皮膚と活性酸素

—酸化ストレスからの防御—

河野善行^{*1)}, 宮地良樹^{*2)}

review article

JAPANESE JOURNAL OF INFLAMMATION

Peroxidation in the skin and its prevention

Cosmetics and Quasi-drugs will play new important roles in the aging and stressful society. We have proposed 3 clinical approaches, i. e., anti-drying, anti-UV radiation and anti-oxidation to prevent the skin disorders and aging. Especially, the importance of anti-oxidation is discussed in this paper. The results of the investigation of the peroxidation on the skin surface using a CL-HPLC system, it was considered that singlet oxygen was the key active oxygen species on a human skin. We have clarified the reaction rate constants of the skin surface lipids and thiotaurine with singlet oxygen. Thiotaurine is known as a compound in a metabolism of sulfur containing amino acids in a mammal. We propose that the reconstruction and the reinforcement of the anti-oxidation mechanism in the living system will be useful new clinical approaches in the skin.

Rec. 2/4/2000, pp 119~129

Yoshiyuki Kohno^{*1)}, Yoshiki Miyachi^{*2)}

key words : singlet oxygen, lipid peroxidation, skin surface lipids, anti-oxidation, thiotaurine

原始地球の大気は、酸素の濃度が現在の濃度の1/10000程度しかない還元的環境であり、生命はこのような酸素の少ない還元的環境で誕生した。生物進化により、呼吸による酸素利用機構を獲得した好気性生物は、エネルギー利用効率を劇的に改善した。そして好気性生物の頂点にたつ人類は、酸素を使用して有効にエネルギーを生産し、頭脳や体を使い現在の文明を築き文化を創ってきたと考えられる。好気性生物は酸素環境下で生活することが不可欠であり、酸化ストレスに対応する体内抗酸化システムを整備しなくてはならなかったが³⁾、長い地球の歴史や生物進化のなかで位置づ

けるとそれはいまでも十分に整備されているとは考えられないだろう。すなわちわれわれの酸化ストレスに対する防御システム自体、未だ進化の途中であるという認識をもたねばならないと考える。

人体最大の臓器である皮膚は、生命体を外界と区別する境界領域に位置し、紫外線などの環境因子による不断の刺激やストレスに曝されている¹⁾。これらが長年にわたり繰り返されると、たとえば個々は小さなものでも皮膚にダメージを蓄積すると考えられる。また加齢による防御システムの能力低下も考慮する必要がある。ヒトの皮膚は老徴の現れやすい臓器としてよく認知されており、古くからその加齢変化には関心がもたれてきた。以上のように皮膚はセンシティブな臓器であるので興味深い研究対象であるとともに、適切なスキンケアが美しく年を重ね、美しい生き方を標榜す

^{*1)} SHISEIDO Basic Research Center (株)資生堂 基盤研究センター

^{*2)} Kyoto University, Dept. of Dermatology, Graduate School of Medicine 京都大学大学院医学研究科皮膚病態学教室

Offprint requests to : Yoshiyuki Kohno, SHISEIDO Basic Research Center, 1050 Niihane-cho, Kohoku-ku, Yokohama, 223-8553 Japan

るうえで大変重要であると考えられる。筆者らは皮膚における未だ不完全と考えられる防御システムをどのように補完すればよいかという観点から考察を加えてきた。

一般に、皮膚の変調(肌荒れ、乾燥肌、ニキビ・吹き出物など)や皮膚の老化(シワ、シミ・そばかす、くすみ、柔軟性低下、たるみ、皮膚免疫機能低下など)に関与する外部環境よりのストレスは、「乾燥」「紫外線」「酸化」があると考えられている。筆者らは皮膚の変調や老化に対応するスキンケアという立場から防御戦略として、「乾燥防御」「紫外線防御」「酸化防御」の重要性を主張しつつしてきた。さらにこれら三つのストレスはそれぞれが密接に関係していることもわかってきた。すなわち紫外線は酸化におけるもっとも寄与率の高い要因であるし、紫外線は皮膚の乾燥を引き起こす。また酸化は皮膚の乾燥を引き起こし、乾燥した皮膚は酸化を受けやすい。

皮膚以外の臓器を対象とした研究においても最近特に生体内脂質の過酸化反応は、癌や老化との関連で注目を浴び、生化学においても大きな研究領域の一つとなってきた²⁾。油脂化学、食品化学や化粧品科学の立場からも不飽和脂肪酸などの油脂類の酸化反応について多くの研究がなされてきたが、筆書らも原料開発部門において、化粧品原料としての油脂の酸化安定性を保証してきた。油脂類は、自動酸化メカニズムで酸化が進行すると考えられているが、皮膚構成脂質はどのようなメカニズムで酸化が進行するのであろうか。筆者らは皮膚における脂質の酸化挙動を観察し、その進行のメカニズムを明らかにすること、および過酸化反応の生体皮膚に及ぼす影響を明らかにすることを目的として研究を進めてきた。具体的には、ヒドロペルオキシドに対して高選択性と高感度性を有し、生体試料にも応用可能な分析手段である化学発光(CL)検出器を用いるCL-HPLC法³⁻⁵⁾に着目して、酸化ターゲットを皮膚とした場合のこの方法論の有効性について検討してきた。CL-HPLC法は、いまでも脂質過酸化反応の研究に主として用いられてきているチオバルビツール酸法(TBA法)と異なり、一次生成物である脂質ヒド

図1 Lipid peroxidation on a human skin surface

ロペルオキシドをしかも脂質クラスごとに定量することができる。本法を用いることにより、皮膚における過酸化反応の解明やそれを防止する効果的な薬剤の選択も可能であると考えられた。

ヒト皮表における脂質過酸化反応

健康人の一般生活環境下におけるヒト皮表脂質の酸化挙動をCL-HPLC法により検討した。太陽光を照射した額部より採取した脂質、洗髪より所定時間後に採取した頭皮の脂質、およびフケ中の脂質分析により、通常的生活環境下でも皮脂腺由来の脂質成分であるスクアレンが過酸化反応を受け、皮表上でスクアレン分子に1個ヒドロペルオキシル基がついたスクアレンモノヒドロペルオキシド生成することを観察してきた⁶⁾。また光増感酸化反応によりスクアレンモノヒドロペルオキシド標品の調整をし、¹³CNMR, ¹HNMR, FAB-MSなどのスペクトルにより同定するとともにそれを用いて定量的な議論もしてきた。CL-HPLC法におけるスクアレンモノヒドロペルオキシドの検出限界は200 fmol程度であった⁷⁻⁹⁾。ヒト皮表におけるスクアレンからスクアレンモノヒドロペルオキシドへの転換率(SQ conversion ratio)を、脂質過酸化物量、過酸化反応の進行度合いを表すパラメータとして用い以下の議論を進めた。

紫外線被曝量とヒト皮表におけるスクアレンモノヒドロペルオキシド生成量との関係を求め、図1に示した。スキー場で快晴時のフィールドテス

図2 Change of SQ conversion ratio with aging at forehead site

トの結果では、スクアレンモノヒドロペルオキシドは皮表に照射されたUVエネルギーに比例して生成した。また紫外線が一番強い10時から14時の間に1時間程度スキーをすると、皮表では100分子のスクアレンにつきほぼ1分子の割合でスクアレンモノヒドロペルオキシドが生成した。

ヒト皮表における加齢変化を検討し、結果を図2に示した。ヒト皮表におけるスクアレン転換率は20歳代で最低値を示し、その後増加する傾向を示した。この結果は、早川らがTBA法を用いて観察した結果を支持するものであった¹⁰⁾。幼児では、皮脂分泌も含めた調節機能や皮膚における酸化防御機能が未熟なため高い値を示したと考えられる。皮表における脂質過酸化反応観察結果から皮膚の酸化に対する防御作用、酸化防止力を考察すると、20歳代で完成しピークを迎えその後衰えていくと推察される。

皮脂分泌量の差による影響を検証するために健康皮膚とは異なるが、皮脂分泌が亢進して生じる脂漏性湿疹(seborrheic dermatitis)および皮脂分泌量が低下して生じる皮脂欠乏性湿疹、(老人性)乾皮症(asteatotic eczema)の患者皮表の脂質過酸化物を観察し、図3にその結果を示した。皮脂量が少ない皮脂欠乏性湿疹の患部より採取した皮脂のスクアレン転換率のみが統計的に有意に高い値を示し、加齢変化の考察と一致した。

つぎにアトピー性皮膚疾患患者皮表の脂質過酸化物の観察を行い、図4にその結果を健康人と比

図3 Conversion ratio of SQ to SQHPO in skin disease patients

***p<0.01 mean±S.E.

較して示した。アトピー性皮膚炎患者の皮表では、スクアレン転換率は健康人と比較すると有意に高く日光によく曝される額部で一番高い値を示した。アトピー患者の背部皮表における脂質過酸化物の観察例を図5に示した。この患者の例ではスクアレン以外の脂質クラスも著しく過酸化を受けていた。皮膚科医によるクリニカルスコアとスクアレン転換率との関係を検討したが、特に皮膚の乾燥とスクアレン転換率とは関係があることも認められた。これらの結果よりアトピー性皮膚炎では、健康人と比較して皮脂量が少ないこと、皮表の酸化防止能が劣っていることを検証し、皮膚の状態と皮表脂質過酸化の進行度合いとは関連することも示唆された。

以上ヒト皮表の脂質過酸化物の観察例を紹介してきたが、スクアレンモノヒドロペルオキシドは、これまで分析したほとんどの試料から検出され、スクアレンはヒト皮表の第一の酸化ターゲット脂質であると考えられる。そしてそれを定量することにより皮膚の酸化防止能や皮膚状態についても考察できることが示唆された。フケ中の脂質のように皮表において長時間存在する可能性のある場合や強い紫外線などの酸化ストレスに曝された時、また乳幼児やアトピー性皮膚炎患者、(老人性)乾皮症のように皮表の酸化防止能が劣っている場合にはスクアレン以外の脂質クラスにも過酸化反応が伝播進行することも観察することができた。

図 4 Conversion ratio of SQ to SQHPO in AD patients and normal subjects
***P<0.001, **P<0.01, *P<0.05, t-test

図 5 CL-HPLC patterns of skin surface lipids in AD patients and normal subjects

表 1 Quenching rate constants(k_q) of singlet oxygen

Compounds	Formula	Numbers of double bonds	k_q [$M^{-1}s^{-1}$]
Oleic acid	$C_{17}H_{33}COOH$	1	1.7×10^4
Linoleic acid	$C_{17}H_{31}COOH$	2	4.2×10^4
Linolenic acid	$C_{17}H_{29}COOH$	3	8.0×10^4
γ -Linolenic acid ethyl ester	$C_{17}H_{29}COOEt$	3	6.8×10^4
Arachidonic acid	$C_{19}H_{31}COOH$	4	10.0×10^4
Eicosapentaenoic acid ethyl ester	$C_{19}H_{29}COOEt$	5	33.1×10^4
Docosahexaenoic acid	$C_{21}H_{31}COOH$	6	15.0×10^4
Docosahexaenoic acid ethyl ester	$C_{21}H_{31}COOEt$	6	15.2×10^4
Squalene	$C_{30}H_{50}$	6	56.2×10^5
2-Methyl-2-pentene	C_6H_{12}	1	10.4×10^5
trans-2-Hexene	C_6H_{12}	1	$< 10^4$
Cholesterol	$C_{27}H_{46}O$	1	6.7×10^4
BHT	$C_{15}H_{24}O$		49.1×10^5

ヒト皮表における脂質過酸化反応の物理化学的検討

ヒト皮表を種々の脂質類やアミノ酸, 蛋白質, 生体色素などが混在している反応場と考え, 脂質過酸化反応の物理化学的考察を進めてきた¹¹⁾. ヒトの皮表には, 皮脂腺から排出された皮脂に表皮細胞由来の脂質が混ざり常時 $0.4 \sim 0.05 \text{ mg/cm}^3$ の脂質が存在している¹²⁾. またいままでその機能としては, 過度の水分蒸散を防ぎ角層に適度な湿度, 柔軟性を与えることや外部からの有害物質や細菌の進入を防ぐことなどが考えられていた. 筆者らは皮表脂質と種々の活性酸素種との反応性に注目した. 活性酸素の一種である一重項酸素の皮膚への影響は最近特に注目されてきている. また最近では, 感度の高い検出器を用いて一重項酸素の生体系における検出例も報告されている¹³⁾.

筆者らは脂質類についてその一重項酸素消去速度定数 k_q を求めた. 定法によりエンドペルオキシドを用いて一重項酸素を定量的に発生させ, 消光の基準物質としてフラン化合物を用い, 脂質類を共存させ, 両者を発生した一重項酸素に競争反応させ k_q の値を求め, 結果を表 1 に示した. 一般に一重項酸素は二重結合と化学反応し, 酸化物を生成し消去される. スクアレンと二重結合を分子中に同じく 6 個もっているドコサヘキサエン酸エチルとの反応速度定数を比較するとスクアレンのほう

が 40 倍程度高い. スクアレンの化学構造より考察すると, 二重結合 α 位のメチル基の効果により二重結合の電子密度が高くなり親電子試薬である一重項酸素と反応しやすくなったためと考えられる. 以上のことと先に論じてきたヒト皮表でスクアレンが酸化の第一ターゲットとなっていることは皮表で一重項酸素が生成している間接的な証拠でもあると考えられる.

つぎに脂質類とラジカルとの反応性について検討を行った. 生体で発生するフリーラジカル ($LOO\cdot$, $LO\cdot$, $HO\cdot$) のモデルとしてフェノキシラジカル ($PhO\cdot$), ビタミン E ラジカル (ジイソプロピルトコフェリルラジカル: $VE\cdot$) を用い $PhO\cdot$, $VE\cdot$ と脂質類を反応させた.

$$k_s$$

$$k_3$$

1-ブタノール溶液中でフェノキシラジカル, ビタミン E ラジカル of 吸光度を観察することにより, 式 (1) (2) の二次反応速度定数 k_s , k_3 の値を求めた. 結果を表 2, 3 に示した.

活性メチレン基を多くもっている脂質がラジカルに対して高い反応性を有していた. しかしながらスクアレンは, 二重結合を 1 個しか有していないオレイン酸と同等レベルまで水素が引き抜かれ

表 2 Rate constants(k_s) for reaction of lipids with $\text{PhO} \cdot$ in 1-butanol at 25.0°C

Compounds	Formula	Numbers of double bonds	$k_s [\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}]$
Squalene	$\text{C}_{30}\text{H}_{50}$	6	4.42×10^{-5}
Oleic acid methyl ester	$\text{C}_{17}\text{H}_{33}\text{COOMe}$	1	4.18×10^{-5}
Linoleic acid ethyl ester	$\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{COOEt}$	2	1.22×10^{-3}
Linolenic acid ethyl ester	$\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{COOEt}$	3	2.05×10^{-3}
Arachidonic acid ethyl ester	$\text{C}_{19}\text{H}_{31}\text{COOEt}$	4	3.02×10^{-3}

表 3 Rate constants(k_s) for reaction of lipids with $\text{VE} \cdot$ in 1-butanol at 25.0°C

Compounds	Formula	Numbers of double bonds	$k_s [\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}]$
Squalene	$\text{C}_{30}\text{H}_{50}$	6	2.52×10^{-4}
Stearic acid methyl ester	$\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{COOMe}$	0	1.84×10^{-5}
Oleic acid methyl ester	$\text{C}_{17}\text{H}_{33}\text{COOMe}$	1	6.19×10^{-5}
Linoleic acid methyl ester	$\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{COOMe}$	2	9.25×10^{-3}
Linolenic acid methyl ester	$\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{COOMe}$	3	1.85×10^{-2}
Arachidonic acid methyl ester	$\text{C}_{19}\text{H}_{31}\text{COOMe}$	4	2.96×10^{-2}
Eicosapentaenoic acid methyl ester	$\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{COOMe}$	5	3.41×10^{-2}
Docosahexaenoic acid methyl ester	$\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{COOMe}$	6	4.81×10^{-2}

難くなっている。すなわちスクアレンは、ラジカル連鎖反応を進行し難いと考えられる。

いままで観察してきたいろいろな皮膚状態における脂質過酸化物の観察結果や脂質類の物理化学的性質などを総合して考察し、ヒト皮表で生起している過酸化反応を図 6 に模式的に表した。ヒト皮膚において、まず最初は反応性の高い活性酸素である一重項酸素に対応してこれを消去しなくてはならない。前述したようにスクアレンは一重項酸素に対して早い反応速度を有しているので皮表でそれを消去し、それが他の生体成分と反応するのを防ぐ。しかし生成したスクアレンモノヒドロペルオキシドは新たなストレスすなわちフリーラジカルを発生する可能性がある。しかしながらスクアレンはこれらのラジカルとは反応し難いのでラジカル連鎖反応でその害を拡大することはない。このように皮表においてスクアレンは大変都合のよい性質を有しているようである。つぎにスクアレン転換率を用いて考察してみる。たとえばアトピー性皮膚炎や加齢した皮膚の例がそうであるが、スクアレンが少なくスクアレン転換率が高

い状態の皮膚よりも、スクアレンが多くスクアレン転換率が低い状態のほうが、外部の酸化ストレスの影響から皮膚を防御したりまたラジカル連鎖反応しやすい脂質を酸化より防御していると考えられ、皮膚はよりよい状態と考えられる。

哺乳類に存在している皮表脂質を調べるとスクアレンを皮表脂質として有している哺乳類はヒト以外にはあまり多くは見あたらない¹⁴⁾。ヒト皮膚においてはなぜコレステロール生合成の代謝シーケンスを切断してまでスクアレンを皮表に存在させなくてはいけないのであろうか。酸化防御から考えるとそのヒト皮表における存在の合目的性も理解できる。

スクアレンモノヒドロペルオキシドの生体系に及ぼす影響

ヒト皮表におけるスクアレンの存在意義を論じてきたが、生成した脂質過酸化物であるスクアレンモノヒドロペルオキシドは生体系にどのような影響を与えるかを検討した。いままでにもスクアレンを過酸化して得られた酸化劣化物(混合物)を

図 6 Lipid peroxidation on human skin surface

用いてケラチノサイトやモルモットの耳の組織培養系への影響を検討し、細胞内の色素粒子の増加や表皮構造の攪乱が報告されている^{15,16}。筆者らは標品のスクアレンモノヒドロペルオキシドを用いて細胞傷害性を検討し結果を図7に示した。スクアレンモノヒドロペルオキシドは、培養細胞系へ中程度の細胞傷害性を有する。さらに実際の生体皮膚に近い系に対する傷害性を検討した。ヒト表皮細胞、ヒト線維芽細胞を用いてつくられたヒト皮膚再構築系^{17,18} (Organogenesis 社製 TEST-SKIN™; Living Skin Equivalent) に対するスクアレンモノヒドロペルオキシド標品の影響を検討し、結果を図8に示した。スクアレンは4時間後24時間後とも全く傷害反応を示さなかった。皮膚刺激性の知られているある種の界面活性剤などでは4時間後で傷害反応が起こることが確認されているが、スクアレンモノヒドロペルオキシドは4時間後では傷害反応を起こさず、皮表に24時間接触させたときに特異的に傷害反応を示した。しかもその値より、ケラチノサイトのみならず線維芽細胞も傷害を受けたものと考えられる。このことはスクアレンモノヒドロペルオキシドの透過によりヒト皮膚再構築系に傷害を与えたのではなく、スクアレンモノヒドロペルオキシド由来のラジカルがラジカル反応により伝播していき皮膚細胞に傷害を与えたものと推定された¹⁹。フケ中の脂質分析やまた乳幼児やアトピー性皮膚炎患者の皮表

図 7 Effect of SQHPO on proliferation of cultured cells
Cell; fibroblast from lung of chinese hamster
Medium; 10% CSMEM 2 ml/plate
Sample; DMSO sol. 48 hrs treated

上で、スクアレンモノヒドロペルオキシドより他の脂質クラスへの酸化が伝播進行する現象を観察してきたが、前述の皮膚再構築系も皮膚内部で同様のラジカル連鎖反応が生起し酸化が伝播進行していると考えられる。

皮表における脂質過酸化反応の防御

皮膚における酸化を防御し、皮膚の酸化防御システムを補完し、皮膚を健やかに保つためには、皮膚における酸化の最初のステップである皮脂の酸化を防御することが重要であり、具体的には一重項酸素消去活性の高い物質を皮膚に補給しなく

図 8 Effect of squalene monohydroperoxide on TESTSKIN™ (Mean ± SE)

図 9 Protection against lipid peroxidation on skin surface by alimants containing β -carotene

● : before ingestion
○ : after 1 month ingestion
□ : after 2 months ingestion
$p < 0.1$, * $p < 0.05$

てはならないと考えられる。

このような観点から一重項酸素の消去活性の高い β -カロテンの経口による皮膚への補給による皮膚防御システムの補完を試みた。具体的には β -カロテンの摂取効果とヒト皮表における脂質過酸化反応との関係を検討した。12 mg/day の割合で β -カロテンを連続摂取すると1カ月後、2カ月後で有意に血清中の β -カロテン量が増加した。また額部に BLB ランプを用いて紫外線を照射し、摂取前後で皮表における脂質過酸化反応を観察した結果を図9に示した。2カ月間 β -カロテンを連続摂取することで摂取前と比較して皮表でのスクアレンモノヒドロペルオキシド生成が有意に低く抑えられていた。その後動物実験で確認されたがメカニズムとしては、血中のカロテノイド濃度がふえ、それが表皮に蓄積され皮表における脂質過酸化反応を防御したものと考えられる²⁰⁾。皮表における過酸化反応防御という意味で食品の有用性を言及できる例と考えられる。

つぎに経皮適用による皮膚防御システムの補完について検討した。やはり一重項酸素に対する対応が第一に必要と考えられるが、単に一重項酸素の消去活性がすぐれているだけでなく、安全性は

表 4 Quenching rate constants (k_q) of singlet oxygen with antioxidants

Compounds	$k_q [M^{-1}s^{-1}]$
Squalene	5.62×10^6
Thiataurine	2.45×10^7
Hypotaurine	6.97×10^6
BHT	4.91×10^6
d- α -Tocopheryl acetate	1.60×10^6
Ascorbic acid	8.30×10^6

もとより皮膚への適用のしやすさまた安定配合ができること、またその安定性が保証できることなどが必要条件である。薬剤としてトータルバランスがすぐれていることが皮膚成分の抗酸化を標榜する薬剤の設計や選択においてはなによりも重要なことと考えられる。

上記観点で種々候補物質をスクリーニングしたが、筆者らはその物質を生体成分から選択した。生体皮膚の酸化防御システムを補完するために酸化ストレスにより変動しやすいチオール化合物を補給し、生体防御システムを補強・再構築することを企図した²¹⁾。筆者らが選択したチオタウリンやヒポタウリンは哺乳類における含硫アミノ酸代

図 10 Prevention of lipids peroxidation on the surface of human skin
THT ; thiotaurine

(Mean±SE) *p<0.01
(n=45) **p<0.005
***p<0.0001

図 11 Mechanism

謝課程に存在する物質である^{22,23)}。またこれらの化合物が眼や生殖器官などの外部よりの酸化ストレスに曝されたりエネルギー消費の多いと考えられるところに比較的多く存在することから、チオタウリンやヒポタウリンが代謝過程で存在する合目的性を議論する報告もみられる²⁴⁾。

チオタウリンの一重項酸素反応速度定数を測定し、その結果を表 4 に示した。化粧品にも用いられている代表的な抗酸化剤と比較しても高い一重項酸素消去活性を有していた。そこで実際にチオタウリン含有のクリームを作製してそれをヒト皮

表に塗布してその効果の検証を試みた。具体的には、所定量のチオタウリンを配合したクリームを塗布した部位、また同じ処方チオタウリンのみを抜去したクリームを塗布した部位、何も塗布しなかった部位それぞれを設け紫外線を照射した。そしてそれぞれの部位より皮脂を採取して CL-HPLC 分析をすることで過酸化されたスクアレンの割合を求め、結果を図 10 に示した。何も塗布していないブランク部位、チオタウリンを含まないプラセボクリーム塗布部位に比べて、チオタウリンを含有するクリームを塗布した部位の皮脂は

統計的に有意に酸化が防御されていることを確認した。さらにその効果はチオタウリンの配合濃度に依存していることも合わせて確認した。さらにチオタウリンは配合処方中の安定性もすぐれていることも確認した。

以上述べてきた皮表における脂質過酸化反応は、最近加齢に伴う特有なニオイ(加齢臭)とも関係することが明らかになってきた²⁵⁾。加齢臭の酸化と関連する発生メカニズムを図11に示した。加齢に伴い変化する皮脂の脂質組成や過酸化反応の進行しやすさなどの原因で加齢臭のキー成分であるノネナールが生成すると考えられる。また加齢臭はチオタウリンなどの抗酸化剤を添加することで防御できることも明らかとなった。

チオタウリン適用の皮膚生理に意味するところは、皮膚における酸化の最初の段階を防御することにより、不完全である皮膚の酸化防御システムを補完することができると考えられる²⁶⁾。

まとめ

筆者らはCL-HPLC法を用いて皮膚をターゲットとした脂質過酸化反応において種々の新しい知見を得ることができた。皮膚は外界と直接接する臓器であるため、種々の酸化ストレスに直接曝されることとなる。そのなかでももっとも重要なものはやはり紫外線と考えられるが、その他公害問題も最近では考慮しなくてはならないと考えられる²⁷⁾。

ヒト皮表においては、まずスクアレンが第一の酸化ターゲットとなると考えられる。強い酸化ストレスに曝された場合や生成したスクアレンモノヒドロペルオキシドを放置することで皮表においても他の脂質クラスへの酸化の伝播進行が起こると考えられる。また皮膚モデル系で、酸化の伝播進行によって、表皮・真皮の細胞に傷害を与える現象も観察してきた。

表皮の脂質過酸化反応より開始され皮膚に傷害を与える酸化反応は、皮表に適切な酸化防止剤を適用することや食物摂取によっても防御でき、皮膚の酸化防御能力を補完・補強できることを検証した。

文 献

- 1) Miyachi Y: Skin diseases associated with oxidative injury. In: Oxidative Stress in Dermatology, New York, Marcel Dekker, 1993, p 323-331.
- 2) Sies H ed.: Oxidative Stress. London, Academic Press, 1985.
- 3) Miyazawa T, Yasuda K, Fujimoto K: Chemiluminescence-high performance liquid chromatography of phosphatidylcholine hydroperoxide. Anal Lett 20: 915-925, 1987.
- 4) Miyazawa T, Yasuda K, Fujimoto K, Kaneda T: Determination of phosphatidylcholine hydroperoxide in human plasma by chemiluminescence-high performance liquid chromatography. Anal Lett 21: 1033-1044, 1988.
- 5) Miyazawa T: Determination of phosphatidylcholine hydroperoxide in human blood plasma by a chemiluminescence-HPLC assay. Free Radical Biol Med 7: 209-217, 1989.
- 6) 河野善行, 阪本興彦, 富田健一, 堀井和泉, 宮澤陽夫: 化学発光検出器を用いた HPLC によるヒト皮表脂質過酸化物の定量. 油化学 40: 715-718, 1991.
- 7) 河野善行, 阪本興彦, 中村哲治, 宮澤陽夫: 化学発光検出器を用いた HPLC によるヒト皮表脂質過酸化物の定量(第2報)スクアレンヒドロペルオキシドの検出. 油化学 42: 204-209, 1993.
- 8) 河野善行, 阪本興彦, 高橋元次, 諸沢敬二: ヒト皮表における脂質過酸化反応とその防御. 香粧会誌 17: 195-201, 1993.
- 9) 河野善行, 高橋元次: 皮膚における過酸化反応とその防御. 油化学 44: 248-255, 1995.
- 10) 早川律子, 上田 宏, 井沢洋平, 浅井淳平: 皮脂の過酸化. 香粧会誌 2: 6-12, 1978.
- 11) Kohno Y, Egawa Y, Itoh S, Nagaoka S, Takahashi M, Mukai K: Kinetic study of quenching reaction of singlet oxygen and scavenging reaction of free radical by squalene in n-butanol. BBA 1256: 52-56, 1995.
- 12) Greene RS, Downing DT, Pochi PE, Strauss JS: Anatomical variation in the amount and composition of human skin surface lipid. J Invest Dermatol 54: 240-247, 1970.
- 13) 柿沼カツ子, 桐生千花, 牧内正男, 宮崎潤二: 好中球のペルオキシダーゼ反応における一重項酸素の生成と炎症. 第20回日本炎症学会プログラム予稿集, 1999, p 145.
- 14) Goldsmith LA ed.: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology of the Skin. New York, Oxford University Press, 1983, p 575.
- 15) Picardo M, Zampetti C, De Luca C, Cirone M, Faggioni A, Nazzaro-Porro M, Passi S, Prota G: Role of skin surface lipids in UV-induced epidermal cell changes. Arch Dermatol Res 283: 191-197, 1991.
- 16) Picardo M, Zampetti C, De Luca C, Amantea A, Faggioni A, Nazzaro-Porro M, Passi S: Squalene peroxides may contribute to ultraviolet light-induced immunological effects. Photodermatol Photoimmunol Photomed 8: 105-110, 1991.
- 17) Bell E, Parenteau N, Gay R, Nolte C, Kemp P,

- Bilbo P, Ekstein B, Johnson E : The living skin equivalent : Its manufacture, its organotypic properties and its responses to irritants. *Toxin in vitro* 5 : 591-596, 1991.
- 18) Gay R, Swiderek M, Nelson D, Ernesti A : The living skin equivalent as a model in vitro for ranking the toxic potential of dermal irritants. *Toxin in vitro* 6 : 303-315, 1992.
- 19) 河野善行, 萩野滋延, 森 眞輝, 阪本興彦, 中村哲治, 高橋元次 : ヒト皮表における脂質過酸化反応. *J Soc Cosmet Chem Japan* 27 : 33-40, 1993.
- 20) Someya K, Totsuka Y, Marukoshi M, Kitano H, Miyazawa T : The antioxidant effect of palm fruit carotene on skin lipid peroxidation in guinea pigs as estimated by chemiluminescence-HPLC method. *J Nutr Sci Vitaminol* 40 : 315-324, 1994.
- 21) Shindo Y, Witt E, Han D, Tzeng B, Aziz T, Nguyen L, Packer L : Recovery of antioxidants and reduction in lipid hydroperoxides in murine epidermis and dermis after acute ultraviolet radiation exposure. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 10 : 183-191, 1994.
- 22) ホワイト・ハンドラー・スミス : 生化学 [II] 第4版, 廣川書店, 東京, 1970, p 647-651.
- 23) Cavallini D, De Marco C, Mondovi B : Chromatographic evidence on the occurrence of thiotaurine in the urine of rats fed with cystine. *J Biol Chem* 234 : 854-857, 1959.
- 24) 藤井 振, 細川 優, 那須 哲, 山口賢次 : Hypotaurin から Taurine への酸化反応に関する研究. *含硫アミノ酸* 3 : 253-260, 1980.
- 25) 土師信一郎, 合津陽子 : 中高年齢層のための体臭ケア製品の開発. *FRAGRANCE JOURNAL* 27 : 42-46, 1999.
- 26) 河野善行 : 「皮脂抗酸化剤=チオタウリン」の開発と化粧品への応用. *FRAGRANCE JOURNAL* 26 : 9-14, 1998.
- 27) Egawa M, Kohno Y, Kumano Y : Oxidative effects of cigarette smoke on the human skin. *International Journal of Cosmetic Science* 21 : 83-98, 1999.