

## 【学位論文審査の要旨】

### 1 研究の目的

皮脂は皮膚付属器官の一つである皮脂腺で産生され、毛包導管部を通じて皮表へと分泌される。適量の皮脂には保湿作用があると考えられているものの、過剰の皮脂はニキビや毛穴の目立ちなどの皮膚トラブルの原因になっていると考えられている。過剰な皮脂は表皮分化異常の原因になるとされるものの、そのメカニズムは明らかになっていない。

ヒト皮脂はトリグリセライド、ワックスエステル、スクワレン、遊離脂肪酸などから構成される。これらの構成成分のうち、トリグリセライドおよび遊離脂肪酸が皮脂全体の約6割を占めている。この遊離脂肪酸は *Propionibacterium acnes* (アクネ菌) などの皮膚常在菌の働きによりトリグリセライドが加水分解されることにより生成する。皮脂中の遊離脂肪酸の炭素数は主に C16 および C18 であり、それぞれに飽和脂肪酸と不飽和脂肪酸がある。これらのいずれかの皮脂構成成分が、表皮分化異常の原因となっているのではないかと考えられる。

勝田氏は本研究で皮脂構成成分による表皮分化への影響について検討を行っている。毛穴の目立ちと皮脂成分の関係についての実態調査を行い (第一章)、次に表皮分化異常を引き起こす成分を同定する目的で、構成脂質の *in vivo* マウス皮膚および *in vitro* ヒト培養表皮細胞への影響を評価し (第二章)、最後に皮脂成分が表皮分化異常を引き起こすメカニズムの解析を行っている (第三章)。

### 2 研究の方法と結果

#### 毛穴の目立ちと皮脂構成成分の関係

最初に、20 ~30 代の日本人女性 59 名の被験者の皮膚測定試験を実施した。毛穴の目立ちは、視感判定により (A) 毛穴が目立たない群、(B) 普通群、(C) 毛穴が目立つ群、の3群に分類した。各被験者の皮脂を採取し、ガスクロマトグラフィーで分析した。この結果、総皮脂量および皮脂中の不飽和脂肪酸比率が、毛穴が目立つ群 (C 群) で高まっていた。また、皮膚バリア機能の指標である経皮水分蒸散量 (TEWL) および、不全角化による有核角層細胞の数が、毛穴が目立つ群 (C 群) で悪化する傾向にあることから、毛穴が目立つ群では表皮分化が異常になっていることが示唆された。

これらの結果から、毛穴から分泌される皮脂が毛穴周囲の表皮に悪影響をもたらしているのではないかと考えられた。この仮説が正しければ、毛穴周囲の角層は、毛穴から離れた角層よりも状態が悪くなっていると考えられる。この仮説を検証するために、毛穴周辺の皮膚と毛穴から離れた皮膚の比較を行った。この結果、毛穴周辺皮膚は不全角化による有核角層細胞数が多く、また皮膚バリア機能が悪化していた。これらの結果から、過剰皮脂中の不飽和脂肪酸が表皮角化細胞の分化異常を引き起こし、これが毛穴の目立ちにつながるのではないかと考えられた。

### 不飽和脂肪酸の表皮分化ならびに表皮角化細胞へのカルシウム流入への影響

勝田氏による上記の研究から、皮脂成分と皮膚分化異常の相関が示唆された。この検証の為に、各皮脂成分をヘアレスマウス背部皮膚へ塗布した。不飽和脂肪酸（パルミトレイン酸およびオレイン酸）の塗布により肌荒（落屑）が生じ、不全角化による有核角層細胞の増加し、また表皮細胞の増殖が亢進した。一方でトリグリセライド（トリオレイン）および飽和脂肪酸（パルミチン酸、ステアリン酸）は、これらの皮膚への悪影響をもたらさなかった。また、オレイン酸の塗布により表皮内部のカルシウム濃度勾配が異常になった。

次に、これらの脂質を培養表皮角化細胞に添加し、カルシウム指示薬 fura-2 を用いて細胞内カルシウムイオン濃度 $[Ca^{2+}]_i$  を測定した。不飽和脂肪酸により細胞内カルシウムイオン濃度が上昇したが、トリオレインおよび飽和脂肪酸は細胞内カルシウムイオン濃度に影響しなかった。

これらの結果から、過剰皮脂中の方飽和脂肪酸が表皮細胞中のカルシウム濃度を上昇させ、その結果として表皮分化が異常になっているのではないかと考えられた。

### 皮膚バリア機能および表皮角化細胞へのカルシウム流入への NMDA 受容体の関与

勝田氏による上記の発見から、不飽和脂肪酸による表皮分化異常にはカルシウム流入が関与することが示唆された。この、不飽和脂肪酸による細胞への異常なカルシウム流入の分子メカニズムの解明の為に、オレイン酸による皮膚バリア機能の悪化および表皮角化細胞へのカルシウム流入におけるカルシウムイオン流入におけるカルシウムチャネルの影響を評価した。最初に、カルシウムチャネル受容体の阻害剤をオレイン酸とともにマウス皮膚へ塗布した。NMDA 型グルタミン酸受容体の阻害剤である MK801 および D-AP5 がオレイン酸による皮膚バリア機能の悪化および表皮増殖亢進を抑制した。

次に、培養表皮角化細胞へのカルシウム流入に対する影響を評価した。NMDA 型グルタミン酸受容体阻害剤の MK801 および D-AP5 が、オレイン酸による細胞内カルシウム濃度の上昇を抑制した。また MK801 は、オレイン酸塗布による炎症性サイトカイン（IL-1 $\square$ 、TNF- $\square$ ）の産生亢進を抑制した。

これらの結果から、不飽和脂肪酸による表皮分化異常に NMDA 型グルタミン酸受容体が関与していることが示唆された。

皮脂腺は手の平と足の裏をのぞく全身の皮膚に存在するが、頭部および顔面に特に多い。顔面の皮膚バリア機能は体部よりも悪いことが知られているが、顔面皮膚の紫外線への曝露がその原因であると考えられてきた。しかし、手の甲なども紫外線に曝露していることから紫外線が唯一の原因であるとは考えにくい。顔面皮膚が多量の皮脂にさらされていることもその原因の一つではないかと考えられる。

また、本研究の結果から、過剰皮脂中の不飽和脂肪酸が NMDA 型グルタミン酸受容体を介して表皮分化を異常にするのではないかと考えられた。これは、不飽和脂肪酸による皮

膚への悪影響を制御することにより、過剰皮脂が関与するニキビや毛穴の目立ちなどの皮膚トラブルが抑制できる可能性を示唆している。

一方で、皮脂およびその中の不飽和脂肪酸の皮膚における機能はまだ完全には解明されていない。適量の皮脂には保湿作用があると考えられているものの、過剰な皮脂は皮膚に悪影響をもたらす。一方で細胞膜のリン脂質中の不飽和脂肪酸は細胞膜の流動性に関与することが知られている。過剰量の皮脂中に存在する不飽和脂肪酸は、皮脂の流動性を高め、皮脂腺から分泌された皮脂の皮表への流出を促進する作用があるのではないかと考えられる。

### 3 審査の結果

勝田氏は、上記の博士論文の研究で、皮脂に含まれる不飽和脂肪酸による異常角化誘導機構を発見した。これらの研究内容について、国際的評価の高い下記の3報の論文として既に発表をしている。事前諮問試験を、上記論文審査委員4名で2019年1月24日に実施し、勝田氏の研究者としての能力を検査し、博士（理学）の学位を取得するのに十分研究能力を持っており、最終試問（論文公聴会）にすすむにふさわしいと評価した。

[1] Katsuta Y, Iida T, Inomata S, and Denda M, “Unsaturated fatty acids induce calcium influx into keratinocytes and cause abnormal differentiation of epidermis.” *J Invest Dermatol.* 124(5), 1008-1013 (2005)

[2] Katsuta Y, Hasegawa K, Iida T, Inomata S and Denda M, “Function of oleic acid on epidermal barrier and calcium influx into keratinocytes is associated with N-methyl D-aspartate-type glutamate receptors.” *Br J Dermatol.* 160(1), 69-74 (2009)

[3] Katsuta Y, Iwai I and Hariya T, “Visualization of the stratum corneum barrier function of sensitive skin” *J. Soc Cosmet Chem Jpn.* 47(4) 285-291 (2013)

### 4 試験及び試問の結果

上記口頭試問試験の合格を受け、1月31日の公聴会（公表）での化学研究科教授会構成員12名による審査を実施した。勝田氏による40分間の研究発表に続く20分間の質疑応答を行い、12名の化学研究科教授会メンバーによる評価を行った。その結果、評価者12名全員が合格と判断した。以上の化学研究科における審査の結果、勝田雄治氏を合格と判断した。