及ぼす^{2, 4)}。尋常性痤瘡患者における癬痕の有病率は半数近くに上り⁵⁾、癬痕形成の予防・改善は尋常性痤瘡治療における重要な課題である。日本皮膚科学会の『尋常性痤瘡・酒皰治療ガイドライン2023』(以下ガイドライン)においても、炎症軽快後の維持療法が推奨されており、再発を抑えて癬痕形成を予防することが望まれている。

従来、尋常性痤瘡の治療は炎症性皮疹に対する外用・内服抗菌薬が中心であったが、近年はレチノイド(アダパレン)や過酸化ベンゾイル(BPO)を主体とする治療が一般的となっている。炎症軽快後の維持療法においてもアダパレンやBPOが強く推奨され、面皰の形成抑制や抗菌作用により寛解を維持して再発を予防する^{1, 6, 7)}。これらの外用薬は癬痕の改善効果も示唆されているが⁶⁾、癬痕の治療薬としてガイドライン上で推奨されているわけではなく、十分なエビデンスは確立していない。一方、癬痕治療としてステロイド局所注射が一定の推奨を受けるものの、推奨度の高い治療法とは位置づけられておらず、癬痕治療は依然としてアンメットニーズの高い領域である。

癬痕は、炎症によって皮膚の正常な構造が破壊され、その後の創傷治癒過程で完全に修復されずに残った傷跡のことであり、皮膚の隆起、陥凹、色素沈着を特徴とする¹⁾。創傷治癒は、炎症期、増殖期、リモデリング期という過程を経て修復が進行する。特に、リモデリング期では、マト

リックスメタロプロテアーゼ(Matrix metalloproteinase ; MMP)が不要な細胞外マトリックス(Extracellular matrix ; ECM)を分解し、線維芽細胞が新しいECMを合成して組織強度を回復させる⁸⁾。したがって、正常な創傷治癒には修復における分解と合成のバランスが重要である。近年、MMPの発現異常が創傷治癒不全の病態形成に関与することが示唆されている⁹⁾。MMPの一種であるMMP-2は基底膜成分のIV型コラーゲンを分解する酵素であるが、基底膜は創傷治癒において重要な役割を担うことから、基底膜の不完全性と創傷治癒不全の関連性が示唆されている¹⁰⁻¹²⁾。

尋常性痤瘡の癬痕にはいくつか種類があるが、コラーゲンの減少によって皮膚に陥凹を生じる萎縮性癬痕と、コラーゲンの増加によって皮膚が隆起する肥厚性癬痕に大別される。萎縮性癬痕は全体の80%以上を占める代表的な癬痕であるが¹³⁾、萎縮性癬痕形成傾向の患者ではMMP-2の発現が亢進し、これを抑制するTIMP-2の発現が低下すると報告されている¹⁴⁾。さらに、MMP-2の上流で機能するTGF- β 1の発現が上昇することも報告されている¹⁴⁾。これらの知見から、萎縮性癬痕形成患者では、TGF- β 1の過剰発現によりMMP-2の発現が促進され、過剰な分解作用が基底膜の再生不全を引き起こし、その結果癬痕形成に寄与する可能性が示唆される。

尋常性痤瘡治療に用いられる十味敗毒湯は、化膿性皮膚疾患・急性皮膚疾患の初期、蕁麻疹、急性湿疹、水虫に効能・効果をもつ漢方処方である。尋常性痤瘡は炎症を伴うことから、炎症性皮疹に対して、選択肢の一つとしてガイドラインで推奨されている。炎症性皮疹の改善に加えて、痤瘡癬痕の予防に寄与する可能性も示されており、許らは痤瘡癬痕の経過を観察したところmini-scar(微小癬痕)の増加を十味敗毒湯併用群で抑制できたとの臨床報告を行っている¹⁵⁾。十味敗毒湯は桜皮(または樸楸)・防風・荊芥・独活・柴胡・桔梗・川芎・茯苓・甘草・生姜から構成される。構成生薬の一つである桜皮は抗炎症作用、エストロゲン様作用、皮脂合成抑制作用など様々な薬理作用が報告されている¹⁶⁻¹⁹⁾。特に、桜皮は皮膚線維芽細胞におけ

るエストロゲン産生を促進する重要な役割を担うことが報告されている。桜皮を除くとエストロゲン分泌促進作用が低下することから、桜皮が十味敗毒湯の内分泌調整作用の中心的生薬であることが示唆されている¹⁷⁾。一方、エストロゲンは創傷治癒において炎症調整、線維芽細胞活性、コラーゲン代謝、基底膜再生など多岐に作用することが明らかになっており、エストロゲン欠乏は治癒遅延を引き起こすことが知られている²⁰⁻²²⁾。また、エストロゲンはTGF- β /SMAD経路を調整し、線維化やMMP/ECM代謝に影響することが報告されている²⁰⁻²³⁾。これらの知見を総合すると、桜皮によるエストロゲン分泌促進作用は、TGF- β 1-MMP-2軸に関連する過剰な基底膜分解を調整し、萎縮性瘢痕形成に関わる分解・再構築バランスへ影響を与える可能性がある。

そこで本研究では、十味敗毒湯の瘢痕形成抑制作用のメカニズム解明を目的として、構成生薬の一つである桜皮に着目をした。線維芽細胞と三次元皮膚モデルを使用し、MMP-2による過剰な分解作用に着目し、基底膜成分の分解に対する評価を行った。

実験方法

〈使用細胞〉

ヒト皮膚線維芽細胞(Normal Human Dermal Fibroblasts; NHDF)(クラボウ)を実験に使用した。NHDFの培養にはMinimum Essential Medium Eagle With Earle(Sigma-Aldrich)を用いた。これに10% fetal bovine serum(FBS)、2mM L-Glutamine、1mM Sodium Pyruvate Solution、抗菌剤を加えたものを細胞増殖用培地とした。試験用培地ではプレートの培地を使用した。三次元皮膚モデルはEFT-412(MATTEK)を使用し、プロトコル記載の通りに培養した。全ての細胞は、37°C、5%CO₂環境下で培養した。

〈MMP-2のmRNA発現の測定〉

NHDFを12ウェルプレートに1.8×10⁵cells/wellで播種した。24時間後に、試験用培地に交換し、桜皮(5, 10 μ g/mL、クラシエ株式会社)を添加した。2時間後に再び試験用培地に交換し、同様の濃度の桜皮に加え、TGF- β 1を1ng/mLの濃度になるように添加した。24時間後、RNA抽出キット(QIAGEN)を使用して回収しリアルタイムPCR法によって測定した。

〈MMP-2のタンパク質量の測定〉

NHDFを12ウェルプレートに1.8×10⁵cells/wellで播

種した。24時間後に、試験用培地に交換し、桜皮(5, 10 μ g/mL、クラシエ株式会社)を添加した。2時間後に再び試験用培地に交換し、同様の濃度の桜皮に加え、TGF- β 1を1ng/mLの濃度になるように添加した。24時間後、RIPAバッファー(CST)にプロテアーゼ阻害剤(CST)を添加した溶液にて回収し、超音波破碎後、試験に使用した。タンパク質はウエスタンブロッティング法を用いて測定した。

〈三次元皮膚モデルの解析〉

三次元皮膚モデルはMATTEK社のプロトコル記載の通りに培養した。一晩前培養後、桜皮(10 μ g/mL、クラシエ株式会社)を添加した。2時間後、同濃度の桜皮に加えてTGF- β 1を1ng/mLの濃度になるように調製した培地を添加した。2日後に回収し、凍結ブロックを作成した。凍結切片は、VECTASTAIN ABC kit(VEC)を用いてペルオキシダーゼ染色法による免疫組織染色を行い、COL4A1(GeneTex)、LAMB3(proteintech)の抗体で蛍光染色をし、DAPI配合封入剤(VEC)を用いて封入し、観察した。

〈統計学的解析〉

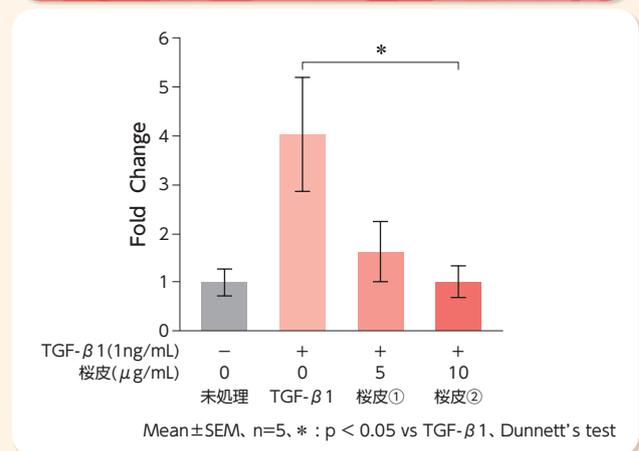
得られたデータは平均値±標準誤差で示した。有意差検定は、一元配置分散分析を行った後、Dunnett検定を行い、p<0.05を有意差ありとした。全ての検定は統計ソフトEZRを用いて行った。

試験結果

〈MMP-2のmRNA発現に対する桜皮の作用〉

線維芽細胞において、無刺激と比較してTGF- β 1刺激ではMMP-2のmRNA発現が増加し、さらに桜皮を添加することで発現が有意に減少した(図1)。

図1 TGF- β 1刺激によるMMP-2のmRNA発現量



〈MMP-2のタンパク質発現に対する桜皮の作用〉

線維芽細胞において、TGF- β 1刺激のみと比較して、TGF- β 1刺激に加えて桜皮を添加することで発現が減少した(図2)。

〈基底膜成分の分解に対する桜皮の作用〉

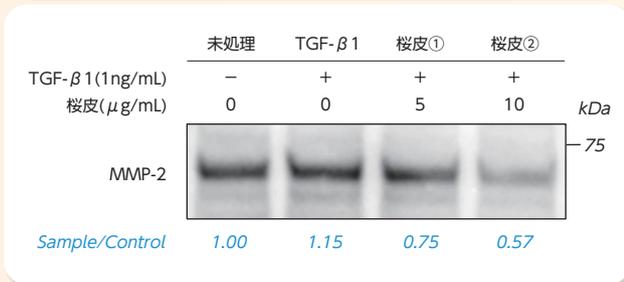
基底膜成分の分解に対する作用を調べるため、基底膜の成分であるIV型コラーゲンとラミニンについて、三次元皮膚モデルの組織切片染色を行った。IV型コラーゲンおよびラミニンのいずれにおいても、無刺激と比較してTGF- β 1刺激では発現が減少するが、さらに桜皮を添加することで減少が抑制される結果が得られた(図3)。

考察とまとめ

本研究では、十味敗毒湯に含まれる桜皮が瘢痕形成抑制作用を有するか検証することを目的とし、基底膜成分の分解に焦点を当てて検討を行った。その結果、桜皮は線維芽細胞におけるTGF- β 1刺激下のMMP-2発現を抑制し(図1、2)、さらに三次元皮膚モデルにおいて基底膜成分の分解を抑制することが示された(図3)。

今回、TGF- β 1を用いた検討を行ったが、TGF- β は炎

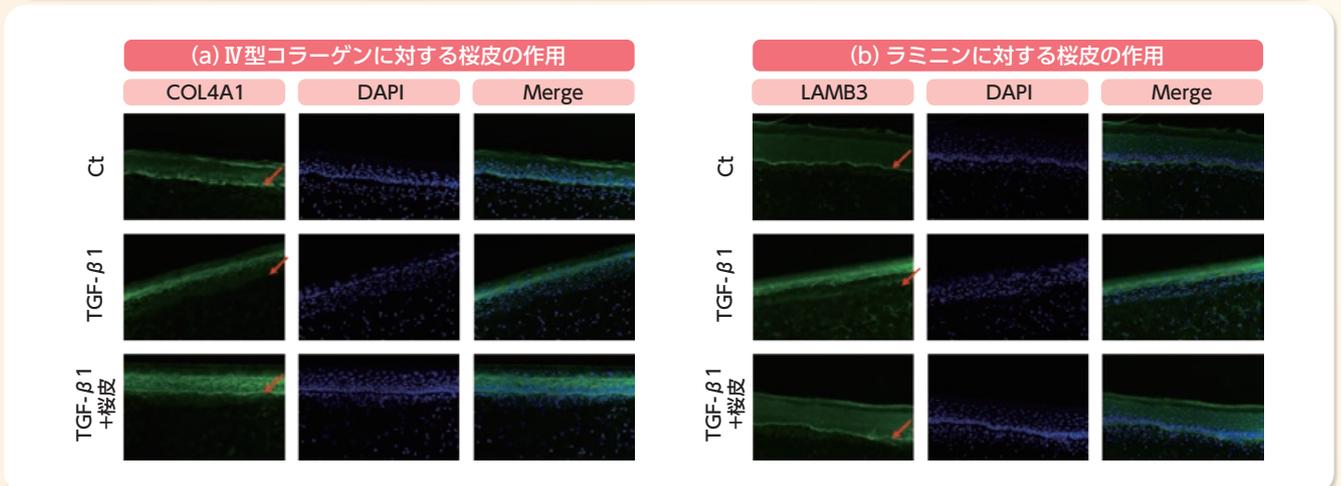
図2 TGF- β 1刺激によるMMP-2のタンパク質発現量



症からリモデリングまでの創傷治癒の各段階を通して多様な細胞に作用し、免疫反応の調整、細胞遊走、ECMの産生、リモデリングなど、組織修復に関わる多くのプロセスを制御する因子として知られている²⁴⁾。TGF- β 1は線維芽細胞に作用してコラーゲンなどのECMの合成を促進する一方で、MMP-2/-9などのプロテアーゼ系を誘導し、ECMを分解してリモデリングを進めるため、創傷治癒の進行にはその合成と分解のバランスが重要である²⁴⁻²⁶⁾。結果より、桜皮はTGF- β 1誘導性のMMP-2発現の過剰な亢進を抑える可能性を示した。TGF- β シグナルはSmad2/3を中心とする経路を介してMMP-2の発現誘導を行う。桜皮の主成分の一つであるナリンゲニンはSmad3を介したMMP-2の発現を抑制することが示されている²⁷⁾。したがって、桜皮によるMMP-2抑制にはSmad2/3シグナル経路の制御が関与する可能性があり、今後Smad2/3シグナル経路について検討を行う必要がある。

さらに、MMP-2の抑制は基底膜成分の分解制御にとどまらず、その後に続く再上皮化過程にも影響を与える点で重要である。創傷治癒の後期では、ケラチノサイトが遊走して創傷の表面を覆う再上皮化が起こる。再上皮化の初期では、ケラチノサイトが既存の基底膜から離脱し、創傷を覆うように遊走するため、基底膜成分の沈着は不十分であり、ラミニンが先行して発現することで細胞移動を促進する足場を形成する²⁸⁾。創面が閉鎖すると、ラミニンは遊走促進因子から基底膜構成要素へと機能転換する。ラミニンはIV型コラーゲンと結合し、基底膜の構造の一部となり、再構築された基底膜が足場となって表皮の安定化に寄与する。したがって、成熟期における基底膜の完成度は創傷治癒の質に関わり、基底膜成分の過剰分解が持続すると、再構築の遅延や構造の不安定化を介して治癒不全・瘢痕形成に影響し得る。実際に高齢皮膚でも、創傷後の基底膜再

図3 三次元皮膚モデルにおけるTGF- β 1刺激による基底膜成分への作用



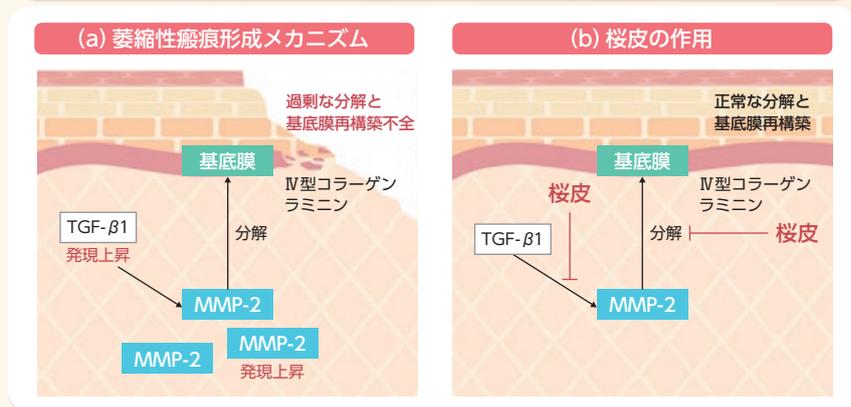
構築が若年皮膚と比べて低下しており、ラミニンの配置構造が変化するために再上皮化が遅延し、治癒不全につながることを示唆されている¹⁰⁾。さらに、遺伝性疾患である表皮水疱症(EB)においても、基底膜帯構成タンパク質の欠損により皮膚の脆弱性と慢性創傷が生じることが報告されており、基底膜再構築不全が治癒障害の原因となることが示唆されている¹²⁾。これらのことから、基底膜の主成分であるIV型コラーゲンや再上皮化に必要なラミニンの過剰分解を防ぐことは、創傷治癒の正常化につながると考えられる。

一方で、MMPは創傷治癒において生理的にも必要であり、特に初期の細胞遊走・リモデリングには一定のMMP活性が求められる。したがって重要なのは、MMP活性を一律に抑えるのではなく、治癒不全や瘢痕形成に関与し得る過剰なMMP応答を適切に制御することである。本研究で観察された桜皮の作用は、TGF- β 1刺激下で増強したMMP-2発現を抑えるものであり、この「過剰分解側反応の是正」という観点から、基底膜再構築の改善に寄与する可能性がある。したがって、桜皮によるMMP-2制御が示す「基底膜分解側反応の過剰を抑える」という戦略は、創傷治癒不全の分子病態とも一定の整合性を有すると考えられる。以上の知見を踏まえて、

瘢痕形成に関与するシグナルと桜皮の作用仮説を図にまとめた(図4)。本研究で得られたデータにより、TGF- β 1シグナル由来のMMP-2の過剰発現を桜皮が抑制し、過剰な基底膜成分の分解を抑えることで、創傷治癒過程における分解と合成の不均衡を改善することが示唆された。桜皮のこれらの作用を踏まえると、許らの臨床報告¹⁵⁾において、十味敗毒湯投与がmini-scar形成を抑制したとされる知見は、桜皮によるMMP-2制御に基づく作用である可能性が示唆される。

今後、桜皮によるMMP-2抑制機序の詳細を明らかにするとともに、十味敗毒湯の瘢痕形成予防に対する有用性についても明らかにしていきたい。

図4 瘢痕形成に対する桜皮の抑制作用 仮説



【参考文献】

- 1) 山崎研志 ほか: 尋常性痤瘡・酒齎治療ガイドライン2023. 日皮会誌 133: 407-450, 2023
- 2) Hayashi N et al.: Prevalence of scars and "mini-scars", and their impact on quality of life in Japanese patients with acne. J Dermatol 42: 690-696, 2015
- 3) Tan J et al.: Prevalence and Risk Factors of Acne Scarring Among Patients Consulting Dermatologists in the USA. Journal of drugs in dermatology : J Drugs Dermatol 16: 97-102, 2017
- 4) Tan J et al.: Impact of Facial Atrophic Acne Scars on Quality of Life: A Multi-country Population-Based Survey. Am J Clin Dermatol 23: 115-123, 2022
- 5) Liu L et al.: Prevalence and risk factors of acne scars in patients with acne vulgaris. Skin Res Technol 29: e13386, 2023
- 6) Tanizaki H et al.: Evaluation of the efficacy of maintenance therapy for acne vulgaris using adapalene 0.1%/benzoyl peroxide 2.5% gel and benzoyl peroxide 2.5% gel for 24 weeks and assessment of atrophic acne scars using three-dimensional image analysis. J Dermatol 50: 1513-1522, 2023
- 7) Thiboutot DM et al.: Adapalene gel, 0.1%, as maintenance therapy for acne vulgaris: a randomized, controlled, investigator-blind follow-up of a recent combination study. Arch Dermatol 142: 597-602, 2006
- 8) Diller RB et al.: The Role of the Extracellular Matrix (ECM) in Wound Healing: A Review. Biomimetics (Basel) 7: 87, 2022
- 9) Sabino F et al.: Matrix metalloproteinases in impaired wound healing. Metalloproteinases In Medicine 2: 1-8, 2015
- 10) Fisher G et al.: Restoration of the basement membrane after wounding: a hallmark of young human skin altered with aging. J Cell Commun Signal 12: 401-411, 2018
- 11) Yang S et al.: Abnormalities in the basement membrane structure promote basal keratinocytes to adopt a proliferative phenotype in hypertrophic scars. Int J Mol Med 37: 1263-1273, 2016
- 12) Trajkovic G et al.: Basement membrane zone proteins in wound healing: Insights from epidermolysis bullosa models. Dermatologica Sinica 43: 277-284, 2025
- 13) Fabbrocini G et al.: Acne scars: pathogenesis, classification and treatment. Dermatol Res Pract 2010: 893080, 2010
- 14) Moon J et al.: Atrophic acne scar: a process from altered metabolism of elastic fibres and collagen fibres based on transforming growth factor- β 1 signalling. Br J Dermatol 181: 1226-1237, 2019
- 15) 許 郁江: Mini-scarを防ぐ痤瘡の漢方治療. phil漢方 74: 18-20, 2019
- 16) Watanabe K et al.: Pruni cortex ameliorates skin inflammation possibly through HMGB1-NF- κ B pathway in house dust mite induced atopic dermatitis NC/Nga transgenic mice. J Clin Biochem Nutr 56: 186-194, 2015
- 17) 道原成和 ほか: 桜皮配合十味敗毒湯のエストロゲン様作用およびエストロゲン分泌促進作用について. 医学と薬学 76: 1449-1456, 2019
- 18) 遠野弘美 ほか: 桜皮及び桜皮成分のエストロゲン受容体 β 結合能の評価. 薬学雑誌 130: 989-997, 2010
- 19) 篠原健志 ほか: 十味敗毒湯および桜皮の皮脂合成に対する作用. 医学と薬学 73: 579-583, 2016
- 20) Horig HC et al.: Estrogen Effects on Wound Healing. Int J Mol Sci 18: 2325, 2017
- 21) Xie J et al.: The Role of Estrogen in Collagen Deposition and Organization During Cutaneous Wound Healing. J Invest Dermatol 145: e54, 2025.
- 22) Moalli PA et al.: Regulation of matrix metalloproteinase expression by estrogen in fibroblasts that are derived from the pelvic floor. Am J Obstet Gynecol 187: 72-79, 2002
- 23) Ito I et al.: Estrogen inhibits transforming growth factor beta signaling by promoting Smad2/3 degradation. J Biol Chem 285: 14747-14755, 2010
- 24) Valluru M et al.: Transforming Growth Factor- β and Endoglin Signaling Orchestrate Wound Healing. Front Physiol 2: 89, 2011.
- 25) Gilbert RWD et al.: Signalling by Transforming Growth Factor Beta Isoforms in Wound Healing and Tissue Regeneration. J Dev Biol 4: 21, 2016
- 26) Muscella A et al.: TGF- β 1 activates RSC96 Schwann cells migration and invasion through MMP-2 and MMP-9 activities. J Neurochem 153: 525-538, 2020
- 27) Lian GY et al.: Inhibition of tumor invasion and metastasis by targeting TGF- β -Smad-MMP2 pathway with Asiatic acid and Naringenin. Mol Ther Oncolytics 20: 277-289, 2021
- 28) Iorio V et al.: Laminins: Roles and Utility in Wound Repair. Adv Wound Care (New Rochelle) 4: 250-263, 2015