

ごあいさつ

コスメトロジー研究振興財団も設立8年目を迎えますが、年々助成応募の研究テーマも増加し、設立から昨年までの応募総数は386件、助成研究は115件と3桁の大台に乗せる歩みをしてきています。このようななか、今回第5号の研究報告を発行できる運びとなりました。このことは当財団の設立趣旨が広く認知されてきた結果であると共に、多くの方々のご協力とご支援の賜物であると感謝しております。

最近の話題として脳死をめぐる人の死の国会論議や体細胞クローンであるクローン羊「ドリー」の成功を受けて人への応用可否問題が取り沙汰されるなど、自然科学（特に生命科学）の発展が人の倫理問題と葛藤する状況になりつつあります。このことは、人間そのものの研究と自然科学の研究との調和・融合（人間科学）が必要な時代の流れにあることを示唆しており、当財団で自然科学から人文科学まで幅広い研究領域、並びに学際的な研究を助成する活動をしてきたことは、時代の流れにも適合したものであったと改めて感じている次第です。

今後とも幅広い学問領域とその接点を対象とした化粧品学の究明が「人間科学」の観点で結実し、身体の健康と合わせて、人の喜び、心の充実の本質に迫る学問領域として確立される事を期待して、研究助成活動を続けていきたいと考えております。

当財団の活動に対し、皆様方の益々のご支援、ご協力をお願い致します。

平成9年8月

財団法人 コスメトロジー研究振興財団
理事長 小林 禮次郎

目次

ごあいさつ

■ 研究報告

I. 素材、物性に関する分野

- ・植物組織培養法を用いたクチナシ植物 (*Gardenia jasminoides* Ellis) からの
橙黄色色素 crocin と青色色素イリドイド配糖体の生成に関する研究 2
東京理科大学総合研究所 生田 安喜良
- ・水の熱輸送メカニズムと電磁波の影響 9
静岡県立大学薬学部 片山 誠二
- ・生体膜構造をもつ高分子中の水の構造解析と生体反応の解明に関する研究 15
東京医科歯科大学医用器材研究所 石原 一彦
- ・両親媒性分子が構築する超分子の構造と機能性に関する研究 22
名古屋大学大学院理学研究科 今栄 東洋子
- ・光学活性化化合物合成を目的とする新規不斉触媒
及び新規不斉触媒サイクルの開発研究 28
早稲田大学理工学部 中田 雅久

II. 生体作用、安全性に関する分野

- ・ヒト皮膚移植SCIDマウスを用いた新しいコスメトロジー研究 36
大阪大学医学部 野村 大成
- ・接触皮膚炎におけるマスト細胞活性化反応の解析 43
昭和大学薬学部 工藤 一郎
- ・皮膚表皮細胞におけるリポドバイオフィクターの機能発現機構 48
新潟大学医学部 藤井 博
- ・炎症後色素沈着におけるエイコサノイドによるメラノサイト活性化機構の解明 58
京都大学大学院医学研究科 井階 幸一
- ・細胞内小器官ペルオキシソーム：エーテルリン脂質の生合成と
酸素ラジカルスカベンジャー機能及び欠損症 67
九州大学理学部 藤木 幸夫
- ・多成分油性皮膚透過促進システムの有効性及び作用機構に関する研究 72
城西大学薬学部 杉林 堅次

III. 精神、文化に関する分野

- ・化粧と痴呆老人に関する基礎研究 82
産業医科大学 松岡 成明
- ・対人魅力の形成にかかわる顔の構造的特徴と化粧行動の影響の研究 90
北星学園大学文学部 大坊 郁夫

■ 記念講演

平成8年度記念講演 コスメティックとコスミック109
大阪大学文学部 鷺田 清一

■ コスメトロジー研究雑感115

■ 付 録

平成8年度事業報告127
役員一覧133
研究助成課題一覧134



研究報告

-
- I . 素材、物性に関する分野
- II . 生体作用、安全性に関する分野
- III . 精神、文化に関する分野
-

I. 素材、物性に関する分野

植物組織培養法を用いたクチナシ植物 (*Gardenia jasminoides* Ellis) からの橙黄色色素 crocin と青色色素イリドイド配糖体の生成に関する研究

東京理科大学総合研究所 基礎科学研究部門

生田 安喜良

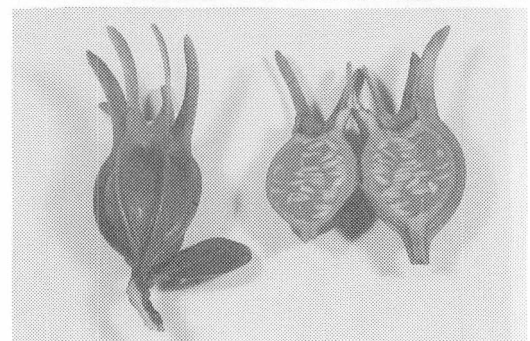
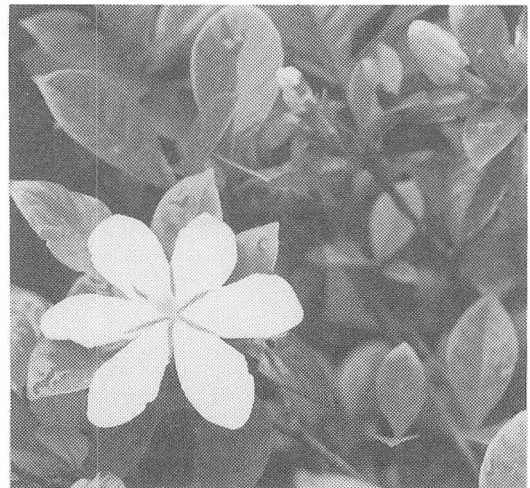
Callus tissues were induced from the fruit of *Gardenia jasminoides* Ellis on basal MS medium supplemented with 2,4-D (3 mg / ℓ) -K (0.1 mg / ℓ) and N (3 mg / ℓ) -K (0.1 mg / ℓ). Callus on subcultured onto MS medium supplemented with N (3 mg / ℓ) -K (0.1 mg / ℓ) induced yellowish pigmented callus. The MeOH extract of yellowish callus tissues showed the presence of crocin when analysed by HPLC. However, crocin was at low levels in callus as compared to fruit. It has maintained the crocin producibility through subcultures over 10 months. Further, triterpene, phytosterol and their glycosides were also identified from the MeOH extract of the callus tissues.

1 目的

化粧品あるいは食品の着色に用いられる色素素材は、現在化学合成品に依存している部分が多い。しかし、最近化学合成系色素に発ガン性などの副作用の危険が指摘されるようになり、それに代る危険性の少ない天然物由来の色素素材が再認識されてきた。植物天然色素は、色調が合成品に比べ鮮やかで、けばけばしさがなく、しかも人体への安全性が一般に高いと考えられている。しかし、植物を原料として製造する場合、自然環境による制約、或いは、資源の枯渇などの問題があり、原料確保の面からも不安定さがある。

この最近の天然物指向による消費者の要求に答えるべく、安定した供給法として最近注目されている植物組織培養法を用いて大量に供給が出来るようになれば、現在使われている天然色素は植物由来の色素が多いことから大きな期待がもたれる。現在これらの色素の内、代表的な橙黄色系色素はクチナシの果実から得られる crocin がある。(Plant, Fig. 1)、本研究は植物組織培養法を使

い、クチナシ (*Gardenia jasminoides* Ellis、アカネ科)の植物から誘導したカルスを使い、色素生成の条件検討を行い、安定した水溶性のカロチノイド系橙黄色色素の crocin 及びイリドイド配糖体を植物組織培養法により、季節に関係なく供給



Plant and Fruit of *Gardenia jasminoides* Ellis



Studies on pigments and monoterpene glucosides from cultured tissues of *Gardenia jasminoides* Ellis (Rubiaceae)

Akira Ikuta

Research Institutes for science and technology, Institute Fundamental Science, Science University of Tokyo

する事を目的とする研究である。この方法により季節に関係なく植物色素の原料供給が容易になり化粧品、食品添加色素の分野で四季折々の自然の色が人工的に得られるようになるなら、色彩豊かな文化生活が約束されるであろう。

植物組織培養法による植物色素の生成の報告例は現在アントシアニン系、フラボノイド系化合物について生成した報告例はある。しかし、工業的なレベルでの色素生成の例はムラサキの培養組織からシコニンの生成の報告例以外にない¹⁾。クチナシのカルスから色素の生成の成功例は今のところ crocin 様化合物の生成、あるいは微量の crocin の生成が報告されている。^{2, 3, 4)} 又、微量成分として、青色色素を生成するモノテルペン系のイリドイド化合物の生成及びその構造解析についての報告はある。⁵⁾ (Fig. 1) このクチナシの果実は、生薬名山梔子と呼ばれ古来より飲食物の黄色着色料として使用され、貴重な黄色天然着色料として現在でも使用されている。クチナシ黄色色素は、色調が鮮やかで、耐熱、対光性に優れたため、その利用分野は広範囲である。又、漢方では重要な生薬として使われ、その薬効としては瀉下、解毒、消炎、解熱鎮痛、利胆作用などが知られ、特に充血、吐血、黄疸、不眠を治す目的で用いられている。日本では年間300tが中国、韓国から輸入されている。⁶⁾

2 結果

2.1 黄色色素 crocin の同定及び定量

NAA (N)、IAA、Kinetin (K)、Benzyladenine

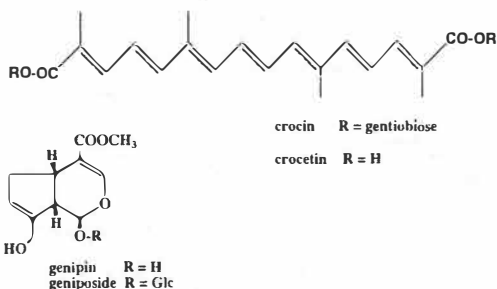


Fig. 1 Main Compounds from *Gardenia jasminoides*

の種々の植物生長調節物質の組み合わせで crocin の生成を目的に検討を行った。

その結果 N (3 mg/l) - K (0.1 mg/l) のホルモン組成を添加した M&S 培地で継代培養した所、一部に橙黄色に色づくカルスの生成が観察された。このカルス細胞が crocin を生成していることが推測され、色素生成の多い細胞部分を選抜して繰り返し継代培養を行った。その結果、濃い橙黄色 callus 細胞が得られた (Fig. 2)。しかし callus の成長が遅く、しかも約 10 カ月間繰り返し継代培養を行ったが急速に色素生成が減少し始めた。ために、その時点でカルスを収穫し (生重量 0.85g、乾燥重量 0.02g)、MeOH で徹底的に抽出を行った。その濃縮エキスについて HPLC (60% MeOH) を用いて crocin の標品との比較により crocin と同定した (t_R : 3.01min.)。さらに HPLC を用いて定量を行った結果 crocin は 0.22×10^{-6} g (Dry wt. 0.001%) を得た。原植物の果実では、最大乾燥重量あたり約 10% 程度の crocin が生成することが報告されており⁷⁾、それに比べると今回の定量結果は非常に低かった。

2.2 Triterpene, phytosterol 及びその配糖体の構造

monoterpene 系配糖体を検索のために callus の成長の良い 2, 4-D (1 mg/l) - K (0.1 mg/l) のホルモン組成を含む M&S 培地を用いて培養を行い生重量約 4 kg を MeOH 抽出を行い、そのエキスについて、CHCl₃、n-BuOH により分配を行い得られたそれぞれのエキスについて、カラムクロマトにより精製を繰り返し、CHCl₃ 層から 5 種 (compounds 1 ~ 5)、BuOH 層から 4 種 (compounds 6 ~ 9) の化合物が得られた (Fig. 3)。これらの化合物について機器 (¹H、¹³CNMR、MS) データをもとに構造を解析した。

2.2.1 Ulsolic acid.

Compound 1 は白色粉末、TLC 上で 10% H₂SO₄ を噴霧後加熱すると赤紫色を呈し Lieberman -

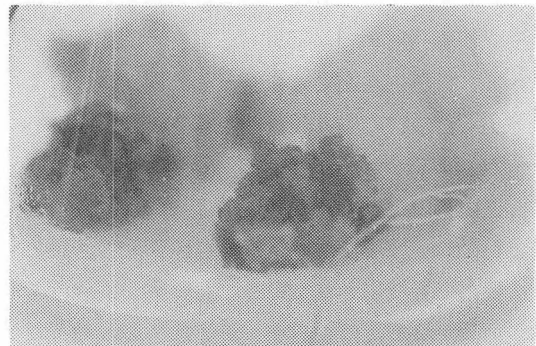
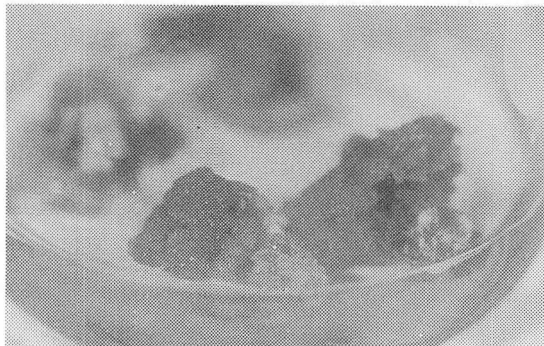
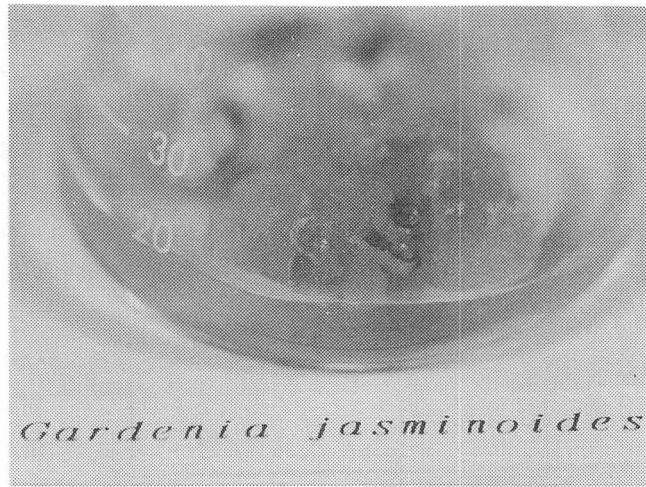


Fig. 2 Production of Crocin from Callus tissue

Callus Tissue of *Gardenia jasminoides* Ellis (fresh weight 4012.14 g)
dry weight 86.90g

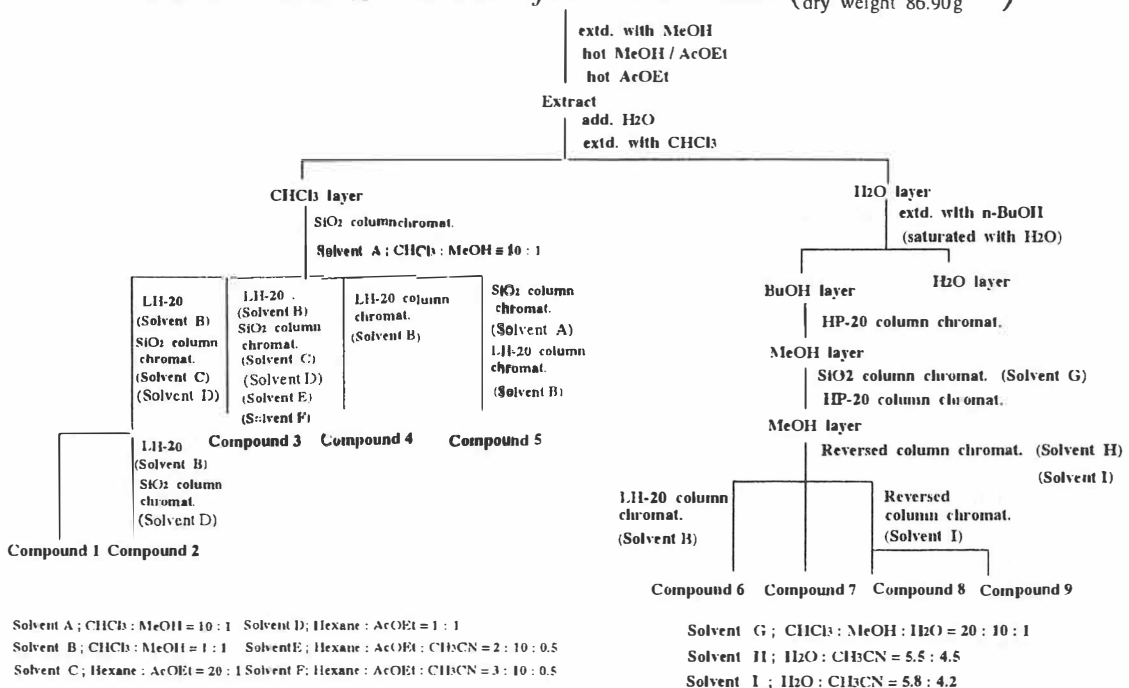


Fig. 3 Extraction of *Gardenia jasminoides* Ellis callus tissue

Burchard 反応により赤紫を呈する事から、triterpene化合物が推定され、MSより m/z 456に $[M^+]$ を示し、レトロディールスアルダー開裂によるD/E環由来のフラグメントイオン m/z 248, 203が更に、 m/z 207にA/B環由来のフラグメントが観察された。 ^1H NMRにより、2個分の2級Meを含む7個のMe基、更に、12位のオレフィニックプロトンが δ 5.47 (1H, t, $J=3.3\text{Hz}$) に観察される事から、ulsolic acidが推定され、標品との比較により同定した (Fig. 4)。

2.2.2 Stigmasterol.

Compound 2は無色粉末でLiebermann-Burchard反応により深緑色を呈し、MSより、 m/z 412、 $[M^+]$ を示した。更に ^1H 、 ^{13}C NMRからstigmasterolが推定され、標品のデータとの比

較から同定した (Fig. 5)。⁸⁾

2.2.3 Brassica sterol, stigmasterol, β -sitosterol β -D-glycopyranoside.

Compound 4、5は淡黄色の粉末で、Liebermann-Burchard反応により深緑色を示し、MSより、糖鎖脱離のフラグメントイオン m/z 398、396、382 (Fig. 6~8)が観測され、3種の混合物と推定された。同時にsterol化合物に特徴的な側鎖と糖鎖の脱離によるフラグメントイオン m/z 255が観察された。又、文献値との比較から β -sitosterol β -D-glycopyranoside, stigmasterol β -D-glycopyranoside, brassicasterol β -D-glycopyranosideの混合物と同定した。⁸⁾

これらの化合物は原植物からまだ報告の無い triterpeneあるいはphytosterol及びその配糖体で

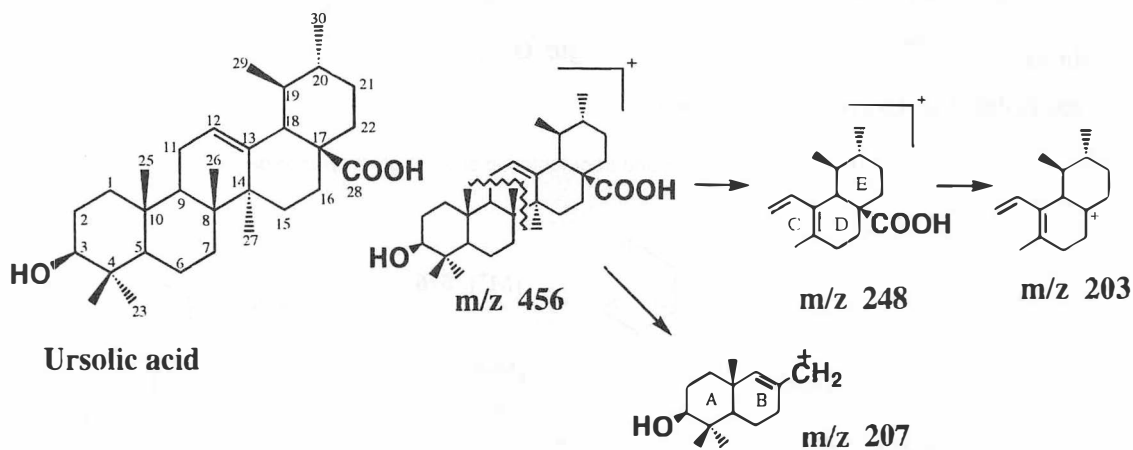


Fig. 4 Mass fragmentation of Ursolic acid

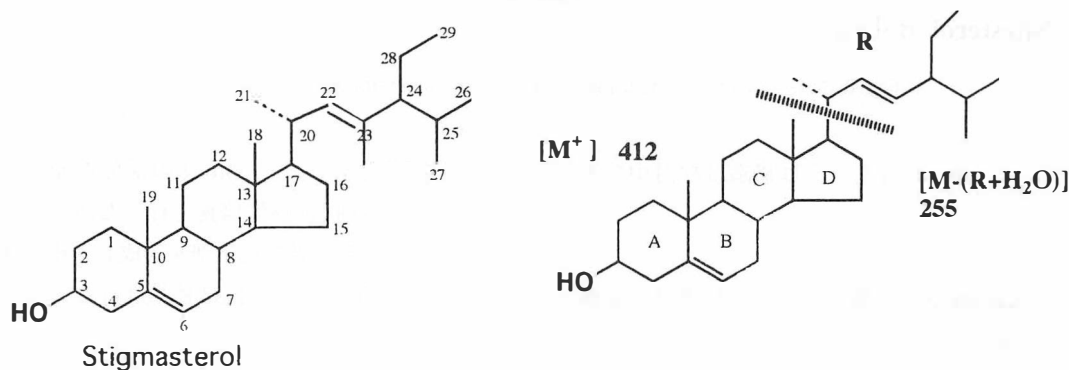
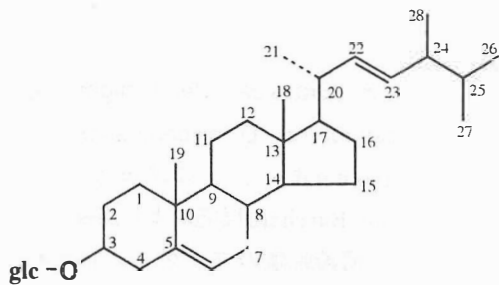
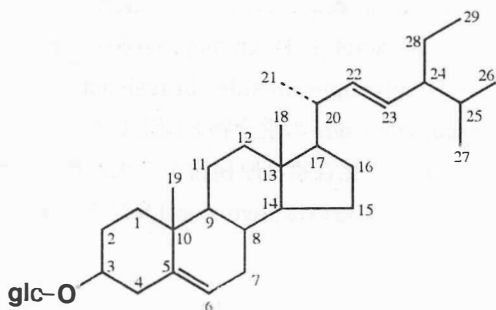
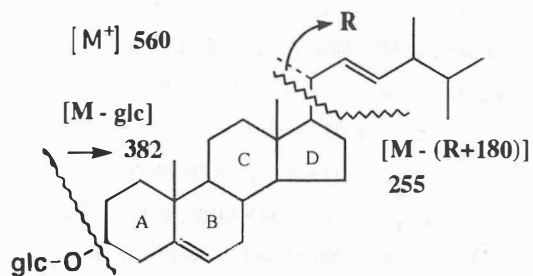


Fig. 5 Mass spectrum and fragmentation of stigmasterol



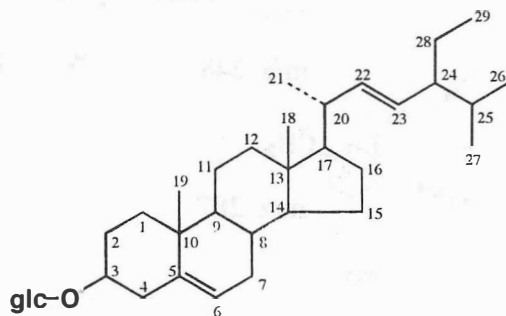
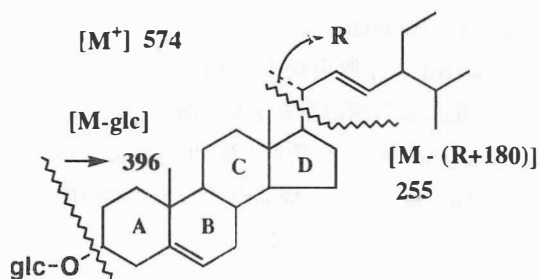
Brassicasterol β -D-glycopyranoside

Fig. 6 Mass spectrum and fragmentation of Brassicasterol β -D-glycopyranoside



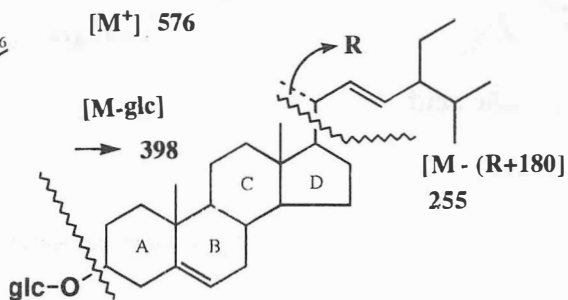
Stigmasterol β -D-glycopyranoside

Fig. 7 Mass spectrum and fragmentation of β -D-glycopyranoside



β -Sitosterol β -D-glycopyranoside

Fig. 8 Mass spectrum and fragmentation of β -Sitosterol β -D-glycopyranoside



あった。compounds 6～9は構造は検討中である。

2.3 callusからの再分化による植物体の生成

N (3 mg/l) - K (0.1 mg/l) ホルモン組成で色素生成を検討中に色素生成と同時に、shootの

形成が観察され、その shoot の部分を光照射下 (12/12hr, 6000L) 継代培養を行った所、葉が緑化して、地上部、及び地下部を形成した小植物が得られた (Fig. 9)。今回は移植は行なわなかったがこの再分化植物が種苗として使用出来る可能性を示した。

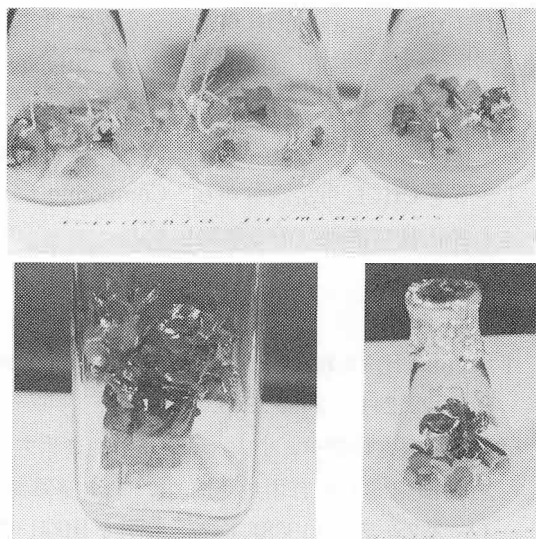


Fig. 9 Differentiation from *Gardenia jasminoides* Callus Tissue

3 考 察

色素生成の少ない原因として、今回カルスの収穫時期を逸し、色が薄くなり始めた時期に抽出し、定量を行ったことが考えられる。現在、前回と同じ条件でクチナシの果実から N (3 mg/l) - K (0.1 mg/l) を用いてカルスを誘導したところ、callus化の過程で特に色素生成細胞を選抜する事なく色素生成が観察された。そこで今後は、色素

生成について time course を取り、カルスの収穫時期を設定したい。しかしながら、クチナシのカルスから、カルス化後、約1年近く crocin を生成していたが、10 カ月目位から急激に色素形成能力が低下する事が観察された。この様に色素生成が継続しないため、カルスが crocin を生成する能力を持続及び生産性の向上する条件を検討する必要がある。この色素形成能力の維持が今後の課題となろう。現在、再度同じ条件でカルスを誘導して、色素形成株を大量に選択中である。

更に、一般的にカルス培養において酵母エキス、あるいは重金属などエリシター処理を行うことにより、二次代謝産物の生成量を増加する事が知られている。今後、このクチナシのカルスについても、このようなエリシター処理を加え、目的の色素化合物が生成されるかどうかについても検討を加える。一方、原植物で生成する monoterpene 系 iridoid 配糖体類が得られず、原植物から報告されていない triterpene あるいは phytosterol 類が得られた事は、著者等⁹⁾が既にボタン科のカルスの生成成分の検索の結果、原植物で主成分の monoterpene 配糖体の paeonifloin 類が生成されず、triterpene 類を主生成成分として生成した現象に類似しており、カルスにおける terpenene 合成の能力の観点から興味ある (Fig. 10)。

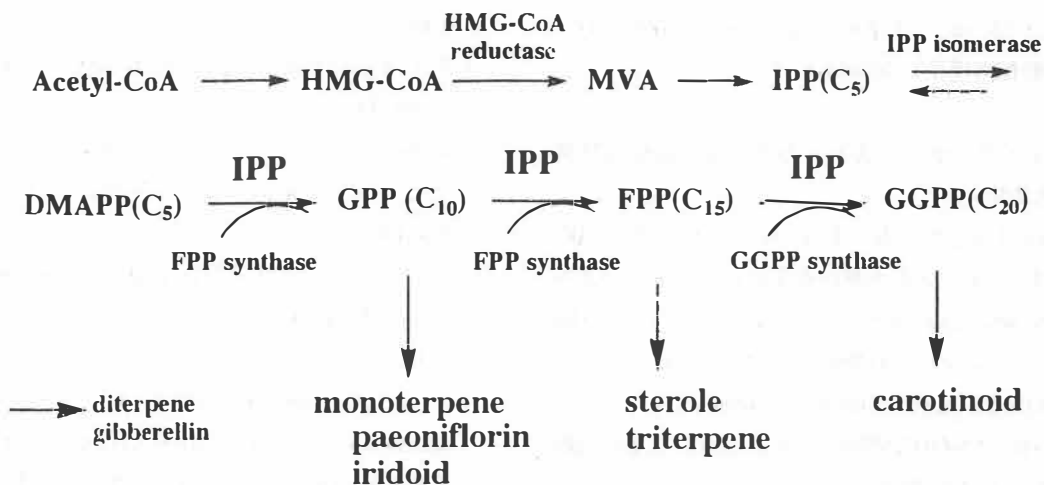


Fig. 10 Biosynthesis of Terpenoids

4 実験

4.1 カルス誘導及び継代培養

カルスは、結実後の果実及び茎を水道水で良く洗った後、Tween20を数滴たらした蒸留水中で、攪拌しながら徐菌後、20%NaOClにより数分間滅菌し洗浄した後、1~1.5cmに切り分けたものをM & S培地上に置床し、25 ± 1 °C、暗所下で2週間D (3 mg/l) - K (0.1 mg/l), N (3 mg/l) - K (0.1 mg/l) のホルモン組成のそれぞれの組み合わせを含むM&S培地を用いて培養を行いカルスを誘導した。継代培養はD (1 mg/l) - K (0.1 mg/l)、N (3 mg/l) - K (0.1 mg/l) の組み合わせを用いて行った。

4.2 crocinの同定及び定量

3NKで培養したクチナシのカルスから燈黄色に色づいたものを特に選抜してメタノールで乳鉢を用いて抽出を行った。

(検量線の作製)

メタノールに溶かして0.125 mg/mlに調整したcrocinの標品を用いて、HPLCにより検量線を作製した。crocinを、2.5、5.0、10.0 μlの3種類の濃度について測定し、最小二乗法により回帰方程式を算出した。

《HPLCの条件》

(UV) 382nm、(流速) 1.0 ml/min、(温度) 30°C、(移動相溶媒系) 60%MeOH

4.2 クチナシのカルスからの成分抽出及び構造決定

D (1 mg/l) - K (0.1 mg/l) のホルモン組成を用いてカルスの大量培養を行いクチナシのカルス(fr. wt. 4.1kg, dry, wt. 86.9g)を収穫し、MeOH中ポリトロンにより磨砕し、吸引ろ過後、残渣にMeOHを加え同様の操作を3回繰り返した。更にその後、MeOHで還流抽出を3回を行い、その濃縮エキスを水に懸濁した後、CHCl₃で分配してCHCl₃可溶画分を得た。水層は更に水飽和n-

BuOHで分配しn-BuOH可溶画分を得た。これら画分について、順相・逆相のオープン、中圧カラムクロマトグラフィーおよびセファデックスカラムクロマトグラフィーを繰り返し行い、Compound 1~5をCHCl₃可溶画分から、Compound 6~9をBuOH可溶画分から単離した。

文献

- 1) Fukui H, Yoshikawa N, Tabata M, Phytochemistry, 22, 241 - 245, 1983.
- 2) 奈女良、田田中、小山、ほか1名、クチナシ培養細胞による有用色素生産、生薬学雑誌、42、252 - 255 (1988) 梅谷、福井、田端、薬誌、100、920 - 924、1980.
- 3) Nawa Y, Ohtani T.; Induction of callus from Flesh of *Gardenia jasminoides* ELIS Fruit and Formation of Yellow Pigment in the callus, Biosci. Biotech. Biochem., 56, 1732 - 1736, 1992.
- 4) George P. S, Ravishamkar G. A.; Induction of crocin and crocetin in callus cultures of *Gardenia jasminoides* ELLIS. *Food Biotechnology*, 9, 29 - 38, 1995.
- 5) Ueda S, Kobayashi K, Muramatsu T, 他1名: Studies on monoterpene glycosides and related natural products. *Planta Medica*, 41, 186-91, 19981.
- 6) 日本薬局方第二部広川書店、東京、1991、D - 389 - D - 392.
- 7) 梅谷、福井、田端、クチナシ果実の発育にともなう成分含量の変化、薬学雑誌、100,920-924,1980.
- 8) 児島: ウツボグサ (*Purunella vulgaris* L.var. lilacina Nakai) のトリテルペノイド及びステロイド成分に関する研究. 博士論文 pp39- 48,1983.
- 9) Ikuta A, Kamiya K, Satake T, そのた1名: Triterpenoids from callus tissue cultures of *Paeonia* species. *Phytochemistry*, 38, 1203-1207, 1995.

水の熱輸送メカニズムと電磁波の影響

静岡県立大学 薬学部

片山 誠二、小沢 一夫

During continuous irradiation far or near infrared (FIR,NIR) on water in cylindrical cell, time courses of temperature rise of water at both the irradiated and opposite ends of the cell were observed by using a thermometer with high precision of 1/1000 deg, taking into account radiation of heat from the sample water.

Under an experimental condition without radiation of heat from sample system, the transport process of thermal energy obtained from FIR, namely, the time course of temperature rise, was mostly in accord with that from NIR, while a little but certain difference was observed in the beginning of both irradiations. This suggested that non-equilibrium lattice vibration of water (equivalent to internal energy) was induced temporarily in the beginning of FIR or NIR irradiation, but it eventually approached to an equilibrium one, because of cross-relaxation between energy levels of various intramolecular motions. The difference appeared in the beginning of the irradiations could be taken as a characteristic of FIR.

1 緒言

近年、遠赤外線 (FIR) は近縁波長の電磁波に較べて極めて特異な性質を有するとして注目されている。照射により水や食品の味を良くすることから、様々な浄水器や家庭用調理器具が市販されている。さらに、血行をよくしたりガンの治療に用いられたりと、ヒトの健康と密接に関わりを持っている。又、酵素や生体分子などの活性に著しい影響を与えるとして分子レベルからの研究も活発となってきた。このようなFIRの様々な分野に於ける効果はいずれも究極的には、FIRが水の構造と物性に影響を及ぼすためと理解されている。しかし、これらの特異な効果が本当に存在するか否かは必ずしも明確とはなっていない。今これらの効果を学術的に検証することがこの領域の緊急の課題となっている。筆者らはこのような点に焦点を当てて研究を開始した。

このFIRの効果は加熱効果と常温効果の二面か



Mechanism of Thermal Transport of Bulk Water Absorbed Far or Near Infrared wave

Seiji Katayama and Kazuo Kozawa

School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka

ら研究されている。FIRを強く照射して用いた場合は加熱効果であり、この場合熱的效果が大きく作用するため、FIR固有の特異的效果が打ち消されて検証するのが難しいと考えられる。一方、微弱なFIR照射の場合は、熱的效果が小さいため、これを常温効果というが、波長由来の固有の効果の検出が期待される。FIR波長は水の振動・回転エネルギーとして吸収され、遷移エネルギーの高い状態に移る。即ち、分子内運動が高い状態に変化し温度が上がる。この時の温度上昇が吸収したFIR固有の波長を記憶し保存されているとするならば、これはFIRの一つの大きな特異的な性質になってもよいと考えられる。即ち、同じ温度であっても熱エネルギーの源である様々な分子内熱運動のモードの構成に違いがあってもよいと先験的に考えられる。もしこのような仮定に立つならば、FIRで得た熱エネルギーは他の波長の吸収によって得た熱エネルギーとは性質が異なってもよいことが予測される。したがって、この場合、熱の伝導や熱の放熱の仕方、並びに並進、振動、回転の各エネルギー間のエネルギー移動 (交差緩和) 等にその特徴が現われてもよいと思われる。そこで、本研究では、水の熱伝導に焦点をあてて実験を開始した。まず、セル中に水を満たしその一端に電磁波を照射し、吸収された熱エネルギー

が他端へと伝播する様子を調べた。両端での昇温曲線を作成し熱輸送のメカニズムを検証することによって、FIRの水に及ぼす特異な性質を議論することとした。さらに、熱輸送の過程に於いて熱エネルギーの放出の効果が昇温曲線に著しい影響を与えるため、セル周辺への放熱に関わる種々の実験条件の寄与についても検討を行った。

2 実験

実験は、全て室温 $23.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ にコントロールされた恒温室内にて実施した。恒温室内では可視光線その他の迷光の影響をなくすために、全ての照明を切って実施した。さらに電磁波等の影響を除くため、図1に示すようなアルミ版にて2部屋に仕切られた箱を作製し、その内部に水を満たしたパイレックス製の円筒形セルを設置した。セル内の水が恒温室内の温度と平衡になるまで放置し、平衡後セルの一端より垂直に遠赤外線又は近赤外線を照射した。照射直後からの照射端(A)、

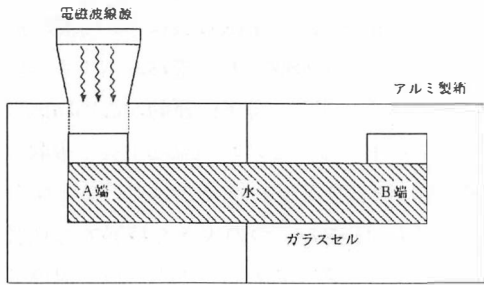
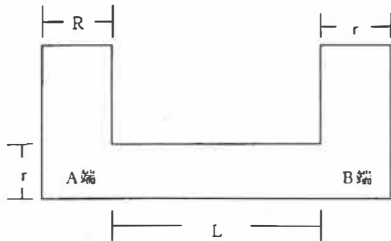


図1 電磁波照射システム



- セル1: $R=50$ $r=50$ $L=800$ (mm)
 セル2: $R=50$ $r=50$ $L=400$ (mm)
 セル3: $R=50$ $r=10$ $L=800$ (mm)

図2 ガラスセルの形状及びサイズ

他端(B)の温度変化を観測し昇温曲線を作製した。なお、セルは図2に示すように径、長さの異なる三種類セル1 (ϕ ;50 mm, l ;800 mm)、セル2 (ϕ ;50 mm, l ;400 mm)、セル3 (ϕ ;10 mm, l ;800 mm)を用いた。照射線源は、遠赤外線として日本軽金属(株)製遠赤外線ヒーター(セラコンポR)を、近赤外線(NIR)として松下寿電子工業(株)製赤外線ランプを用いた。なお、それぞれの波長領域は図3に示した。また温度測定には、 $1/1000^\circ\text{C}$ の精度にて温度測定が可能なテクノセブン(株)製精密温度測定装置を用いた。

実験は以下の実験条件に於いて実施した。

- ①熱伝導に及ぼすセルの形状(径及び長さ)の検討、
- ②熱伝導に及ぼす照射線源の波長依存性の検討、及び、
- ③熱伝導に及ぼすセルからの放熱の影響(セル周辺の環境)についての検討。

3 結果と考察

図4は径50 (mm)、長さ800 (mm)のセル1を用いて遠赤外線を照射した場合の照射端(A)及

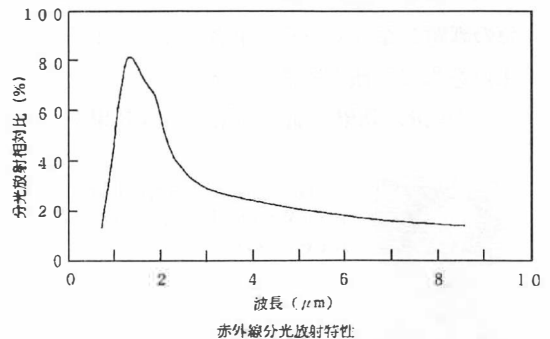
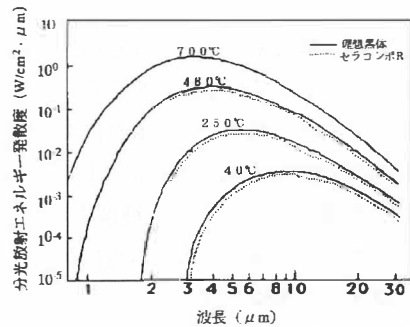


図3 遠赤外線源及び近赤外線ランプの放射波長特性

び他端(B)の昇温曲線の結果を示したものである。A端の温度は、FIR照射直後から上昇し、120分前後に変曲点を持ち、その後0.3に漸近するような昇温カーブを描いた。一方、他端Bの温度は、30分までは全く温度上昇はみられなかったが45分後から僅かな温度上昇が始まり、120分後からやはり0.2に漸近するような昇温カーブを描いた。この場合も120分前後に於いて小さな変曲点が見られた。A端の昇温曲線はFIRの直接的吸収によってもたらされたもの、B端の昇温曲線はA端からの熱エネルギーの輸送によってもたらされたものとみることができる。従って、A端とB端の温度差は、熱輸送に依存して決まると考えら

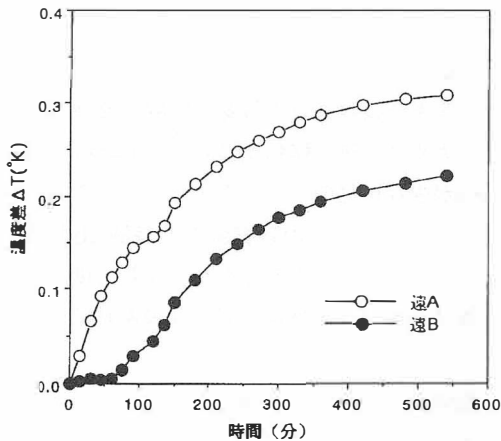


図4 セルを用いた場合の遠赤外線照射によるA端B端の昇温曲線

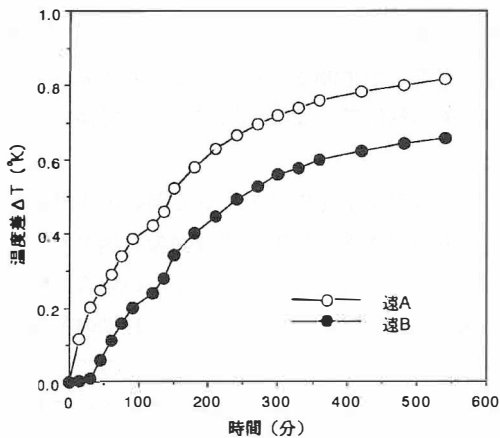


図5 セル2を用いた場合の遠赤外線によるA端B端の昇温曲線

れる。なお、熱輸送の経路(セルの竿の部分)に於ける放熱のためA端よりB端の方が低いレベルに現われ曲線の曲率が大きくなった。又、変曲点が現われた理由については、熱輸送の定常状態(熱勾配)に達するまでの時間に関連するものと推定されたが今のところ不明である。

図5は径50(mm)、長さ400(mm)のセル2を用いた場合のA,B端における昇温曲線の結果を示したものである。A端の温度上昇はやはり、120分前後に変曲点が現れ、セル1よりも高いレベルの温度上昇カーブを示した。B端の温度は15分までは温度上昇がみられなかったものの30分頃から僅かに昇温を始め、やはり120分前後に変曲点を持ち0.7に漸近するような昇温カーブを示した。又、A端とB端の昇温カーブの差は、僅か(<0.2°K)であり、この差は前のセル1の結果に於ける差よりも小さいものとなった。これらの結果は、セル長が短くなれば熱源からのエネルギー供給量が常に一定であるのに対してサンプル量が少なくなるため、相対的にA端の昇温カーブが高いレベルに移ったと解された。又、セル長が短くなればB端への熱エネルギーの到達量も多くなりA,B間の温度差が相対的に小さくなったと解された。

図6は径10(mm)、長さ800(mm)のセル3を

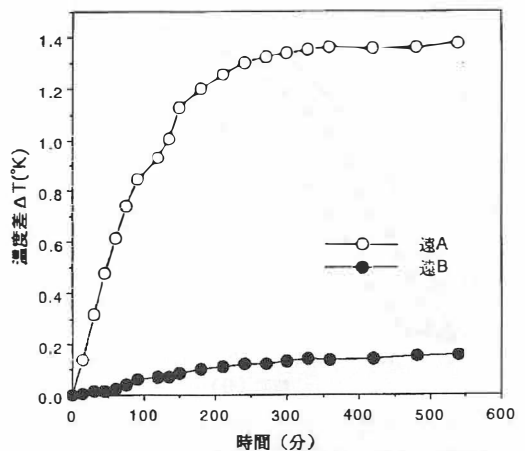


図6 セル3を用いた場合の遠赤外線によるA端B端の昇温曲線

用いた場合の昇温曲線の結果を示したものである。A端の温度上昇はセル1、セル2を用いた時の結果と比べて昇温曲線は極めて大きいレベルに現われた。これはサンプルの絶対量が少なくなったため、及び、竿部の径が細いため、後方への熱の移動量が少なくなり滞留効果が顕著になったためと考えられる。一方、B端は照射直後から極めて低いレベルの昇温がみられた。これは、速い水の熱伝導係数〔 $\kappa: 612 \times 10^{-3} \text{ W} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ (300 °K)〕から考えて照射直後から直ちにB端に熱量が到達していることを意味し、太い管(50mm)の場合はB点に到達した熱がさらに拡散してしまい、わずかな昇温カーブさえも検出できなくなってしまったと考えられる。又、A端の温度が高いレベルにあればB端との温度差が大きくなりB端の昇温曲線が初期の段階から応答したものと解される。一方、B端の昇温カーブが終始緩慢なレベルに保たれたことは、管が細いためトータルの到達する熱量が少ないこと、及び、管が細いため空気への放熱の量が無視出来ない程大きいことなどのためだと考えられた。

以上の結果は遠赤外帯域の線源を用いた場合の熱輸送であった。次に近赤外線帯域の線源を用いた場合の熱輸送について調べ、FIRの結果と併せ

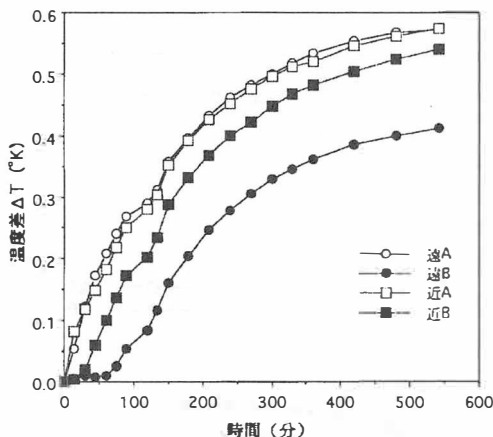


図7 セル1を用い、近赤外線照射後のA端、B端の昇温曲線。遠赤外線の結果と比較するために、遠赤外線のデータは近赤外線のA端の昇温曲線に規格化して表示した。

て比較検討した。なお、線源の波長特性は図3を参照。遠赤外線源(セラコンボR)は表面温度67 °Cで用いたため8 μm あたりにピークトップを持った波長域に於いて実験したことになる。一方、近赤外線ランプは1 μm あたりにピークトップを持った波長域に於いて実験したことになる。これら二種の線源を用いた熱伝導の実験結果は次のようになった。

図7はセル1(径50mm、長さ800mm)を用い、近赤外線を照射し、A端とB端の昇温曲線を作成したものである。その結果、近赤外線を吸収した昇温曲線は遠赤外線の結果とほぼ同じカーブプロファイルを示した。しかし、B端の昇温曲線は、遠赤外線による昇温曲線よりも相対的に高いレベルに現われ、AB間の温度差が小さいものとなった。この結果は、見かけ上遠赤外線を吸収した熱エネルギーよりも近赤外線を吸収した熱エネルギーの方が1)熱の移動が多い、2)経路での熱の放熱が少ない等のことが考えられた。なお、近赤外線及び遠赤外線の各線源の波長域、出力及び水への吸収効率等が異なるため、比較に供した昇温曲線はA端の近赤外線の昇温曲線を基準に規格化して作成した。

電磁波を吸収して変換された熱エネルギーは照射端(A端)から熱流の流れとして他端(B端)に順次伝播されていくが、この途中の過程に於いてセルから空気層へ熱が逃げる(放熱)。この放熱の効果はA端、B端の昇温曲線に著しく影響を与えることが予測される。そこでセル周辺への放熱効果が熱伝導に及ぼす影響について検証を行った。

図8はセル1を黒フェルトで覆い遠赤外線照射した場合のA端、B端の昇温曲線を調べたものである。フェルト巻のA端は巻かない場合に比べて大きな昇温曲線を示した。しかしB端の昇温曲線は顕著な差異がみられなかった。このことからフェルト巻の方がAB間の温度差が大きいことが明らかとなった。この結果、フェルトは遠赤外線の吸収をよくするように働くこと、及び、フェルト

は試料セルから熱伝導で熱を吸収し、空気層へ放熱する可能性が高いことなどが推測された。

図9はセル1を黒フェルトで覆い近赤外線照射した場合のA端、B端の昇温曲線を調べたものである。フェルト巻のA端の昇温曲線は巻かない場合のものとはほぼ同じレベルのものとなった。しかし、B端の昇温曲線は、フェルト巻の方が巻かない場合に比べて低いレベルに現われた。この結果、フェルト巻きの方が途中の竿部に於ける放熱

効果が大きいと判断された。しかし、近赤を吸収した熱エネルギーは遠赤吸収の場合に比べて、フェルトからの熱の放熱が小さいことが推測された。

図10は発泡スチロールにてセル1の竿部を覆って断熱し、A端、B端の昇温曲線に及ぼす放熱の効果のみたものである。遠赤外線、近赤外線いずれの線源による昇温曲線も、断熱しない場合及びフェルト巻の場合の結果に比べて、昇温カーブ

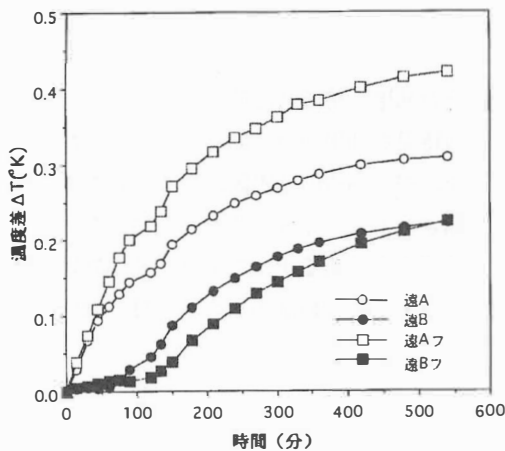


図8 黒いフェルト巻きのセル1を用い、遠赤外線照射した場合のA端、B端の昇温曲線を示したものである。比較のため黒フェルトを巻かない場合の結果と併せて表示した。

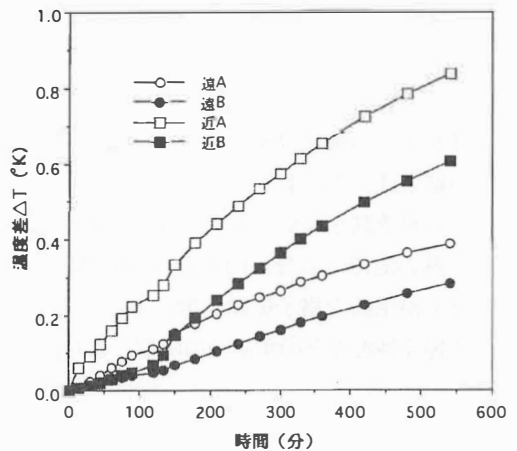


図10 発泡スチロールで覆われたセル1を用い、遠赤外線及び近赤外線照射後の昇温曲線。

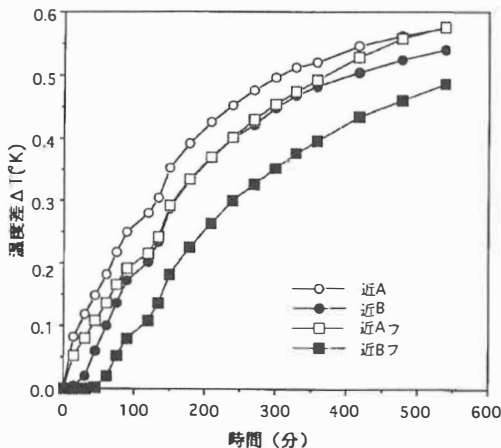


図9 黒いフェルト巻きのセル1を用い、近赤外線照射した場合のA端、B端の昇温曲線を示したものである。比較のため黒フェルトを巻かない場合の結果と併せて表示した。

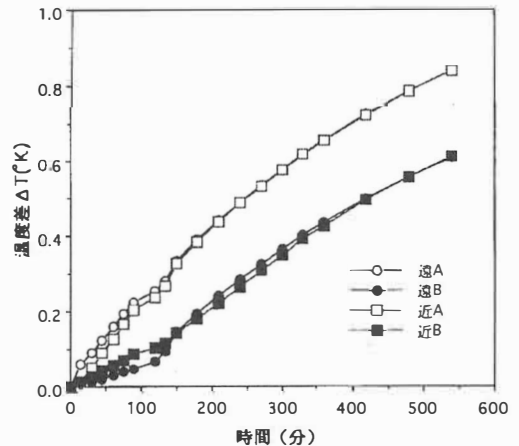


図11 発泡スチロールで覆われた場合の遠赤外線、近赤外線照射による昇温曲線の比較。両曲線は比較のため規格化して表示した。

の曲率は小さくなり直線に近いものとなった。このことは、途中経路に於ける放熱の効果が少なくなったと考えられる。

図 11 は近赤の A 端の昇温曲線を基準に規格化して描かれたものである。遠赤外線及び近赤外線の A 端、B 端の昇温カーブは初期段階を除き時間経過とともに次第に一致するようになった。このことは断熱状態では遠赤外線を吸収した熱エネルギーも近赤外線を吸収した熱エネルギーも最終的には同じ熱輸送状態に到達すると考えられた。しかし、変曲点までの初期過程に於いては遠赤と近赤との結果に顕著な差異が認められた。この差異は遠赤の方が近赤によって得た熱エネルギーより熱エネルギーの輸送効率が良いことを示唆した。以上の結果は、次のような分子内熱エネルギーのシステムが予測された。まず、ある熱平衡にある系は、熱の源である分子内運動(振動、回転、並進など)が平衡な格子振動状態にあると考える。そこで遠赤外線などの電磁波の吸収により偏った

分子内運動の遷移によって熱エネルギーを得た場合、一時的に非平衡な格子振動状態になる。この偏った分子内運動のエネルギーは、交差緩和し平衡な格子振動状態へと移行する。このように考えれば、電磁波照射初期の波長の違いによる昇温曲線の違いが理解される。又、時間の経過とともに、系は平衡な格子振動状態に移行するため、完全な断熱状態のもとでは初期の異なった励起の仕方には無関係に同じ様式の熱の輸送状態に到達すると理解される。

4 総括

以上の結果、現段階に於いては、必ずしも遠赤外線の特異な効果の決定的な検証がなされたとはいえないが、周辺の基礎固めがなされたものとして評価されよう。今後もこれらの結果をベースにさらに研究を進める予定であり、遠赤外線の特異な効果の決定的な検証がなされる日も近いと期待している。

生体膜構造をもつ高分子中の水の構造解析と生体反応の 解明に関する研究

東京医科歯科大学 医用器材研究所

石原 一彦

The amount of plasma proteins adsorbed on a phospholipid polymer having a 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) moiety was reduced compared to poly [2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA)], poly [n-butyl methacrylate (BMA)], and BMA copolymers with acrylamide (AAm) or N-vinyl pyrrolidone (VPy) moieties having a hydrophilic fraction. To clarify the reason for the reduced protein adsorption on the MPC polymer, the water structure in the hydrated polymer was examined with attention to the free water fraction. Hydration of the polymers occurred when they were immersed in water. The differential scanning calorimetric analysis of these hydrated polymers revealed that the free water fractions in the poly (MPC-co-BMA) and poly (MPC-co-n-dodecyl methacrylate (DMA)) with a 0.30 MPC mole fraction were above 0.70. On the other hand, the free water fractions in the poly (HEMA), poly (AAm-co-BMA) and poly (VPy-co-BMA) were below 0.42. The conformational change in proteins adsorbed on the MPC polymers and poly (HEMA) was determined using ultraviolet and circular dichroism spectroscopic measurements. Proteins adsorbed on poly (HEMA) changed considerably but those on poly (MPC-co-BMA) with a 0.30 MPC mole fraction were almost the same as in the native state. We concluded from these results that little proteins are adsorbed and do not change their original conformation on the polymer surfaces which possess a high free water fraction.

1 緒言

本研究では生体膜類似表面を持つポリマー材料を用いて、その周囲に存在する水の構造を解析するとともに、タンパク質の吸着、活性化あるいは構造変化の過程を詳細に追跡することにより、生体分子と材料との反応を理解することを目的としている。

生体膜はリン脂質、糖質及び細胞に情報を与えているタンパク質で構成されている非共有結合性の分子集合体であり、この構造維持には周囲に存在する水の状態が極めて重要な役割を果たしている。生体膜の表面は細胞の機能発現、制御を中心とした反応場となっており、この特異的な生体反応も水を媒体として進行していることは言うまでもない。すなわち、生体を取り巻く環境において

水の動態や構造を解析することは、生体反応さらには生体そのものを理解する上で有効な手段である。一方、生体を対象とした場合における系の複雑さがこれらの研究の大きな障害となっていることも事実である。ここでは単純な生体膜のモデルとして、細胞表面に多いホスファチジルコリンを極性基として有する両親媒性の合成高分子を用い、その膜内及び近傍の水の状態とタンパク質の機能、構造変化との相関を見いだす。

医用デバイスを生体内あるいは生体と接触させて使用する場合、血栓形成や炎症反応などデバイスが生体に与える影響はもとより、生体がデバイスに与える影響についても十分に考慮しなければならない。タンパク質は生体内において情報伝達及び生理活性物質の産生や運搬など生命の維持に欠かせない重要な役割を担っているが、一方、医用デバイスを使用する際には、タンパク質の吸着により大きな問題が発生することが多い。たとえば、タンパク質の不可逆的な吸着はクロマトグラフィーカラムやコンタクトレンズにおける汚れの原因となり、また血液透析膜や血液ろ過膜などでは本来の膜透過性が著しく低減し、物質交換など



Studies on water state in polymer with biomembrane-like structure and bioreactions on the polymer

Kazuhiko Ishihara

Institute for Medical and Dental Engineering
Tokyo Medical and Dental University

の機能が十分に発揮されなくなる。さらに、細胞の活性化や好ましくない免疫反応を誘起し、たちまちデバイスが異物認識を受けることになる。

従来の医用デバイス材料が血液や血漿と接触すると必ずタンパク質の吸着が生じる。タンパク質分子はアミノ酸の重合体であり、分子内でのアミノ酸残基の相互作用により血液や緩衝溶液など水を溶媒とした系では一定のコンホメーションを維持しているが、界面活性剤や変性剤の添加によりそのコンホメーションが変化することが知られている。また、油-水界面に吸着（接触）した場合においても、著しいコンホメーション変化を起こす。前者はタンパク質分子内の水素結合の破壊、後者はタンパク質分子内の疎水性アミノ酸残基に起因する疎水性相互作用のバランスの変化に対応する。すなわち、タンパク質分子を取り巻く環境が僅かに変化するだけで、微妙な分子間力のバランスで規定されているコンホメーションの変化が生じるのである。このコンホメーション変化が不可逆的な材料表面へのタンパク質吸着という現象につながる。したがって、本質的にタンパク質との相互作用の弱く、吸着させない材料により医用デバイスを作成するか、表面をこのような材料で修飾したデバイスを用いなければならない。

研究代表者らは、新しい血液適合性高分子として生体膜表面に着目し、リン脂質構造を有するポリマーを合成した¹⁾。このポリマーの血液適合性を細胞及びタンパク質、脂質などの生体分子レベルで解析していくと、優れたタンパク質吸着抑制効果を見いだした²⁾。

2 実験

2.1 試薬の調製

MPCは研究代表者が確立した方法により合成し、アセト

ニトリルより再結晶して用いた¹⁾。n-ブチルメタクリレート (BMA)、n-ドデシルメタクリレート (DMA)、N-ビニルピロリドン (VPy) 及び2-ヒドロキシエチルメタクリレート (HEMA) は市販試薬を減圧蒸留により精製して用いた。アクリルアミド (AAm) は市販品をベンゼンより再結晶して用いた。2,2'-アゾビスイソブチロニトリル (AIBN) はメタノールより再結晶して用いた。タンパク質類は市販品をそのまま用いた。その他の溶媒は常法により生成し用いた。

2.2 ポリマーの合成

MPCとBMAとの共重合体 (PMB) は対応するモノマーをエタノール中AIBNを開始剤とし60°Cで反応することにより得た。反応液を大量のジエチルエーテル中に滴下してポリマーを再沈澱精製した。MPCとDMAの共重合体 (PMD)、AAm (PAB) あるいはVPy (PVB) とBMAの共重合体も同様な方法で合成した。またHEMAを2-プロパノール中で単独重合した (Poly (HEMA))。共重合体中のモノマーユニット組成は元素分析により求めた。ポリマーの構造を図1に、合成結果を表1に示す。

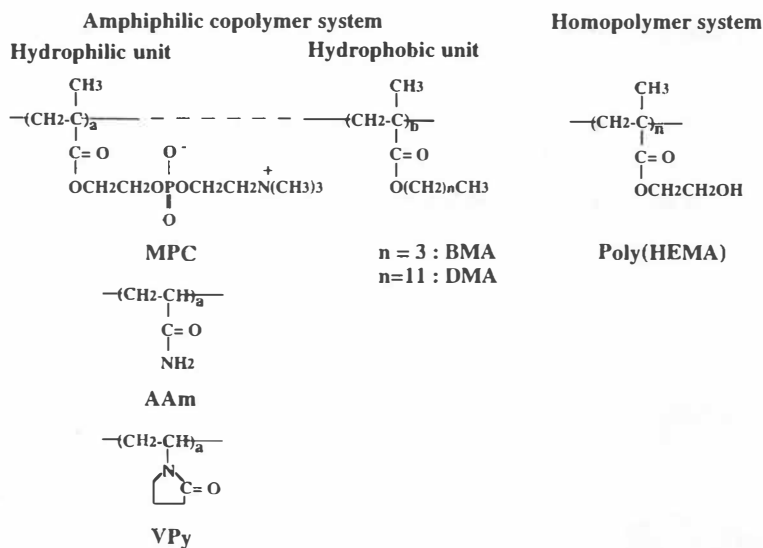


図1 Structure of amphiphilic polymers.

表 1 Synthetic results of polymers used in this study

Code	Hydrophilic monomer	Hydrophobic monomer	Mole fraction of hydrophilic unit		Time ^{a)} (h)	Conversion ^{b)} (%)	M _w ^{c)} 10 ⁵
			in feed	in polymer			
PMB10	MPC	BMA	0.10	0.07	10	40.1	1.3
PMB30	MPC	BMA	0.30	0.28	10	52.6	2.1
PMD10	MPC	DMA	0.10	0.12	6	41.1	2.0
PMD30	MPC	DMA	0.30	0.31	6	51.7	3.1
PAB70	AAm	BMA	0.70	0.58	4	30.7	1.8
PVB90	VPy	BMA	0.90	0.81	7	22.9	1.1
Poly(HEMA)	HEMA		1.0	1.0	2	18.7	4.2

a) [Monomer] = 1.0 M, [AIBN] = 5 mM at 60 °C.

b) Polymerization was carried out in ethanol for PMB10, PMB30 and PMD30, in chloroform/ethanol(3/7) for PMD10, in DMF for PAB70 and PVB90, and in 2-propanol for poly(HEMA).

c) Determined by gel permeation chromatography with polyoxyethylene standard for the MPC polymers, with polystyrene standards for PAB70, PVB90 and poly(HEMA).

2.3 ポリマー膜の調製と含水膜中の水の解析

ポリマーを溶媒に溶解して10wt%溶液を調製した。これをポリエチレン板上に流延し、溶媒を蒸発させてポリマー膜を調製した。得られたポリマー膜を一定重量秤量(乾燥重量)し、25°Cにて純水中に浸漬した。膜を取りだし表面の水分を軽く濾紙で拭い直ちに重量(膨潤重量)を測定した。含水率を重量増加を膨潤重量で除することにより算出した。

平衡膨潤に達した膜を一定重量熱分析用のアルミニウム容器に入れ、示差走査熱量計(DSC、セイコー電子、DSC-100)にて-50°Cより50°Cまでの範囲で冷却速度2.5°C/分にて熱量の変化を測定した。0°C付近の熱量変化を純水の値と比較して自由水の分率を求めた。さらに、ポリマー膜の含水率を0.36に一定とし、同様の測定を行った。

2.4 タンパク質吸着量の測定と吸着したタンパク質の二次構造の解析

タンパク質として牛血清アルブミン(BSA)及び

牛血漿フィブリノーゲン(BPF)を用いた。これらをリン酸緩衝液(PBS、pH7.4)に溶解して生体濃度の1/10の溶液を調製した。

図2にタンパク質の吸着量と吸着したタンパク質の構造を解析する、紫外(UV)一円偏光二色性(CD)スペクトル法の測定手順を示す。ポリマーを石英板にスピコートした。これをタンパク質溶液に浸漬し、37°Cにて60分間放置した後、PBSでリンスした。直ちに350nmから205nmの範囲でCDスペクトル測定(日本分光、J-720W)を行った。測定は5回繰り返した。その後、石英板をUV分光計(日本分光、V-560)にセットし280nmの吸光度を測定した。

平均分子楕円率はCDスペクトル及びUVスペクトル測定の結果より算出し、タンパク質の二次構造の尺度となる α -ヘリックス含量はポリ(L-リジン)の値を参考にして計算した。

3 結果

表2にポリマー膜の含水率を示す。MPCポリマーの場合、MPCユニットの増加にともない含

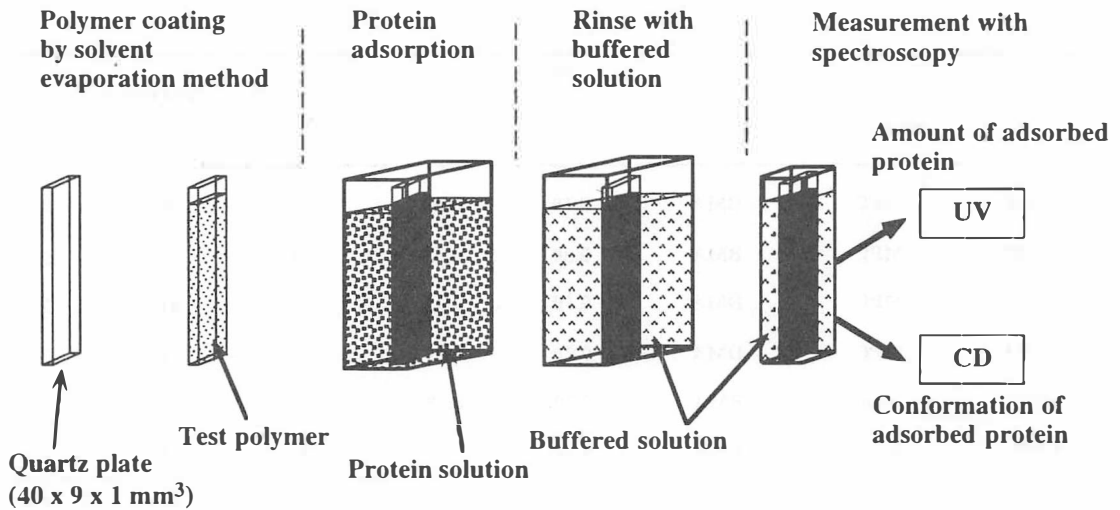


図2 Procedure for measurement of amount and conformation of protein adsorbed on polymer surface by UV-CD method.

表2 Characteristics of hydration state of polymers and protein adsorption on polymer surfaces.

	Poly(HEMA)	PMB		PMD		PAB70	PVB90
		10	30	10	30		
Heq ^{a)}	0.40 (0.39) ^{c)}	0.23	0.84	0.19	0.70	0.36	0.41
Free water fraction							
at Heq	0.34 (0.34) ^{c)}	0.25	0.84	0.22	0.70	0.42	0.39
at H = 0.36	0.28	—	0.69	—	0.62	0.42	0.31
Equilibrium amount of adsorbed protein ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) ^{b)}							
BSA	1.7 ± 0.7	0.50 ± 0.2*	0.22 ± 0.1**	0.51 ± 0.2*	0.35 ± 0.1**	1.3 ± 0.2**	1.8 ± 0.3**
BPF	3.4 ± 0.1	2.0 ± 0.5*	1.1 ± 0.2**	2.0 ± 0.4*	1.2 ± 0.3**	2.3 ± 0.4*	2.6 ± 0.3*

a) Heq = (weight of water in the polymer membrane) / (weight of polymer membrane saturated with water) at 25 °C.

b) Initial concentration of proteins in PBS : [BSA] = 0.45 g / dL, [BPF] = 0.03 g / dL.

c) The values in literature (ref. 34).

The values indicated here are mean ± S.D. for three experiments. *p<0.01 vs poly((HEMA), **p<0.01 vs PMB10.

水率が増加することがわかる。また、AAmやVPyユニットと比較してMPCユニットの親水性が大きいことが確認できた。

図3に含水したポリマー膜のDSC曲線を示す。0 °C付近に氷の融解に起因するピークが見られる。PABやPVBでは-20°Cから-40°Cの範囲にブロードな発熱ピークが認められる。一方、MPCポリマーでは0 °C付近の発熱ピークがシャープで

あった。このピーク面積よりポリマー膜中の水の融解に起因する熱量を求め、純水の値と比較して、膜に含まれる自由水含率を求めた。結果を表2に示す。MPCポリマーの自由水含率は他のポリマーに比較して大きいことが明らかとなった。タンパク質の吸着量に関して結果を表2に示す。MPCポリマーではPoly(HEMA)に比較してタンパク質の吸着量が少ない。MPCユニットが多

くなると吸着量の低下が見られた。

図4にPBS中でのBSA及びポリマー表面に吸着したBSAのCDスペクトルを示す。PBS中に溶解しているBSAでは222nmに大きな負の分子楕円率が観察される。PMB30に吸着しているBSAでもほぼ同じCDスペクトルが見られた。MPCポリマーにおいてMPCユニット組成が小さくなると222nmの負の楕円率が0に近くなり、さらにPoly(HEMA)ではこの傾向が顕著になった。

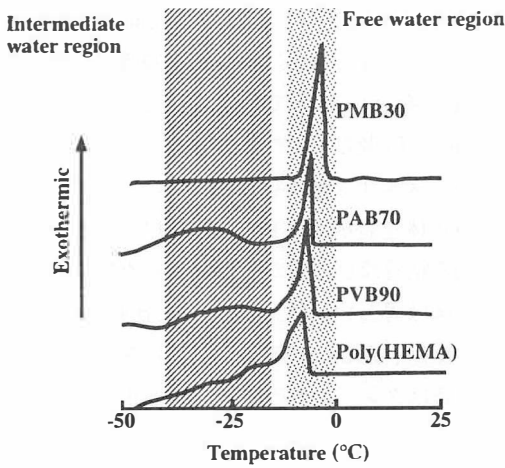


図3 DSC curves of hydrated polymer.

図5にタンパク質の二次構造の変化について α -ヘリックス含量に着目してポリマー間で比較した。PBS中のBSA及びBPFの α -ヘリックス含量はそれぞれ54%と19%であった。PMB30に吸着したBSA及びBPFの α -ヘリックス含量はPBS中でのそれぞれの値と有意差がない。一方、Poly(HEMA)では有意に低値を示した。このことは大きな構造変化が生じていることを示している。

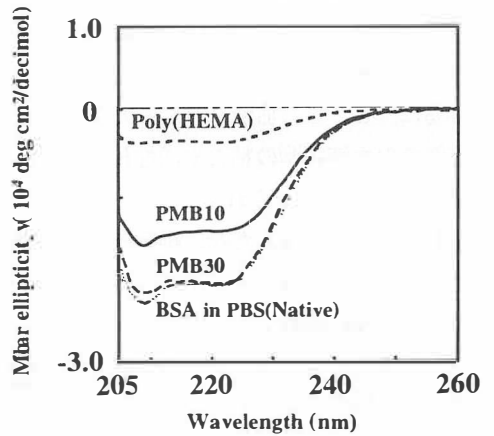


図4 CD spectra of BSA adsorbed on polymer surface and in PBS.

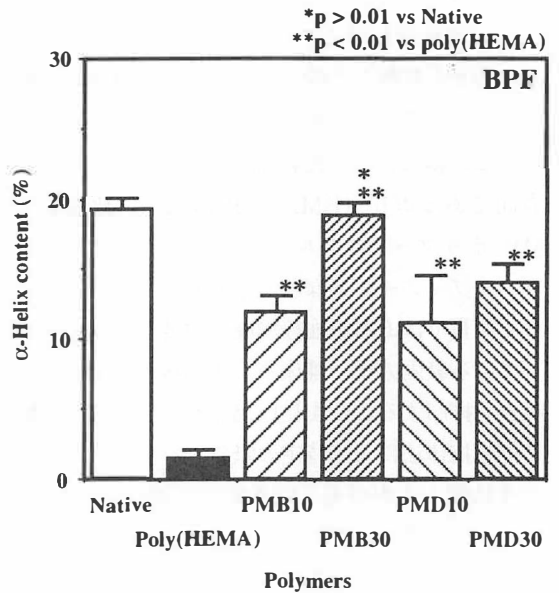
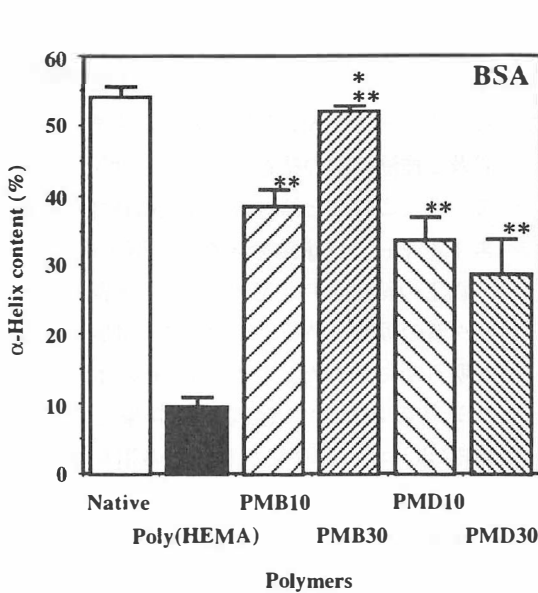


図5 α -Helix content of BSA and BPF adsorbed on polymer surface and in PBS. *represents no significant difference versus the value for protein in PBS (Native) ($p > 0.01$) and **represents significant difference versus poly(HEMA) case ($p < 0.01$).

4 考 察

血液適合性の表面として理想的で、模範となるものは血管内皮表面と考えられる。正常な血管内皮上では、細胞はもとよりタンパク質の吸着、活性化は生起しない。この構造を人工材料の表面に構築できれば、新しい血液適合性材料として期待できる。研究代表者は、このような観点から、リン脂質極性基をもつMPCと疎水性のメタクリル酸エステルあるいはスチレンとの共重合体を合成した¹⁾。このMPCポリマーは溶媒に可溶であるために、従来の医用デバイス表面に被覆することが容易にでき、また血液と接触した場合においても表面での血液細胞の粘着や活性化を効果的に阻止することが見いだされている^{3, 4)}。

材料が血液と接触した際に細胞成分が材料と相互作用する前に脂質やタンパク質のような生体分子成分が表面に吸着し、この吸着層を介して血栓形成へと進行する。したがって、血液適合性材料を設計する場合において、なるべく血液に近い状態からの生体分子成分と材料との相互作用について検討することが重要となる。

これまでにMPCポリマーへのタンパク質吸着について検討してきている²⁾。MPCポリマーがヒト血漿と接触した際のタンパク質吸着量及び吸着タンパク質の種類をラジオイムノアッセイ法で解析した結果、親水性表面であるガラスや疎水性表面であるポリ(BMA)(PBMA)に比較してMPCポリマーではアルブミン、 γ -グロブリン及びフィブリノーゲンなどの主要タンパク質のみならず微量ではあるが血栓形成に重要な役割を果たしている凝固因子、補体系、細胞接着因子などの吸着も抑制することを見い出した。金コロイド粒子標識抗体法により特定の吸着タンパク質の吸着分布状態を走査型電子顕微鏡にて調べた。MPCポリマー上ではいずれのタンパク質の吸着も少なく、吸着している場合でもまばらであることが認められた。これに対してガラスやPBMAでは多くのタンパク質が吸着し、さらに一部が凝集して

いる様子が見られた。

以上の結果はMPCポリマーとタンパク質との相互作用が極めて弱いことを強く表わしている。

細胞成分の粘着、活性化及び凝集はタンパク質吸着層を介して細胞が材料の情報を得ることが引き金となって生じる。MPCポリマー表面ではタンパク質吸着を効果的に減少させることができるために細胞粘着や活性化を抑制したものと考えられる。

一般に表面自由エネルギーの低いまたは界面自由エネルギー差の小さい材料表面では生体適合性、抗血栓性あるいはタンパク質吸着抑制効果が発現するといわれている。そこで親水性基をAAm、VPy及び2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸(AMPS)ユニットとしたBMA共重合体を合成し、Poly(HEMA)も含めて血液細胞の粘着及び血漿からのタンパク質吸着を含水率がほぼ等しいMPCポリマーと比較検討した⁵⁾。その結果、AAmやVPyユニットを親水性基とした場合はタンパク質の吸着及び血小板の粘着、活性化も著しく起こることがわかった。AMPS共重合体はヘパリン様のスルホン酸基があり負電荷表面であることから、良好な血液適合性の発現が期待されたが、血液細胞の粘着はある程度抑制するものの、タンパク質の吸着が多いことが明らかとなった。一方、MPCポリマーではタンパク質吸着及び血液細胞の粘着のいずれも効果的に抑制していた。このことは材料の血液適合性が表面自由エネルギーでは議論できない事例である。

以上の結果より、MPCポリマー表面ではタンパク質の吸着、積層化が効果的に抑制されることが明らかにされた。これはMPCのホスホリルコリン基の親水性に起因する効果と考えられ、MPCポリマーとタンパク質との相互作用が弱いことを示している。

水溶性ポリマー濃厚水溶液中の水の状態をポリマー鎖に強く水和した結合水、バルク中の水と同じ自由水及びそれらの中間水(弱くポリマー鎖に相互作用している状態)に分けてDSCにより解

析してみたところ、同じ含水率の溶液でもポリマーの種類によりこれらの分率が大きく異なることが見いだされた。その結果、MPCポリマーでは他の親水性ポリマーに比較して自由水含率が極め高いことがわかった。タンパク質の吸着はタンパク質の持つ結合水と材料表面の結合水の交換反応(共有化反応)を伴う、いわゆる疎水性相互作用が重要な役割を果たしていると考えられているが、材料側に結合水がないまたは少ない場合には交換する水分子が存在しないことにより、タンパク質分子はあたかも水溶液中に留まっているかのような挙動をとる。すなわち、表面への吸着が起こり難いものと考えられる。従来、MPCポリマーのように親水性にもかかわらず結合水を持たないポリマーは全く知られておらず、MPCポリマーの特異性が示された。

5 結 論

生体膜表面を模倣して合成したMPCポリマーは、タンパク質との相互作用が極めて弱く、例えタンパク質と接触している場合でもタンパク質の構造変化を引き起こさない性質を持つことがわかった。これがMPCポリマーの生体適合性(生体に優しい)の要因であると考えられる。MPCポリマーのタンパク質吸着、構造変化抑制効果には水の構造が天然の状態いわゆる自由水が多いためであると結論できる。

細胞膜(生体膜)表面で生物は生命維持のための反応を行う場合が多い。この時に非特異的な反応が起こると生命維持が危うくなる。すなわち、細胞膜を構成するマトリックスであるリン脂質極

性基が集合し、高度に配向している表面では生体反応を完全に抑えることができる可能性が示唆された。この知見は今後の人工臓器、医療デバイスあるいはバイオサイエンス(タンパク質工学、遺伝子工学、脳の機能解明など)用のデバイスを製作する材料を作る分子設計概念として重要となるであろう。

文 献

- 1) Ishihara K, Ueda T, Nakabayashi N, : Preparation of phospholipid polymers and their properties as hydrogel membrane, *Polym.J.*, 22, 355-360 (1990).
- 2) Ishihara K, Ziats NP, Anderson JM, et al., : Protein adsorption from human plasma is reduced on phospholipid polymer. *J.Biomed.Mater.Res.*, 25, 1397-1407 (1991).
- 3) Ishihara K, Oshida H, Ueda T, et al., : Hemocompatibility of human whole blood on polymers with a phospholipid polar group and its mechanism, *J.Biomed.Mater.Res.*, 26, 1543-1552 (1992).
- 4) Ishihara K, Hanyuda H, Nakabayashi N, : Synthesis of phospholipid polymers having a urethane bond in the side chain as coating material on segmented polyurethane and their platelet adhesion-resistant properties, *Biomaterials*, 16, 873-879 (1995).
- 5) 上田智子, 石原一彦, 中林宣男, : リン脂質極性基を親水性基として有する高分子の血液適合性, *高分子論文集*, 48, 289-294 (1991).

両親媒性分子が構築する超分子の構造と機能性に関する研究

名古屋大学大学院 理学研究科物質理学専攻

今 栄 東 洋 子

The surface pressure-area (π -A) isotherms of dioctadecyldimethylammonium chloride ($2C_{18}DAC$) and dioctadecyldimethylammonium cinnamate ($2C_{18}DA \cdot Cin$) were measured, and their time dependence was examined. The surfaces of Langmuir-Blodgett films of $2C_{18}DAC$ and $2C_{18}DA \cdot Cin$ were observed by atomic force microscopy (AFM). Then the location and effect of cinnamate anions for molecular organization on Langmuir monolayer of $2C_{18}DA$ were discussed. Just after the preparation, cinnamate ions bind on hydrophilic surface of $2C_{18}DA$ monolayer, by forming ion pairs with $2C_{18}DA$ cations and by directing aromatic groups toward the interior of water subphase. When Langmuir film is maintained during long time at a constant surface pressure, cinnamate ions are intercalated into monolayer, since aromatic groups penetrate into hydrophobic interior of monolayer.

1 緒 言

両親媒性分子は、条件に依存して色々な種類の分子集合体を形成する。溶媒中で自己集合した分子集合体は、化学反応のマトリックスとして有用であることが知られている¹⁾。珪皮酸のような芳香族不飽和カルボン酸は、両親媒性分子の分散系内で光を照射することによって反応して二量体を生成する²⁾。二量体の4種の異性体のうちで、主に *anti-head-to-head* (HH) と *syn-HH* がそれぞれミセル、逆ミセル溶液中で形成される³⁻⁵⁾。

光二量化の反応効率と立体化学的選択性は、反応マトリックスとしての分子集合体上での珪皮酸単量体の吸着と組織性に関係する。珪皮酸単量体は、陽イオン性両親媒性分子と静電的に結合すると同時に集合体内に貫入する。そのとき、分子集合体の表面近傍に珪皮酸が存在する状態に3種の可能性がある⁴⁾。*anti-HH* と *syn-HH* 異性体は、水-集合体界面の同じ側に結合した珪皮酸イオン対間での反応によって形成されるはずである^{3,4)}。

anti-HH 異性体の生成は、ミセル上よりもむしろベシクル上で好んで進行する^{4,6-8)}。このことは、珪皮酸が光二量化反応に適した状態でベシクルのラメラ二分子膜内に配列していることを示唆する。両親媒性分子による類似の二分子膜配列は、ラングミュア-ブロジェット (LB) 膜製膜法によっても構築できる。ラングミュア法によって水面上に配列した単分子膜を固体基板上に累積するとき、繰り返し単位を持つラメラ構造が生成される。ベシクル二分子膜に類似のこの構造は反応マトリックスとして用いられる可能性があるけれども、LB膜または他の薄膜上での光二量化の報告は極めて少ない。

この研究においては、二鎖型陽イオン性両親媒分子である塩化ジオクタデシルジメチルアンモニウム ($2C_{18}DAC$) と珪皮酸ジオクタデシルジメチルアンモニウム ($2C_{18}DA \cdot Cin$) のラングミュア膜について研究した。表面圧-面積 (π -A) 等温線の時間依存性を調べた。さらに、 $2C_{18}DAC$ と $2C_{18}DA \cdot Cin$ のLB膜を構築し、原子間力顕微鏡 (AFM) で観察した。 $2C_{18}DA$ 単分子膜上での珪皮酸イオンの状態を議論した。

2 実 験

$2C_{18}DAC$ は東京化成工業株式会社から購入した。 $2C_{18}DA \cdot Cin$ は名古屋大学高木克彦助教授か



Structure and Functionality of Supramolecules Constructed by Amphiphiles

Toyoko Imae

Department of Chemistry, Faculty of Science, Nagoya University

ら寄贈された。他の試薬は市販品をそのまま使用した。 $2C_{18}DAC$ と $2C_{18}DA \cdot Cin$ をクロロホルムに溶解して1–2 mg/cm³の溶液を調製した。水に等モルの珪皮酸と水酸化ナトリウムを溶かして珪皮酸ナトリウムの10mM水溶液を調製した。

表面圧測定とLB膜生成はLB膜製膜装置(日本レーザー電子株式会社)を用いて行った。 $2C_{18}DAC$ と $2C_{18}DA \cdot Cin$ のクロロホルム溶液を10、25、または35°Cの温度に保った水面上に展開した。30分間放置して溶媒を蒸発させた後、表面を10 mm/minの一定速度で圧縮しながら表面圧を計測した。表面圧を10または25mN/mに保っておき、雲母の新しい破壊面を垂直浸漬法により上昇の後下降することによってラングミュア膜を雲母基板に移し取った。単分子層およびY型3分子層累積膜を準備した。LB膜は3時間以上真空中で乾燥した。

原子間力顕微鏡観察にはAFMNanoScopeIII(デジタルインスツルメンツ株式会社)を用い、タッピングモードにより空気中室温で行った。280–410Hzの周波数を持つ結晶性シリコンチップを使用した。LB膜の表面粗さおよび垂直距離は断面分析によって見積もった。

3 結果

$2C_{18}DAC$ と $2C_{18}DA \cdot Cin$ の展開単分子膜の表面圧 π を分子当たりの表面積 A の関数として図1に示した。 $2C_{18}DAC$ の単分子膜は液体状態のみをとることが膨張した $\pi-A$ 曲線から言及できる。 $2C_{18}DAC$ 分子が占める面積は通常の二鎖型両親媒性分子の占有面積よりも大きかった。

溶媒を蒸発した直後の $2C_{18}DA \cdot Cin$ のラングミュア膜の $\pi-A$ 等温線は $2C_{18}DAC$ の曲線と似ていたが、崩壊圧は $2C_{18}DA \cdot Cin$ 単分子膜の方が高かった。珪皮酸イオンは $2C_{18}DA$ 単分子膜の親水表面に塩素イオンよりも強く吸着するので、 $2C_{18}DA \cdot Cin$ 単分子膜は静電反発が抑えられた結果、高い表面圧であっても安定であると解釈できる。

特記すべきことは、一定の表面圧に保った時、 $2C_{18}DA \cdot Cin$ 単分子膜の表面積が時間とともに増加することである。平衡は30時間後に達した。 $2C_{18}DAC$ 単分子膜に対しては $\pi-A$ 等温線の時間依存性は認められなかった。前者では単分子膜を構成する分子が再配列するのに対して、後者では再配列は起こらないことを意味する。平衡状態に達した $2C_{18}DA \cdot Cin$ 単分子膜を圧縮すると、 $\pi-A$ 等温線は平衡前の等温線と較べてほぼ2倍に膨張した。

雲母基板上に移し取った $2C_{18}DAC$ の単分子層LB膜をAFMで観察した写真を図2に示す。10mN/mの表面圧で調製した単分子膜は4–8 Åの高低差をもつ粗い表面を示した。ただし、この高さは $2C_{18}DAC$ の分子長と較べると非常に低い。このことはアルキル鎖がすべて伸びているのではなくランダムに屈曲していることを示唆している。25mN/mで調製された膜のAFM写真では、粗い表面と共存して最大8 Åの高さの平坦部が存在した。平坦部表面の凹凸はたかだか2–3 Åであるので、平坦部は主として伸びたアルキル鎖を持つ分子によって構成されていると推察できる。しかしながら、表面のより詳細なAFM観察から、平坦部であっても分子の規則的な二次元配列には至っていないことが明らかとなった。

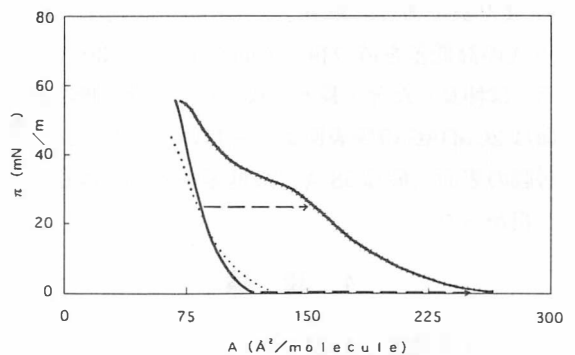


図1 The $\pi-A$ isotherms of $2C_{18}DAC$ and $2C_{18}DA \cdot Cin$ monolayers on water subphase at 25 °C. , $2C_{18}DAC$; —, $2C_{18}DA \cdot Cin$ (just after preparation); - - - - - , $2C_{18}DA \cdot Cin$ (after aged for 30 hrs). Arrows indicate the path of equilibrium process.

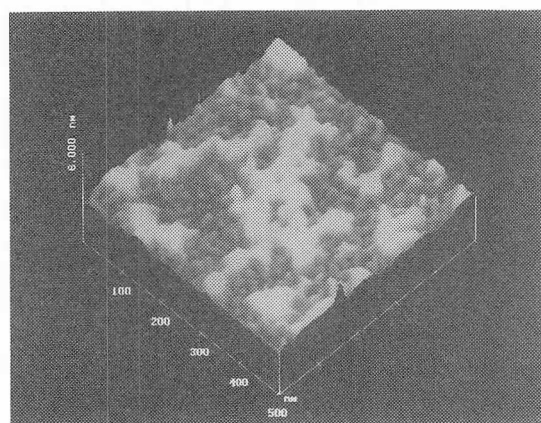
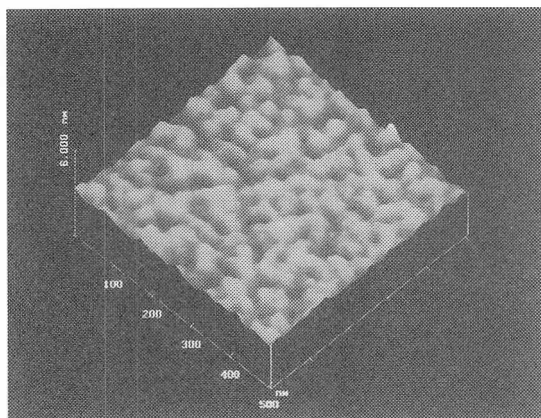


図2 AFM photographs of monolayer LB films of $2C_{18}DAC$ transferred on mica at surface pressures of 10 (upper) and 25 (lower) $mN m^{-1}$ at 25 °C.

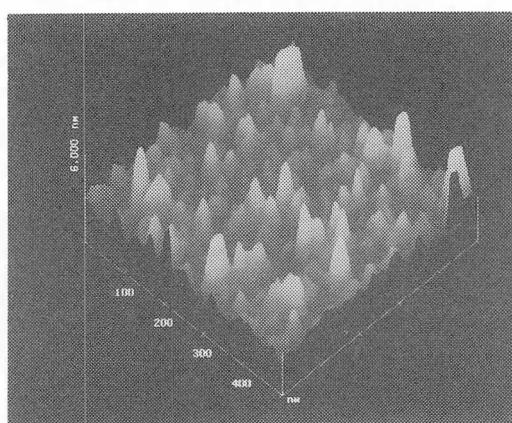
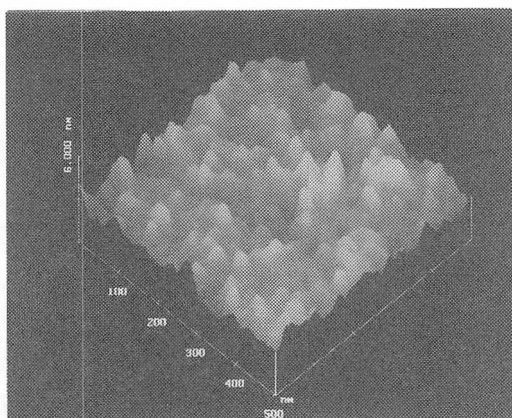


図3 AFM photographs of monolayer (upper) and three-layer (lower) LB films of $2C_{18}DA \cdot Cin$ transferred on mica at a surface pressure of 25 $mN m^{-1}$ at 25 °C.

図3は平衡に達した後に $25 mN/m$ で調製した $2C_{18}DA \cdot Cin$ の単分子膜と3分子層累積膜のAFM写真である。単分子膜は $10 - 17 \text{ \AA}$ または 30 \AA の高低差を持つ粗い表面を示した。 30 \AA の高さは伸長した分子長と一致する。単分子膜の表面は $2C_{18}DAC$ の膜表面よりも粗いけれども、3層膜の表面（最高 58 \AA の高低差をもつ）はもっと粗かった。

4 議 論

$\pi - A$ 等温線とAFM写真に基づいて、雲母上の $2C_{18}DAC$ 単分子膜の分子配列を推定し、模式的に図4に表わした。 $2C_{18}DAC$ 分子のアルキル鎖は低い表面圧では基板に平行に存在しており、高い表面圧では基板面に垂直に配列して平坦な表面

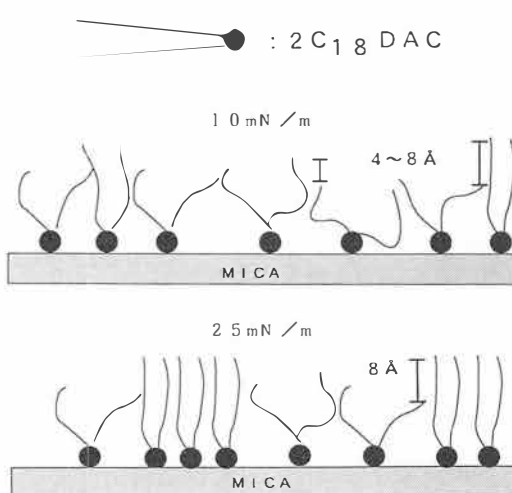


図4 Schematic representation of molecular arrangement in monolayer LB films of $2C_{18}DAC$ transferred on mica at surface pressures of 10 and 25 $mN m^{-1}$ at 25 °C.

を持つ膜を形成する。面内での分子の二次元的な秩序性は見られなかった。陽イオン性の $2C_{18}DAC$ 分子は、荷電した親水基間の静電反発力のゆえに、水面上にむしろ広い距離を保って配列している。結果として、 $\pi-A$ 等温線は膨張膜の挙動を示し、単分子膜は低い圧力で崩壊する。膨張膜ではアルキル鎖は一部屈曲しているであろう。AFMで観察された $4-8 \text{ \AA}$ の高低差は伸びたアルキル鎖と屈曲した鎖との長さの違いである。それゆえ、イオン性の $2C_{18}DAC$ 分子間の強い静電反発力は、アラキジン酸膜やオクタデシルジメチルアミノキシドのアニーリング膜⁹⁾よりも粗いLB膜表面を生じる。

Evansら^{10,11)}は有機溶媒に溶解した $2C_{18}DA$ 分子を雲母表面に吸着させ、AFMによって観察した。そのような単分子膜では、分子は規則的に配列した構造を形成した。このとき得られた分子占有面積(51 \AA^2)はこの研究での $2C_{18}DAC$ の面積よりも小さかった。このことから吸着分子はラングミュア膜よりも密に配列していることが明らかとなった。吸着過程において、両親媒性分子の陽イオン性親水基は負に荷電した雲母表面と静電的に結合しているため、両親媒性分子は雲母の陰イオン性電荷の分布と同じ配列をとる。この状況では、水面上のラングミュア膜で起こるような親水基間の静電反発は起こらない。

Evansら¹⁰⁾はまた $25-50^\circ\text{C}$ での $2C_{18}DA$ 単分子膜中の分子配列の温度依存性を研究した。液晶ゲル転移温度は 25 と 50°C の間にある。つまり、分子は 25°C では規則的に配列しているのに対して、 50°C では無秩序である。この事実によって、ラングミュア膜内の $2C_{18}DAC$ 分子の無秩序な配列はアルキル鎖の融解の結果ではなく親水基間の静電反発によるとした前述の結果を支持する。

$\pi-A$ 等温曲線が似ていることから、調製直後の単分子LB膜中の $2C_{18}DA \cdot Cin$ 分子は $2C_{18}DAC$ 分子とよく似た配列をとると推定できる。分子配列を図5左に模式的に示した。珪皮酸イオンは両

親媒性分子の単分子膜中に挿入されているのではなく、単分子膜の親水表面上に静電結合している。このとき、珪皮酸イオンは $2C_{18}DA$ イオンとイオン対を形成して芳香環を水面内に向けて配列している。この種のイオン対構造はクロロホルム中での構造つまり珪皮酸イオンと $2C_{18}DA$ イオンとのイオン対構造を反映している。この状態でLB膜を雲母上に転移することはできなかった。おそらく珪皮酸イオンの疎水的な芳香環が親水的な雲母表面に付着しにくかったと考えられる。ラングミュア膜が圧縮される時、同じ配列は高い表面圧でも保持される。しかしながら、もし膜が一定の表面圧に保たれるとき、珪皮酸イオンは長時間の間に単分子膜内に挿入する(図5右下)。そのとき、占有面積は約2倍に増加する。珪皮酸イオンの再配列によって $2C_{18}DA \cdot Cin$ 分子の初期配列において生じた分子配列上の不利が緩和され、水面には親水基が配置する。

単分子膜への珪皮酸イオンの挿入は別の実験によっても証明された。 $2C_{18}DAC$ 単分子膜を調製した後に過剰な珪皮酸ナトリウムをトラフ内の水に添加し、 $\pi-A$ 等温線の時間依存性を一定表面積で調べた。平衡(約30時間)後の $\pi-A$ 曲線は平衡後の $2C_{18}DA \cdot Cin$ の曲線と一致した。この結果は、珪皮酸イオンが $2C_{18}DA$ イオンとまず静電的に結合し、それから単分子膜内部に貫入するモデルと一致する(図5右)。

図6に平衡後の $2C_{18}DA \cdot Cin$ のLB膜中での分子配列を図示する。珪皮酸イオンが挿入された後の単分子膜では、疎水領域に十分な空間があるため、伸長したアルキル鎖が屈曲した鎖と共存する。結果として、膜表面は粗くなる。単分子膜において観察された 30 \AA 高さは伸びたアルキル鎖を持つ分子の長さに対応するのに対して、屈曲したアルキル鎖を持つ分子の長さは $13-20 \text{ \AA}$ である。3層LB膜の高低差が 58 \AA であることから、平均の単分子層厚は 19 \AA である。この高さは伸びた分子の長さよりも短い。このことは両親媒性分子が相互貫入した状態で配列していることを示

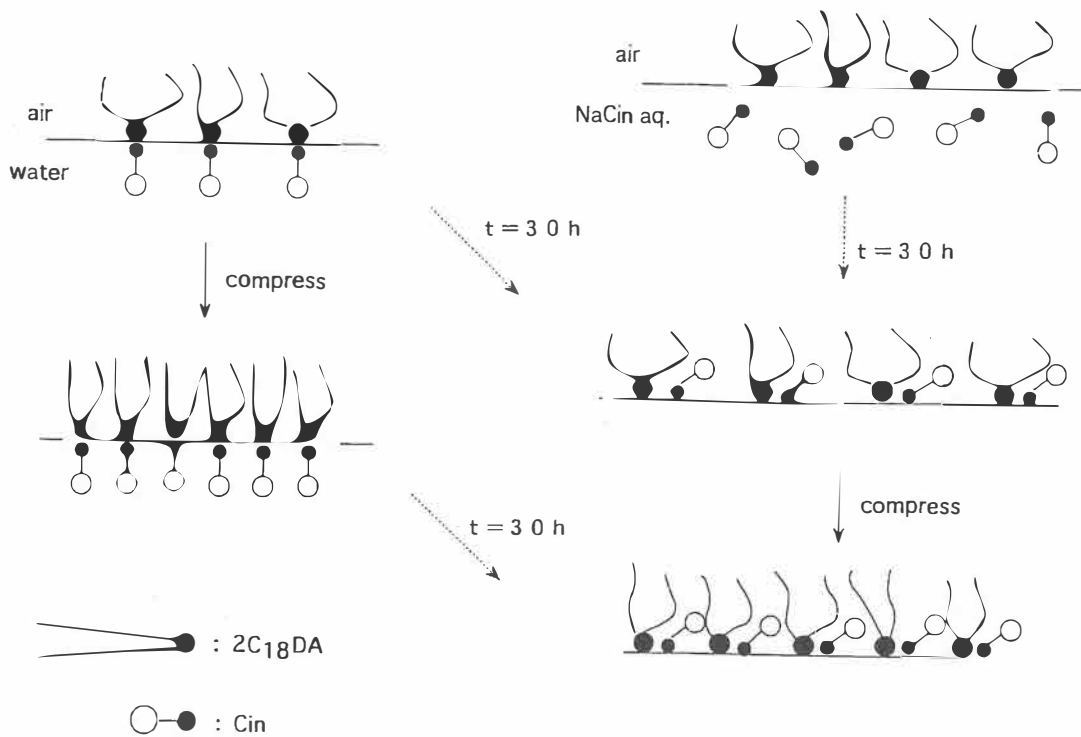


図5 Schematic representation of time dependence of molecular arrangement in monolayer of $2C_{18}DA \cdot Cin$ on water subphase at $25^\circ C$.

唆している。

水中に分散した $2C_{18}DA$ ベシクル上での珪皮酸の光二量化において生じる可能な4種の二量体のうち、*anti*-HH型二量体がより豊富に形成される⁴⁾。*anti*-HH型二量体の形成は二つの珪皮酸分子が平衡に配列したときに可能である^{3,4)}。そのような配列は、珪皮酸分子がいずれもベシクル表面に結合したときまたはベシクル内部に貫入したときに生じる。後者のモデルはアルキルジメチルアミノキシドベシクルに対して確認されている⁷⁾。現在の仕事では、 $2C_{18}DA$ ラングミュア単分子膜内に珪皮酸が挿入することが明白になった。ベシクル内での $2C_{18}DA$ 分子の配列に似て、二つの珪皮酸分子が平行配列していることがこの事実によって支持された。

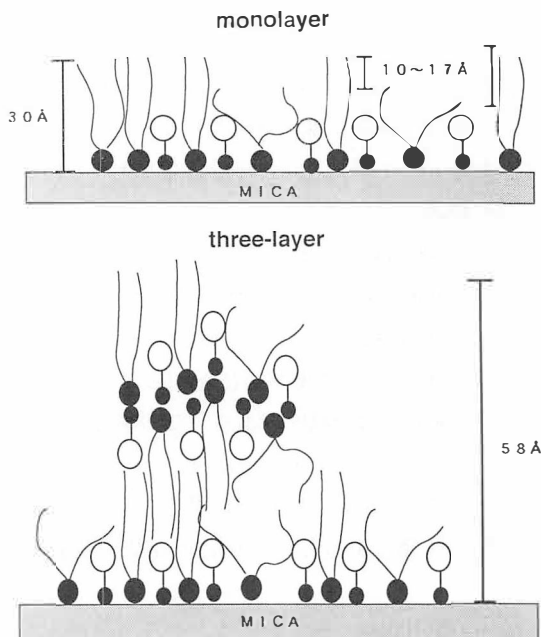


図6 Schematic representation of molecular arrangement in monolayer and three-layer LB films of $2C_{18}DA \cdot Cin$ after equilibrium transferred on mica at a surface pressure of 25 mN m^{-1} at $25^\circ C$.

引用文献

- 1) Kalyanasundaram, K. Photochemistry in Microheterogeneous Systems; Academic Press, Inc., Orland, Florida, 1987.
- 2) Usami, H.; Takagi, K.; Sawaki, Y. Clay-Inclusion Photocyclodimerization: Intercalation and Migration of Stilbazolium Ions. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* 1992, 88, 77-81.
- 3) Takagi, K.; Itoh, M.; Usami, H.; Imae, T.; Sawaki, Y. Organized Photodimerization of Unsaturated Carboxylates. Selectivity Control by Normal and Reversed Micelles. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* 1994, 2, 1003-1009.
- 4) Imae, T.; Tsubota, T.; Okamura, H.; Mori, O.; Takagi, K.; Itoh, M.; Sawaki, Y. Photocyclodimerization of Cinnamic Acid on a Reaction Matrix: Structural Effect of Molecular Assemblies Constructed by Amphiphilic Compounds. *J. Phys. Chem.* 1995, 99, 6046-6053.
- 5) Imae, T.; Mori, O.; Takagi, K.; Itoh, M.; Sawaki, Y. Self-Assembly Formation of Amphiphilic Molecules Mixed with Photoreactive, Aromatic Unsaturated-Acids: Examination by Light Scattering. *Colloid Polym. Sci.* 1995, 273, 579-583.
- 6) Takagi, K.; Nakamura, T.; Katsu, H.; Itoh, M.; Sawaki, Y.; Imae, T. Photochemical Cyclodimerization of Cinnamic Acids Included in Surfactant Amine Oxides. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* 1996, 227, 135-138.
- 7) Okamura, H.; Imae, T.; Takagi, K.; Sawaki, Y.; Furusaka, M. Small-Angle Neutron Scattering Investigation of Supramolecular Assemblies in Ternary Systems of Alkyldimethylamine Oxide/Cinnamic Acid/Water. *J. Colloid Interface Sci.* 1996, 180, 98-105.
- 8) Imae, T.; Kakitani, M.; Kato, M.; Furusaka, M. Effect of Organic Additives or Counterions on the Supramolecular Assembly Structures Constructed by Amphiphiles. A Small-Angle Neutron Scattering Investigation. *J. Phys. Chem.* 1996, 100, 20051-20055.
- 9) Mori, O.; Imae, T. Atomic Force Microscope Observation of Monolayers of Arachidic Acid, Octadecyldimethylamine Oxide, and Their Mixtures. *Langmuir*, 1995, 11, 4779-4784.
- 10) Tsao, Y.; Yang, S. X.; Evans, D. F.; Wennerström, H. Interactions between Hydrophobic Surfaces. Dependence on Temperature and Alkyl Chain Length. *Langmuir* 1991, 7, 3154-3159.
- 11) Liu, Y.; Wu, T.; Evans, D. F. *Langmuir* 1994, 10, 2241.

光学活性化合物合成を目的とする新規不斉触媒及び 新規不斉触媒サイクルの開発研究

早稲田大学 理工学部

中 田 雅 久

Synthesis of some asymmetric diamines and diphosphines and examination of their utility as ligands are described. The complex prepared in situ by the asymmetric ethylenediamine derivative and $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ was found to catalyze Diels-Alder reaction of cyclopentadiene with an acrylic acid derivative to afford the adducts in 99% yield (endo/exo=3.5/1, 82%ee (endo)). The absolute configuration of the major product was determined by the comparison of its specific rotation with the reported value. The determined structure of the adduct suggests that the complex formed by the asymmetric ethylenediamine derivative, $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ and an acrylic acid derivative exists as a tetrahedral complex. Diels-Alder reaction of cyclopentadiene with an crotonic acid derivative was also catalyzed by the asymmetric catalyst to afford the adducts in 47% yield (endo/exo=8.1/1, 72%ee (endo)). Aldol reaction of asilylenoether with hydrocinnamaldehyde was catalyzed by the asymmetric catalyst, but the product showed no optical activity. Glyoxylic acid derivative is now tested to react with silylenoether, because the derivative will act as a bidentate ligand. Asymmetric catalyst based on a diamine ligand effective on Diels-Alder reaction has not been reported, therefore spectroscopic study on the asymmetric catalyst is now under investigation.

1 緒 言

光学活性化合物は、香料、医薬品、強誘電性液晶等の素材として益々その付加価値が認識されてきている。しかし、現在の光学活性化合物合成上の問題点を考えると、原料入手の問題と複数の不斉炭素の構築の問題が挙げられる。数ある方法論の中でも不斉合成法は所望の絶対配置を有する光学活性化合物を任意に合成でき、上記二点の問題に対処できる優れた方法であるが、多くの場合、基質と等モル以上の不斉源を必要とし、その着脱が不可避で工程数が増加する点、またそれに伴う省資源問題に不満が残る。

不斉合成法の長所を失わず、また不斉源の着脱を要しない触媒量の不斉源を用いた、酵素反応を凌ぐ様な不斉触媒反応が開発できれば理想的である。そうした不斉触媒反応により光学活性化合物

の合成が行えれば、省資源、しいては環境問題にも有効であり、不斉炭素の増殖という点から生産的にも意義は大きいと考えられる。

2 実 験

生体高分子(ペプチド)である酵素と比較して不斉触媒は低分子であり、高選択的反応を実現させるためには効果的に不斉環境を設定しなければならない。すなわち、予想される遷移状態間のエネルギー差を大きくするための工夫、反応場の設計が必要となる。この目的には、基質と反応剤を引きつけ、接近させる中心金属イオンの存在が不可欠である。金属イオンには大きく分けてアルカリ金属に代表されるハードな金属、貴金属に代表されるソフトな金属がある。そして、前者は酸素、窒素原子等と、後者はリン、硫黄原子等と親和性が強い。従って、ハードな金属イオンと光学活性アルコール、エーテル、アミンなど、ソフトな金属イオンと光学活性ホスフィン、チオール、スルフィドなどの組み合わせが安定な不斉触媒を与えるはずである。窒素、リンは4 B族の元素、酸素、硫黄は5 B族の元素であることに注目すると、ひとたび不斉配位子を設計・合成すれば、中



Research on Novel Catalyst and Catalysis for the Synthesis of Chiral Compounds

Masahisa Nakada

Waseda University
Department of Chemistry

心金属に配位する元素を同族元素によって置き換えることが可能である。本研究では、4 B族の元素を含む不斉二座配位子の設計と合成に焦点を絞り検討する。基本的には予想しうる遷移状態の数を減らす目的で C_2 対称性を有する不斉配位子を中心にデザインする。不斉配位子の合成原料は、入手容易な天然由来の化合物もしくは光学分割によって得られる化合物を予定している。中心金属については、合成した配位子と相性の良いものを探索する。この探索については、各種スペクトルの測定による錯体形成状態の確認も行うが、実際

に設計・合成した不斉配位子を配位させ、既存の触媒的不斉反応をスクリーニングに利用して不斉触媒としての評価を行う。

3 結果

3.1 不斉配位子の合成

既知の方法¹⁵⁾により、2-メチルナフタレン1から2を合成し、ブルシンを用いて光学分割を行った (Fig. 1)。

得られた光学活性な2をメチルエステルに変換し、HPLC (DAICEL CHIRAL PACK OD, n-Hex:

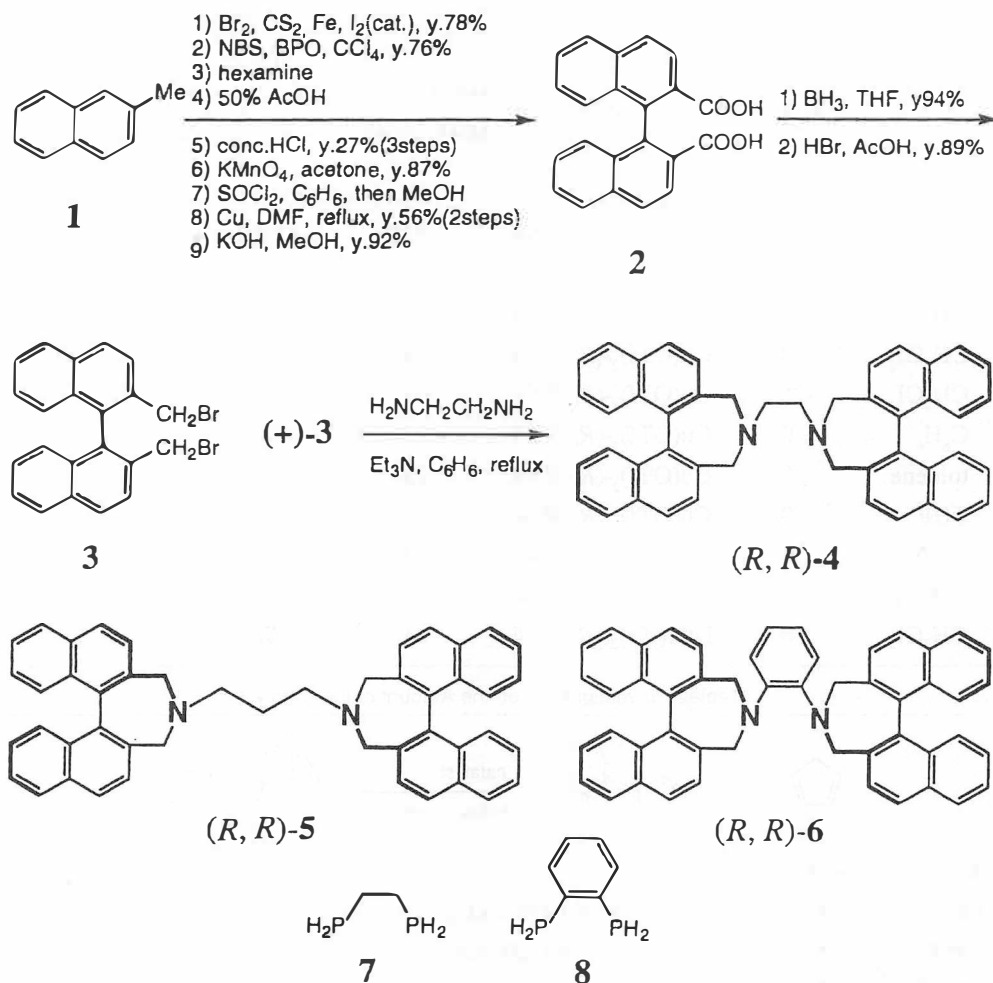


Fig.1 Synthesis of (*R,R*)-4

i-PrOH= 9 : 1) により光学純度を決定したところ、(+) 体は100%ee、(-) 体は92%eeであった。2はジプロミド3へ導き、D. J. Cramらの方法²¹⁾によりジアミン4へと誘導した。ここで、(-)-2由来の(R,R)体は、3,5-ジニトロ安息香酸と塩を形成させ、再結晶によりその光学純度を100%eeとすることができた。同様の方法によりジアミン5、6の合成を行ったところ、5は良好な収率で得られたものの、6は得られなかった。

4、6の窒素原子をリン原子に変えた不斉配位子の合成を検討した。即ち、エチレンジアミン、

フェニレンジアミンに対応するリン配位子の合成を試みた。しかし、炭素-リン骨格の形成に必要なホスフィン7、8は取り扱いが難しく、現在合成を中断している。

3.2 不斉配位子(R,R)-4、5を用いた触媒的不斉反応の検討³⁾

3.2.1 Diels-Alder反応

合成した配位子と各種のルイス酸を組み合わせた不斉触媒を用い、幾つかのジエンとジエノフィルの反応を試みた。結果をTable 1-5に示す。光学純度は、光学活性カラムを用い、HPLCにより

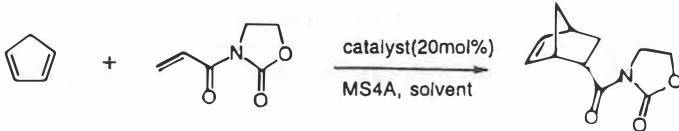
Table1 Reactions of the acrylic acid Derivative with Cyclopentadiene

run	solvent	temp.(°C)	catalyst	time(h)	endo/exo	ee of endo	yield(%)
1	CH ₂ Cl ₂	r.t.	Cu(OTf) ₂ -(R, R)-4 without MS4A	120	13.4/1	1.2	100
2	CH ₂ Cl ₂	r.t.	Cu(OTf) ₂ -(R, R)-4	24	2.7/1	79	67
3	CH ₂ Cl ₂	0	Cu(OTf) ₂ -(R, R)-4	24	3.0/1	81	99
4	CH ₂ Cl ₂	-25	Cu(OTf) ₂ -(R, R)-4	69	3.5/1	82	99
5	C ₆ H ₆	0	Cu(OTf) ₂ -(R, R)-4	24	3.0/1	65	100
6	toluene	0	Cu(OTf) ₂ -(R, R)-4	23	3.2/1	67	62
7	THF	0	Cu(OTf) ₂ -(R, R)-4	20	3.5/1	72	83
8	Et ₂ O	0	Cu(OTf) ₂ -(R, R)-4	72	5.7/1	59	77
9	CH ₂ Cl ₂	0	Sn(OTf) ₂ -(R, R)-4	24	14.0/1	0.02	99
10	CH ₂ Cl ₂	0	TiCl(iPr) ₃ -(R, R)-4	24	2.7/1	79	67

Table2 Investigations on the Amount of the Catalyst

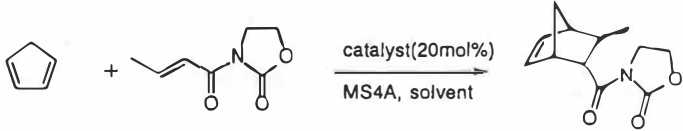
run	solvent	temp.(°C)	catalyst	time(h)	endo/exo	ee of endo	yield(%)
1	CH ₂ Cl ₂	r.t.	Cu(OTf) ₂ -(R, R)-4 (5 mol%)	24	2.8/1	73	98
2	CH ₂ Cl ₂	r.t.	Cu(OTf) ₂ -(R, R)-4 (10 mol%)	24	2.8/1	77	88
3	CH ₂ Cl ₂	r.t.	Cu(OTf) ₂ -(R, R)-4 (20 mol%)	24	2.7/1	79	100
4	CH ₂ Cl ₂	r.t.	Cu(OTf) ₂ -(R, R)-4 (100 mol%)	24	2.9/1	85	91
5	CH ₂ Cl ₂	r.t.	Cu(OTf) ₂	24	-	-	0

Table3 Reactions using Ligand 5



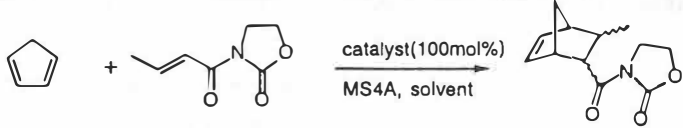
run	solvent	temp.(°C)	catalyst	time(h)	endo/exo	ee of endo	yield(%)
1	CH ₂ Cl ₂	r.t.	Cu(OTf) ₂ -(R, R)-5	96	13/1	1.2	100
2	C ₆ H ₆	r.t.	Cu(OTf) ₂ -(R, R)-5	312	11/1	-0.2	75

Table4 Reactions of the crotonic acid Derivative with Cyclopentadiene



run	solvent	temp.(°C)	catalyst	time(h)	endo/exo	ee of endo	yield(%)
1	CH ₂ Cl ₂	r.t.	Cu(OTf) ₂ -(R, R)-4	96	8.3/1	70	13
2	C ₆ H ₆	r.t.	Cu(OTf) ₂ -(R, R)-4	312	1.8/1	59	18
3	toluene	0	Cu(OTf) ₂ -(R, R)-4	312	2.2/1	59	25

Table5 Reactions of the crotonic acid Derivative with Cyclopentadiene using Stoichiometric Amount of the Catalyst



run	solvent	temp.(°C)	catalyst	time(h)	endo/exo	ee of endo	yield(%)
1	CH ₂ Cl ₂	r.t.	Cu(OTf) ₂ -(R, R)-4	24	8.1/1	72	47
2	C ₆ H ₆	r.t.	Cu(OTf) ₂ -(R, R)-4	24	2.6/1	35	44
3	toluene	r.t.	Cu(OTf) ₂ -(R, R)-4	24	2.4/1	27	67

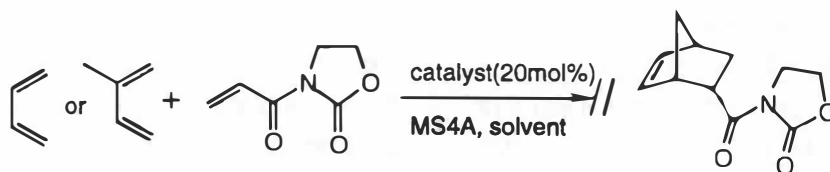


Fig.2 Reactions of the Derivative of acrylic acid with Acyclicdienes

決定した。

アクリル酸誘導体と1,3-ブタジエン、2-メチル-1,3-ブタジエンとの反応における触媒効果を観察したが、室温では反応は進行しなかった (Fig. 2)。

Table 1 run 4 の主生成物は他の反応条件においても主生成物であった。その絶対配置は文献記載¹⁾の同化合物の比旋光度の符号と比較し、Fig.

3 のように決定した。

3.2.2 不斉アルドール反応

不斉Diels-Alder反応において最も良い結果を与えた反応系でシリルエノールエーテルによる不斉アルドール反応を検討した。反応は進行したが、その生成物は光学活性体としては得られなかった (Fig. 4)。

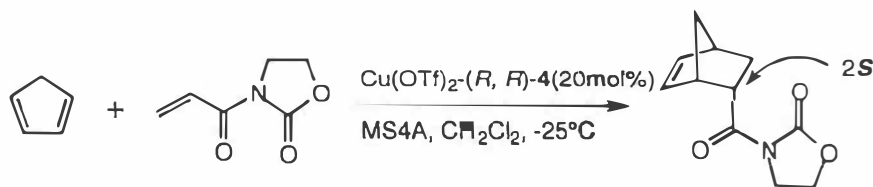


Fig.3 Absolute Configuration of the Major product of run 4 (Table1)

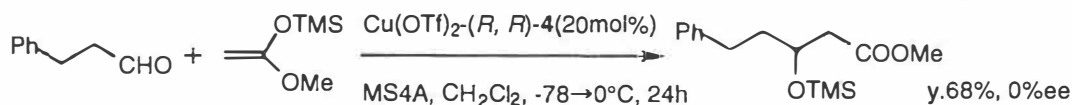


Fig.4 Aldol Reaction using the Asymmetric Catalyst

4 考察

不斉配位子 4、5 の合成が比較的簡単であるのに対し、6 の合成は困難であった。これは、アミノ基が 4、5 では脂肪族、6 では芳香族であるためにその反応性が下がっていること、4、5 よりも 6 の方がリジッドなコンフォメーションを強制されているため、立体障害が原因となって二つめのジプロミド体 3 が反応しにくいことによると思われる。

不斉配位子 4、5 に対応する不斉二座リン配位子の合成は、その原料であるホスフィン 7、8 の取り扱いにくさから困難を極めており、グローブボックス中での取り扱いなどを検討中であるが、一般にジホスフィンのジリチオ体は反応性が高く、ジホスフィンの単離精製にさえ成功すれば不斉二座リン配位子の合成は可能と思われる。

不斉配位子 4 と $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ により *in situ* で得られる錯体は、Table 1-5 に示すように、シクロペンタジエンとアクリル酸誘導體、クロトン酸誘導體の環化付加反応の不斉触媒となった。シクロペンタジエンとアクリル酸誘導體の反応結果は、エチレンジアミン誘導體と $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ を用いたときに収率 99%、endo/exo=3.5/1、エンド体の ee=82% ee と最も良い結果を与えた。また、シクロペンタジエンとクロトン酸誘導體の反応においても、エチレンジアミン誘導體と $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ を用いたときに収率 47%、endo/exo=8.1/1、エンド体の ee=72% ee と最も良い結果を与えた。各種

金属塩の中で $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ が最も良い結果を与えた。これは、窒素原子と銅イオンの親和性が極めて高いことを反映していると思われる。Table 2 run 5 は、 $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ のみではこの反応の触媒になり得ないことを示している。この反応では、反応生成物を光学活性体として得るには MS4A の添加が Table 1 run 1、2 に見られるように必須であった。これは、反応系内に残存する水が $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ を分解し、強酸である TfOH を生じさせ、それが反応の触媒として働くためと解釈できる。溶媒の効果は、Table 1 run 3、5、6、8、Table 4、5 に見られるように極性溶媒の方が良い結果を与える。これは、極性溶媒中では不斉配位子 4 とアクリル酸誘導體が二座配位子として働き、 $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ と *in situ* でカチオン性錯体を生成しやすいためと推測される。Table 3 に示したように不斉配位子 5 を用いたときは、良い結果は得られなかった。不斉配位子 5 と $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ による錯体は六員環を形成し、そのコンフォメーションが不斉配位子 4 を用いたときの様に固定されないためと考えられる。Table 2 に示すようにシクロペンタジエンとアクリル酸誘導體の反応では、触媒量の変化に対して endo/exo 比、ee of endo、yield (%) に特に変化は見られなかったが、シクロペンタジエンとクロトン酸誘導體の反応においては、触媒量の増加に伴い、特に yield (%) の上昇が見られた (Table 4、5)。これは、触媒がうまく回転していないとも考えられ、生成物が二座配位子として触媒の阻害効果を示していることも考

えられる。クロトン酸誘導体は、アクリル酸誘導体に比べてその嵩高さから反応性が低く、一般的に低収率であった。これは、アクリル酸誘導体と1,3-ブタジエン、2-メチル-1,3-ブタジエンとの反応例にも示したように不斉配位子4とCu(OTf)₂によりin situで得られる錯体のルイス酸性がさほど強くないことを示している。ただし、不斉アルドール反応の検討で示されたようにケテンシリルアセタールとアルデヒドの反応を触媒する程度の酸性度は有しているようである。

シクロペンタジエンとアクリル酸誘導体の反応における主生成物の絶対配置から、不斉配位子4が二座配位子として作用し、Cu(OTf)₂と錯体を形成していると仮定してその反応の遷移状態を想定するとFig. 5の様になる。

二価銅イオンは、正方形錯体あるいは正四面体錯体を形成しやすいことが知られている。一般的には、配位子の配位力、配位子同士の立体反発により形成される錯体の種類が決まる。不斉配位子4とCu(OTf)₂による錯体にさらに二座配位子として働きうるアクリル酸誘導体が配位するこの場合は、不斉配位子4とアクリル酸誘導体との立体反発が大きく、上に示すような正四面体錯体が優先して生成し、ジエノフィルの混んでいない面からシクロペンタジエンが反応したと考えると、得られた主生成物の絶対配置をうまく説明できる。また、endo/exo比がさほど高くなかったのは、上図からもわかるように遷移状態においてシクロペンタジエンと不斉配位子4との立体反発がシクロペンタジエンとアクリル酸誘導体の軌道の

二次相互作用による安定化を上回ったためと思われる。

5 総括

これまでに光学活性イミンと金属塩による錯体がDiels-Alder反応の不斉ルイス酸性触媒として作用することを示す報告はあったが、光学活性ジエノフィルと金属塩による錯体を用いた例はなく、この錯体によるものが初めてである。そこで、不斉配位子4とCu(OTf)₂とアクリル酸誘導体による錯体の構造に関する情報を得るために、核磁気共鳴スペクトル(NOE測定)の測定を試みたが、有力な証拠は得られなかった。現在のところは、この錯体は、シクロペンタジエンとの反応結果からFig. 2に示したような正四面体錯体であろうと推測しているが、今後、各種スペクトルの測定などを行い、この錯体構造を明らかにしたい。

不斉二座リン配位子の合成は、その原料であるホスフィンが極めて取り扱いにくく(不安定性、自然発火性)、グローブボックス、グローブバッグ中での取り扱いを検討中である。一般にホスフィンのリチオ体は反応性が高く、ホスフィンの単離精製さえ成功すれば不斉二座リン配位子の合成は可能と思われるので、合成しそれを用いた反応を検討したい。

光学活性アミンと金属塩による錯体がどの程度のルイス酸性を有しているかが一つのポイントであったが、前述したように、シクロペンタジエンのDiels-Alder反応、シリルエノールエーテルとアルデヒドのアルドール反応の触媒になり得ることが判明した。不斉配位子4とCu(OTf)₂の錯体は、それほど強いルイス酸性を持たず、温和な条件が要求される反応に適した触媒である。ただし、シクロペンタジエンのDiels-Alder反応においては、そこそこの選択性が得られたものの、シリルエノールエーテルと一般的なアルデヒドのアルドール反応では、全く選択性が見られなかった。これは、シクロペンタジエンのDiels-Alder反応で用いたアクリル酸誘導体は、不斉配位子4

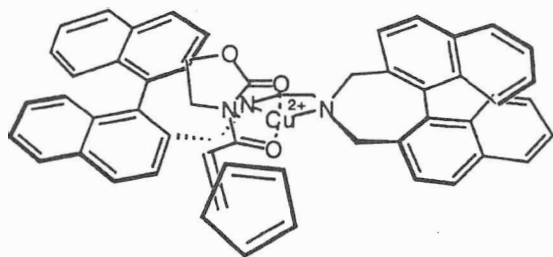


Fig.5 Proposed Transition State of the Diels-Alder Reaction

と $\text{Cu}(\text{OTf})_2$ の錯体に二座配位子として固定されたのに対し、シリルエノールエーテルのアルドール反応で用いたアルデヒドは、単座配位子でありアルデヒドのカルボニル面に面選択性が生じなかったためと思われる。従って、シリルエノールエーテルとアルデヒドのアルドール反応においては、グリオキシル酸エステルのような二座配位子になりうるアルデヒドについて今後検討を加えたいと考えている。

引用文献

- 1) Kanoh, S.; Hongo, Y.; Motoi, M.; Suda, H. : Bull. Chem. Soc. Jpn. 61, 1032-1034 (1988).
- 2) Mazaleyrat, J-P.; Cram, D. J.: J. Am. Chem. Soc. 103, 4585-4586 (1981).
- 3) 森田孝博、荒井孝義、笹井宏明、柴崎正勝、中田雅久、日本薬学会第116年会講演要旨集、p.87(1996)
- 4) Evans, D. A.; Miller, S. J.; Lectka, T. : J. Am. Chem. Soc. 115, 6460-6461 (1993).

Ⅱ. 生体作用、安全性に関する分野

ヒト皮膚移植 SCID マウスを用いた新しいコスメトロジー研究

大阪大学 医学部

野村 大成

Normal human organs and tissues (skin, thyroid gland, lung, liver, stomach and intestinal mucosa, endometrium, bone marrow cells, etc.) were well maintained for long periods (> 2 years) over several mouse generations in the T and B cell function deficient SCID (severe combined immunodeficient) mice improved by the selective inbreeding of homozygous (*scid/scid*) male and female mice which showed undetectable serum IgG and IgM ($< 1 \mu\text{g}/\text{ml}$), while it was difficult to maintain these human tissues in nude mice and also in leaky SCID mice.

Transplanted human organs and tissues were stably maintained morphologically and functionally, providing an invaluable experimental system for the *in vivo* study of human organs and tissues. For example, daily exposure to large dose ($> 7.5 \times 10^5 \text{ J}/\text{m}^2$) of ultraviolet light B (UVB) for long periods (~ 2 years) induced actinic keratosis in normal human skin. Consequently, the use of SCID technology maintaining human skin enables us to study on the *in vivo* influence of cosmetics and allergic agents, protection from environmental toxic agents, and experimental therapy of human skin diseases.

1 緒言

正常ヒト臓器の発生、分化、機能、およびその異常に関する研究は人体実験が不可能なため、極めて制限されたなかでの臨床研究、あるいは正常個体とかけはなれた生理条件下（培養細胞等）でしかすすべがなかった。1983年、Bosma博士によりT細胞、B細胞機能の欠損した重度複合免疫不全（severe combined immunodeficiency: SCID）マウスC.B17-*scid*が発見された⁽¹⁾。1988年McCuneらにより、ヒト白血球がこのSCIDマウス体内で短期間内ながら生存し、機能を発することが報告され⁽²⁾、ヒト組織の機能をマウス個体を借りて研究を行うことができる可能性が示された。しかし、現在米国で使われているC.B17-*scid*マウスは、若年で白血病を多発し（約30%）、また、T、B両細胞ともに一部正常に戻ってしまうため（約30%）、マウス皮膚のallograftすら生着しにくいこ

とがわかっている^(3-5 参照)。これらSCIDマウスの血中IgG、IgMを測定し、検出限界以下のものを20代以上選択的兄妹交配（Selective Inbreeding）を繰り返すことにより、T、B両細胞のleakのない、白血球も発生しない改良型SCIDマウスC.B17/N-*scid/scid*の完成を試みている⁽³⁻⁶⁾。これら改良SCIDマウスには、ヒト良性腫瘍、ヒト異形成組織の継代・維持も可能であることを世界で初めて証明した⁽⁷⁻¹⁰⁾。しかも、我々の改良したSCIDマウスでは、ヒト正常組織（皮膚、肺、肝臓、胃腸、甲状腺、子宮内膜、骨髄他）が全て生着し、2年以上にわたりマウスの世代を越えて継代・維持が可能となった。即ち、ヒト皮膚組織で一部置換したマウスを完成させた⁽¹²⁾。

本研究は、改良型C.B17/N-*scid/scid*マウスの量産、T細胞、B細胞、NK、マクロファージ機能欠損マウスの系統化と量産システムを完成させ、ヒト皮膚組織移植マウスを用い、ヒト皮膚の形態および機能に関する基礎的研究に始まり、薬物、環境有害物質等への反応と治療実験への応用、特に医薬品や日用品（化粧品、洗剤）のヒト皮膚への安全性と皮膚アレルギー等研究への応用を試み、広くコスメトロジー研究のために供するのを目的とする。



A New Approach to Cosmetology
with Human Skin Maintained in
SCID Mice

Taisei Nomura

Faculty of Medicine, Osaka University

2 実験

2.1 SCID マウスの改良

Bosma より供与された C.B17- *scid* マウスは、幼若および成熟した T、B 両細胞が約半数のマウスに出現し (leaky)、またこれらのマウスでは若年での白血病の発生が多い。同種皮膚移植の生着率をみても、non-leaky SCID マウスでは 94.1% の生着率を示すのに対し、leaky SCID マウス (血清中 IgG が $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以上のも) ではわずか 28.6% であり、同種皮膚移植でさえ困難である。また、リンパ性白血病は、leaky SCID マウスにおいて 3 から 5 ケ月齢で 31.7%、5 から 9 ケ月齢になると半数以上の 58.8% に発生し、長期観察が困難であった。従って、ELISA 法により全ての SCID マウスを生後 4-6 週齢の間に血中 IgG、IgM を測定し、IgG、IgM ともに検出限界以下のホモ (C.B17-*scid/scid*) 同士の選択的兄妹交配を繰り返し、leak と白血病発生の減少を試みた。また、C.B17-*scid* マウスの改良に加え、*bg^l* 遺伝子等を C57BL/6J、C3H/HeJ マウスへ導入し、T、B 両細胞機能のみならず NK 活性およびマクロファージ活性も欠如したマウス C57BL/6^J/N-*scid/scid*、C3H/HeJ/N-*scid/scid*、C57BL/6^J/N-*scid/scid*; *bg^l*/ *bg^l* の作製を試みた。

2.2 ヒト正常組織の SCID マウスへの移植

血中 IgG、IgM が $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以下の SCID マウスにヒト正常皮膚の移植を行った。ヒト皮膚は乳癌患者で乳房全摘術を施行したものおよび包茎手術を施行した後の切除皮膚を了解を得て用いた。いずれも通常焼却廃棄されるものである。SCID マウス

をアベルチンで全身麻酔し、約 1 cm 平方のヒト正常皮膚をマウス背部皮膚を同寸大切除した部分に移植した。表面を乾燥を防ぐため、抗生物質を含んだクリームを塗り弾力包帯でカバーした。2 週間後に包帯およびクリップの除去を行った。SCID マウスが弱った時、または、死亡した時は、他の SCID マウスにヒト皮膚を再移植し、ヒト正常皮膚の長期維持を試みた。

2.3 毒性テスト

応用の第一段階として、ヒト正常皮膚の長期維持と太陽紫外線による日焼けおよび日光角化症の誘発を試みた。B 領域紫外線 (UVB) を得るのに健康ランプ 4 本 (東芝 FL20S-E、波長 280-360 nm、ピーク 313 nm) を用いた。コダック社製のコダセル・セルロースシート (K6808) を用い、288 nm 以下の紫外線を完全に除去し、地上に到達する太陽紫外線により近似させた。照射線量率は $2.8 \text{J}/\text{m}^2/\text{sec}$ である。月、水、土曜日に $8000 \text{J}/\text{m}^2$ 、火、木、金、日曜日に $2000 \text{J}/\text{m}^2$ の照射を行った。

3 結果と考察

3.1 SCID マウスの改良

正常ヒト組織の移植による機能と分化の研究を行う場合、長期間の観察が必要となる。従って、前述のような leaky SCID マウスの出現と若年での白血病死は研究の大きな妨げとなる。我々は、1986 年より SCID マウスへの beige, nude, *Lps⁻* 等免疫不全遺伝子の導入を行うとともに、全ての C.B17-*scid* マウスの選択的兄妹交配を繰り返すことにより、SCID マウスの改良を行っている。この地味な努力が大きな成果に結びついた (表 1)。

表 1 SCID mice maintained in the Department of Radiation Biology, Faculty of Medicine, Osaka University, Japan

Strains	Genotype	Generation	Immunodeficiency
C.B17/N- <i>scid</i>	<i>scid/scid</i>	F28	T, B cell
C57BL/6J- <i>scid</i>	<i>scid/scid</i>	N9F5	T, B cell
C3H/HeJ- <i>scid</i>	<i>Lps⁻/Lps⁻, scid/scid</i>	N8F7+1	T, B cell, Macrophage
C57BL/6J- <i>bg^l; scid</i>	<i>scid/scid, bg^l/bg^l</i>	N7F4	T, B cell, NK
C3H/HeJ- <i>bg^l; scid</i>	<i>Lps⁻/Lps⁻, scid/scid, bg^l/bg^l</i>	N3F1	T, B cell, NK, Macrophage

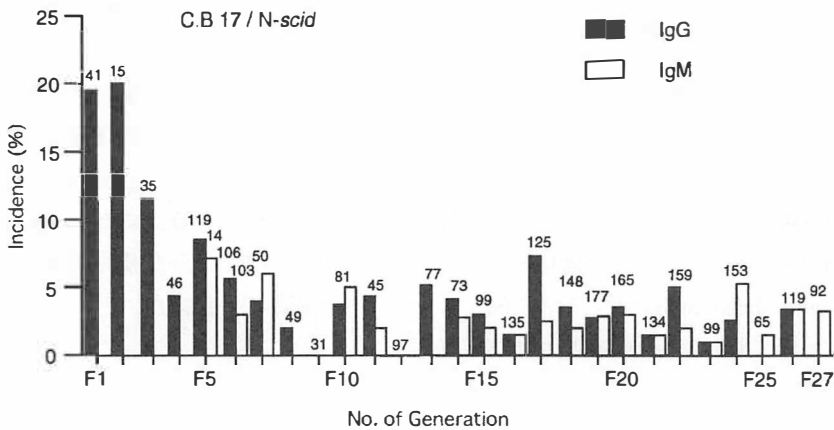


図1 Leaky SCID マウスの選択的兄妹交配による減少。ヒストグラム上の数字は測定したSCIDマウスの匹数を示す。IgG、IgM いずれかが $25 \mu\text{g/ml}$ を超えるものを leaky SCID とした。

選択的兄妹交配を行った C.B17-*scid/scid* マウス 2,588 匹の血清免疫グロブリン値を測定したところ、大多数のマウスにおける血清 IgG、IgM 値は検出限界以下あるいは $25 \mu\text{g/ml}$ 以下であった。従って、我々は血清 IgG、IgM 値が $25 \mu\text{g/ml}$ を超えるマウスを leaky SCID とした。

図1は、それら leaky SCID マウスの出現率を示したものである。F₁-F₂ においては IgG が leak する頻度が、18.2% と Bosma らの報告と同様に高率であったのに対して、F₃ 以降は 4.0% と有意に著しく減少している。このように選択的兄妹交配することにより leaky SCID マウスの頻度は有意に減少した。また、*scid* 遺伝子を C57BL/6J、C57BL/6J-*bg^l*、C3H/HeJ マウスに導入することにより、congenic マウスを作成している。N₈ 以後兄妹交配することにより、leaky の出現は全く見られなくなった。

図2は各世代における白血病の発生率を示している。F₄ から F₆ では平均 20% 発生しているが、F₁₅ 以降では 1~4% と有意に減少している。

以上のごとく血清 IgG、IgM

が検出限界以下の C.B17-*scid/scid* マウスを選択的兄妹交配することにより白血病の発生と T、B 両細胞機能の出現を抑えることができた。このように選択的兄妹交配を行い、血清 IgG、IgM が検出限界以下の SCID マウスにヒト正常皮膚の移植を行っている。

3.2 ヒト正常組織の SCID マウスでの維持

表2に、甲状腺、副甲状腺、肺、肝、胃、大小腸粘膜、子宮内膜、骨髓細胞、皮膚等ヒト正常組織の SCID マウスでの維持状態をまとめた。SCID

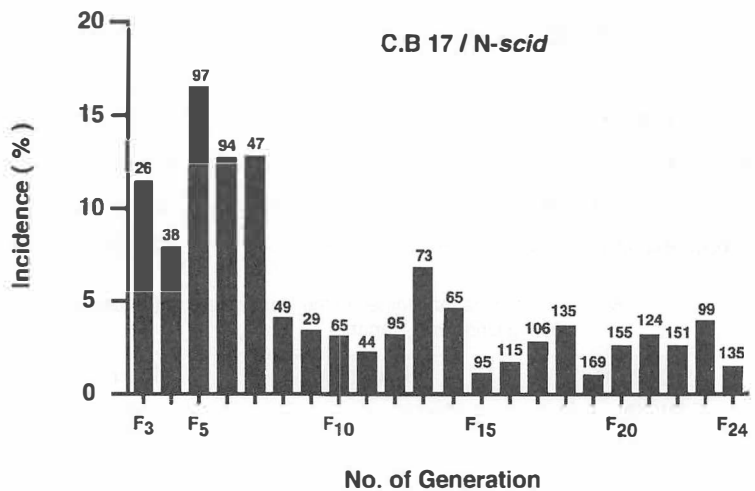


図2 SCID マウスにおけるリンパ性白血病発生率の選択的兄妹交配による減少。

表2 Survival and maintenance periods of normal and precancerous human tissues in SCID mice

	No.	Survival (%)	Max. period ^a (Month)	No. of transfer
Skin	42	100	28	7
Thyroid gland	49	100	34	10
Lung	13	100	22	8
Liver	7	100	14	4
Gastric mucosa	18	100	21	6
Colorectal mucosa	10	100	13	5
Endometrium	7	71.4	22	6
Bone marrow cell	19	84.2	< 6 ^b	1

^a Some continue.

^b Identified by human IgG in the serum of SCID mice. Usual C.B17-*scid* mice were used.

マウスの世代を越えて長期間維持されている。特にヒト皮膚は100%2年以上にわたる長期維持に成功している。図3 aは、移植後247日目の肉眼像であるが、アルビノのSCIDマウス皮膚の中に淡黄色をしているのがヒト皮膚である。顕微鏡組織像(図3 b)でも連続性を示しているが、表皮層の厚さと色素細胞の存在からヒトとマウス皮膚の境界(矢印)が区別できる。

日光角化症、psoriasis等ヒト皮膚疾患のSCIDマウスでの維持にも成功している。その一部を表3にまとめた。

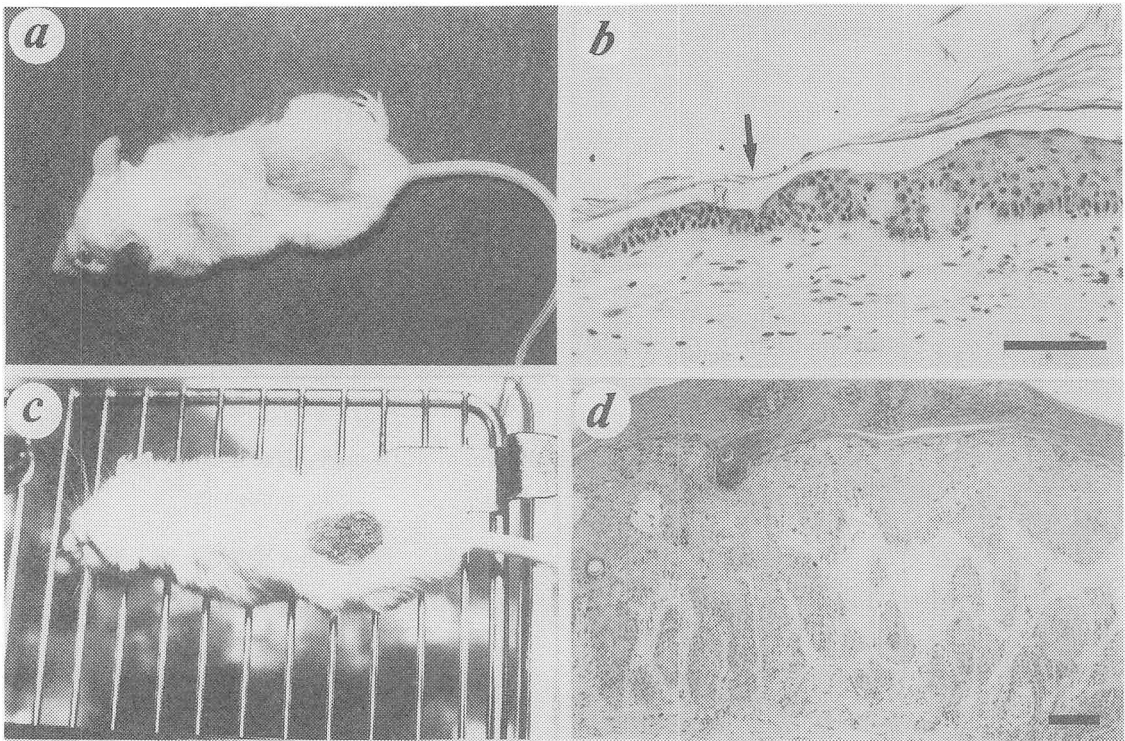
3.3 UVB照射によるヒト皮膚疾患と遺伝子変異の誘発

真夏の正午頃の砂浜で1-2時間寝ころんでいた場合とほぼ同じ量を週4日、他の3日はその4倍量のUVB(8,000⁵/m²)を照射した。表4に示す如く、非照射群では全く何の変化もないのに対し、UVB長期連続照射により高率にヒト皮膚に日光角化症が発生した(図3 c, d)。マウス皮膚は毛で被われているため、耳の先端と尾を除いて何の変化も見られなかった。図4は、日光角化症の診断時期を照射量に対して表したものである。丸印は包茎患者より切除した正常皮膚、三角印は乳房部の正常皮膚、四角印は顔面日光角化症患者の鎖骨部正常皮膚を示しているが、個人差が非常

に大きい、即ち、日光感受性に個人差が大きいのがよくわかる。また、1例だが、日光角化症患者の正常皮膚は高感受性を示している。また、UVB照射により、高率に*p53*遺伝子の変異が誘発されている。しかし、*K-ras*遺伝子の変異は今のところ誘発されていない。

現在、2年にわたる連続UVB照射により皮膚癌の誘発にも成功しており、ヒト皮膚置換SCIDマウスは、日焼け防護クリームの開発、治験には今すぐにでも応用可能である。

本研究で、改良SCIDマウスの量産システムを完成させた。ヒト皮膚組織置換マウスを用いることにより、ヒト皮膚組織の形態、機能の基礎研究に加え、アレルギー、がん化、毒性、安全性のテストなど、これまでヒト臓器ではなし得なかった研究がマウスの個体を借りて可能となった。また、他の医学分野においても、ヒト臓器組織を用いて実験的、臨床的研究を行うことがいかに大切か述べる必要もない。これまで理論的には考えられても、実用化されるとは思わなかった独創的、かつ先駆的な研究、および治療実験が可能となる。ヒト臓器組織置換マウスを用いた研究システムの完成は、人間のバイオサイエンスに関する基礎的および臨床的研究に革命的な進歩をもたらすものと確信する。特に、ヒト皮膚の継代維持は100%成功しており⁽¹²⁾、コスメトロジーの進歩に



a. 移植後247日目のヒト包皮。かすかに黄色を示している部分がヒト皮膚。見やすくするため周辺のマウスの毛を一部除去してある。
 b. 組織像。ヒト皮膚とマウス皮膚の境界を矢印で示してある。H.E染色。—；100 μm。
 c. UVB 614,000 J/m² 照射後に見られる日光角化症。茶褐色、肥厚、表面凹凸を示す。
 d. UVB 1,754,000 J/m² 照射後に見られた日光角化症の組織像。early invasionを示す。H.E染色。—；100 μm。

図3 SCIDマウスへのヒト皮膚の移植と太陽紫外線による影響。

表3 Transplantation of Human Skin

Case	Survival (%)	Max. No. of Generation	Period (months)
1 (breast ca)	2/2 (100)	4	25
2 (breast ca)	4/4 (100)	5	20
3 (phimosis)	4/4 (100)	7	28
4 (breast ca)	2/2 (100)	4	25
5 (breast ca)	1/1 (100)	1	6
6 (breast ca)	3/3 (100)	3	6
7 (breast ca)	4/4 (100)	3	9
8 (solar keratosis)	4/4 (100)	4	20
9 (solar keratosis)	1/1 (100)	3	14
10 (phimosis)	3/3 (100)	3	13*
11 (breast ca)	4/4 (100)	4	20
12 (phimosis)	4/4 (100)	5	18
13 (phimosis)	6/6 (100)	6	21*

Total 42/42 (100)

*Experiments continue at present.

表4 Actinic keratosis induced by ultraviolet light B in the human skin maintained in SCID mice

Human skin	Period (days)	UVB dose (J/m ²)	Keratosis Incidence (%)
A. Normal skin from breast cancer patients			
Unirradiated	~ 745	0	0/8 (0.0)
Irradiated	~ 620	~ 1,890,000	7/9 (77.8)
B. Normal skin from phimosis patients			
Unirradiated	~ 831	0	0/6 (0.0)
Irradiated	~ 592	~ 1,754,000	6/8 (75.0)
C. Normal skin from actinic keratosis patient			
Unirradiated	366	0	0/1 (0.0)
Irradiated	278	730,000	1/1 (100)

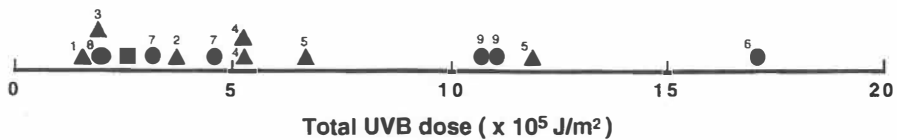


図4 日光角化症の発生とUVB照射量。正常包皮(●)、正常乳房部皮膚(▲)および顔面日光角化症患者の正常皮膚(■)にUVBを照射し、経時的にバイオプシーを行い、病理組織学的に日光角化症と診断された時の線量を示した。

大きな影響を及ぼすものと思われる。また、環境有害物質の人体への影響に関するヒト組織での直接の実験研究が可能となるとともに、これまで、患者を用いてなされてきた薬剤の安全性テスト(臨床治療研究)もヒト臓器組織置換マウスシステムを用いて行うことができるなら、最近のソリブジン事件に代表される人身事故も防げる。

引用文献

1. Bosma, G.C., Custer, R. P., Bosma, M.J.: A severe combined immunodeficiency mutation in the mouse. *Nature*, 301 527-530 1983.
2. McCune, J.M., Namikawa, R., Kaneshima, H., Shults, L. D., Lieberman, M., Weissman, I. L.: The SCID-hu mouse: murine model for the analysis of human hematolymphoid differentiation and function. *Science*, 241 1632-1639 1988.
3. 野村大成: 重度免疫不全マウスの有用性—ヒト免疫機能、ヒト癌転移機構への応用. 医学のあゆみ, 157 635 1991.
4. 野村大成: がん研究におけるSCIDマウスの重要性. *Oncologia*, 26 321-328 1993.
5. 野村大成、杉山治夫、他: SCIDマウスへのヒト臓器の移植. 血液・腫瘍科, 26 461-467 1993.
6. Inohara H., Nomura T., et al.: Reduction of leaky lymphocytes clones producing immunoglobulins and thymic lymphocytic leukemia by selective inbreeding of scid (severe combined immunodeficient) mice. *Acta Otolaryngol.*, 501 107-110 1993.
7. Nomura T., Hamaoka T., et al.: SCID (Severe Combined Immunodeficient) mice as a new system to investigate metastasis of human tumor. *J. Radiat. Res.*, 31 287-291 1990.
8. Nomura T., Takahama Y., et al.: Rapid growth and spontaneous metastasis of human germinal tumors ectopically transplanted into scid (severe combined immunodeficient) and scid-nu^{streaker} mice. *Jpn. J. Cancer Res.*, 82 701-709 1991.
9. Inohara H., Nomura T., et al.: Growth and me-

- tastasis of fresh human benign and malignant tumors in the head and neck regions transplanted into scid mice. *Carcinogenesis*, 13 845-849 1992
- 10 . Takatera H., Nomura T., Itatani H.: Differential expression of a human sperm-specific isozyme in seminoma cells transplanted into scid-nu^{sr} mice. *Jpn. J. Cancer Res.*, 84 215-218 1993.
- 11 . Kawaguchi T., Nomura T., et al.: Consecutive maintenance of human solitary and hereditary colorectal polyps in SCID mice. *Cancer Detection and Prevention*, 21 148-157 1997
- 12 . Nomura T., Nakajima H., et al.: Maintenance of normal human tissues and benign tumors in the improved SCID mice and in vivo carcinogenesis of human tissues by radiation and chemicals. *XVI Intl. Cancer Cong. Abst. Book I*, 412 1994.

接触皮膚炎におけるマスト細胞活性化反応の解析

昭和大学 薬学部

工 藤 一 郎

Mast cells contribute to allergic inflammation by releasing chemical mediators in response to activation with cytokines and/or IgE/antigen. Here we report that when mouse bone marrow-derived mast cells were activated with IgE/antigen in the presence of interleukin (IL)-10 and IL-1 β , but not other cytokine combinations, there were two phase of prostaglandin (PG) D₂ generation, in which the first phase occurred within 1 hr and the second phase from 2 to 10 hr. The delayed phase PGD₂ generation paralleled the *de novo* induction of cyclooxygenase (COX)-2 protein irrespective of the constant expression of COX-1 and was abrogated by COX-2 specific inhibitor. Detailed examination of individual effect of IL-10, IL-1 β and IgE/antigen on COX-2 expression revealed that IgE/antigen or IL-10 each initiated and stabilized COX-2 mRNA expression, whereas IL-1 β stabilized COX-2 protein without affecting its mRNA level. Whereas expression of cytosolic phospholipase A₂ (cPLA₂) was unchanged under any culture condition, expression of type II secretory PLA₂ (sPLA₂) transcript was induced by 5 hr in cells treated with IL-10 + IL-1 β independent of IgE/antigen, accompanied by increase in sPLA₂ activity. Substantial suppression of delayed phase PGD₂ generation by anti-sPLA₂ antibody suggests the functional linkage of the two induced prostanoid-biosynthetic enzymes, sPLA₂ and COX-2, to provide PGD₂ in the delayed phase.

1 緒 言

肥満細胞は骨髄中の多能性血液幹細胞を起源とする組織性の細胞であり、組織微小環境で産生される種々のサイトカインに反応して増殖し、組織固有の形質を持つ肥満細胞サブタイプに分化成熟する。肥満細胞表面上に存在する高親和性IgE受容体がIgEを介して特異抗体で架橋されると、肥満細胞は急速に活性化し、顆粒内容物であるヒスタミン、セロトニン等を放出すると同時に、膜リン脂質から遊離されたアラキドン酸からPGD₂やLTC₄を産生する。これら肥満細胞由来の化学伝達物質は即時型アレルギー応答、アナフィラキシーショックの主要因となるものの、気管支喘息やアトピー性皮膚炎等のアレルギーの臨床的知見に頻繁に見られる慢性化した病変を説明し得るものではない。慢性のアレルギー炎症像の要因とし

て、最近、IgE/抗原刺激により活性化した肥満細胞による多種多様なサイトカインの発現誘導と放出が注目を集めている。

マウス骨髄細胞をインターロイキン3 (IL-3) 存在下数週間培養すると、均一な肥満細胞集団 (BMBC) が得られることが知られている。BMBCはその培養が容易で大量調製が可能なこと、機能的IgE受容体を発現していること、及び多種多様なサイトカインに反応すること等の理由から、肥満細胞研究のモデル系としてよく用いられている。我々は慢性アレルギーの原因を解明すべく、肥満細胞の活性化に伴う長期応答について着目し、BMBCを用いて、特に脂質代謝の視点から解析を行った。その結果、ある特定のサイトカイン存在下にBMBCをIgE/抗原刺激すると、即時応答で見られる迅速なPGD₂の産生に続いて、刺激後数時間の間に第二相のPGD₂産生が起こることを見出した。



Studies on activation of mast cells in contact dermatitis

Kudo Ichiro

Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Showa university

2 実 験

2.1 BMBCの調製

雄のBALB/cJマウスから採取した骨髄細胞を、50%RPMI 1640 (10%FCS) + 50% WEHI-3細胞

胞培養上清液中で3から6週間培養した。3週間後には98%以上がBMMCとなった。

2.2 BMMCのサイトカインおよび抗原抗体による処理

1度メディウムで洗ったBMMCを 1×10^7 cells/mlの濃度になるようメディウムに懸濁し、10mg/ml抗TNP (Trinitrophenyl) IgE抗体で30分間、37度で感作させる。メディウムで2回洗った後、様々なサイトカイン(IL-1 β 、IL-3、IL-10)が単独あるいは組み合わさって入っているメディウムに懸濁させ、抗原で刺激した。

2.3 PGD₂量の測定

アマシャム社のPGD₂アッセイキットを用いて測定した。

2.4 ノーザンブロッティング

RNAはTRIzol試薬(GIBCO BRL)を用い、guanidinium thiocyanate法により細胞より抽出した。RNAはアガロースゲルにより分離後、ナイロンメンブレンにトランスファーした。COX-1、COX-2、cPLA₂、sPLA₂あるいは β -Actinプローブをランダムプライマー法により³²Pラベルし、ブロッティングを行った。

2.5 イムノブロッティング

刺激後の細胞ライセートをSDS-Polyacrylamide gel電気泳動にて分離し、ニトロセルロース膜にトランスファーした。COX-1、COX-2、cPLA₂またはsPLA₂に対する抗体でブロッティングし、ECLシステムにて蛍光発色させた。

3 結果

3.1 IgE/抗原刺激による二相性PGD₂産生

IgEで感作したBMMCを、様々なサイトカイン(IL-1、IL-3、IL-10)存在下に抗原により刺激した。刺激1時間後に上清に放出されたPGD₂を定量したところ、どのサイトカイン共存下に抗

原刺激した場合でも同程度のPGD₂産生が見られた(約1 ng/10⁶ cells)。抗原刺激を行わず、サイトカイン単独では、PGD₂産生はほとんど見られなかった。一方、刺激5時間後に上清のPGD₂を測定したところ、ほとんどの場合1時間後とはほぼ同じ値を示したのに対し、IL-1+IL-10共存下に抗原刺激したBMMCの場合のみ、PGD₂量は5.6 ng/10⁶ cellsに増加していた(表1)。

そこでIL-1+IL-10共存下にIgE/抗原刺激した時のPGD₂産生の経時変化を細かく解析したところ、刺激後1時間以内にピークに達する第一相(即時相)と刺激後2時間から上がり始め5時間から10時間後にピークに達する第二相(遅発相)から成ることがわかった(図1)。抗原刺激なしにIL-1+IL-10で培養した場合、即時相でのPGD₂産生は見られず、遅発相のPGD₂産生がわずかに観察された。

3.2 シクロオキシゲナーゼ(COX)の発現

IL-1+IL-10+IgE/抗原刺激によるBMMCの遅発型PGD₂産生がどのように調節されているかについて、まずアラキドン酸をプロスタノイドに変換する酵素であるCOXに注目して調べた。COXには、広い組織に恒常的に発現しているCOX-1と、炎症刺激や増殖因子刺激により誘導される

表1 Effect of various cytokines and IgE/Ag on PGD₂ generation by BMMC

Cytokines	PGD ₂ generation (ng/10 ⁶ cells)	
	Without IgE/antigen	With IgE/antigen
No cytokine	<0.1	1.03 ± 0.15 †
IL-3	<0.1	1.14 ± 0.11 †
IL-10	<0.1	1.27 ± 0.21 †
IL-1 β	<0.1	1.02 ± 0.13 †
IL-1 β + IL-10	0.37 ± 0.15*	5.60 ± 1.18* †
IL-3 + IL-10	0.14 ± 0.08	1.40 ± 0.48* †
IL-1 β + IL-3	<0.1	1.05 ± 0.18 †

BMMC was cultured for 5 h with the indicated stimuli, and the PGD₂ released into the supernatants was assessed as described in the experimental section. Means ± S.E.M. for three independent experiments are shown. *P < 0.05 compared with no cytokine; †P < 0.05 compared with each group without IgE/antigen.

COX-2が存在することが知られている。

IL-1+IL-10+IgE/抗原刺激したBMMCのライゼートを経時的に採取し、抗COX-1、抗COX-2抗体でそれぞれイムノブロットして両酵素の発現を調べたところ、COX-1蛋白の発現は刺激後48時間まで一定であったのに対し、COX-2蛋白は未刺激のBMMCには存在せず、IL-1+IL-10+IgE/抗原刺激後2時間後から発現が認められ、5時間から10時間後に最大に達し、その後減少した(図2)。抗原非存在下にIL-1+IL-10で培養した場合、弱いCOX-2蛋白の発現が認められた。他のサイトカイン存在下では、COX-2蛋白の発現は殆ど認められなかった。以上の結果から、遅発相におけるPGD₂産生は、経時変化及びサイトカイン特異性においてCOX-2蛋白の発現と相関していた。

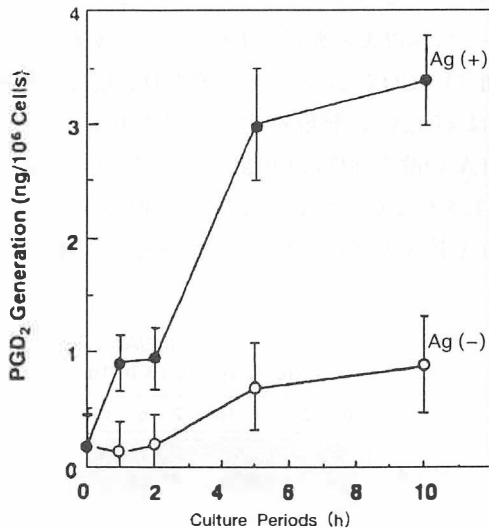


図1 Time course of PGD₂ generation in BMMC after stimulation with IL-10, IL-1β and IgE/antigen

IgE-sensitized BMMC were cultured for the indicated periods after stimulation with 100 i.u./ml IL-10 and 5 ng/ml IL-1β in the presence or absence of antigen (Ag). The PGD₂ released into the supernatants were assessed as described in the Experimental section. Values are expressed as means ± S.E.M. for four independent experiments.

3.3 COX阻害剤のPGD₂産生に対する効果

即時相及び遅発相における2種のCOXアイソザイムの役割を更に明らかにするため、COX阻害剤のPGD₂産生に対する効果を検討した。アスピリンは、COXを不可逆的に阻害することが知られている。BMMCをアスピリンで5時間前処理した後、細胞を洗浄し、アスピリン非存在下にIgE/抗原で刺激すると、いずれのサイトカイン存在下においても即時相のPGD₂産生は完全に消失した(表2)。これは、即時型PGD₂産生が常在性のCOX-1により調節されていることを意味している。これに対し、遅発型PGD₂産生はアスピリン前処理の影響を全く受けなかった事から、新規に誘導されたCOXによって制御されているものと考えられた。実際、遅発型PGD₂産生はCOX-2特異的阻害薬であるNS-398により完全に抑制された(表2)。

この結果から、IL-1+IL-10+IgE/抗原刺激によって惹起される遅発相のPGD₂産生は、COX-2によって制御されているものと結論された。

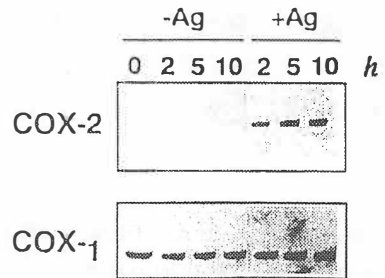


図2 Time course of COX-2 expression in BMMC after stimulation with IL-10, IL-1β and IgE/antigen

IgE-sensitized BMMC were cultured for the indicated periods after stimulation with 100 i.u./ml IL-10 and 5 ng/ml IL-1β in the presence or absence of antigen (Ag). The expression of proteins for COX-1 and COX-2 were assessed as described in the Experimental section. A representative result of three independent experiments.

表2 Inhibition of the delayed phase of PGD₂ generation by NS-398

Aspirin pretreatment	NS-398 treatment	Incubation time (h)	PGD ₂ generation (ng/10 ⁶ cells)	
			1	5
—	—		1.1 ± 0.2	3.5 ± 0.8*
—	+		1.0 ± 0.3	0.9 ± 0.3
+	—		<0.1 †	2.7 ± 1.1*
+	+		<0.1 †	<0.1 ‡

BMMC, pretreated for 5 h with or without 1 mg/ml aspirin, were sensitized with IgE and activation with antigen in the presence of IL-10 and IL-1 β , either with or without 10 ng/ml NS-398. Immediate and delayed PGD₂ generation was assessed at 1 and 5 h respectively. Values are expressed as the means \pm S.D. for three independent experiments. * $P < 0.05$ compared with PGD₂ generation at 1 h after the same treatment; † $P < 0.01$ compared with PGD₂ generation at 1 h without aspirin pretreatment; ‡ $P < 0.05$ compared with PGD₂ generation after pretreatment with aspirin, and in the absence of NS-398.

3.4 COX-2発現誘導におけるサイトカインの役割

COX-2発現誘導におけるIL-1、IL-10、IgE/抗原各々の役割について、RNAブロット及びイムノブロットにより詳細に検討した。IL-10はCOX-2 mRNAの発現誘導に不可欠の因子であり、IL-10非存在下(IL-1+IgE/抗原)ではCOX-2 mRNAの発現は弱いものであった。IgE/抗原はIL-1+IL-10によって誘導されるCOX-2 mRNAの半減期を延ばす効果が顕著であった。IL-1はCOX-2 mRNAの発現には全く影響を与えず、COX-2蛋白の安定性を増すことにより蛋白レベルでCOX-2の発現を増強することが明らかとなった。

3.5 ホスホリパーゼA₂ (PLA₂)の解析

PLA₂はアラキドン酸代謝の初発反応、すなわち膜リン脂質からのアラキドン酸遊離を司る酵素であり、肥満細胞には85kDaの細胞質PLA₂(cPLA₂)と分泌性のII型PLA₂(sPLA₂)が存在することがわかっている。また、IgE/抗原刺激に伴う即時相でのアラキドン酸遊離にcPLA₂の活性化が起こることが既に示されている。

BMMCにおけるcPLA₂蛋白の発現をイムノブロットにより調べたところ、IL-1+IL-10+IgE/抗原刺激後4-8時間まで有意な変化は認められな

かった。sPLA₂の発現量はcPLA₂に比べて少なく、イムノブロットや通常のRNAブロットでは検出できなかった為、RT-PCRによりそのmRNAの発現レベルを検討した。その結果、IL-1+IL-10刺激後、2時間から10時間にかけて、5時間をピークにsPLA₂の発現が上昇することがわかった(図3)。COX-2の場合とは異なり、IgE/抗原刺激はsPLA₂の発現を更に上昇させなかった。sPLA₂の酵素活性はBMMCライゼートでは殆ど検出されなかったが、これを酸抽出した後、抗sPLA₂抗体カラムによって精製すると、sPLA₂の

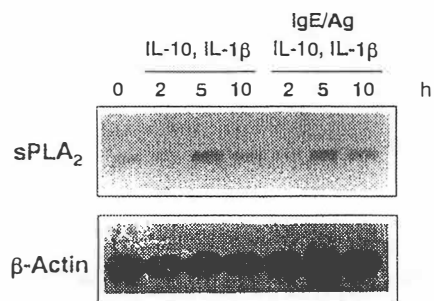


図3 Time course of sPLA₂ mRNA expression, assessed by RT-PCR/Southern blotting, in BMMC after activation

IgE-sensitized BMMC were cultured for the indicated periods after stimulation with 100 i.u./ml IL-10 and 5 ng/ml IL-1 β in the presence or absence of antigen (Ag). The expression of sPLA₂ mRNA were assessed as described in the Experimental section.

酵素活性が著しく上昇することを見いだした。このことから、BMMC 中には sPLA₂ の活性をマスクする何等かの因子が存在し、抗体カラム操作中にこの因子が除かれたものと考えられた。この方法によって検出された sPLA₂ 活性を各サイトカイン処理間で比較したところ、IL-1+IL-10 により sPLA₂ 蛋白が未刺激の細胞と比べて有意に増加することが確かめられた。

さらに、抗 sPLA₂ 抗体を培養系に添加したところ、遅発相の PGD₂ 産生は有意に抑制された (図 4)。また、分泌された sPLA₂ が基質となる細胞膜に結合するのを妨げるヘパリンによっても遅発型 PGD₂ 産生は強く抑制された。この結果から、sPLA₂ が BMMC における遅発型 PGD₂ 産生に関与しているものと結論した。

4 考 察

肥満細胞は、ある特定の刺激に反応して、二相性の PGD₂ 産生を起こすことが明らかとなった。数分以内に起こる即時型反応は、常在型酵素である cPLA₂ と COX-1 により、数時間後に起こる遅発反応は誘導型酵素である sPLA₂ と COX-2 により調節されていた。この様に、炎症刺激によって時間依存的に産生される同一の最終産物 (PGD₂) が、異なる生合成経路により産生されるという事実は、アレルギー反応の急性期と慢性期とで異なる標的分子を考慮する必要性を意味しており、興味深い。また、肥満細胞の遅発反応はサイトカインの発現誘導を伴うことが明らかにされつつある。肥満細胞の機能は周囲の微小環境に存在するサイトカインの影響を強く受けることから、各サイトカインの産生を制御することが、慢性アレルギー疾患の病態に影響を与え、治療や予防につな

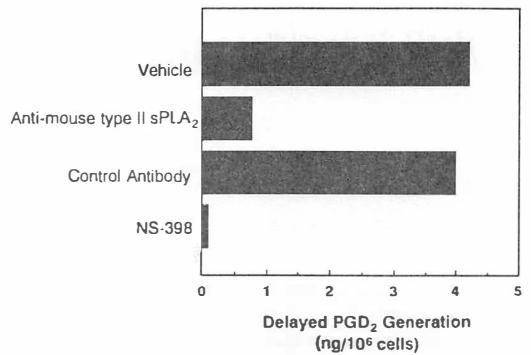


図 4 Inhibition of delayed PGD₂ generation by the Anti-sPLA₂ antibody

Aspirin-pretreated BMMC were activated with IgE/Ag + IL-10 + IL-1 β for 10 h in the presence or absence of the antibody against mouse type II PLA₂ (10 mg/ml) or the COX-2 inhibitor NS-398 (10 ng/ml), and PGD₂ released into the supernatant was quantified.

がるものと期待される。

文 献

- 1) Ashraf MMD, Murakami M, Kudo I, : Cross-linking of the high-affinity IgE receptor induces the expression of cyclo-oxygenase 2 and attendant prostaglandin generation requiring interleukin 10 and interleukin 1 β in mouse cultured mast cells, *Biochem J.*, **320**, 965-973, 1996.
- 2) Ashraf MMD, Murakami M, Shimbara S, et al., : Type II phospholipase A₂ is linked to cyclooxygenase-2-mediated delayed prostaglandin D₂ generation by cultured mouse mast cells following Fc ϵ RI- and cytokine-dependent activation, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **229**, 726-732, 1996.

皮膚表皮細胞におけるリポドバイオフィアクターの機能発現機構

新潟大学 医学部生化学第二教室

藤井 博

Cutaneous fatty acid-binding protein (C-FABP) has been isolated from rat skin and its cDNA has been identified. As C-FABP contains five cysteines, which is rare in other FABPs so far isolated, we examined whether or not these cysteine residues are involved in the FABP function. Determination of the locations of intramolecular disulfide bonds of native C-FABP revealed that two are present between Cys-67 and Cys-87, and between Cys-120 and Cys-127. Native C-FABP purified from rat skin exhibited the ability to bind to stearic acid whereas both native C-FABP reduced with dithiothreitol and bacterially expressed C-FABP showed little binding activity. The reduced C-FABP after renaturation showed the partial recovery of the binding activity. Ion-Spray mass spectrometry of native, recombinant, or renatured recombinant C-FABP revealed that two exact disulfide bonds (between Cys-67 and Cys-87, and between Cys-120 and Cys-127), five free sulfhydryl groups, or partial exact but not non-native disulfide bonds are present in each molecule, respectively. Hypothetical three dimensional structure of C-FABP showed that atomic distances between the sulfur atoms of Cys-67 and Cys-87 and of Cys-120 and Cys-127 enable to form two intramolecular disulfide bonds. These results suggest that two exact intramolecular disulfide bonds are required for its high binding activity toward fatty acids. In situ hybridization and immunohistochemical analyses showed that C-FABP is expressed in the epidermis and sebaceous glands of normal rat skin. Northern blot analysis revealed that C-FABP mRNA is highly expressed in skin, tongue and eye. Interestingly, the C-FABP message was most abundant in eye, and was present at lower levels in brain, testis and fat. These results indicate that C-FABP functions in various tissues containing epithelial cells.

1 緒言

皮膚の水分保護バリアーは、体内の水分保持機構に重要な機能を果たしている。このバリアーの本体は、脂質であることから、皮膚における脂質代謝調節機構の研究は、皮膚の恒常性維持機構を考える上で極めて重要である。一般に、生体機能の調節に与る生理活性脂質(リポドバイオフィクター)は、その機能発現のために、特異的レセプターあるいは結合蛋白質を必要とする。とりわけ、皮膚における必須脂肪酸など、リポドバイオフィクターと呼ばれる生理活性脂質の重要性が示唆されていることから、それらのレセプターあるいは結合蛋白質の構造・機能・遺伝子発現調節機

構の解析がコスメトロジーの新たな展開へ大いに貢献すると思われる。我々は、これまでに、長鎖脂肪酸やその他の脂溶性リガンド(プロスタグランジンなど)と結合する蛋白質、脂肪酸結合蛋白質(FABP)を種々の組織から単離し、それらの構造と機能および遺伝子発現調節機構を解析してきた。しかしながら、生体内におけるFABPの生理機能の詳細はよくわかっていない。これらの蛋白質はレチノール、レチノイン酸などと結合する細胞内レチノール結合蛋白質(CRBP)、細胞内レチノイン酸結合蛋白質(CRABP)とも相同性が高く、FABPスーパーファミリーを形成している。最近、我々は皮膚型、(cutaneous) C-FABPをラットの皮膚から単離し、そのcDNAをクローニングしたが、C-FABPは、ヒト乾癬症で大量に発現している蛋白質(PA-FABP)および、マウス皮膚細胞癌(扁平上皮癌)で大量発現している蛋白質(mal 1)と非常に高い相同性を示した。皮膚表皮細胞の増殖や分化の調節機構を研究する上で、乾癬や扁平上皮癌などの疾患はよい実験モ



Studies on a novel protein, cutaneous fatty acid-binding protein, involved in the action of bioactive lipids in the skin

Hiroshi Fujii

Department of Biochemistry,
Niigata University School of
Medicine

デルになると考えられる。特に、乾癬では、表皮細胞の増殖に基づいて、角質増殖、不全角化、基底層および有棘層下層の核分裂細胞数の増加などが形態学的特徴としてあげられるが、皮膚の光老化や加齢による老化は、皮膚の角化と密接に関連しているため、乾癬におけるC-FABPの遺伝子発現調節機構やC-FABPと脂質代謝との関係の研究は、皮膚の老化や恒常性維持機構の解明につながると思われる。また、興味深いことにレチノイン酸はC-FABPと相同性が高く、同一ファミリーに属するCRABPのリガンドであると同時に、皮膚の老化や角質化を防止する医薬品であるが、C-FABPやCRABPの皮膚における生理機能、およびC-FABPの生体内リガンドの同定などの研究は、リポバイオファクターの皮膚における機能発現機構を解析する上で重要な研究課題であると思われる。本研究では、細胞増殖が異常に亢進した皮膚表皮細胞における皮膚型FABPの構造と機能の相関¹⁾、遺伝子発現調節機構、これらの疾患への関与機構および、皮膚における機能解析などを目的とする。

2 実験

2.1 ラットC-FABPの大腸菌における発現及び精製

先にクローニングした²⁾ 全長C-FABP cDNAをpET3aベクターに入れ大腸菌*E. Coli* BL21で発現させた。発現した蛋白質のほとんどは、可溶性画分に回収された。細胞破壊後、可溶性画分をDE-52、Superdex 75などのクロマトグラフィーを用いて均一になるまで精製した。

2.2 脂肪酸との結合活性の測定

¹⁴C標識ステアリン酸をリガンドとして用い、リピデックス法³⁾でC-FABPとの結合活性を調べた。

2.3 組換えC-FABPのプロテインジスルフィドイソメラーゼ(PDI)による再生

精製した組換えC-FABPとPDIを還元型(2

mM) および酸化型(0.2mM) グルタチオンの存在化で、25°C、3時間反応させた。³⁾

2.4 分子内ジスルフィド結合の位置決定

ネイティブまたは組換えC-FABPを6 M塩酸グアニジンの存在下で、ヨードアセトアミド(2 mM)処理後、塩酸グアニジンの濃度を2 Mまで下げて、*Achromobacter lyticus*のリジルエンドペプチダーゼを作用させた。得られたペプチド断片を逆相HPLCで分離し、各々のペプチド断片のアミノ酸配列をシークエンサー(Applied Biosystems 470A)で解析した。さらに、ジチオスレイトール(DTT)で還元した断片についても同様にシークエンス解析した。また、HPLCで精製したペプチド断片の質量分析も行ない、アミノ酸配列およびジスルフィド結合の有無を確かめた。

2.5 正常ラットの皮膚におけるC-FABPの局在

組換えC-FABPに対する特異的ポリクローナル抗体を作製し、これを用いて、正常ラット(Sprague-Dawley, 8週齢)の皮膚の切片を免疫染色した。また、C-FABP mRNAの局在をin situハイブリダイゼーション法によって調べた。⁴⁾ C-FABP cDNAをpGEM-3 Zに入れ、ジゴキシゲニン(DIG) UTPをアンチセンスおよびセンスプローブに取り込ませ標識した。固定組織切片とプローブをハイブリダイズさせた後、アルカリホスファターゼ標識抗DIG抗体を作用させ、発色基質(BCIP、NBT)を加えシグナルを検出した。

2.6 正常ヒトおよびいくつかの皮膚疾患におけるC-FABPの発現

ヒトC-FABP (PA-FABP)⁵⁾ のN末端領域(12-24)の13アミノ酸からなるペプチドRLDDSKGFDEYMKに対するポリクローナル抗体を作製し、ヒトの正常および、有棘細胞癌(Squamous cell carcinoma: SCC)、基底細胞癌(Basal cell carcinoma: BCC)、悪性黒色腫(Malignant melanoma: MM)などの皮膚疾患由来

の細胞におけるC-FABPの発現を免疫組織化学的手法で調べた。⁶⁾

2.7 C-FABPの組織分布

C-FABP mRNAの発現を調べるため、種々の組織(皮膚、大脳、小脳、眼、舌、心臓、肺、脂肪、肝臓、脾臓、筋肉、腎臓、副腎、精巣、卵巣、胃、十二指腸、回腸および盲腸)から全RNAをChirgwin⁷⁾らの方法によって抽出し、ノーザンブロット法によってC-FABPの組織分布を調べた。

3 結果と考察

3.1 ラットC-FABPの大腸菌における発現

大腸菌で大量発現させたC-FABPは、可溶性画分に回収され、DE52およびSuperdex75クロマトグラフィーで均一な精製標品として得られた。Fig. 1に示すように、組換えC-FABPはラット皮膚から精製したネイティブC-FABPと

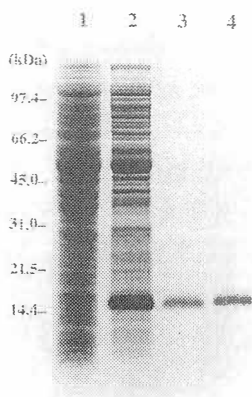


Fig. 1. Analysis of the bacterially expressed recombinant rat C-FABP after purification. Samples were analyzed by a 10% Tricine/SDS/PAGE. The bands were stained with Commassie brilliant blue. Lane 1, soluble fraction of the transformant containing the pET3a control vector (20 μ g of protein); lane 2, soluble fraction of the transformant containing the C-FABP expression vector (20 μ g of protein); lane 3, purified recombinant C-FABP (1 μ g of protein); lane 4, purified native C-FABP (1 μ g of protein).

SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動上同一の大きさ(約14kDa)を示した。このことは、ネイティブC-FABPの質量分析の結果、ネイティブC-FABPが翻訳後修飾を受けていないことと矛盾しなかった。

3.2 組換えC-FABPの脂肪酸結合活性

Fig. 2に示すように、精製した組換えC-FABPを用いて脂肪酸(ステアリン酸)との結合活性を調べたところ、ほとんど結合活性が見られなかった(○)。3.2でも述べたように、ネイティブC-FABPは翻訳後修飾を受けていないことから、我々は組換えC-FABPの脂肪酸結合活性が消失した理由として、C-FABP分子内にある5つのシステイン残基のうち、いずれかが分子内ジスルフィド結合形成に関与し組換えC-FABPでは還元的环境にさらされたために、分子内ジスルフィド結合が壊れ、脂肪酸との結合に必要な活性型コンホメーションが維持できなくなったためではないかと考えた。この可能性を確かめるため、

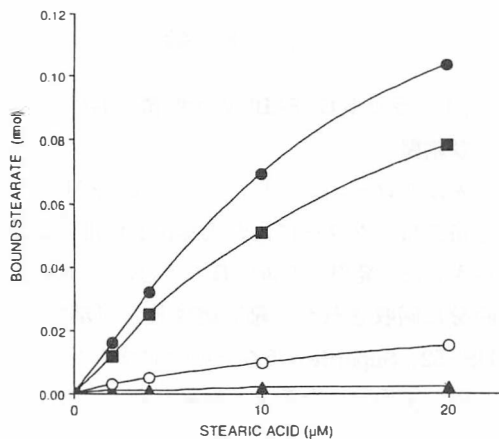


Fig. 2. Binding of radiolabeled stearic acid to the recombinant and native rat C-FABP. [14 C] Stearic acid was incubated with 150 pmol recombinant or native C-FABP at 37 $^{\circ}$ C for 1 h. Unbound fatty acid was separated from bound fatty acid with Lipidex 1000. (●) Native C-FABP without dithiothreitol; (○) native C-FABP with 2 mM dithiothreitol; (▲) recombinant C-FABP before renaturation; (■) recombinant C-FABP after renaturation.

組換え C-FABP を PDI 処理し、分子内ジスルフィド結合を形成させた後に、脂肪酸との結合活性を測定した。その結果、Fig. 2 の (■) で示すように、ネイティブ C-FABP の結合活性の約 80% の活性が得られた。従って、ネイティブ C-FABP は、分子内ジスルフィド結合を持ち、これは脂肪酸との結合に必須の役割を担っていることが示唆された。次に、我々は、5 つのシステイン残基のうちどのシステイン残基が、分子内ジスルフィド結合形成に関与しているか解析した。

3.3 分子内ジスルフィド結合の位置決定

ヨードアセトアミド処理した C-FABP をリゾレンドペプチダーゼ処理し、得られたペプチド断片を HPLC で分離精製したところ、11 個のピークが得られた (Fig. 3 A)。それぞれのペプチド断片のアミノ酸配列を決定した結果、システイン残基を含むペプチド断片は、ピーク 8、10、11、であった。このうちピーク 8 は、2 つのシステインを含み、DTT で還元すると 2 つのペプチド断片に分かれることから Cys67 と Cys87 がジスルフィド結合を作っていると考えられた。また、ピーク 10 も 2 つのシステインを含み、Cys120 と Cys127 の間でジスルフィド結合を形成していた。また、ピーク 11 は 1 つのシステインを含み、アミノ酸配列からこのシステイン残基は Cys43 であることがわかった (Fig. 3 B)。これらの結果はそれぞれのピークの質量分析の結果からも確かめられた。したがって、ネイティブ C-FABP の 5 つのシステイン残基のうち 2 つのシステインは分子内ジスルフィド結合 (Cys67-Cys87 と Cys120-Cys127) に関与し、1 つのシステイン (Cys43) 残基は遊離していることがわかった。また、組換え C-FABP のシステイン残基は全て遊離しており、ジスルフィド結合は形成されていなかった。このことは、C-FABP の活性型コンホメーションの維持にジスルフィド結合が必要であることを示している。コンピューター解析による C-FABP の三次元構造のモデルを Fig. 4 に示

した。興味深いことに、ラット、マウスおよびヒトの C-FABP のジスルフィド結合に関与しているシステイン残基 (Cys67、Cys87、Cys120、Cys127) の位置は全て保存されており (Fig. 5)、これらのシステイン残基は C-FABP の機能発現 (脂肪酸との結合) に重要であることが示唆された。

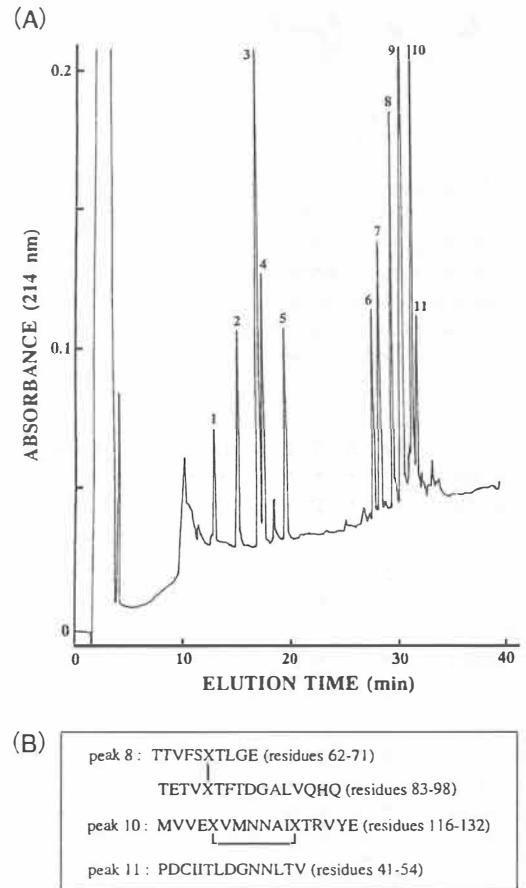


Fig. 3. Reverse-phase HPLC separation of peptides produced on lysyl endopeptidase digestion of C-FABP.

(A) Flow chart of HPLC separation of each peptide. The separated peptides are numbered in the order of their elution. Column, Toyo Soda ODS (octadecylsilica) 120T (0.46 × 25 cm); buffer, 0.1% trifluoroacetic acid; elution gradient, 1-45% acetonitrile (by vol.) in 40 min; flow rate, 1.0 ml/min.

(B) Amino acid sequence of each peptide fragment after HPLC separation. X, not detected as cysteine before reduction and subsequent S-carboxymethylation of each peptide. (—) possible disulfide bond.

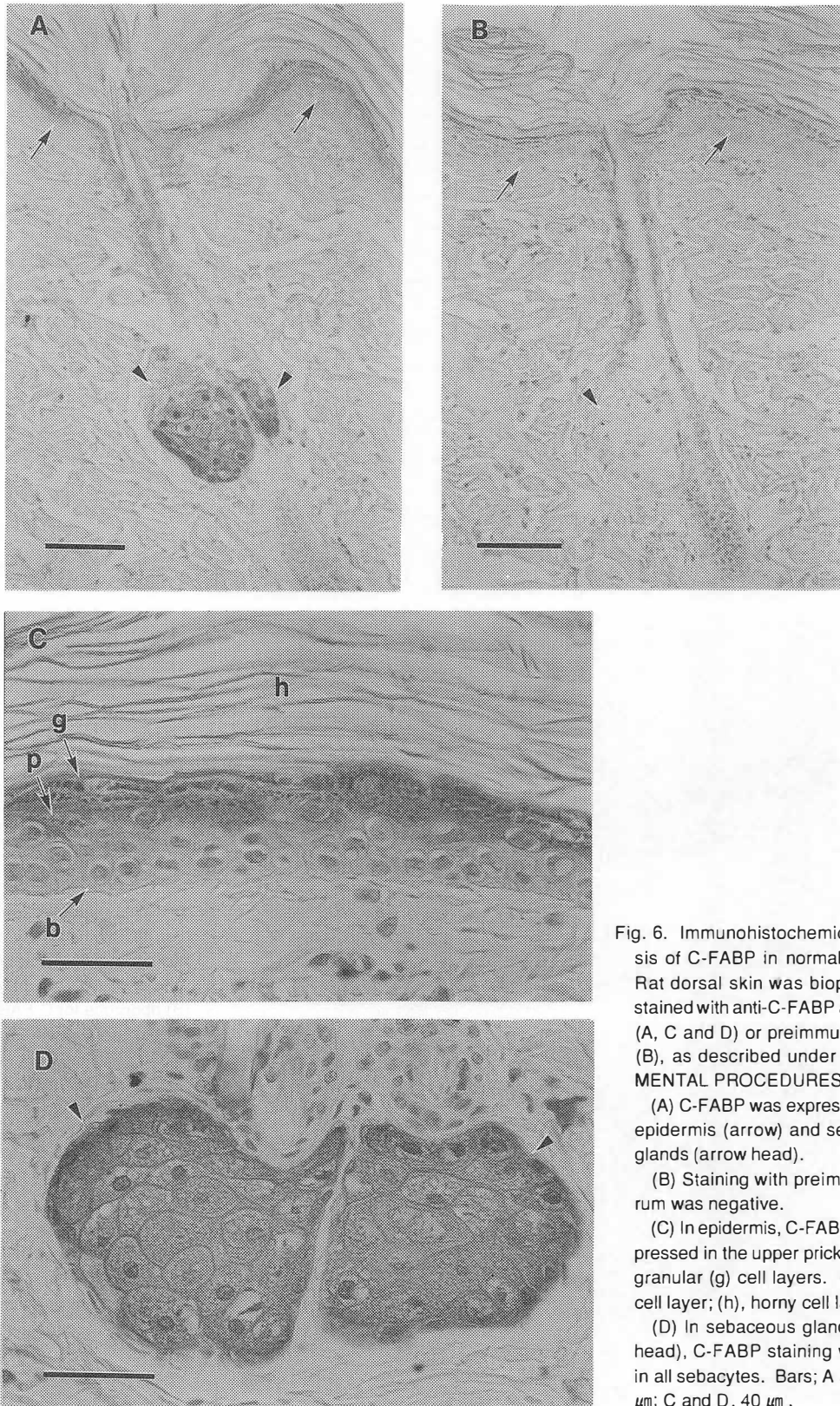


Fig. 6. Immunohistochemical analysis of C-FABP in normal rat skin. Rat dorsal skin was biopsied and stained with anti-C-FABP antiserum (A, C and D) or preimmune serum (B), as described under EXPERIMENTAL PROCEDURES.

(A) C-FABP was expressed in the epidermis (arrow) and sebaceous glands (arrow head).

(B) Staining with preimmune serum was negative.

(C) In epidermis, C-FABP was expressed in the upper prickle (p) and granular (g) cell layers. (b), basal cell layer; (h), horny cell layer.

(D) In sebaceous glands (arrow head), C-FABP staining was seen in all sebacytes. Bars; A and B, 80 μm; C and D, 40 μm.

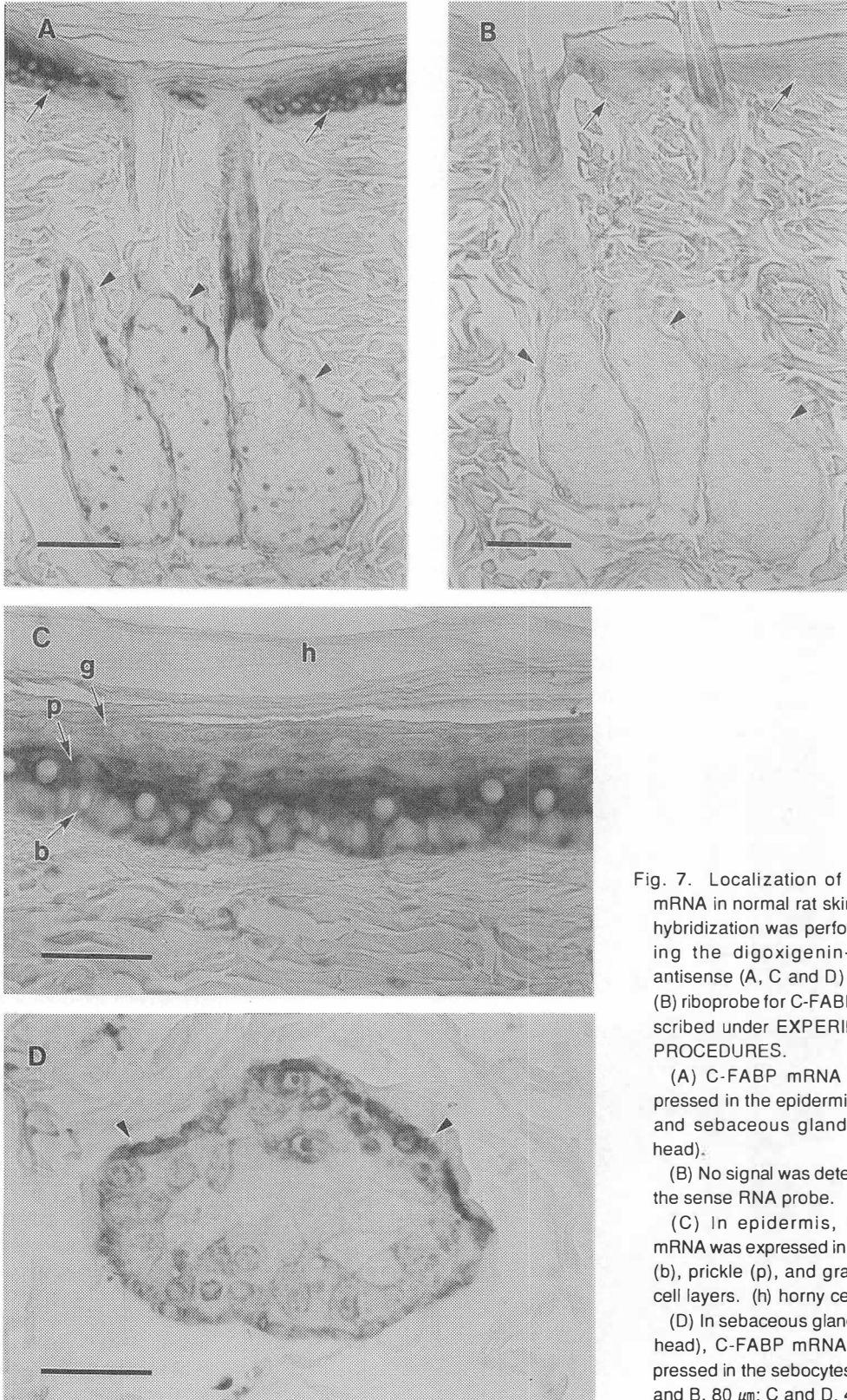


Fig. 7. Localization of C-FABP mRNA in normal rat skin. In situ hybridization was performed using the digoxigenin-labeled antisense (A, C and D) or sense (B) riboprobe for C-FABP, as described under EXPERIMENTAL PROCEDURES.

(A) C-FABP mRNA was expressed in the epidermis (arrow) and sebaceous glands (arrow head).

(B) No signal was detected with the sense RNA probe.

(C) In epidermis, C-FABP mRNA was expressed in the basal (b), prickle (p), and granular (g) cell layers. (h) horny cell layer.

(D) In sebaceous glands (arrow head), C-FABP mRNA was expressed in the sebocytes. Bars: A and B, 80 μm ; C and D, 40 μm .

表皮では主として有棘細胞で強く発現し、顆粒細胞でその発現は減少する傾向にあった。C-FABPの蛋白質と mRNA の発現パターンが何故異なるのか今後検討しなければならない課題である。また、C-FABP の皮膚における機能解明は今後の課題である。

3.5 ヒト皮膚表皮細胞における C-FABP の発現

ヒトの C-FABP(PA-FABP) 特異的抗体を用いたヒト皮膚組織および細胞の免疫組織染色の結果、C-FABP はラットの場合と同様、顆粒細胞で最も強く発現していることがわかった。表皮細胞の分化過程で、遊離脂肪酸の産生は顆粒層で最も多いことから、C-FABP の発現と脂肪酸の産生が密接に関連していることが推測される。また、ヒト乾癬由来の表皮組織でも C-FABP の強い発現が見られた。乾癬では遊離脂肪酸やロイコトリエン B4 などのリポバイオファクターの産生が高くなっていることから、これらの脂質は C-FABP の遺伝子発現のシグナル伝達因子の一つになっている可能性も考えられる。最近、遊離脂肪酸やロイコトリエン B4 などで活性化される核内レセプター PPAR (Peroxisome proliferator-

activated receptor) が同定されていることから、これらのリポバイオファクターが C-FABP の遺伝子発現や表皮細胞の分化、増殖のシグナル伝達因子として作用していることも十分考えられる。⁹⁾ また、SCC は有棘細胞由来の癌細胞であるが、C-FABP の遺伝子発現は、正常有棘細胞に比べて、かなり亢進していた。一方、BCC や MM などの細胞では、C-FABP の発現は全く見られなかった。今後、C-FABP の表皮細胞における生理機能、リポバイオファクターによる C-FABP 遺伝子発現制御機構、および上記皮膚疾患への C-FABP の関与機構などを解明しなければならない。

3.6 C-FABP の組織分布

C-FABP mRNA の発現をノーザンブロット法で解析したところ、Fig. 8 に示す様に皮膚以外の組織、舌や眼で高い発現が見られた。特に、眼や舌では皮膚に比べて3~5倍くらい高い発現が見られた。それぞれの組織の免疫化学的解析の結果、舌では上皮細胞、眼では角膜や網膜などで高い発現が見られた。光情報伝達に關与する網膜のトランスデューシン α サブユニットは脂肪酸で共有結合修飾されていることから¹⁰⁾、特に網膜では

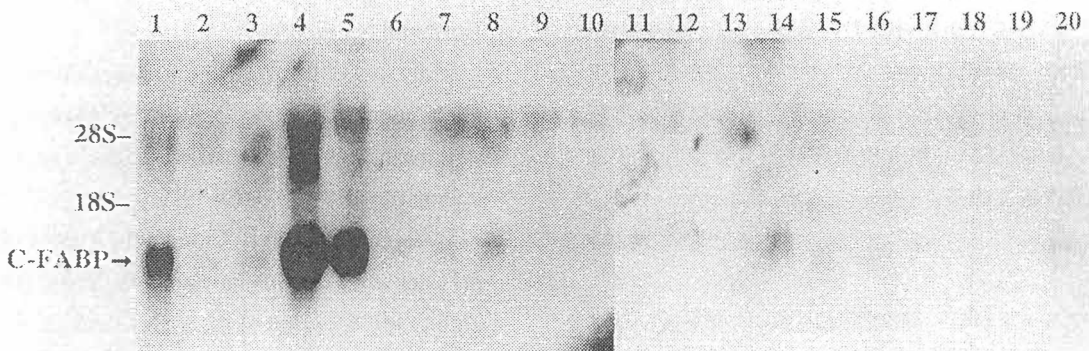


Fig. 8. Tissue distribution of rat C-FABP mRNA, as assessed by Northern blot analysis. Total RNA (20 μ g) isolated from various tissues of adult rats was subjected to Northern blot analysis as described under EXPERIMENTAL PROCEDURES. The mRNAs in the respective lanes are for: 1, skin; 2, cerebrum; 3, cerebellum; 4, eye; 5, tongue; 6, heart; 7, lung; 8, adipose tissue; 9, liver; 10, spleen; 11, muscle; 12, kidney; 13, adrenal gland; 14, testis; 15, ovary; 16, stomach; 17, duodenum; 18, jejunum; 19, ileum; 20, caecum.

C-FABP はこれらの脂肪酸の転送に関わっている可能性もあり興味をもたれる。また、発現量は、皮膚の1/5程度であるが、脂肪組織や精巣、脳でも発現していた。とりわけ、脂肪組織では、これまで脂肪細胞型 FABP (aP2) のみが発現していると考えられていたが、我々の研究から¹¹⁾、C-FABP もこの組織で発現していることが示された。さらに、培養細胞を使った実験から、aP2 は前駆脂肪細胞が脂肪細胞に分化して初めて発現するのに対して、C-FABP は前駆脂肪細胞で既に発現していることがわかった。最近の Spiegelman らの報告¹²⁾ によると、aP2 のノックアウトマウス (aP2^{-/-}) では、C-FABP mRNA の発現が脂肪細胞で、約 20 倍誘導されることが示された。C-FABP と aP2 に機能的な差異があるかどうか、また、C-FABP 遺伝子発現を誘導しているシグナルは何かなど今後の課題である。この様に C-FABP の組織分布の結果から、C-FABP は発生学的に外胚葉由来の上皮細胞で発現している傾向が見られた。今後、これらの細胞における C-FABP の機能の解明が待たれる。最近の報告によると、末梢神経節の損傷—再生に伴って、背根神経節のニューロンで発現が上昇している蛋白質の1つが C-FABP であることがわかった。¹³⁾ また、乾癬⁵⁾ や扁平上皮癌¹⁴⁾ などの増殖が異常に亢進した細胞で C-FABP の発現が誘導されることが知られているが、C-FABP の発現誘導に関与しているシグナルおよびこのシグナルによる C-FABP 遺伝子発現制御機構の解析は、C-FABP の生理機能を解明する上で重要な研究課題である。

謝 辞

コスメトロジー研究振興財団の研究支援に深謝いたします。本研究は、新潟大学医学部生化学第二教室教授小野輝夫先生、同大学理学部教授小谷昌司先生および同大学医学部皮膚科学教室との共同研究で行われたものであり、深謝いたします。

文 献

- 1) Watanabe R, Fujii H, Odani S, et al: Expression and characterization of rat cutaneous fatty acid-binding protein, submitted to J Biol Chem.
- 2) Watanabe R, Fujii H, Odani S, et al: Molecular cloning of a cDNA encoding a novel fatty acid-binding protein from rat skin, *Biochem Biophys Res Commun*, 200, 253-259, 1994
- 3) Lambert N and Freedman R B: Kinetics and specificity of homogeneous protein disulphide-isomerase in protein disulphide isomerization and in thiol-protein-disulphide oxidoreduction, *Biochem J*, 213, 225-243, 1983
- 4) Sakai K, Fujii H, Yamamoto T, et al: Tissue-specific suppression of aortic fatty acid-binding protein in streptozotocin-induced diabetic rats, *Eur J Biochem*, 229, 201-206, 1995
- 5) Madsen P, Rasmussen H H, Leffers H, et al: Molecular cloning and expression of a novel keratinocyte protein (psoriasis-associated fatty acid-binding protein [PA-FABP]) similarity to fatty acid-binding proteins, *J Invest Dermatol*, 99, 299-305, 1992
- 6) Watanabe R, Fujii H, Yamamoto A, et al: Immunohistochemical distribution of cutaneous fatty acid-binding protein in human skin, *J Dermatol Sci*, in press
- 7) Chirgwin J M, Przybyla A E, MacDonald R J, et al: Isolation of biologically active ribonucleic acid from sources enriched in ribonuclease, *Biochemistry*, 18, 5294-5299, 1979
- 8) Watanabe R, Fujii H, Yamamoto A, et al: Expression of cutaneous fatty acid-binding protein and its mRNA in rat skin, *Arch Dermatol Res*, 288, 481-483, 1996
- 9) 藤井博: Fatty acid-binding protein, FABP, 動脈硬化, 24 (7,8), 353-361, 1996
- 10) Fukada Y, Takao T, Ohgura H, et al: Farnesylated gamma-subunit of photoreceptor

- G protein indispensable for GTP-binding, Nature, 346, 658-660, 1990
- 11) Fujii H and Ono T: unpublished results
 - 12) Hotamisligil G S, Johnson R S, Distel R J, et al: Uncoupling of obesity from insulin resistance through a targeted mutation in $\alpha P2$, the adipocyte fatty acid binding protein, Science, 274, 1377-1379, 1996
 - 13) Leon M D, Welcher A A, Nahin R H, et al: Fatty acid binding protein is induced in neurons of the dorsal root ganglia after peripheral nerve injury, J Neurosci Res, 44, 283-292, 1996
 - 14) Krieg P, Feil S, Furstenberger G et al: Tumor-specific overexpression of a novel keratinocyte lipid-binding protein, J Biol Chem, 268, 17362-17369, 1993

炎症後色素沈着におけるエイコサノイドによる メラノサイト活性化機構の解明

京都大学大学院 医学研究科臨床器官病態学講座皮膚病態学分野

井 階 幸 一

Skin pigmentation after inflammation is a well recognized phenomenon, but its mechanisms have been unknown yet. A number of substances are considered to contribute to post-inflammatory pigmentation, and eicosanoids are one of the most important mediators. Eicosanoids, prostaglandins (PGs) or leukotrienes (LTs), show a potent pharmacological activity in various tissues, and actively synthesized and degraded in the skin, and contribute to the pathogenesis of a number of skin diseases such as UV-dermatitis, atopic dermatitis, urticaria and psoriasis. We examined the synthesis of leukotrienes in human melanoma cells in order to assess the function of leukotrienes in human melanocytes. The enzyme activity of LTA₄ hydrolase, which catalyzes the conversion of LTA₄ to LTB₄, was detected in the supernatant of cultured human melanoma cells (MeWo cells) and melanoma cells obtained from patients. Immunoblotting analysis using an anti-human LTA₄ hydrolase antibody demonstrated LTA₄ hydrolase as a 70-kDa protein in both MeWo and melanoma cells. Considerable enzyme activity of LTC₄ synthase, which catalyzes the conversion of LTA₄ to LTC₄, was detected in the microsomal fraction of both MeWo and melanoma cells. The HPLC profile of the LTC₄ synthase reaction products revealed that LTC₄ was the main product. LTD₄ was not detected under these conditions, indicating that the microsomal fraction of human melanoma cells lacks the membrane-bound γ -glutamyl transferase that converts LTC₄ to LTD₄. LTC₄ synthase activity was inhibited by the addition of MK886, and was not altered by treatment with N-ethylmaleimide (NEM) or 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB). These results indicate that the enzyme responsible for the conversion of LTA₄ to LTC₄ in human melanoma cells is LTC₄ synthase rather than a nonspecific or microsomal glutathione-S-transferase. These results also suggest that human melanoma cells can generate LTB₄ and LTC₄ from LTA₄, and that this process is catalyzed by two enzymes: LTA₄ hydrolase and LTC₄ synthase.

1 緒 言

私達の皮膚に紫外線があたると発赤などの急性の炎症症状 (Sunburn) が生じ、3～4日後から黒褐色の色素沈着 (Suntan) を認めることはよく知られている。また、湿疹やアトピー性皮膚炎をはじめさまざまな炎症性皮膚疾患はあとに色素沈着をきたす。これらの炎症時の局所皮膚において、プロスタグランジン (PG) やロイコトリエン (LT) などのエイコサノイドが増加することから、これら脂質メディエーターが皮膚の色素沈着に関与していると考えられている⁽¹⁻⁵⁾。さらに、皮膚の炎症時には好中球、好酸球が局所に浸潤

し、組織障害性に働く諸酵素、サイトカイン、成長因子、接着分子およびエイコサノイドなどが遊離し、これらが、表皮基底層のメラノサイトに生物学的作用を与えることは十分に考えられる。さらに、肥満細胞がヒスタミンやエイコサノイドを遊離したり、あるいは局所に浸潤したマクロファージがエイコサノイドを産生する可能性もある。

さて、このエイコサノイドはアラキドン酸由来の脂質メディエーターであり、炎症状態にある細胞が何らかの刺激や障害を受けて、細胞内のホスホリパーゼA₂がカルシウム依存性に活性化され、リン脂質よりアラキドン酸が遊離する。このアラキドン酸は速やかに代謝されてCyclooxygenase経路によりプロスタグランジン、トロンボキサンが、Lipoxygenase経路によりロイコトリエンなどのエイコサノイドが生成する。生成したエイコサノイドは速やかに細胞外へ放出され、細胞表面に存在する特異的な受容体を介し



Study of the Role of Eicosanoids in Melanocyte-stimulation in Post-inflammatory Pigmentation

Kouichi Ikai

て、臓器や組織に多彩な生理活性を發揮し、種々の生理現象や各種疾患の病態に影響を与える。エイコサノイドは一般に生体内できわめて不安定であるが、ごく微量、通常、 $\text{pM} \sim \text{nM}$ のオーダーで、オータコイドとして種々の臓器にきわめて強力な薬理作用を發揮する⁽⁶⁻⁹⁾。遊離されたロイコトリエンのうち、 LTB_4 は白血球の局所への浸潤・脱顆粒を促進させ、さらに多量のロイコトリエンが炎症巣に産生・放出される。さらに直接的に、 LTB_4 はメラノサイトを活性化し、 LTC_4 と LTD_4 はメラノサイトの増殖誘導能を持つ。ロイコトリエンはオータコイドとして作用するので、メラノサイト自身もロイコトリエンを産生し、周囲の表皮細胞、メラノサイト、真皮の、好中球、リンパ球、マクロファージ、肥満細胞、線維芽細胞などの浸潤細胞にも影響を与えられ⁽¹⁰⁻¹⁶⁾。

今回、私達は炎症後の色素沈着の機構を解明するために、オータコイドとしてのロイコトリエンのメラノサイトへの影響ならびにメラノサイト自体のロイコトリエン産生能を検討してみた。

2 実験

2.1 材料

LTB_4 、 PGB_2 および LTA_4 メチルエステルはCayman Chemical (Ann Arbor, MI) より、1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) は東京化成より、N-ethylmaleimide (NEM) とグルタチオンは和光純薬より購入した。MK-886はMerck Frosst社 (Claire-Dorval, Quebec, Canada) より提供を受けた。抗 LTA_4 水解酵素抗体⁽¹⁷⁾は東京大学医学部第2生化学教室の清水孝雄教授より提供を受けた。BALB/c-nu/nuヌードマウスは清水実験材料より購入した。

2.2 ヒト正常メラノサイトの培養

ヒト正常メラノサイトはクラボウより購入した“Melanocell”⁽¹⁸⁾を用いた。培養は添付のマニュアルに従い、HMGS添加Medium154Sの培地中、

37°Cで培養し、80%コンフルエントになった時点で、ロイコトリエンを添加し、48時間後、位相差顕微鏡で観察した。

2.3 ヒトメラノーマ細胞株の培養およびヌードマウスへの移植

ヒトメラノーマ細胞株としてMeWo cell^(19,20)を用いた。培養は10% fetal calf serum (FCS) を含むDulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) (Gibco, Grand Island, NY) 培地中、37°Cで培養した。5 × 10⁶のMeWo cellsをヌードマウスの背に移植し、2週後、腫瘍の重量が平均1.4 gのところまで摘出した。

2.4 患者材料よりのヒトメラノーマ細胞および色素性母斑の採取

皮膚科手術時に患者の同意のもとにヒトメラノーマ細胞および色素性母斑細胞を入手した。

2.5 エイコサノイド合成諸酵素の活性測定

皮膚科手術時に得られたヒトメラノーマ細胞、色素性母斑細胞およびヌードマウス移植ヒトメラノーマをホモゲナイズ後、細胞分画法にてCytosol分画、Microsome分画に分離し、それらを材料として、以下のエイコサノイドの合成に関する諸酵素の活性ならびに局在を検索した。

2.5.1 LTA_4 水解酵素

LTA_4 水解酵素活性の測定は、上記のメラノーマの分画に、50mM Tris-HCl (pH7.8)、1mg/ml ウシ血清アルブミンを含む反応液 (50 μl) を37°C、1分間プレインキュベーションし、 LTA_4 エタノール溶液 (終濃度70 μM) を加えて、反応を開始した。37°C、3分間の反応の後、反応停止液 (アセトニトリル/メタノール/酢酸、150/50/3) 100 μl を加え、12,000回転、5分間で遠心し、除蛋白をした。遠心血清120 μl に20 μl の0.35% EDTA (pH9.8) を加えて混和し、そのうち50 μl をHPLCに注入した。HPLCにはODSカラム

(Tosoh OFDS 80TM) を用い、溶媒としてアセトニトリル/メタノール/水/酢酸、31/3/0.006を用いた。HPLCの流速は1 ml/分とし、紫外光270 nmで生成したLTB₄の量を、PGB₂を内部標準として測定した^(17,21,22)。

2.5.2 LTC₄合成酵素

LTC₄合成酵素活性の測定はLTA₄水解酵素活性測定とほぼ同一であり、反応系に10mMのグルタチオンを加え、pH8.0で反応させ、生成したLTC₄の量を紫外光280 nmで測定した⁽²³⁾。

2.5.3 5-リポキシゲナーゼ

5-リポキシゲナーゼ活性測定は25 μM [1-¹⁴C]アラキドン酸(50,000cpm, 5nmol, 5 μl エタノール溶液)と酵素を、2 mM CaCl₂、2 mM ATPを含む50mMリン酸カリウム緩衝液(pH7.4)の反応液(総量200 μl)中で30℃で2分間反応を行った。0.3 mlの反応停止液[ジエチルエーテル/メタノール/0.2Mクエン酸(30:40:1)]を添加後、反応生成物を有機層に抽出し、200 μlの有機層をシリカゲルのTLCプレートに帯状にスポットした。石油エーテル/ジエチルエーテル/酢酸(15:85:0.1)の展開溶媒で-10℃で50分間TLCを行い、アラキドン酸と生成物を分離した。オートラジオグラフィーで放射能の分布を調べ、アラキドン酸から5-HPETEあるいはそれに由来する生成物への変換量を求めて酵素活性とした⁽²⁴⁾。

2.6 ウエスタンブロッティング法

上記のメラノーマのCytosol画分を0.2 mlの20%トリクロロ酢酸にて蛋白を沈殿させ、0.1 mlの1 N NaOHに溶解した後、蛋白10 mgを12%-SDS-ポリアクリルアミドにLaemmliの方法で展開後⁽²⁵⁾、ニトロセルロース紙に転写し、抗LTA₄水解酵素抗体にてウエスタンブロッティング法を行った⁽²⁶⁾。蛋白量はLowry法⁽²⁷⁾で定量した。

3 結果

3.1 ロイコトリエンの培養ヒト正常メラノサイトへの影響

“Melanocell”をHMGS添加Medium154Sの培地中、37℃で培養し、80%コンフルエントになった時点で、5 mMのLTB₄、LTC₄、PGE₂、PGD₂を添加し、48時間後、位相差顕微鏡で観察した。図1に5 mMのLTB₄添加時の所見を示した。メラノサイトは大型化し、樹枝状突起の数も増加していた。LTC₄、PGE₂、PGD₂添加でも程度の差はあっても同様の所見が得られた

3.2 LTA₄水解酵素活性

LTA₄水解酵素活性は、皮膚科手術時に採取したヒトメラノーマ細胞およびヌードマウス移植MeWo細胞のCytosol画分(100,000×g, 1 hr)に局在した(表1)。MeWo細胞(0.72 ±

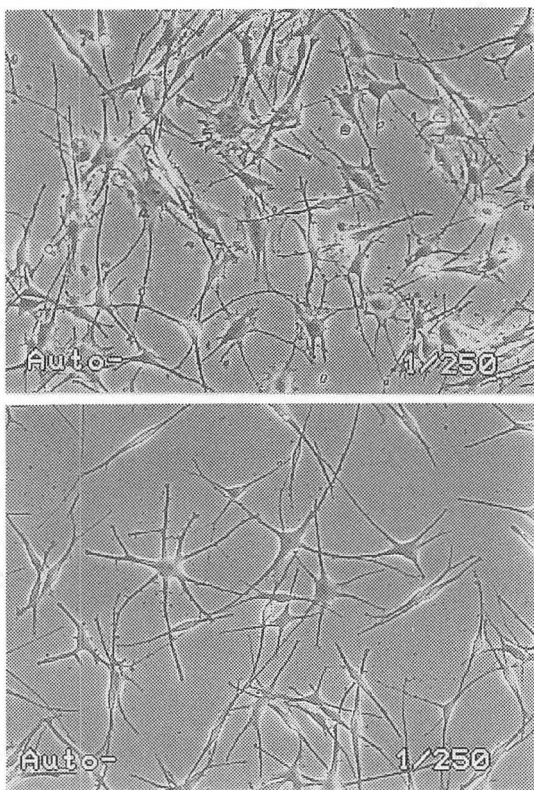


図1 Normal human melanocytes were incubated with 5mM LTB₄ (upper) or control (lower) .

0.04nmol/min/mg protein) はモルモット肺 (0.81 ± 0.21nmol/min/mg protein) や小腸 (0.85 ± 0.23nmol/min/mg protein) に比較できる程の酵素活性を示した。

3.3 LTA₄ 水解酵素のウエスタンブロッティング法

ウエスタンブロッティング法による解析では、LTA₄ 水解酵素はモルモット肺 (図

2、lane 1)、MeWo細胞 (lane 2)、手術時に採取したヒトメラノーマ細胞 (lane 3)、色素性母斑細胞 (lane 4) において70-kDaの蛋白バンドとして認められた。

3.4 LTC₄ 合成酵素活性

LTC₄ 合成酵素活性は、皮膚科手術時に採取したヒトメラノーマ細胞およびヌードマウス移植ヒトメラノーマ細胞において、大部分はの Microsome 分画 (100,000 × g pellet, 1 hr) に局在したが、一部は10,000 × g pellet の分画にも局在した (表2)。MeWo細胞の Microsome 分画と LTA₄ による反応産物を逆相 HPLC で解析すると、Microsome 分画の量の増加とともに LTC₄ も

表1 Subcellular Localization of LTA₄ Hydrolase in Human Melanoma Cells

	MeWo cells	Melanoma cells (from surgical specimen)
Specific activity (nmol/min/mg protein)		
Homogenate	0.20 ± 0.01	0.04 ± 0.01
800 x g pellet	N.D.	N.D.
10,000 x g pellet	N.D.	N.D.
100,000 x g pellet	N.D.	N.D.
100,000 x g supernatant	0.72 ± 0.04	0.23 ± 0.01

Cultured cells (MeWo) and tumor cells were homogenized, and the subcellular fractions were examined for LTA₄ hydrolase activity. Values represent the mean ± SE of 3 experiments. N.D.= not detected.

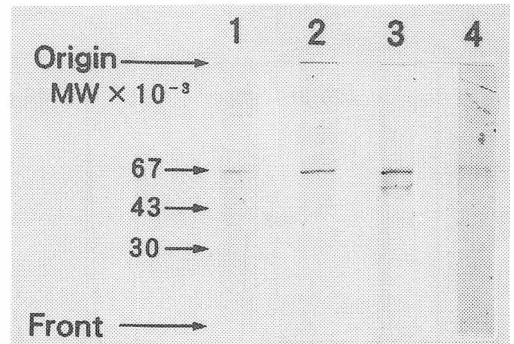


図2 Immunoblot analysis using an anti-LTA₄ hydrolase antibody. The supernatants (100,000 × g, 1 h; 10 μg protein in each lane) from guinea pig lung (lane 1), human melanoma cell line (MeWo cell) (lane 2), malignant melanoma cells (lane 3) and nevus pigmentosus cells (lane 4) were separated on 12% SDS-polyacrylamide gel and electrophoretically transferred to a nitrocellulose membrane. The proteins were then immunostained using an anti-LTA₄ hydrolase antibody.

表2 Subcellular Localization of LTC₄ Synthase in Human Melanoma Cells

	MeWo cells	Melanoma cells (from surgical specimen)
Specific activity (nmol/min/mg protein)		
Homogenate	N.D.	0.42 ± 0.03
800 x g pellet	N.D.	0.26 ± 0.08
10,000 x g pellet	0.65 ± 0.03	0.19 ± 0.02
100,000 x g pellet	1.88 ± 0.32	1.62 ± 0.06
100,000 x g supernatant	N.D.	N.D.

Cultured cells (MeWo) and tumor cells were homogenized, and the subcellular fractions were examined for LTC₄ synthase activity. Specific activity values represent the mean ± SE of 3 experiments. N.D.= not detected.

増加した(図3)。LTD₄は認められなかった。一方、モルモット肺のMicrosome分画とLTA₄による反応産物にはLTC₄とLTD₄の両方が認めら

れた。このことは、LTC₄をLTD₄に変換する酵素である膜結合型γ-グルタミルトランスフェラーゼがモルモット肺には存在しても、ヒトメラ

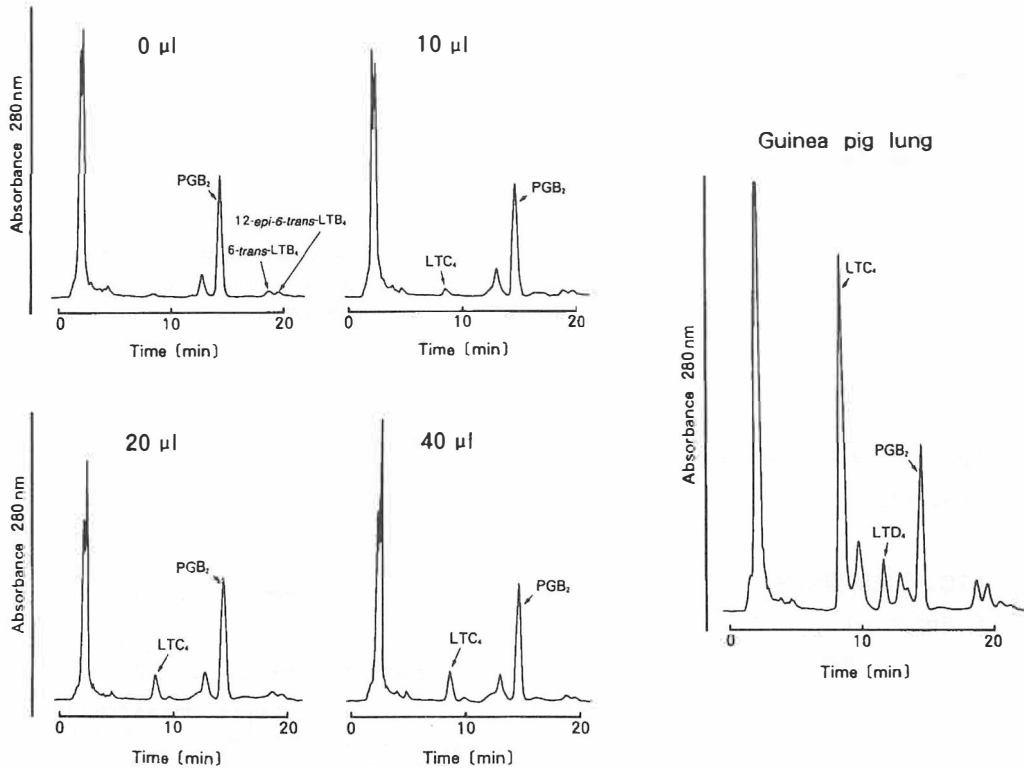


図3 Reverse phase HPLC profiles of products formed from the incubation of the microsomal fraction (100,000 x g pellet) of cultured melanoma cells (MeWo cells) incubated with LTA₄. LTC₄ is produced in a dose-dependent manner. LTD₄ was not detected. In contrast, both LTC₄ and LTD₄ are produced by the microsomal fraction of guinea pig lung, indicating that the microsomal fraction of MeWo cells lacks the membrane-bound g-glutamyl transferase that converts LTC₄ to LTD₄.

表3. Effects of Various Compounds on LTC₄ Synthase Activity in MeWo cells

Compound	LTC ₄ synthase activity (nmol/min/mg protein)
None	1.62 ± 0.06
CDNB (10 mM)	1.59 ± 0.06
NEM (10 mM)	1.61 ± 0.03
MK-886 (0.01 mM)	1.15 ± 0.00
MK-886 (0.1 mM)	0.66 ± 0.01
MK-886 (1 mM)	0.20 ± 0.01
MK-886 (10 mM)	N.D.

Effects on LTC₄ synthase activity in the microsomal fraction (100,000 x g pellet 1h) of MeWo cells by various compounds. LTC₄ synthase activity, which was assayed as described in Materials and Methods, was inhibited by increasing concentrations of MK-886. In contrast, 10 mM of CDNB and NEM had no effect on the production of LTC₄. Values are expressed as the mean ± SE of three experiments. N.D.= not detected.

ノーマ細胞には欠如していることを意味する⁽²³⁾。このMeWo細胞のMicrosome分画に局在するLTC₄合成酵素の性質を調べると、酵素活性はMK-886で濃度依存性に阻害されたが、10mM N-ethylmaleimideや10mM CDNB、過剰のグルタチオンの添加には影響を受けなかった(表3)。

4 考察

LTA₄は濃度依存性に培養新生児ヒトメラノサイトを活性化し^(12, 14)、LTC₄とLTD₄は培養新生児ヒトメラノサイトの細胞分裂を促進すると報告されている^(11, 13, 15)。従って、これらのロイコトリエンは種々の皮膚疾患における炎症後色素沈着の重要なメディエーターであるかもしれない^(10, 14, 16)。さらにメラノサイト自体によって産生されたロイコトリエンは表皮のケラチノサイト、他のメラノサイト、真皮の好中球、リンパ球、マクロファージ、肥満細胞、線維芽細胞、内皮細胞にも作用すると考えられる。このことから、メラノサイト自体のロイコトリエン産生を詳しく研究することは重要であろう。Abdel-Malekら⁽²⁸⁾の若干の報告があるものの、ヒトメラノサイトのロイコトリエン合成についての研究は乏しい。それで、今回、私達はロイコトリエンのメラノサイトへの影響ならびにメラノサイト自体のロイコトリエン産生能を検討してみた。ヒト正常メラノサイトを大量に調整するのは困難なので、私達は代わりにヒトメラノーマ細胞株としてMeWo cellを用いた。

LTA₄水解酵素活性は、皮膚科手術時に採取したヒトメラノーマ細胞およびヌードマウス移植ヒトメラノーマ細胞のCytosol分画に局在した(表1)。これは抗LTA₄水解酵素抗体を用いた免疫組織化学(data not shown)、ウエスタンブロッティング法においても確認できた(図2)。これらの結果は、従来のLTA₄水解酵素はモルモットのほぼ全ての細胞、組織に認められるという報告と一致する^(17, 21)。

一方、LTC₄合成酵素活性は、皮膚科手術時に

採取したヒトメラノーマ細胞およびヌードマウス移植ヒトメラノーマ細胞において、大部分はMicrosome分画(100,000×g pellet, 1 hr)に局在した(表2)。MeWo細胞のMicrosome分画とLTA₄による反応産物を逆相HPLCで解析すると、Microsome分画の量の増加とともにLTC₄の産生量は増加したが(図3)、LTD₄の産生は認められなかった。一方、モルモット肺のMicrosome分画とLTA₄による反応産物にはLTC₄とLTD₄の両方が認められた。このことは、LTC₄をLTD₄に変換する酵素である膜結合型γ-グルタミルトランスフェラーゼがモルモット肺には存在しても、ヒトメラノーマ細胞には欠如していることを意味する⁽²³⁾。このMeWo細胞のMicrosome分画に局在するLTC₄合成酵素の性質を調べると、酵素活性はMK-886で濃度依存性に阻害されたが、10mM N-ethylmaleimideや10mM CDNB、過剰のグルタチオンの添加には影響を受けなかった(表3)。MK-886はロイコトリエン合成の阻害剤⁽²⁹⁾であり、かつLTC₄合成酵素活性をも阻害する⁽³⁰⁾。N-ethylmaleimideはMicrosome分画に局在するグルタチオン-s-トランスフェラーゼを活性化する⁽³¹⁾、そしてCDNBはMicrosome分画に局在するグルタチオン-s-トランスフェラーゼの拮抗阻害剤である⁽³²⁾。この結果から、ヒトメラノーマ細胞において、LTA₄からLTC₄への変換に関与する主たる酵素はMicrosome分画に局在するグルタチオン-s-トランスフェラーゼや非特異的なグルタチオン-s-トランスフェラーゼではなく、LTC₄合成酵素であると考えられる。これについては、LTC₄合成酵素に対する特異抗体を用いた研究を継続中である⁽³⁰⁾。

さて、LTA₄水解酵素とLTC₄合成酵素の基質であるLTA₄はどのように合成されるかという問題が残っている。私達の予備的な実験結果では、アラキドン酸からLTA₄への変換に関与する酵素である5-リポキシナーゼ活性はヒト末梢白血球では認められたものの、MeWo細胞では認められなかった。これは抗5-リポキシナーゼ抗体を

用いた免疫組織化学、Western Blotting 法、さらに、5-リポキシゲナーゼ遺伝子をコードする cDNA の塩基配列に基づいて合成した適切なプライマーを用いた RT-PCR 法によっても確認できた。最近、ケラチノサイトに 5-リポキシナーゼ活性が存在するかどうかについては種々の論議がある。もし、メラノサイトやケラチノサイトに 5-リポキシナーゼ活性が存在しないということであれば、好中球などのような 5-リポキシナーゼ活性が存在する細胞から LTA₄ がメラノサイトやケラチノサイトに何らかの機構で移動し、LTA₄ 水解酵素や LTC₄ 合成酵素により LTB₄ や LTC₄ が生成すると仮定されている^(33, 34, 35)。このところの機構は興味深い、不明な点も多い。今回の研究結果はほんの第一歩であり、私達はメラノサイトとエイコサノイド、アラキドン酸カスケードに関係する酵素、エイコサノイド受容体の機能、細胞分布を明らかにし、これに基づいて各種炎症性皮膚疾患の炎症後色素沈着の機構を解明し、治療に結び付けていきたいと考えている。

5 追記

抗 LTA₄ 水解酵素抗体を提供していただいた東京大学医学部第 2 生化学教室の清水孝雄教授に感謝の意を表す。また、上記の結果は下記の論文で発表した。

Okano-Mitani H, Ikai K, Imamura S: Human melanoma cells generate leukotriene B₄ and C₄ from leukotriene A₄. Arch Dermatol Res 290:in press, 1997.

引用文献

- Ikai K, Danno K, Horio T, Narumiya S: Effect of ultraviolet irradiation on mast cell deficient W/W^v mice. J Invest Dermatol 85: 82-84, 1985
- Ikai K, Danno K, Horio T, Narumiya S: Ear swelling in response to UVB irradiation. Arch Dermatol Res 278: 455-448, 1986
- Ruzicka T, Simmet T, Peskar BA, Ring J: Skin levels of arachidonic acid-derived inflammatory mediators and histamine in atopic dermatitis and psoriasis. J Invest Dermatol 86: 105-108, 1986
- Ruzicka T: The physiology and pathophysiology of eicosanoids in the skin. Eicosanoids 1: 59-72, 1988
- Ikai K, Imamura S: Role of eicosanoids in the pathogenesis of atopic dermatitis. Pros Leuko Ess Fatty Acids 48: 409-416, 1993
- Samuelsson B: Leukotrienes: Mediators of immediate hypersensitivity reactions and inflammation. Science 220:568-575, 1983
- Lewis RA, Austen KF, Soberman RJ: Leukotrienes and other products of the 5-lipoxygenase pathway. New Eng J Med 323: 645-655, 1990
- Janssen TU, Tomic I, Specht E, Beilecke U, Habenicht AJ: The arachidonic acid cascade, eicosanoids, and signal transduction. Ann NY Acad Sci 733: 325-334, 1994
- Henderson WR: The role of leukotrienes in inflammation. Ann Intern Med 121: 684-697, 1994
- Tomita Y, Maeda K, Tagami H: Leukotrienes and thromboxane B₂ stimulate normal human melanocytes in vitro: possible inducers of postinflammatory pigmentation. Tohoku J Exp Med 156: 303-304, 1988
- Morelli JG, Yohn JJ, Lyons MB, Murphy RC, Norris DA: Leukotriene C₄ and D₄ as potent mitogens for cultured human neonatal melanocytes. J Invest Dermatol 93: 719-722, 1989
- Morelli JG, Hake SS, Murphy RC, Norris DA: Leukotriene B₄-induced human melanocyte pigmentation and leukotriene C₄-induced human melanocyte growth are inhibited by different isoquinolinesulfonamides. J Invest Dermatol 98: 55-58, 1992
- Morelli JG, Kincannon J, Yohn JJ, Zekman T, Weston WL, Norris DA: Leukotriene C₄ and

- TGF- α are stimulators of human melanocyte migration in vitro. *J Invest Dermatol* 98: 290-295, 1992
14. Tomita Y, Maeda K, Tagami H: Melanocyte-stimulating properties of arachidonic acid metabolites: Possible role in postinflammatory pigmentation. *Pigment Cell Res* 5: 357-361, 1992
 15. Medrano EE, Farooqui JZ, Boissy RE, Boissy YL, Akadiri B, Nordlund JJ: Chronic growth stimulation of human adult melanocytes by inflammatory mediators in vitro: Implication for nevus formation and initial steps in melanocyte oncogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 1790-1794, 1993
 16. Morelli JG, Norris DA: Influence of inflammatory mediators and cytokines on human melanocyte function. *J Invest Dermatol* 100: 191s-195s, 1993
 17. Ohishi N, Minami M, Kobayashi J, Seyama Y, Hata J, Yotsumoto H, Takaku F, Shimizu T: Immunological quantification and immunohistochemical localization of leukotriene A4 hydrolase in guinea pig tissues. *J Biol Chem* 265: 7520-7525, 1990
 18. メラノセル (Melanocell) 取扱説明書 (クラブウ)
 19. Carey TE, Takahashi T, Resnick LA, Oettgen HF, Old LJ: Cell surface antigens of human malignant melanoma: Mixed hemadsorption assays for humoral immunity to cultured autologous melanoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 73: 3278-3282, 1976
 20. Fogh J, Wright WC, Loveless JD: Absence of HeLa cell contamination in 169 cell lines derived from human tumors. *J Natl Cancer Inst* 58: 209-214, 1977
 21. Izumi T, Shimizu T, Seyama Y, Ohishi N, Takaku F: Tissue distribution of leukotriene A4 hydrolase activity in guinea pig. *Biochem Biophys Res Commun* 135: 139-145, 1986
 22. Ikai K, Okano H, Horiguchi Y, Sakamoto Y: Leukotriene A4 hydrolase in human skin. *J Invest Dermatol* 102: 253-257, 1994
 23. Izumi T, Honda Z, Ohishi N, Kitamura S, Tsuchida S, Sato K, Shimizu T, Seyama Y: Solubilization and partial purification of leukotriene C4 synthase from guinea-pig lung: a microsomal enzyme with high specificity towards 5,6-epoxide leukotriene A4. *Biochim Biophys Acta* 959: 305-315, 1988
 24. Furukawa M, Yoshimoto T, Ochi K, Yamamoto S: Studies on arachidonate 5-lipoxygenase of rat basophilic leukemia cells. *Biochim Biophys Acta* 795: 458-465, 1984
 25. Laemmli UK: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 256: 495-497, 1975
 26. Towbin H, Staehlin T, Gordon J: Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci USA* 77: 980-984, 1980
 27. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275, 1951
 28. Abdel-Malek Z, Swope V, Douplik C, Leikauf G, Nordlund JJ: Responsiveness of malignant and normal melanocytes to autocrine eicosanoids. *J Invest Dermatol* 92: 393, 1989
 29. Gillard J, Ford-Hutchinson AW, Chan C, Charleson S, Foster A, Fortin R, Leger S, McFarlane CS, Morton H, Piechuta H, Riendeau D, Rouzer CA, Rokach J, Young R, MacIntyre E, Eirmann G, Hopple S, Hupe L, Meurer R, Opas E, Pacholok S: L-663,536 (MK-886) (3-[1-(4-chlorobenzyl)-3-t-butyl-thio-5-isopropylindol-2-yl]-2,2-dimethylpropanoic acid), a novel, orally active leukotriene biosynthesis inhibitor. *Can J*

- Physiol Pharmacol 67:456-464, 1989
30. Welsh DJ, Creely DP, Hauser SD, Mathis KL, Krivi GG, Isakson PC: Molecular cloning and expression of human leukotriene-C4 synthase. Proc Natl Acad Sci USA 91: 9745-9749, 1994
31. Metters KM, Sawyer N, Nicholson DW: Microsomal glutathione s-transferase is the predominant leukotriene C4 binding site in cellular membranes. J Biol Chem 269: 12816-12823, 1994
32. Agarwal R, Raza H, Allyn DL, Bickers DR, Mukhtar H: Glutathione s-transferase-dependent conjugation of leukotriene A4-methyl ester to leukotriene C4-methyl ester in mammalian skin. Biochem Pharmacol 44: 2047-2053, 1992
33. Medina JF, Odlander B, Funk CD, Fu JY, Claesson HE, Ramark O: B-lymphocytic cell line Raji expresses the leukotriene A4 hydrolase gene but not the 5-lipoxygenase gene. Biochem Biophys Res Commun 161: 740-745, 1989
34. Jakobsson PJ, Odlander B, Claesson HE: Effects of monocyte-lymphocyte interaction on the synthesis of leukotriene B4. Eur J Biochem 196:395-400, 1991
35. Breton J, Woolf D, Young P, Chabot-Fletcher: Human keratinocytes lack the components to produce leukotriene B4. J Invest Dermatol 106: 162-167, 1996

細胞内小器官ペルオキシソーム：エーテルリン脂質の生合成と 酸素ラジカルスカベンジャー機能及び欠損症

九州大学 理学部

藤 木 幸 夫

We have isolated peroxisome biogenesis mutants from Chinese hamster ovary (CHO) cells by the 9-(1'-pyrene) nonanol/ultraviolet (P9OH/UV) method, using the wild-type CHO-K1 cells that had been stably transfected with cDNA encoding peroxisome assembly factor-1 (PAF-1). Nine P9OH/UV-resistant cell clones, ZP104, ZP105, ZP106, ZP107, ZP108, ZP109, ZP110, ZP111, and ZP114, were isolated and examined for intracellular location of catalase, a peroxisomal matrix enzyme, by immunofluorescence microscopy using anti-catalase antibody. These mutant cell clones showed cytosolic localization of catalase, apparently indicating the defect of peroxisome biogenesis. Mutants lacking morphologically recognizable peroxisomes also showed typical peroxisome assembly-defective phenotype such as severe loss of catalase latency and resistance to 12-(1'-pyrene) dodecanoic acid (P12) /UV treatment. By transfection of cDNAs for PAF-1 and PAF-2 and cell fusion analysis between the CHO cell mutants including previously isolated Z24, Z65, and ZP92, six mutants, ZP105, ZP104 and ZP109, ZP110 and ZP111, and ZP114 were found to belong to four novel complementation groups, respectively. Complementation analysis with fibroblasts from patients with peroxisome biogenesis disorders such as Zellweger syndrome revealed that ZP105 and ZP104/ZP109 were found to be in the same complementation group as human groups II and III, respectively. Furthermore, ZP110/ZP111 and ZP114 were not classified to any of ten human complementation groups, indicating that these two groups of mutants are in the 11th and 12th complementation groups in mammals. Thus, the newly isolated CHO cell mutants defective in peroxisome biogenesis would be very useful for not only isolating peroxisome biogenesis factors but also delineating pathogenic genes responsible for peroxisome biogenesis disorders.

1 緒 言

ペルオキシソーム (peroxisome) は、真核細胞に広く分布する一重の単位膜で囲まれた球状ないし楕円形の直径0.3から1 μ mの細胞内小器官 (オルガネラ) である。その生理的機能は過酸化水素の生成を伴う酸化反応 (呼吸反応) の他、脂肪酸の β 酸化、特に最近注目されている極長鎖脂肪酸 (炭素鎖C₂₂以上) の短鎖化、プラスマローゲンなどエーテルリン脂質の合成、胆汁酸の生合成など多岐にわたる¹⁾。一方、ペルオキシソーム機能の障害は遺伝性の致命的疾患をもたらすことが判明し、このオルガネラは生体機能に不可欠と考えられるに至っている。先天性代謝異常症ペルオキシ

ソーム病には、副腎白質ジストロフィー (ALD) などの単一酵素欠損症、rhizomelic chondrodysplasia punctataなどの複数酵素異常症およびペルオキシソーム欠損症がある。そのうち最も重篤なものはZellweger症候群や新生児型ALDなどいわゆるペルオキシソーム欠損症であり、平均寿命も1年未滿と非常に短く、常染色体劣性遺伝病として現在までに10の相補性群が報告されている^{2), 3)}。ペルオキシソームの形成機構については、細胞質の遊離型ポリソームで合成された構成タンパク質が翻訳後すでに細胞内に存在しているペルオキシソームに移送された後、成長、分裂により増殖していくというモデルが現在受け入れられている⁴⁾。また我々は、一群のペルオキシソームタンパク質の共通C末端3アミノ酸配列Ser/Ala-Lys/Arg/His-Ser-COOH (SKLモチーフ) がペルオキシソーム局在化シグナルであることもin vitroタンパク質輸送系、遺伝子工学的手法を用いて見出した^{3), 5)}。その他、ペルオキシソームの生合成機構やヒト欠損症病因解明を目的として、我々はヒト



Peroxisome : biogenesis of phospholipids, oxygen radical scavenger, and peroxisome biogenesis disorders

Yukio Fujiki,

Kyushu University Faculty of Science

ペルオキシソーム欠損症患児由来細胞と同じ表現型を示す3つの相補性群に属するペルオキシソーム欠損性 CHO (Chinese Hamster Ovary) 細胞株、Z24、Z65およびZP92を現在までに分離している^{6),7)}(図1)。その1つ、Z65細胞に対しペルオキシソームの形成を回復させるcDNAを遺伝学的相補活性を指標にしてクローニングし、その遺伝子産物を Peroxisome Assembly Factor-1 (PAF-1、ペルオキシソーム形成因子-1)と名付けた⁸⁾。また、このCHO変異細胞と同じ相補性群(日本F群、アメリカX群、ヨーロッパ5群)のZellweger症候群の患児由来線維芽細胞に対し、PAF-1 cDNAはペルオキシソームの形成を相補した。つぎに、この患者細胞由来のPAF-1遺伝子を解析したところ、119Arg (CGA)がstop codon (TGA)に点突然変異したいわゆる homozygous nonsense mutationのためペルオキシソーム形成能を有しないことが判明した⁹⁾。すなわち、世界で初めてこの病態の原因遺伝子が解明されたことになる³⁾。さらに両親は共に同じ部位に変異をもつ heterozygous mutation であることも明らかにし、Zellweger症候群が劣性遺伝病であることも分子レベルで証明した⁹⁾。また、変異細

胞ZP92に対しては、最近、相補活性を有するPAF-2 cDNAのクローニングに成功している¹⁰⁾。

本研究では、以下の項目を研究目的とした。

- 1.1 ペルオキシソームの形成機構と病因遺伝子の解明におけるCHO変異細胞の有効性が実証されたことから、さらにより多くの新しい相補性群に属するペルオキシソーム欠損性CHO変異細胞の分離を試みる。
- 1.2 新しく分離されたCHO変異細胞に対し、CHO細胞間およびヒトペルオキシソーム欠損症患者由来線維芽細胞との間で細胞融合法などにより相補性群を明らかにする。
- 1.3 CHO変異細胞の異常を正常化する相補遺伝子を単離するとともに、正常細胞との比較によりペルオキシソームの機能とくにプラスマローゲンの生合成とその機能について追究する。

2 実験

上記目的解明へ向けて、以下の手法を用いた。

- 2.1 新たなペルオキシソーム欠損性CHO細胞株の分離：ヒトの先天性ペルオキシソーム欠損症には現在少なくとも約10種類の相補性

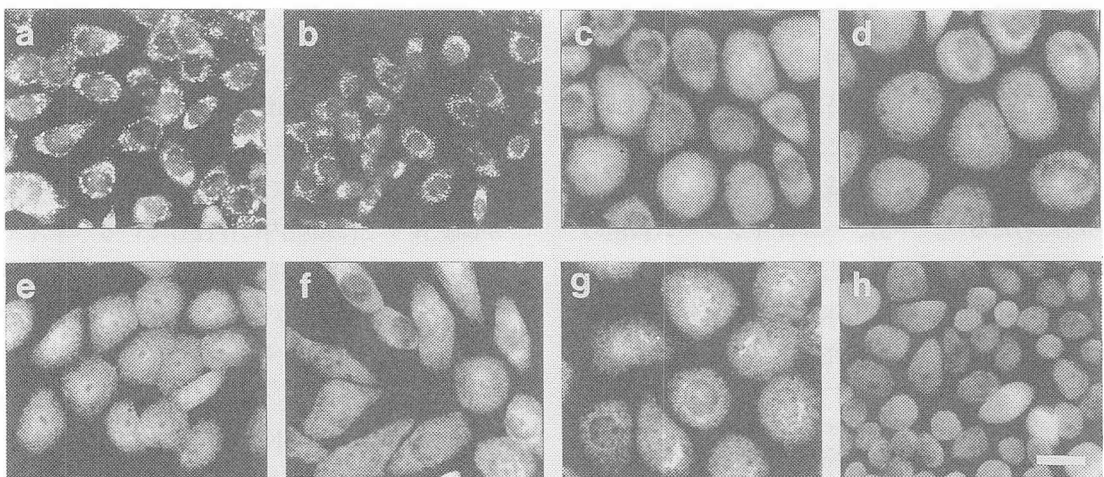


図1 CHO細胞野生株とペルオキシソーム欠損性変異細胞の表現型

ペルオキシソームマトリック酵素、カタラーゼは変異細胞ではサイトゾールに局在し、ペルオキシソームが認められない。a, CHO-K1野生株； b, PAF-1安定表現型野生株； c, 変異細胞ZP104； d, ZP105； e, ZP109； f, ZP110； g, ZP111； h, ZP114

群が知られているので、すでに分離している3つの相補性群CHO変異細胞に加えて、多くのペルオキシソーム欠損性変異細胞株を得るため、先に有用性を示した9-(1'-pyrene)nonanol (P9OH)/UV法などいわゆる変異株選択法を用いて変異細胞株の分離を試みた。但し、PAF-1cDNAのクローニングに用いたCHO変異細胞Z65と同じ相補性群に属する変異細胞の高頻度な分離を避けるため、CHO細胞(野生株)に予めペルオキシソーム形成因子-1 (PAF-1) cDNAを導入しておく変異原処理に供した。

2.2 ペルオキシソーム欠損性CHO変異細胞の相補群解析:新たに分離されたペルオキシソーム欠損性CHO変異細胞株について、CHO変異細胞間にみならず、ペルオキシソーム欠損症患者由来線維芽細胞との間ですべての組み合わせについて相補性群分類を行った。その方法としては、ポリエチレングリコールを用いた細胞融合法および現在すでにクローニングされているPAF-1、PAF-2のcDNA導入トランスフェクション法を併用した。

3 結果と考察

3.1 ペルオキシソーム欠損性CHO変異細胞株の分離と生化学解析^{11,12)}

P9OH/UV耐性細胞の中からペルオキシソームのマトリクスタンパク質であるカタラーゼに対する抗体を用いた蛍光抗体染色でペルオキシソームの有無を顕微鏡下で確認したところ、明らかにペルオキシソームを欠損シカタラーゼがサイトゾールに局在した9つの変異細胞、ZP104、ZP105、ZP106、ZP107、ZP108、ZP109、ZP110、ZP111およびZP114を得ることができた。さらにこれらの変異細胞について、細胞生化学的諸性質を検討したところ、ペルオキシソーム β -酸化系酵素のプロセッシング異常や12-(1'-pyrene) dodecanoic acid (P12)/UV処理に対する高い感受性など生化学的にも先に分離した変異細胞Z24、Z65およ

びZP92と同様の表現型を示し、ペルオキシソーム欠損性変異細胞と推定された。

3.2 相補性群分類^{11,12)}

つぎに、これらの新たに分離したCHO変異細胞および先に分離したZ24、Z65、ZP92を含めた細胞間相補性群解析を相補遺伝子導入法および細胞融合法により検討した。ZP92相補遺伝子であるPAF-2 cDNAのトランスフェクションではZP106に対してのみペルオキシソームの形成が観察されたことから、ZP106はZP92と同じ相補性群に属することが明らかになった。またPAF-1 cDNAのトランスフェクションではいずれの細胞もその異常が相補されなかったことから、Z65と同一相補性群の変異細胞は期待通り分離されなかったことになる。一方、細胞融合法による検討では、ZP107およびZP108はZ24との融合ではペルオキシソーム形成は認められず、Z24と同じ相補性群であることが明らかとなった。ZP104とZP109およびZP110とZP111はそれぞれ融合により相補できず同一相補性群であると判定した。ZP105およびZP114はいずれの細胞との融合によってもペルオキシソームが形成されたことから、それらいずれの細胞とも異なる相補性群に属することが判明した(表1)。

さらに患者由来細胞との融合試験から、ZP105はヒト相補性群II群(アメリカ)と、ZP104およびZP109はIII群とそれぞれ同じ相補性群に属することも明らかになった。ついで、ZP110とZP111およびZP114については、先に報告されているCHOおよびヒトのいずれの相補性群にも属さない、哺乳動物細胞における第11番目、第12番目の相補性群変異細胞であることも判明した。

以上の結果から、分離法の改良により新たなペルオキシソーム欠損性CHO変異細胞が効率よく得られることが実証されたことになり、この系を用いたさらに多くのペルオキシソーム欠損性CHO変異細胞の分離が期待される。ヒト相補性

表1 ペルオキシソーム欠損症相補性群と CHO 変異細胞および相補遺伝子

ヒト			相補性群臨床型	CHO変異細胞	相補遺伝子
日本	アメリカ	オランダ			
A	VIII		ZS, NALD, IRD		
B	VII		ZS, NALD		
C	IV	3	ZS	ZP92	PAF-2
D	IX		ZS		
E	I	2	ZS, NALD, IRD	Z24	
F	X	5	ZS	Z65	PAF-1
	II	4	ZS, NALD	(ZP105)	PTS1R
	III		ZS	(ZP104,ZP109)	
	VI		IRD		
G			ZS		
				(ZP110,ZP111)	
				(ZP114)	

ZS: Zellweger 症候群 NALD: 新生児型副腎白質ジストロフィー IRD: 乳児型 Refsum 病

群に属する2種の変異細胞 ZP105 および ZP104/ ZP109 を用いた病因解析や ZP110/ ZP111 細胞並びに ZP114 は2つの新しい哺乳動物細胞相補性群に属するペルオキシソーム欠損性 CHO 変異細胞であることが証明されたことからこれらを相補する新たなペルオキシソーム形成因子の単離につながると考えられる。さらにこれら動物細胞はプラズマローゲンの合成とその機能などまだ不明なペルオキシソームの生化学的研究にも有用であり、今後これらの点についても追究したい。

4 総括

本研究では新たな相補性群に属するペルオキシソーム欠損性 CHO 変異細胞の分離を、9-(1'-pyrene) nonanol (P9OH) /UV法を用いて試みた。その結果、多くの P9OH/UV耐性細胞からカタラーゼ抗体染色検定法により9つ (ZP104 ~ ZP114) の典型的なペルオキシソーム欠損性変異細胞を同定、分離した。これらの変異細胞について、既存の3種を含め CHO 変異細胞間およびペルオキシソーム欠損症患者由来線維芽細胞との細胞融合法等による相補性群解析の結果、ZP105、ZP104とZP109はそれぞれヒト相補性群II群、III

群と同じ相補性群に属すること、ZP110とZP111 および ZP114 はヒトを含む哺乳動物細胞における新たな2つ (第11、12番目) の相補性群変異細胞であることが明らかとなった。今後これらの変異細胞は相補遺伝子の単離など、ペルオキシソーム形成機構やプラズマローゲン等のラジカルスカベンジャー機能の解明への有用性が期待される。

謝辞

本研究を行うにあたり、御援助を頂いた財団法人コスモトロジー研究振興財団に謝意を表します。

引用文献

- 1) 藤木幸夫: ペルオキシソームの形成機構とペルオキシソーム病. 生化学 67:204 - 223 (1995).
- 2) 藤木幸夫: ペルオキシソーム病の遺伝子診断「遺伝子診断—その現状と展望」. 医学のあゆみ 174: 477 - 483 (1995).
- 3) Fujiki, Y.: Peroxisomal topogenic signals and the etiology of peroxisome - deficient disease. In Membrane Protein Transport (Rothman, S., ed.) JAI Press, Greenwich, 1996, vol. 3, 213 -

- 229.
- 4) Lazarow, P. B. and Fujiki, Y.: Biogenesis of peroxisomes. *Annu. Rev. Cell Biol.* 1, 489-530 (1985).
 - 5) Miura, S., Kasuya - Arai, I., Mori, H., Miyazawa, S., Osumi, T., Hashimoto, T., and Fujiki, Y.: C - Terminal consensus Ser - Lys - Leu - related tripeptide of peroxisomal proteins functions in vitro as a minimal peroxisome - targeting signal. *J. Biol. Chem.* 267, 14405 - 14411 (1992).
 - 6) Tsukamoto, T., Yokota, S. and Fujiki, Y.: Isolation and characterization of Chinese hamster ovary cell mutants defective in assembly of peroxisomes. *J. Cell. Biol.* 110, 651 - 660 (1990).
 - 7) Shimozawa, N., Tsukamoto, T., Suzuki, Y., Orii, T., and Fujiki, Y.: Animal cell mutants represent two complementation groups of peroxisome - defective Zellweger syndrome. *J. Clin. Invest.* 90: 1864 - 1870 (1992).
 - 8) Tsukamoto, T., Miura, S. and Fujiki, Y.: Restoration by a 35K membrane protein of peroxisome assembly in a peroxisome - deficient mammalian cell mutant. *Nature* 350, 77 - 81 (1991).
 - 9) Simozawa, N., Tsukamoto, T., Suzuki, Y., Orii, T., Shirayoshi, Y., Mori, T., and Fujiki, Y.: A human gene responsible for Zellweger syndrome that affects peroxisome assembly. *Science*, 255, 1132 - 1134 (1992).
 - 10) Tsukamoto, T. Miura, S., Nakai, T., Yokota, S., Shimozawa, N., Suzuki, Y., Orii, T., Fujiki, Y., Sakai, F., Bogaki, A., Yasumo, H., and Osumi, T.: Peroxisome assembly factor - 2, a putative ATPase cloned by functional complementation on a peroxisome - deficient mammalian cell mutant. *Nature Genet.* 11, 395 - 401 (1995).
 - 11) Okumoto, K., Bogaki, A., Tateishi, K., Tsukamoto, T., Osumi, T., Shimozawa N., Suzuki, Y., Orii, T. and Fujiki, Y.: Isolation and characterization of peroxisome - deficient Chinese hamster ovary cell mutants representing human complementation group III. *Exp. Cell Res.* 233, in press (1997).
 - 12) Tateishi, K., Okumoto, K., Shimozawa, N., Tsukamoto, T., Osumi, T., Suzuki, Y., Kondo, N., Okano, I. and Fujiki, Y.: Newly identified Chinese hamster ovary cell mutants defective in peroxisome biogenesis represent two novel complementation groups in mammals. *Eur. J. Cell Biol.*, in press (1997).

多成分油性皮膚透過促進システムの有効性及び作用機構に関する研究

城西大学 薬学部

杉林 堅次

Utility and action mechanism of a multi-component lipophilic skin-penetration enhancer, L-lactic acid-ethanol-isopropyl myristate (IPM) system (LEI system) were investigated. Silicone fluid, IPM, ethanol-IPM (EI) system, and L-lactic acid-IPM (LI) system were used for comparison with the LEI system. Rank order of the permeation of a model compound, ketotifen (KT) through excised hairless rat skin was silicone fluid < IPM < LI system << EI system < LEI system. Addition of ethanol in the lipophilic vehicles markedly increased the permeation of L-lactic acid as well as KF. Enormous effect by IPM on the ethanol permeation was found from a skin permeation experiment where the systems were applied on the dermis surface (not the stratum corneum surface). These results suggest that the penetration-enhancing effect of the LEI system is complicatedly related to the effects by each component in the system. The KT permeation through two artificial membranes, silicone membrane and porous polypropylene membrane was then measured for further understanding the mechanism of the LEI system. Although both membrane permeations were increased by ethanol, the ethanol effect on the polypropylene membrane permeation was much greater than the silicone one. Addition of L-lactic acid promoted the KT permeation through the polypropylene membrane. These results using artificial membranes suggest that the LEI system acts on the lipophilic domain in the skin barrier and that the solvent drag of KT by ethanol is one of the enhancement mechanism by the LEI system. The skin permeation experiments were finally done using nine drugs. This data pointed out that ethanol increased the skin permeation of ethanol-soluble drugs and that the addition of L-lactic acid was useful to increase basic drugs containing amino groups but acidic drugs containing carboxyl groups.

1 緒言

薬物の皮膚透過性を促進する添加剤（促進剤）の作用発現部位は、ごく一部の促進剤を除き、皮膚の薬物透過バリアーにある。したがって、十分な安全性と効果を兼ね備えた促進剤を開発するためには、皮膚バリアーの性質とその中での促進剤の作用機構について十分理解しておく必要がある。皮膚最外層に位置する角質層がこの最大のバリアーと考えられているが、ここには極性の異なる2つの領域、すなわち多孔性で親水性に富んだドメインと親油性に富んだドメインが存在する¹⁾。薬物はその親油性に応じて各々のドメインを浸透・透過するが、促進剤もその親油性に依存して

各ドメインに移行し透過促進効果を発揮するものと考えられる。促進剤のこのような選択的な皮膚バリアー移行性は種々の薬物に対する促進効果の違いと密接に関係する²⁾。

したがって、促進剤が皮膚バリアー中のどこに作用するかを評価することが重要となる。このような知見が得られたことに並行して、異なった吸収促進作用を示す添加剤を併用することによって効果や安全性がより高い促進システムを模索するようになった。著者らが報告したメントール/エタノール/水システムはその代表例である^{3,4)}。この促進系は水ベースの基剤中で大きな効果を発揮する。我々はさらに脂溶性基剤でも高い効果を示す促進剤を探索し、有機酸、低級アルコール、および脂肪酸エステルからなる親油性多成分システムがケトチフェン (KT) のヘアレスラット皮膚透過性を著しく促進することを報告した⁵⁾。また、最も強力な促進作用が乳酸 (1%)、エタノール (10%)、及びミリスチン酸イソプロピル (IPM) (89%) の組合せ (LEI系) で得られるこ



Skin penetration enhancement and mechanism by multi-component lipophilic systems

Kenji Sugibayashi

Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Josai University

とも明らかにした。しかし、LEI系を構成する各成分が皮膚バリアーのどの部位に影響するのかは明らかとなっていない。

そこでこの問題を解明することを目的に、ヘアレスラット皮膚に加えて親油性のドメインおよび多孔性で親水性のドメインの典型的なモデルとしてシリコン膜および多孔性ポリプロピレン膜⁶⁻⁸⁾を選択してKT透過性を測定した。また、乳酸、エタノール、IPMの一部または全てを含有する油性基剤からこれらの膜を介するKT透過性を測定した。さらに物理学的性質を指標に種々薬物の皮膚促進効果の差異を評価し、このシステムの有効性と特徴を明らかにすることとした。

2 実験

2.1 試薬

フマル酸ケトチフェンはサンド薬品(株)から供与されたものを用いた。インドメタシン (IDM) および硝酸イソソルビド (ISDN) は東光薬品工業(株) (東京) から、イブプロフェン (IP)、ジクロフェナクナトリウム (DCナトリウム) はそれぞれ日清製粉(株)および浜理薬品工業(株)から供与された。また、アミノピリン (AMP) は和光純薬工業(株) (大阪) から、アンチピリン (ANP)、メチルパラベン (MP) およびエチルパラベン (EP) は東京化成工業(株) (東京) から購入した。医療用シリコン膜 (Silastic[®]、厚さ0.005inch) 及び対照基剤として用いた医療用シリコン液 (Medical fluid 360、粘度19mPa·s) はダウコーニングアジア (神奈川) から供与された。多孔性ポリプロピレン膜 (セルガード[®]2400、空隙率38%、ポア径 $0.2 \times 0.02 \mu\text{m}$ 、厚さ $25 \mu\text{m}$) はヘキストセラニーズ(株) (米国) から入手した。他の基剤成分であるエタノール、乳酸 (L-乳酸)、IPM およびその他溶媒や試薬は特級品を購入後そのまま用いた。

2.2 皮膚及び人工膜試料の作成

雄性ヘアレスラット (WBN/ILA-Ht系、体重180 g、城西大学生命科学研究センター、埼玉)の

腹部皮膚をペントバルビタール麻酔下摘出後、直ちに用いた。シリコン膜は微温湯中で洗い、室温にて一晩乾燥させた。多孔性ポリプロピレン膜はそのまま用いた。

2.3 透過実験法

透過実験にはすべて横型の2チャンバー拡散セル (有効拡散面積; 0.95 cm^2 、容積; 2.5 ml) を用い、このセルに摘出皮膚、シリコン膜あるいは多孔性ポリプロピレン膜をはさんだ。薬物を懸濁させたシリコン液、IPM、乳酸 (1%) - IPM (99%) 系 (LI系)、エタノール (10%) - IPM (90%) 系 (EI系) またはLEI系の各基剤を片方のセル (ドナー側) に適用し、もう一方のレシーバ側セルには同量の蒸留水を満たした。なお透過実験は 37°C の温度条件下で行った。試料溶液 ($0.2 \sim 1.0 \text{ ml}$) を定期的にレシーバ側から採取し、容量を保つため同量の蒸留水を加えた。また、実験中の薬物と基剤成分の熱力学的活動度の減少を防ぐため、ドナー側の基剤を定期的に交換した。

2.4 分析法

すべての薬物はHPLC法で定量した。また、エタノール、乳酸、およびIPMの定量にはガスクロマトグラフィーを用いた。

3 結果および考察

3.1 ケトチフェンおよび基剤成分の皮膚透過に及ぼすLEI系の促進効果

LEI系の皮膚透過促進メカニズムを明らかにするため、LEI系に加え、IPMのみ、LI系およびEI系を用いた。なお、対照基剤として、この系が油性基剤であることを考慮して、皮膚に対して不活性なシリコン液を用いた。Table 1にこれら各基剤からのKTのヘアレスラット皮膚を介する定常状態透過速度とラグタイムを基剤中溶解度と共に示す。基剤をシリコン液からIPMにすることで、KTの溶解度および透過速度が増加し促進効果が認められた。またラグタイムも短縮され、

IPM が皮膚に作用していることが推察された。IPM への乳酸の添加 (LEI 系) はさらに KT の透過を促進した。一方、IPM または LEI 系にエタノールを添加する (EI、LEI 系) と非常に高い促進効果が得られ、LEI 系での促進メカニズムにエタノールが大きな役割を果たしていることが示唆された。

次に基剤成分であるエタノール、IPM および乳酸の各基剤系からの透過性を調べた。すべての系

で IPM の透過は認められなかった。しかし、IPM の高い脂溶性と促進効果を考慮すれば、IPM は角質層中に移行すると考えられる。Table 2 には LI、EI および LEI 系からのエタノールおよび乳酸の透過速度を示す。LI 系からの乳酸の透過速度はエタノールの添加 (LEI 系) により 6.5 倍と大きく促進された。したがって、乳酸の透過性にもエタノールが関与していることが明らかとなった。一方、EI 系からのエタノールの透過は乳酸を添加 (LEI 系) することにより若干増加した程度であった。

基剤中の個々の構成成分の促進効果へのかかわりをさらに明らかにするために、皮膚の角質層側あるいは真皮側に各基剤系を適用し、KT および基剤成分の透過性の変化を検討した。Fig. 1 に角質層側あるいは真皮側にそれぞれの基剤系を適用したときの KT の透過挙動を示す。シリコン液を各側に適用したときの KT 皮膚透過性は等しかった (○、●、Fig. 1 a)。このことはシリコ

Table 1 KT solubility in various vehicle system, and flux and lag time of KT through hairless rat skin

vehicle	solubility (mg/mL)	flux ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$)	lag time (h)
silicone fluid	8.41×10^{-3}	0.3 ± 0.1	7.5 ± 2.0
IPM	0.105	2.5 ± 0.2	5.0 ± 0.3
LI system	0.106	18.5 ± 1.4	2.9 ± 0.1
EI system	0.855	2044.4 ± 121.8	2.2 ± 0.3
LEI system	2.22	2785.2 ± 254.2	0.6 ± 0.1

Table 2 Ethanol and L-lactic acid fluxes through hairless rat skin from various vehicle system

vehicle	ethanol ($\text{mg}/\text{cm}^2/\text{h}$)	L-lactic acid ($\text{mg}/\text{cm}^2/\text{h}$)
LI system	—	0.76 ± 0.07
EI system	40.0 ± 4.81	—
LEI system	49.0 ± 3.35	4.88 ± 0.16

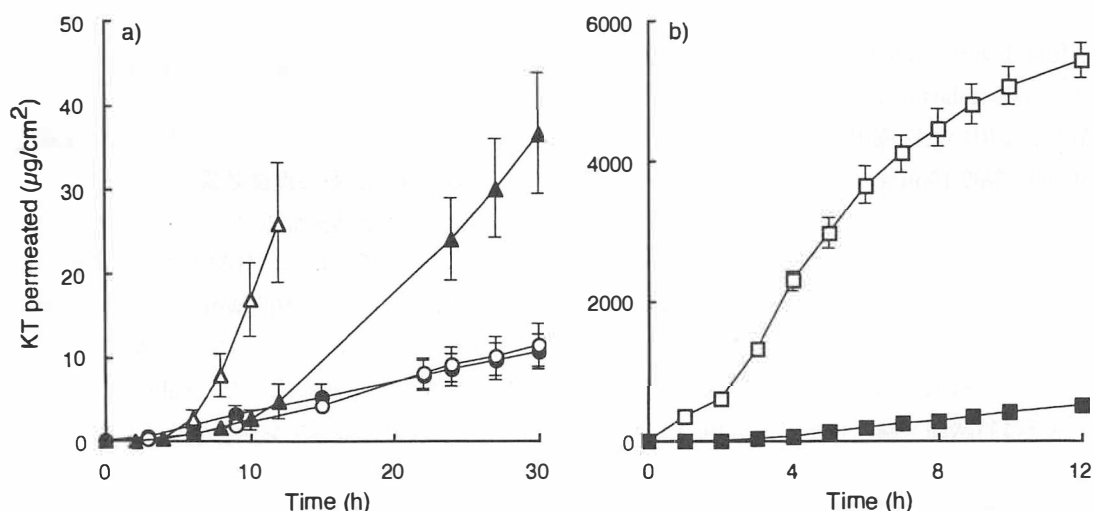


Fig. 1 ヘアレスラット皮膚角質層側から真皮側および真皮側から角質層側への KT の in vitro 透過性
 オープンシンボル：角質層側から真皮側透過、クローズドシンボル：真皮側から角質層側透過、
 a) シリコン液 (○、●)、IPM (△、▲)、b) EI 系 (□、■) それぞれは平均値 \pm S.E. (n=3-9) を示す。

ーン液が皮膚に対して何ら作用を及ぼさないことを示している。角質層側に IPM を適用した場合の KT の透過速度 (Δ) は真皮側に IPM を適用したとき (\blacktriangle) に比べ 2 倍高かった。また真皮側適用時には実験開始より 12 時間まではシリコン液と同じ透過速度を示し、それ以降に KT の透過促進が認められた。これは親水性の高い真皮中での IPM の拡散が極めて遅いことに起因していると考えられる。一方 IPM にエタノールが添加されると (すなわち EI 系とすると)、同様に角質層側適用時の KT の透過 (\square) は真皮側適用時 (\blacksquare) より 50 倍も高かった (Fig. 1 b)。また IPM で認められたような促進効果の遅れはなかった。Fig. 2 にこのときのエタノールの透過性を示す。エタノールの皮膚透過性も角質層側への基剤の適用で高くなった。Fig. 1 b と Fig. 2 の結果を併せて考えれば、IPM の真皮中拡散はエタノールにより改善されていることが予測された。一方、エタノールは比較的速やかに真皮を透過するので、エタノールの角質層透過も IPM により促進されていることが推測できる。ここで認められたエタノールの両方向での皮膚透過性の差は、真皮の存在によって角質層中の IPM 濃度が低くなるのが原因

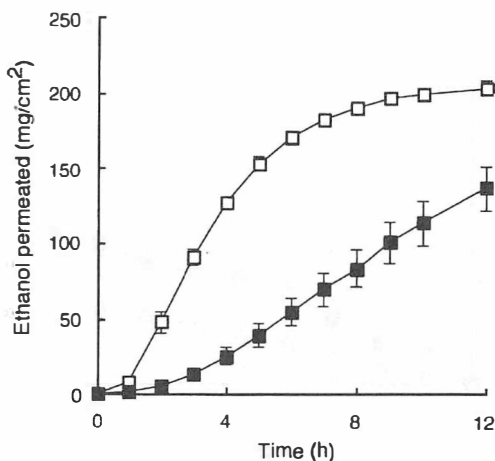


Fig. 2 ヘアレスラット皮膚角質層側から真皮側および真皮側から角質層側へのエタノールの *in vitro* 透過性
オープンシンボル：角質層側から真皮側透過、クロズドシンボル：真皮側から角質層側透過、それぞれは平均値±S.E. (n=3-6) を示す。

となっていると推察され、また、その結果が KT の透過性の差に反映されたと考えられる。

LEI 系の作用機序は複雑であり、KT の透過促進効果には基剤成分相互の皮膚透過あるいは皮膚移行の増加が関係していると考えられる。これまでの結果から最も促進効果発現に寄与が大きいのはエタノールであると予測される。エタノールには溶媒牽引 (共輸送あるいは solvent drag) と呼ばれる効果があることが知られている⁹⁾。この効果の出現は基剤中の薬物の溶解性 (度) に密接に関係している。すでに Table 1 に示したように促進効果の増大に伴って基剤中の薬物溶解度も大きく増加している。また、エタノールの透過性の増加とともに KT の透過も増加している。したがってエタノールの皮膚透過が KT の透過促進メカニズムに関連していると推定できる。また、エタノールと乳酸により作り出される酸性の環境も KT 溶解度の増加、ひいては薬物の透過促進に寄与していると考えられる。

3.2 人工膜に対する促進効果

前述したように、角質層は単純な脂質膜ではなく、親水性および親油性の部分の合わせ持った不均一な膜であると考えられる。LEI 系の吸収促進機構を解明するためには、これらのどちらの経路にどの程度作用するのかを知ることが重要である。そこで皮膚の脂質部分のモデル膜としてシリコン膜を、また水溶性の部分のモデル膜として多孔性ポリプロピレン膜を用いて LEI 系の主な作用部位について検討した。Fig. 3 にシリコン膜 (a) およびポリプロピレン膜 (b) を通る KT の各基剤系からの透過推移を示す。シリコン膜の KT の透過は IPM にエタノールを添加 (EI 系) することにより増加したが、この基剤系に乳酸を添加 (LEI 系) すると透過の抑制が観察された。この現象は IPM に乳酸を添加 (LI 系) することによっても認められた。またポリプロピレン膜透過においても IPM へのエタノール添加の効果は大きく、さらに乳酸の添加により透過の促進が認め

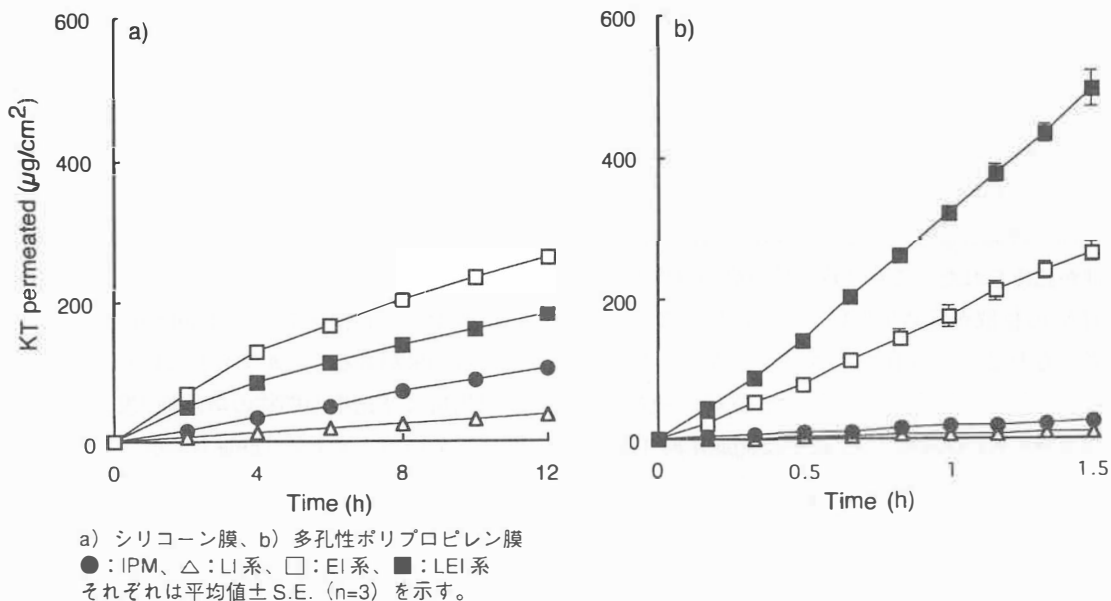


Fig. 3 人工膜を介した KT 透過性

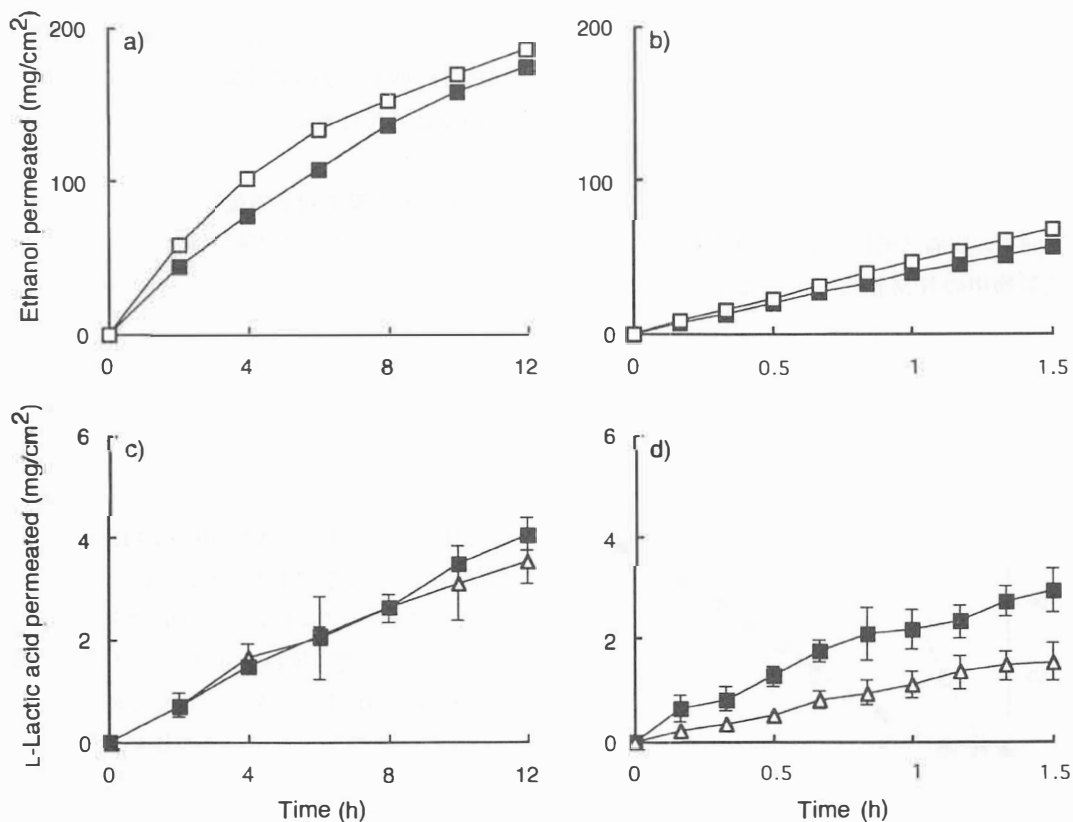


Fig. 4 人工膜を介したエタノールおよび乳酸透過性

られた。しかしながらLI系においてはシリコン膜の場合と同様にIPMよりもKTの透過が抑制された。Fig. 4はエタノール(a, b)および乳酸(c, d)の各人工膜透過を示す。エタノールの透過性は用いた2つの人工膜でEI系、LEI系のどちらの基剤系を適用しても等しかった。また、LI、LEI系からの乳酸のシリコン膜透過性の差は認められなかったが、乳酸のポリプロピレン膜透過性はエタノールが添加されることによって上昇することが認められた。

これらの結果から、エタノールはシリコン膜およびポリプロピレン膜両者でのKT透過促進効果に関係しているが、乳酸に関しては脂溶性膜では作用せず水溶性透過経路でエタノールと協力的に効果を示すことが示唆された。また皮膚においてもLEI系が最も優れた促進効果を示していることから、LEI系は皮膚の水溶性の透過経路に主に作用してKTの透過を促進していると考えられる。

3.3 種々薬物に対するLEI系の促進効果¹⁰⁾

次にいくつかの薬物に対する促進効果を調べ、

その物理化学的性質からLEI系の促進効果メカニズムについて検討した。Table 3に実験に用いた薬物のpKa、溶解度パラメータ(S.P.)、分子量(M.W.)および各基剤中の溶解度を示す。Factorsの官能基寄与法¹¹⁾により求めた溶解度パラメータは10.22から13.31(cal/cm³)^{1/2}の範囲であった。分子量は皮膚中の拡散係数に大きく影響を及ぼすが、本実験で用いた薬物の分子量は最小(MP)と最大(フマル酸ケトチフェン)で1.7倍の差であり、拡散への影響は無視できると考えられた。一方、基剤中の溶解度は薬物により大きく異なり、すべての基剤中で小さな溶解度パラメータをもった薬物が高い溶解度を示した。例外としてISDNと2つのパラベン類(MPおよびEP)が溶解度パラメータから予測されるより高いシリコン液およびIPM中溶解度を示した。IPM中の溶解度はすべての薬物でシリコン液中よりも高い値を示した。またIPMへのエタノールの添加(EI系)はISDN以外の薬物の溶解度を著しく増加させた。一方LEI系中の溶解度はAMPとフマル酸ケトチフェンのみがEI系よりも高く、これには2つの薬物のもつアミノ基と乳酸のもつカルボキシル基

Table 3 Physicochemical properties of drugs

	pKa (acid / base)	S.P. (cal/cm ³) ^{1/2}	M.W.	solubility (mg/mL)			
				silicone fluid	IPM	EI system	LEI system
Ibuprofen (1, IP)	5.20 acid	10.22	206.27	2.56	172.59	301.95	274.41
Aminopyrine (2, AMP)	5.00 base	10.86	231.29	2.36	24.03	52.96	136.83
Antipyrine (3, ANP)	1.50 base	11.27	188.23	0.31	7.35	43.72	44.23
Ketotifen fumarate (4, KT:Ketotifen)	6.05 base	11.89	425.50	0.01	0.10	0.86	2.23
Ethyl paraben (5, EP)	8.4 acid	12.82	166.17	0.05	28.70	134.58	137.38
Diclofenac sodium (6, DC:Diclofenac)	4.00 acid	12.93	318.13	0.02	0.06	1.03	0.618
Indomethacin (7, IDM)	4.50 acid	13.03	357.81	0.02	2.47	15.24	17.36
Isosorbide dinitrate (8, ISDN)	—	13.09	236.14	1.31	23.67	26.22	24.17
Methylparaben (9, MP)	8.4 acid	13.31	152.14	0.04	38.64	103.22	100.86
		ketotifen					

S.P.: solubility parameter, M.W.: molecular weight

の相互作用もしくは乳酸添加によるアニオン型分率の増加が関係している可能性が考えられた。

Fig. 5 に各々の薬物の溶解度パラメータと基剤間の透過速度の比の関係を示す。IPMからの各薬物の透過速度はシリコン液からより高かった (ISDNで2.1倍、ANPで16.7倍) (Fig. 5 a)。またこの促進比は溶解度パラメータの増大とともに減少する傾向を示した。次にエタノールの効果を明らかにするため、IPMからとEI系からの透過速度の比を溶解度パラメータに対してプロットした (Fig. 5 b)。IPMにエタノールを添加するとエタノールと同程度の溶解度パラメータを示す薬物の透過速度が増加し、透過速度の比と溶解度パラメータの関係はベル型となった。本結果からもエタノールの solvent drag 効果の存在が推定された。

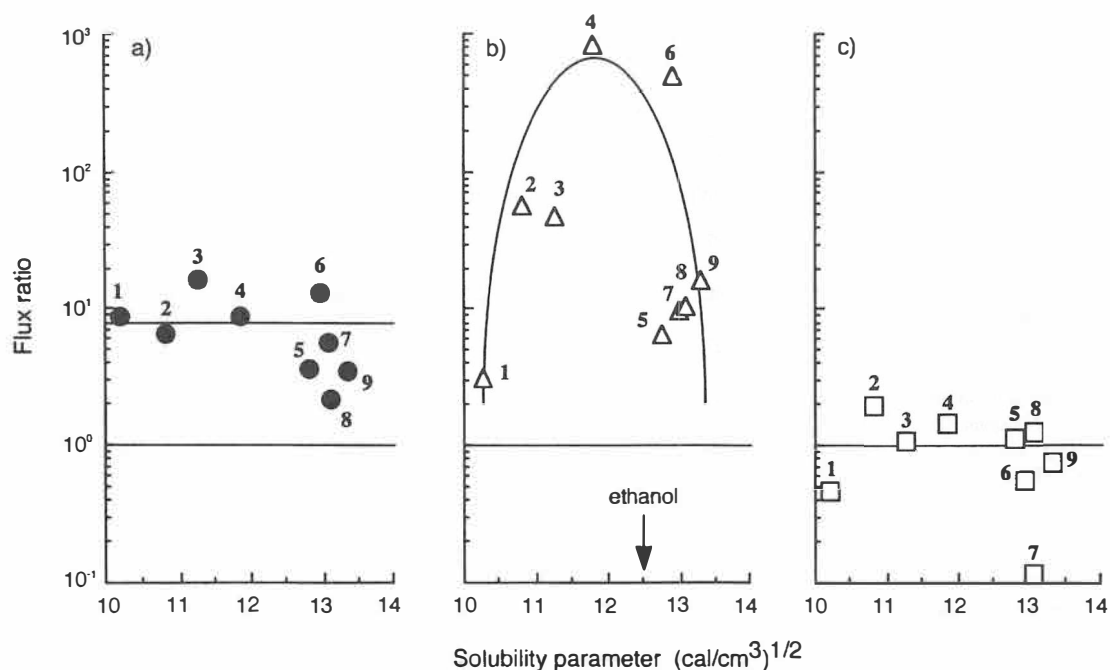
Fig. 5 cはEI系とLEI系の透過速度の比の関係を示している。この比は乳酸の添加により3級アミンを構造中にもつ塩基性薬物のAMPとKTで

1より大きく (つまり促進効果が認められ)、カルボキシル基をもった酸性薬物のIP、DCおよびIDMで1より小さな値を示した。乳酸はカルボキシル基を有していることから、酸性、塩基性薬物間の促進効果の違いには薬物と乳酸の相互作用が関係していることが推察された。

本検討からIPMが不活性基剤であるシリコン液と比べ様々な物理化学的な性質を有する薬物の皮膚透過性を上昇させること、またエタノールのIPMへの添加による透過促進効果はエタノールに溶けやすい薬物に対してより効果的に現れることが明らかとなった。さらにLEI系の乳酸はその酸性が塩基性薬物との相互作用により、薬物の皮膚中の拡散性を増大し、薬物の皮膚透過を促進していることが示唆された。

4 総括

本研究で用いたような多成分系の促進剤の作用機序は非常に複雑である。基剤の各構成成分を組



a) IPMのみ/シリコン液、b) EI系/IPMのみ、c) LEI系/EI系

Fig. 5 各薬物の溶解度パラメータと皮膚透過速度比の関係

み合わせて検討を行うことにより、各々の成分の果たしている役割が明らかとなり、基剤成分相互の促進効果により薬物の皮膚透過促進が達成されていることがわかった。また促進効果には薬物の物理化学的性質も関係し、いくつかの条件が合致したときに大きな効果が現れることが明らかとなった。このような促進メカニズムを検討することで、応用可能な薬物を選択することができるとともに、さらに新しい促進系の発見の糸口ともなると考えられる。経皮吸収型製剤の開発にはまだまだ多くの障害が存在している。本研究がその一助となれば幸いである。

参考文献

- 1) Ghanem AH, Mahmoud H, Higuchi WI, et al., : The effects of ethanol on the transport of β -estradiol and other permeants in hairless mouse skin. II. A new quantitative approach. *J. Controlled Release*, 6, 75-83, 1987.
- 2) Barry BW, : Lipid-protein-partitioning theory of skin penetration enhancement. *J. Controlled Release*, 15, 237-248, 1991.
- 3) Morimoto Y, Sugibayashi K, Kobayashi D, et al., : A new enhancer-coenhancer system to increase skin permeation of morphine hydrochloride *in vitro*, *Int. J. Pharm.*, 91, 9-14, 1993.
- 4) Kobayashi D, Matsuzawa T, Sugibayashi K, et al., : Analysis of the combined effect of l-menthol and ethanol as skin permeation enhancers based on a two-layer skin model. *Pharm. Res.*, 11, 96-103, 1994.
- 5) Nakamura H, Pongpaibul Y, Hayashi T, et al., : Effect of lipophilic multicomponent system on the skin permeation of ketotifen fumarate. *Int. J. Pharm.*, 141, 71-80, 1996.
- 6) Lee SJ, Kurihara-Bergstrom T, Kim SW, : Ion-paired drug diffusion through polymer membranes. *Int. J. Pharm.*, 47, 59-73, 1987.
- 7) Hatanaka T, Inuma M, Sugibayashi K, et al., : Prediction of skin permeability of drugs. I: Comparison with artificial membrane. *Chem. Pharm. Bull.*, 38, 3452-3459 (1990).
- 8) Hatanaka T, Inuma M, Sugibayashi K, et al., : Prediction of skin permeability of drugs. II. Development of composite membrane as a skin alternative. *Int. J. Pharm.*, 79, 21-28, 1992.
- 9) Karino A, Hayashi M, Horie T, et al., : Solvent drag effect in drug intestinal absorption. I. Studies on drug and D₂O absorption clearances. *J. Pharmacobio-Dyn.*, 5, 410-417, 1982.
- 10) Nakamura H, Kobayashi Y, Sugibayashi K, et al., : Effect of L-lactic acid-ethanol-isopropyl myristate mixed system on the skin permeation of several drugs, *Drug Delivery System*, 12, 101-106, 1997.
- 11) Fedors RF, : A method for estimating both the solubility parameters and molar volumes of liquids. *Polymer Eng. Sci.*, 1, 147-154, 1974.

Ⅲ. 精神、文化に関する分野

化粧と痴呆老人に関する基礎研究

産業医科大学

松岡成明

In this study, we measured laughter expressions as a fundamental study of makeup in dementia patients. The laughter expressions of the patients were measured by the presence communication systems, and were analyzed using FACS and distance between the characteristic points. From the results of this investigation, following points were suggested.

- (1) Amount of eye movements of dementia patients were less than that of not dementia patients
- (2) Facial movements of dementia patients were not symmetric

1 緒言

化粧の効果は、とりわけ意思表示や対人魅力などの、心理的効能に関して、広く体験されるところである。しかし、痴呆患者をはじめとする、脳に疾患のある高齢者への影響については、あまり報告されていない。老人病院など的高齢者施設にて、われわれが観察した中には、異性とのコミュニケーションが多い場では、女性痴呆患者の表情が、明るく、活性化し、化粧をし始めたという例もいくつかある。

表情は、脳の活動が反映されたものであり、感情の種類によって支配する部位が異なると考えられている。また、非言語コミュニケーションにおいても、表情は最も重要なチャンネルであり、個人の内的感情を推測する手がかりとなる。そこで本研究では、化粧と痴呆老人に関する基礎的な研究として、痴呆患者の表情の測定・解析を行い、非痴呆患者との比較・検討を行った。

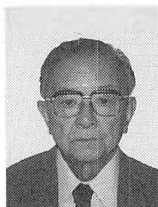
2 表情の測定にあたって

表情に関する研究は、これまで心理学や精神分析学の分野で広く行われてきた。その中で、数ある表情のうち幸福の感情の表出である笑い表情が、最も判断が容易であるとされている。本研究では、患者の表情として笑いに着目し、笑いの表情の指標として次の2種類に分類した。1つは、眼元の笑いである。もう1つは、口元の笑いである。眼元の笑いは、主として眼輪筋によって形成され、前頭連合野(新皮質)が関係しているという。一方、口元の笑いは主として口輪筋によって形成され、辺縁系が関係しているという。したがって、眼元の笑いは人間でなければできない笑いといえるのに対して、口元の笑いは原始的であると考えられる。

以上の見解を前提として、患者の笑い表情の測定を行い、その所見から痴呆患者に与える化粧の影響を検討することが本研究の目的である。将来的には、痴呆患者に与える化粧の効能の評価や、非侵襲的な痴呆の診断などのパラメディカルな応用が期待できる。

3 表情の測定システム

まず、TVモニタによる刺激の呈示によって誘発された表情の変化を、ビデオカメラで収録するシステムを検討した。これは近年インターネット



A Fundamental Study of Makeup in Patients with Dementia

Shigeaki Matsuoka

University of Occupational and Environmental Health (Kitakyushu)

などでも使用されている、TV会議システムである(図1)。しかしながら、この方式では、TVモニターの上にカメラが設置されていることから、患者の表情を、正面からとらえることができない。そのため、臨場感通信システムを応用した。このシステムは、患者とTVモニターの間、ハーフミラーが設置されている。ハーフミラーの透過によって、患者はモニター上の映像を観察することができる。同時に、ビデオカメラは、ハーフミラーの反射によって、患者の表情を正面からとらえることができる(図2)。さらに、このシステムを使用した表情の測定では、特に幸福の感情の判別が容易となるという報告がある。

4 予備実験

患者の笑い表情を測定するためには、まず、患者の方々に笑っていただくための呈示内容の検討が必要となる。まず、北九州中央病院・脳神経外

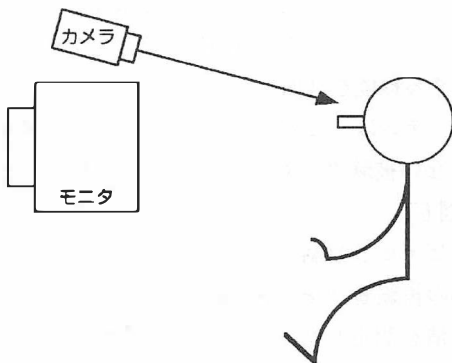


図1 TV会議システム

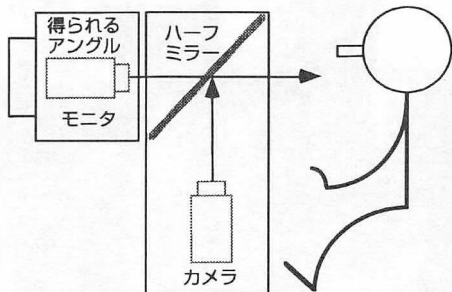


図2 ハーフミラーを用いた臨場感通信システム

科の4例の患者(68~87歳)を対象として、呈示内容の検討を目的とした、試験的な表情の測定を行った(図3)。呈示内容は、ビデオソフトとして販売されている、次の3種類を選択し、30分程度に編集して使用した。

- 1) ホームビデオで撮影した、子供の失敗など
- 2) ドタバタしたコメディ
- 3) アニメーション

なお、表情の測定にあたっては、患者の家族に研究目的および方法を説明し、同意書に記名・捺印を得た。

4.1 測定結果

4例の患者の中で、3例が笑い表情を形成した。ただし、呈示内容そのものというよりは、検者との会話によって、笑い表情が誘発されたように思われた。図4に、患者の表情の変化および測定中の検者との会話のプロトコルの1例を示す。

4.2 本実験への課題

今回の試験的な測定から、以下の諸点が、本実験への課題として示唆された。

- (1) 患者の緊張を軽減するため、個別で行うのではなく、複数の患者を同時に対象とするなどの、測定条件の検討。
- (2) 患者のプロトコルを考慮に入れた呈示刺激の検討。
- (3) 患者の表情の変化を定量的に把握するため

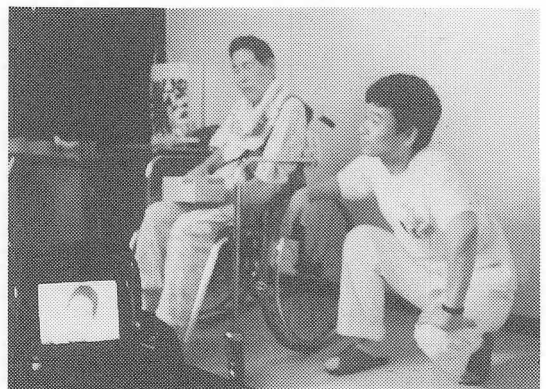


図3 表情の測定風景



N.F. 87歳 女性
左視床出血(H.6.5.29発症)

プロトコル
Doctor (以下D): どうでした? ちょっと疲れたかな?
Subject (以下S): 疲れました。
D: ちょっと笑えた? どうだった?
S: 笑えるところが少なかった。
D: 何か面白かった?
S: 子供のものが面白かった。
D: 漫画とか大阪弁のはどうだった?
S: まあ、よくやっていると思いました。
D: けど、あんまり面白くなかった?
S: あんまり笑えなかった。
D: 最後の漫画は?
S: ようございました。
D: おかしかった? かわいかった? どうかね。
S: 楽しかった。

図4 患者の表情の変化およびプロトコルの1例

の、解析手法の開発。

5 実験

予備実験の結果から示唆された課題について、それぞれ検討を行い、本実験を行った。なお本実験は、主として下関市の昭和病院にて行った。

5.1 測定条件について

閉ざされた空間のなかで、個別にビデオを呈示する方法をやめ、広い空間で、2人の被験者を同時に測定する方法を採用した。実験室には、解放感を高めるため、リハビリテーションルームを選

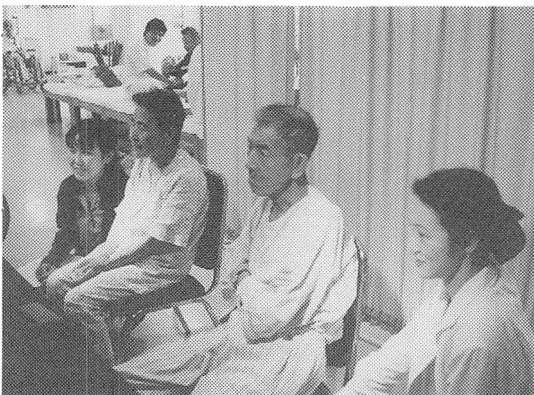


図5 本実験での測定風景

定し、その一角に、測定システムを設置した。ここでは、常時、多くの患者の方々がりハビリテーションに取り組んでいるため、リラックスした雰囲気の中で、被験者の方々に実験への参加を求めることができた。

呈示内容には、ホームビデオで撮影した子供や動物のハプニングや失敗などを、20分程度に編集したものを使用した。これは、予備実験の被験者に、比較的好評であったためである。実験中は、若い女性の検者に、被験者の傍らで

付き添い、ビデオを観察して一緒に笑うことを求めた(図5)。

また、予備実験では、検者との会話によって笑い表情が多く誘発されたため、測定システムに、お互いの顔を見て、自由にコミュニケーションができる機能を付加した。このような対話型の測定システムは、ビデオを観察しても笑い表情を形成しない被験者に対して、とりわけ有効であった(図6)。

ビデオと対話という2種類の条件で、のべ21例の被験者(58~89歳、うち痴呆患者7例)の表情を測定した。なお、痴呆患者と非痴呆患者



図6 対話型測定システム

は、CTや長谷川式スコア、および神経学的所見などの、臨床データから判別した。

5.2 表情の解析手法

測定した被験者の表情の解析には、以下の3種類の手法を採用し、定量化を行った。

- 1) FACSによる主観評価
- 2) 特徴点による客観評価
- 3) オプティカルフローを求める画像処理

5.2.1 FACSによる主観評価

FACS (Facial Action Coding System) は、表情を要素に分解し、感情を記述するための手法であり、表情の評価に広く用いられている。万国共通の6つの感情(驚き・恐怖・怒り・嫌悪・悲しみ・幸福)は、数種の顔の基本動作の組み合わせとして記述できるという考えが、前提である。その基本動作を形成する最小単位が、44箇所の Action Unit (AU) であり、AUを用いて表情の定量化を行うことができる。

ここでは、笑いの表情に対応するAUを評価対象とした。笑いの表情に対応する6種類のAUの動作を、図7に示す。

解析法としては、被験者の笑い始めから笑い形成時までの各AUの変化を、検者を含む6名の評価者が、それぞれ3段階の評点を行った。変化のなかったAUを0点、大きな変化が認められたAUを2点とした。各評価者による得点の平均を、それぞれのAUの評定値の代表値とした。

5.2.2 特徴点による客観評価

表情の解析のために、表情の数値化を行う際のパラメータとして、眉・眼・口の上下左右端に特徴点を設定することが一般的である。笑い表情では、眼裂の上下の収縮、左右の口角の伸長という、一貫した距離変化が見られる。そこで、左右の眼裂の動き(上下方向)と口角の動き(左右方向)を、特徴点間の距離として求めた。笑いの表情に対応する特徴点を、図8に示す。

具体的には、笑い始めから笑い形成までの被験者の表情を、等間隔で6フレーム抽出し、コンピュータ上での座標系から距離データ(単位:ピクセル)として計測した。さらに、測定時の画角の差や個人差を等質化するために、各被験者の笑い始めの特徴点間距離をベースラインとした変化率に変換した。

5.2.3 オプティカルフローを求める画像処理

動画像中の運動物体の見かけの速度場(オプティカルフロー)を求める手法は、コンピュータビジョンの分野で注目されている。近年では、表情認識への応用も検討されている。本研究では、被験者の表情の変化を視覚的に把握するために、オプティカルフローを求める画像処理を採用した。特に、FACSによる主観評価を行う際の補助資料として有効であった。また、表情の変化を表現する、一種のトポグラフィとしても利用した。

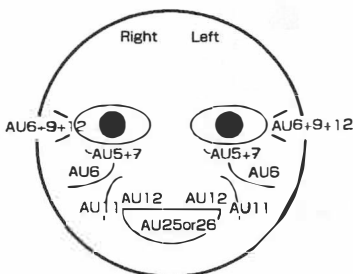


図7 笑い表情に対応する6種類のAU

- 眼輪筋**
1. 目尻にカラスの足跡 (AU6+9+12)
 2. 下瞼の下に皺 (AU5+7)
- 大頬骨筋**
3. 頬を持ち上げる (AU6)
- 口輪筋**
4. 鼻唇溝を深める (AU11)
 5. 唇の両端を引き上げる (AU12)
 6. 唇を開く (AU25 or 26)

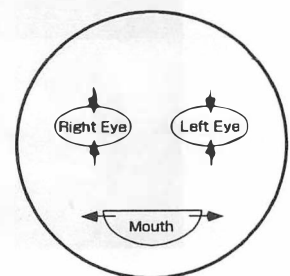
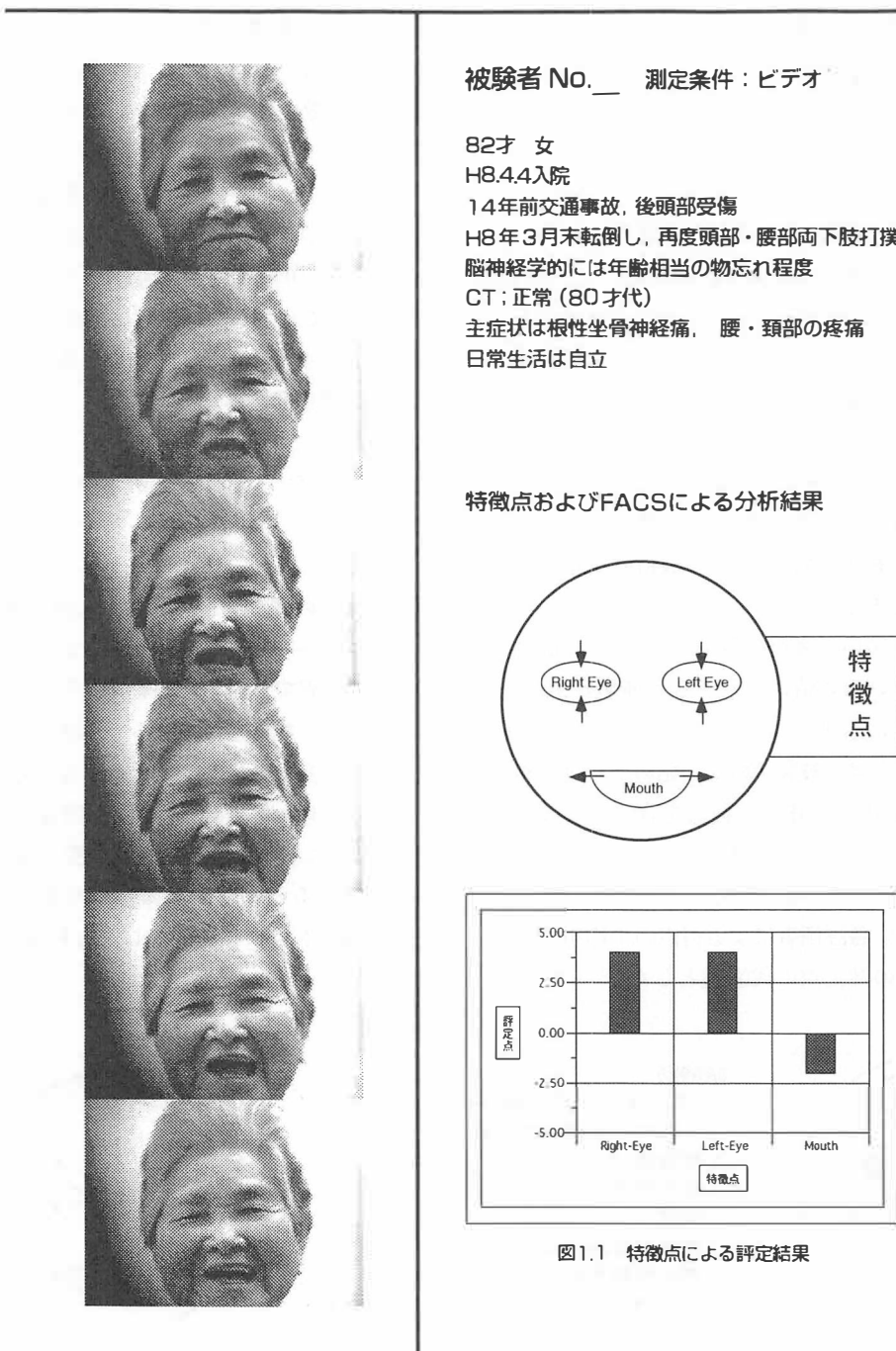


図8 笑い表情形成時の特徴点の変化

5.3 結果

結果は、上記の3種類の解析を各被験者について行い、個別のカルテとして蓄積した。笑い表情カルテの1例を図9に示す。

FACSの結果からは、全ての被験者において、笑い表情の形成が認められた。個別の結果からは、前頭葉、側頭葉の障害やパーキンソン病の被験者について、症例から予想される表情の異常が



被験者 No. __ 測定条件：ビデオ

82才 女
 H8.4.4入院
 14年前交通事故，後頭部受傷
 H8年3月末転倒し，再度頭部・腰部両下肢打撲
 脳神経学的には年齢相当の物忘れ程度
 CT：正常（80才代）
 主症状は根性坐骨神経痛，腰・頸部の疼痛
 日常生活は自立

特徴点およびFACSによる分析結果

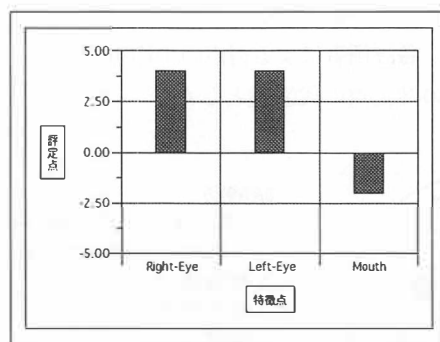
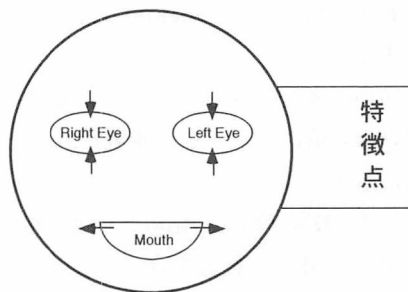


図1.1 特徴点による評定結果

図9-a 笑い表情の個別カルテの1例

見られた。特に、パーキンソン病の被験者では、特有の症状である筋強剛により各AUの評定点が低かった。痴呆患者と非痴呆患者の間では、眼輪筋の変化が、非痴呆患者において顕著であった。

特徴点の結果からも、全ての被験者において、笑い表情の形成が認められた。痴呆患者と非痴呆患者の間では、左右眼の特徴点間の距離変化が、非痴呆患者において顕著に大きかった。しかしな

がら、口角に関しては、差は認められなかった。

各特徴点間距離の時系列的な変化の結果を、図10～11に示す。非痴呆患者では、笑い始めに両眼での左右差が見られたが、笑い表情形成までの後半では、左右差は認められなかった。全体的には、概ね線形の距離変化といえる。一方、痴呆患者の結果では、両眼での左右差が顕著であり、時系列的な変化も非線形であった。

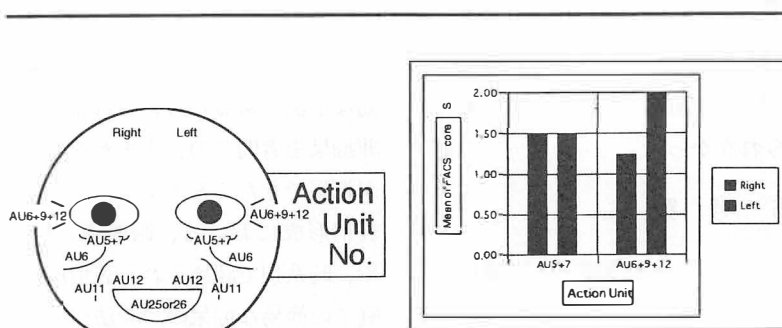


図1.2 FACSによる眼輪筋の評価結果

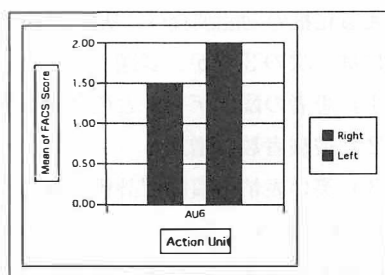


図1.3 FACSによる大顎骨筋の評価結果

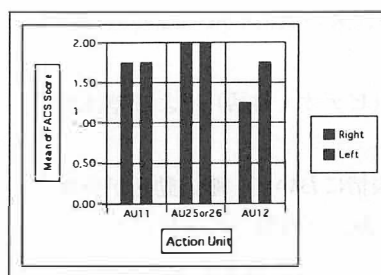


図1.4 FACSによる口輪筋の評価結果

結果から

- この被験者では、比較的笑いの形成が顕著であった。
- FACSの結果からは、右側の表情筋の動きがやや弱かった。
- 特徴点の結果からは、口が左右に開かれなかった。
- FACSと特徴点の結果では、口の動きに関して評価がやや異なった。また、ビデオの方が対話形式の場合よりも、口の笑い表情の形成が顕著であった。
- CTでは、異常が見られなかった。
- 以上のことから、この被験者では笑い表情の異常が見られなかった。

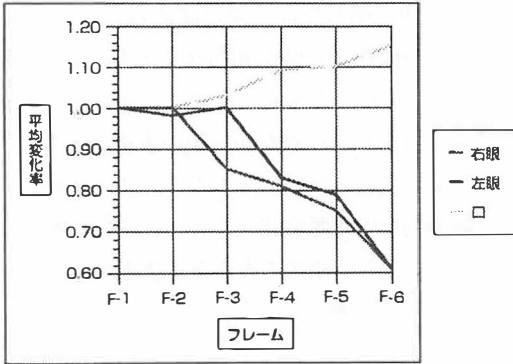


図10 非痴呆患者の時系列変化

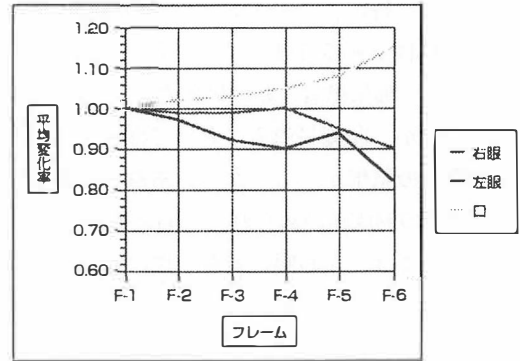


図11 痴呆患者の時系列変化

また、表情の測定時に、ビデオと対話という2種類の条件を設定したが、FACS、特徴点とも、条件間の差異は認められなかった。

6 考察

本実験の結果から、次の3点が考察として挙げられた。

- 1) 非痴呆患者の方が、笑い表情形成の際の、眼の動きが大きい。
- 2) 痴呆患者の方が、笑い表情形成の際の、左右差が大きい。
- 3) 測定時の条件 (ビデオ・対話) による差は認められない。

痴呆患者の笑い表情において、眼の動きが少ないという傾向は、FACSと特徴点の分析において共通の結果であった。次に、痴呆患者において、笑い表情形成の際の左右差が大きいことは、特徴点間距離の時系列の解析から認められた。これらは、痴呆が笑い表情に与える影響として、とらえることができるといえる。また、ビデオと対話という2種類の条件で、差が認められなかったということは、被験者の笑いを誘発するための刺激は、個別に設定可能であることを示唆している。

7 総括

本研究における主な成果としては、まず、笑い表情形成に関する解析手法を検討したことが挙げ

られる。これは、今後、追加実験を行う際にも有効な手法であると考えられる。次に、痴呆患者と非痴呆患者間での、大まかな笑い表情形成の傾向が把握できたことが挙げられる。痴呆患者の笑い表情形成における、眼輪筋の動きの表出の弱さや、時系列で認められた表情形成の左右差は、家庭での簡易な痴呆の診断法への応用の、基礎となるデータといえる。

本研究で得られた結果を、今後、痴呆老人に与える化粧の効能調査へ、実際に応用していくためには、次の3点が、課題として残されている。

- 1) 患者の臨床データとの詳細な照合
- 2) 被験者数の増加
- 3) 笑い表情の質的な評価の検討

CTや長谷川式スコアなどによる、症例や患者の臨床データとの詳細な照合を行うことにより、脳の障害部位と、笑い表情との関連を探ることは、重要である。今回は、21例に留まったが、被験者数を増加し、データを蓄積していくことにより、結果の信頼性を高めていく必要がある。さらに、どのような笑いかという、質的な評価を行うことによって、痴呆患者への化粧の効能評価への応用が期待できる。

謝辞

本研究は、主として早稲田大学人間科学部の野呂影勇教授および研究室の方々の努力に負うところが大きく、またオプティカルフローを求める

画像処理プログラムの作成については、神奈川工科大学情報工学科助手の井上哲理先生にご努力を賜り併せて、ここに感謝の意を表します。

参考文献

- 1) P. エクマン, W.V. フリーセン: 表情分析入門 (工藤力訳編), 誠信書房, 1987
- 2) 一松信, 松岡洋一監修, 日本学際会議編: 感性と情報処理, 共立出版, 1993
- 3) 松岡成明, 角谷千登土, 奥田真也: 神経学からみた笑いの一考察, 大分脳腫瘍話会誌, 7, 3-14, 1986
- 4) 松岡成明他: 笑い発作を主訴とした髄膜腫の一例—文献的考察, *Neurologia medico-chirurgia*, 7 (3), 195-201, 1977
- 5) Matsuoka S, : Various Benefits of Laughter, Special Lecture in 7th Int. Congress of Brain Electromagnetic Topography, Brazil, 1996
- 6) 野呂影勇: 痴呆患者の笑い表情についての研究, *ヒューマンサイエンス*, 8(1), 2-5, 1995
- 7) 志水彰, 角辻豊, 中村真: 人はなぜ笑うのか, 講談社ブルーバックス, 1994
- 8) 鳥居塚崇, 野呂影勇他: 臨場感通信システムを用いた老人の笑い表情解析, *人間工学*, 30 (特別号), 364-365, 1994
- 9) 津田兼六, 鈴木直人: 画像解析による表情の分析の試み (V), *日本心理学会第54回大会講演集*, 811, 1990

対人魅力の形成にかかわる顔の構造的特徴と 化粧行動の影響の研究

北星学園大学

大 坊 郁 夫

The purpose of this study is to clarify the effect of the make-up behaviour and the facialmetric features on the perception of interpersonal attractiveness. Face is prominent agent among many features of physical appearance. Face has more important role than other physical features on the attraction formation. In this case, facial attractiveness is evaluated by the made up subjects themselves (intrapersonal attractiveness) and by other persons (interpersonal attractiveness). Face is perceived as clue of personality perception, too. But, we have to consider carefully that there are true correlations between facialmetric features and their personalities themselves.

In study I, we clarified that subjects' self-consciousness and their evaluation of own's attractiveness depended on the three conditions of make-up (natural, heavy, and no make-up). In study II, there were considered that Ss' attractive ratings to their made up face conditons and their cosmetic sensitivities (attitudes for usage of cosmetics and interests in cosmetics). In study III, there were analyzed the correlations between some facialmetric measures and their personal attributes (personality traits and social skill). Then, personality traits were not so correlated with their facialmetric features as people said. But, Ss were aware of their own some facial features such as oval face, small mouth, big eyes and long nose.

1 問 題

顔の部位的特徴が当該人物の認知に大きな影響を及ぼすことはこれまでよく知られてきている。また、「魅力的な」顔の特徴も時代や文化に応じて変化するものでもある(村澤、1992; 大坊、1995)^{15), 6)}。このことは、顔の特徴に対する認知基準は多くの要因によって影響され、対人的な特徴が反映されることを示しており、顔が社会的な脈絡で機能していることを物語っている。

また、顔はその個人の一つの重要な識別子であり、対人的な文脈の中で様々な行動の原因として、結果としての制約をもたらす。日常生活の中で暗黙のうちに広く受け入れられている現象の一つとして、他人のパーソナリティやその他の個人的属性を容貌特徴を手がかりとして推定している。この場合に、顔の構造的特徴とともにそれを

演出する化粧や動的な表情は重要な要因になっている(大坊、1996)⁷⁾。

ここでは、個人属性と密接に関連させながら、人間にとって重要な個性発信源である「顔」による魅力形成の構造を力動的に把握することを目指す。

そこで、1)化粧されることによる自己表出性の変化、化粧することについての感受性、魅力認知にかかわる化粧の影響メカニズムを検討する。2)顔の形態的特徴と当該人物のパーソナリティ特徴、自己の顔の特徴についての認知イメージとの関係を把握する。

2 研究 I 化粧行為が自己表出性に及ぼす影響

2.1 目的

化粧の持つ多くの機能の中で、化粧されることによって外見への自信を持ち、他者との関係においてどの程度、積極的な自己表現ができるかを、測る一つの方法として、化粧後、自己の見解を聞き手に述べるという機会を設定し、その発話行動を検討する。同時に、化粧法の違いによって、自己への魅力認知がどの程度異なるのかについても



A Study of the Effect of Facial Structural Features and Cosmetic Make-Up Behaviour on the Interpersonal Attractiveness

Ikuo Daibo

Hokusei Gakuen University

検討する。

2.2 方法

2.2.1 化粧方法

ヘビー・メイク(HE)、ナチュラル・メイク(NA)条件の化粧(アイシャドー、口紅など)を施した。化粧法の設定に際しては、チークやアイシャドー、マスカラなどについてはいくつかの違いを与えながら、口紅の色をキーとして化粧を施した(NA条件では、アイシャドー:赤、アイライナー:焦げ茶、眉毛:茶、HE条件では、順に、ピンク+青+紫、黒、グレー。なお、チークはともに自然な肌色系、マスカラは透明)。具体的には、口紅の選択としては、肌に映える色、肌になじむ色を各4種類用意し、予備調査で最も濃い(かつヘビー)、薄い(かつナチュラル)と評定された色を用いた。HE条件では、濃赤(ローズ)、NA条件では淡赤。被験者には両方の化粧を施すが、その順序については全体で相殺されている。

なお、化粧は被験者とは面識のない上級学年の女子学生によって施された。

2.2.2 対象者

文科系大学で心理学専門科目を履修中の女子学生3名、4年生22名。年齢は20～25歳。

2.2.3 測定尺度

自己意識・概念を把握するために、各化粧実施後に、自身についての魅力印象評定(7段階、11項目、大坊、1988)²⁾、および状態不安(STAI、遠山ら、1976)¹⁷⁾を測定した。

また、呈示した26項目の話題リストの中で被験者が自分で最も話しやすいとして選択した話題について、聞き手(実験者)に向かって約5分間意見を述べる。その様子をVTRで撮影、録音した。

なお、話題リストは、自己開示の調査で用いたものであり、その結果で得られた平均開示度を、選択された話題の開示度(話題選択による一種の

開示傾向の程度)として分析指標とした。

パーソナリティ指標:被験者のパーソナリティ特徴としては、自己意識尺度(SCS、押見ら、1985)¹⁶⁾、特性不安(STAIによる、遠山ら、1976)¹⁷⁾、自尊心(SE、井上、1992)¹¹⁾を取りあげた。

印象評定と状態不安尺度については各条件後にその回答を求めた。

2.3 結果

2.3.1 状態不安の比較

状態不安の得点を比較すると、HE、NO(化粧なし) > NAの有意な大小関係にあり、メイクをしていない素顔の場合も、あまり普段することのない入念に濃いメイクの場合にも不安は高く、なじみのあるナチュラル・メイク時に不安は最も低くなっている($p < .001$, Fig. 1)。

2.3.2 発話行動

記録した発話行動のうち、開始から3分間の意見開示を測定の対象として、ビデオ記録から文字化した逐語記録に基づいて、その発話文字数、意見尺度(「****と思う」、「****と考える」などの表現の出現頻度)、感情表現尺度(自分の感情に言及している;怖い、好き、楽しいなどの出現頻度)の判定を行い、指標値とした。

発話文字数を比較すると、NA > HE > NOであった($p < .003$, Fig. 2)。

また、意見得点についてはHEで高く、感情表現尺度については、NA条件で高い。HE条件では、他に比べて意見得点(3.32) > 感情得点(2.36)の

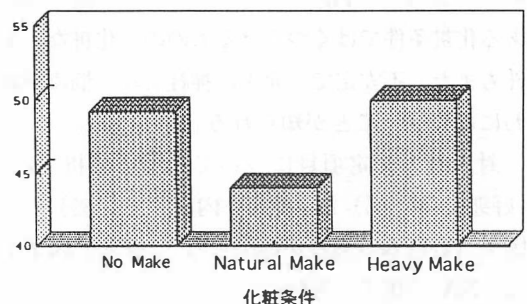


Fig. 1 化粧後の状態不安得点の比較

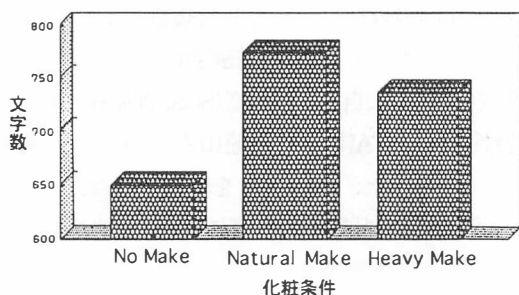


Fig. 2 発話文字数の比較

関係が顕著である。

なお、選択された話題については、その開示程度に化粧条件間に有意な差は見られていない。

2.3.3 魅力印象評定

魅力印象評定値を2条件間で比較すると、HEは感じ悪く、親しみ難い、下品、冷めたいなどと好悪感情については否定的に評価されるが、派手、外向的と社会的に積極的と評定されている。これに対して、NAは、好意的、内向的な評定がなされている。

2.3.4 状態不安と魅力印象認知の構造

状態不安項目への回答を基にして最低固有値1.0の抽出基準で主因子分析を行ったところ3因子抽出された。Varimax回転を施したところ、「リラックス」(25.6%)、「悩み-不安定」(19.5%)、「緊張」(17.3%)と名づけ得る3因子(合計62.7%)が得られた。各化粧条件間でその平均因子得点を比較すると、NO条件では「悩み-不安定」、NA条件で「リラックス」、HE条件では「緊張」が最大であった(Fig. 3)。カジュアルな親しみのある化粧条件ではくつろげるものの、化粧なし条件もまた、不安定で、元来の神経質な、悩みが顕わになり易いことが知られる。

対人魅力評定項目についての因子分析では、「好悪」(45.5%)と「外向-内向」(23.3%)の2因子(合計68.7%)が抽出され、「好悪」因子では、NA>HEで、NAが好ましく、「外向-内向」因子では、HE>NAの関係でHEが外向的との評

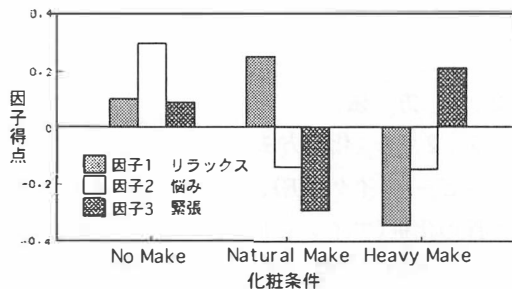


Fig. 3 化粧後の状態不安の因子得点の比較

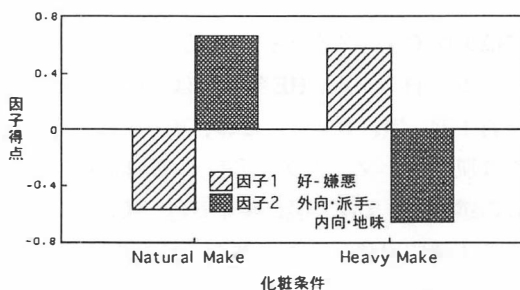


Fig. 4 化粧後の魅力評定因子得点の比較

定が明瞭であった(Fig. 4)。

2.3.5 指標間の相関関係

化粧条件ごとにパーソナリティ特徴と自己表現指標との関係を見ると、他に比べて、NO条件で公的自己意識と発話文字数、感情得点、意見表出得点が高い有意な正の相関を呈していた(Table 1)。HE条件では化粧後の発話行動とはなんらの有意な関連も示されていない。これらのことから、化粧操作は元来のパーソナリティに伴う行動特徴を概ね抑制する傾向にあるのではないかと考えられる。

2.3.6 化粧条件についての判別分析

印象評定値、状態不安、発話行動指標値を説明変数として3化粧条件について判別分析を行ったところ、内向-好き-安定次元で3条件間の判別性が高い結果が得られた。

2.3.7 パーソナリティ特徴との関係

高自尊心(SE)者は、HEは女性的ではあるが、自分には似合わないとの評価が有意に高い。対人

Table 1 自己意識尺度等パーソナリティ尺度と発話行動との相関関係

化粧条件 *No Make*

	話題開示	発話文字	感情尺度	意見尺度	発話合計	状態不安
SET	0.11199	0.18067	-0.12005	0.15659	0.04239	-0.26745
SE自尊心	0.6198	0.4210	0.5946	0.4865	0.8514	0.2289
PRI	0.18055	-0.06326	-0.13680	-0.04799	-0.12878	-0.04468
私的自己意識	0.4214	0.7797	0.5438	0.8320	0.5679	0.8435
PUB	0.10645	0.42704	0.39686	0.40873	0.48881	0.20004
公的自己意識	0.6373	0.0475	0.0674	0.0589	0.0210	0.3721
SOC	-0.36140	-0.20737	-0.02593	-0.32062	-0.23171	0.42553
対人不安	0.0984	0.3544	0.9088	0.1457	0.2995	0.0483
TRAITA	-0.12327	-0.15190	-0.06076	0.02156	-0.02079	0.61714
特性不安尺度	0.5847	0.4998	0.7882	0.9241	0.9268	0.0022

化粧条件 *Natural Make*

	話題開示	発話文字	感情尺度	意見尺度	発話合計	状態不安
SET	0.13544	0.17604	0.07039	0.06770	0.10694	-0.15925
SE自尊心	0.5479	0.4333	0.7556	0.7647	0.6357	0.4790
PRI	0.21604	-0.08551	0.02358	0.19967	0.18032	-0.17690
私的自己意識	0.3342	0.7052	0.9170	0.3730	0.4220	0.4310
PUB	0.00952	0.28133	0.01602	0.24184	0.20920	-0.06342
公的自己意識	0.9665	0.2047	0.9436	0.2782	0.3501	0.7792
SOC	0.02188	-0.25966	-0.17499	-0.13256	-0.23666	0.20969
対人不安	0.9230	0.2432	0.4360	0.5565	0.2890	0.3490
TRAITA	0.10559	-0.12148	-0.39382	-0.24595	-0.48986	0.46188
特性不安尺度	0.6400	0.5902	0.0698	0.2699	0.0207	0.0305

化粧条件 *Heavy Make*

	話題開示	発話文字	感情尺度	意見尺度	発話合計	状態不安
SET	-0.03166	0.06049	-0.09578	-0.00994	-0.07155	-0.20354
SE自尊心	0.8888	0.7892	0.6716	0.9650	0.7517	0.3636
PRI	0.24274	0.08629	0.02672	0.28001	0.25682	-0.10894
私的自己意識	0.2764	0.7026	0.9060	0.2069	0.2486	0.6294
PUB	0.17075	0.27350	0.17731	0.06207	0.16976	-0.21592
公的自己意識	0.4474	0.2181	0.4299	0.7838	0.4501	0.3345
SOC	-0.28196	-0.15481	-0.05872	0.07200	0.02286	0.11194
対人不安	0.2036	0.4915	0.7952	0.7502	0.9196	0.6199
TRAITA	-0.11999	-0.19643	0.28279	0.13348	0.30022	0.61261
特性不安尺度	0.5948	0.3809	0.2022	0.5537	0.1746	0.0024

不安要因は化粧条件による効果が大きく、低者はNA条件で自己肯定感が強まることが示された。化粧条件の効果はパーソナリティによって必ずしも一定ではなく、むしろ、化粧が対人指向性の違いを反映するものであることが示唆される。

2.4 考察

化粧法としてはナチュラル・メイクが最も好ましく、「落ち着ける」もので、覚醒度も大きくはない。そして、ナチュラル・メイク時に、最も自己表出がなされる傾向が強い。化粧することが、先ず、社会的な覚醒を高め、ひいては元来の個人差を凌駕するほどの影響が表れるものと言えよう。また、ヘビー・メイクは好まれないものの、社会的積極さは大きく、対外的な主張が可能になりやすいものと捉えられていると。

化粧法の多様化、指標の設定についてはさらに検討が必要ではある。しかし、化粧による自己意識の変化、自己認知の側面が化粧条件によって異なることを踏まえるならば、さらに有効な知見を得ることが可能と考えられる。

3 研究Ⅱ 化粧顔の魅力と化粧指向性

3.1 目的

化粧行動にはいくつもの目的が考えられるが、粧うことによって社会的に積極的な行動がとり得ることからすると、他者との円滑な関係を展開していくための社会的スキルの一つと言える。パーソナリティや日常の化粧行動への指向性との関連で化粧のもたらす魅力について検討する。

3.2 実験の方法

化粧の経験が多い被験者と少ない被験者を得ることを目的として、実験時期を設定した。化粧の経験が多い被験者として主に3、4年生を対象とし、大学が長期の休みに入る前、12月から翌2月までに実験時期を設定した(1期)。化粧の経験が少ない被験者群として、入学してまもない1年

生と2年生を対象とするために実験時期を5～6月とした(2期)。

3.3 方法

3.3.1 調査表の構成

被験者の基本的パーソナリティ特徴、コミュニケーションにかかわる社会的スキル尺度等として以下のものを用いた。

1. 感情表出的コミュニケーションテスト(ACT、大坊、1991a)³⁾

2. 自己意識尺度(SCS) 日本語版(押見ら、1986)⁴⁾ 公的自己意識と、私的自己意識、さらに、対人不安の3下位尺度からなる。

3. 和田ノンバーバルスキル尺度(WSS(N)) 和田(1992)¹⁰⁾によるノンバーバルスキル尺度を用いた。ノンバーバル表出、ノンバーバル感受性、そして、非言語による表出の抑制の「ノンバーバル統制」の下位尺度からなる。

4. 自尊心尺度(SE) 井上(1992)¹¹⁾が改定した日本語版(SE-I)を用いた。因子分析結果から、因子性のはっきりしている12項目を使用した。

5. 化粧品の使用実態 先の研究で作成した、「化粧品を1週間に何日ほど使用するか」という質問項目と、3条件(学校に行く時、デートする時、休日家にいる時)ではどの程度各化粧品を使用するのか、経験ない場合には想定で答える質問項目も用意した。

化粧への関心を把握する質問項目として、大坊(1992)⁵⁾の化粧品ブランド選好に関する質問項目を用いた。そして同時に、ある特定の化粧品の所持実態から化粧への関心を探るため、口紅の所持本数を問う質問項目を加えた。

6. 顔の印象評定尺度 顔の印象を問う尺度(村澤:1988、大坊:1988)への回答を求めた¹⁴⁾。素顔時(NO、11項目)、ナチュラル・メイク時(NA、12項目)、ヘビー・メイク時(HE、12項目)に実施した。ナチュラル・メイク、ヘビー・メイク時には、化粧がどの程度似合っているかと

いう質問項目が加わっている。

7. 容貌特徴についての調査表 さらに、大坊(1988)²⁾が作成した、自分の容貌特徴、タイプの質問項目と自己意識の特徴を測るための調査表を実施した。

8. 顔の受容度 大坊(1991)⁴⁾の結果を基にしながら、顔の部位等の特徴についての好悪度を(1:とても好き-7:とても嫌い)7段階による評定を求めた。用いた項目は、眉、目、鼻、口、輪郭、肌質、全体(顔)の7種類である。

9. 魅力評定 化粧を施す前、洗顔してもらった後、化粧水、乳液、下地クリームの基礎化粧のみを施した状態で撮影された正面顔写真を基にして、心理学専攻の女子学生5名(4年次)が「美しさ」の程度を5段階で評定した。その結果から評定の個人差による影響を小さくするために各人の評定値を標準化し、その平均値を求め、平均評定魅力度として分析に用いた。

3.3.2 化粧手続き

まず洗顔後、素颜時(基礎化粧品のみ)に顔の印象を問う質問紙を実施する。顔写真と表情のビデオ撮影を行なった後、1回目のメイクを施行する。メイクは、一人目の被験者がナチュラル・メイクを最初に行なったなら、次の被験者は初めはヘビー・メイクから行なう、というようにメイクの順序を変えて行なった。施行後に、表情のビデオ撮影を行なった。洗顔後2回目のメイクを施行する。2回目のメイクは、必ず1回目のメイクとは違う種類を施し、2回ともに、ナチュラル・メイク、または、ヘビー・メイクとは連続しない。1期では施行後に、表情のビデオ撮影を行なった。

化粧を施さない時と2種類の化粧を施した後での、顔の印象の変化を測定するために質問紙を実施する。また、実験後に被験者の顔の魅力評定を行なうため、顔写真(基礎化粧時のみ)を撮影する。実験時間は、約1時間10分程度、化粧施行時間は、ナチュラル・メイクで12~14分、ヘビー・メイクで17~20分、そして、実験後の洗顔

時間を含め1人の被験者に対して約1時間20分要した。

3.3.3 化粧法

1. 化粧方法パターン

20代の女性が好む化粧法について化粧品メーカー(コーセー、札幌市)の美容部員からの意見を参考にしながら進めた。メイクは、オフィスや学校などの場所で好まれるナチュラルな感じのするメイク(ナチュラル・メイク)と、街に出掛けたときなどに行なう華やかな感じのするメイク(ヘビー・メイク)の2パターンに分けることができる。

美容部員は、化粧の差異は目元に色を多くいれて目をはっきり見せるようにするか、あまり色をいれずに素颜に近いままにするか、また、口紅の色を華やかな色にするか、肌の色に近い地味な色にするかで識別が可能だと述べていた。したがって、ナチュラル・メイクとヘビー・メイクの違いは目元と口元の印象を変えることで行なうことにした。

2. 使用色の決定

1. の内容から、まず初めに、口紅と目元にいれる化粧品~アイシャドウ~の色を決定した。口紅は、コーセーのVISSE(ヴィセ)を使用した。これは、レッド、ローズ、ピンク、ベージュ、オレンジ系の5系統に分けられている。この5系統を、モデルに施行してナチュラルな感じに発色する色と華やかな感じに発色する色の2タイプ、10色選び出した。施行後、写真撮影し、色の差異を確認した。人気の色も考慮に入れ、色の差異が顕著だった3系統(レッド、ピンク、ベージュ)各ナチュラル(色番号、順にRD470、PK810、PK850)、ヘビー(RD471、RO630、OR251)の計6色を採用した。

アイシャドウも、コーセーのVISEEを使用した。こちら、美容部員に相談し、まぶたの形状~一重、二重まぶた~によって印象が変わらないために、一重、二重用メイク法と、ナチュラル・

メイクとヘビー・メイクのアイシャドウの入れ方を教わった。また、アイシャドウの色は、コーセーのアイシャドウ (VISEE) の売れ筋の色〜ベージュ系に仕上がる3色 (OR250, RD470, BR330; ベース、セカンド、アクセントの順) とピンク系に仕上がる3色 (PK810, PK811, RD410) ~を使用することにした (上記、ヘビーメイク。ナチュラルメイクでは、各1色で、ベージュ系OR250、ピンク系PK830)。一重、二重、ナチュラル、ヘビーの4条件の化粧をモデルに施し、それぞれ被験者の素顔の写真と比較しアイシャドウの濃さ (色の入れ具合) を確認、調整した。

3.3.4 被験者

被験者はすべて女子学生で、以下の2時期に学生に分けて行った。

実験1. 2年生4名、3年生41名、4年生13名、合計58名 (平均21.00歳、SD:1.08、19~26歳)。

実験2. 1年生42名、心理学研究法受講者2年生21名で、合計63名 (平均18.63歳、SD:0.75、18~20歳)。

両時期の実験合計で121名が対象であったが、回答調査表の不足な者があり、その項目により異なるが、有効被験者数は、115名である。

なお、被験者を募る際、皮膚炎などで肌が弱い者を除いた。また、年齢により化粧効果に違いが生じる危険性を避けるため、年齢も一定範囲に限定した。

3.4 結果

3.4.1 回答者の基本的特徴

(1) 化粧品の使用状況 化粧の経験を問う質問

項目で、「化粧の経験がある」と答えた人は、105名 (91.3%) 「化粧の経験がない」と答えた人は、10名 (8.7%) であった。

口紅の所持本数の平均は、5.26本 (SD:4.87、0から30本) であった。

「1週間に何日くらい、その化粧品を使用するか」という質問項目では、11種類の化粧品の使用を問うものである。その選択数を得点として換算し、その総計を「使用頻度得点」として分析に用いた (全体では27.37±14.03)。また、11種類の化粧品それぞれについて平均は、スキンローションが6.26日/7日で最多であった。次いで、口紅、ミルクローション、ファンデーションと続き (以上3日以上)、メイク・アップのチーク、アイライナー、マスカラの使用頻度は1日以下で少ない (Fig. 5)。

化粧が好きな程度を問う質問項目を、5段階で評定した結果、「化粧が嫌い」と答えた人は8名 (7.0%)、「あまり好きではない」と答えた人は9名 (7.8%)、「どちらとも言えない」と答えた人は31名 (27.0%)、「少し好き」と答えた人は42名 (36.5%)、「好き」という人は、25名 (21.7%) であった。

好きなメイク・ブランドを問う質問項目で、

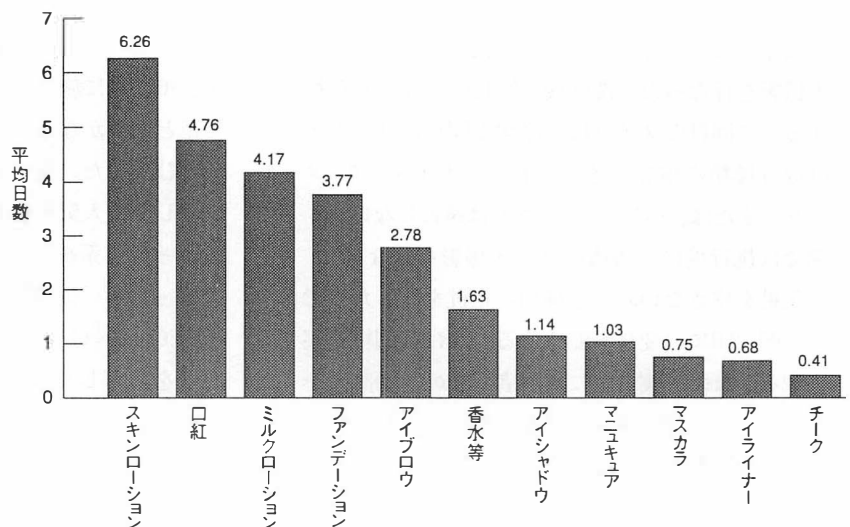


Fig. 5 化粧品の使用の割合 (週平均の使用日数)

「ある」と答えた人は、27.0%、「ない」と答えた人は、73.0%であった。

(2) 自分の顔の好悪

自分の顔についての受容の程度を顔部位等への好悪評定で求めた。その結果、目(4.09) > 口(3.95)、全体(3.84) > 眉(3.49) > 輪郭(3.18)、鼻(3.12) > 肌質(2.85)の順であった。相対的に目の好意得点の高さはこれまでの報告とも一致している(大坊、1988、1991b)。肌質については、その滑らかさや肌理の細かさへの憧憬が強く一般化していることが示されている。

3.4.2 化粧品と顔の印象の構造

(1) 化粧品使用度の因子構造

化粧品使用の際の11品目間の関連、分類を指して、共通性の推定値1.0で抽出した後、因子分析(主因子分析、Varimax回転)を行なった。その結果、3因子(合計説明率、44.62%)抽出された(Table 2)。

説明率は順に、20.08%、18.21%、6.32%であった。第1因子の中で負荷量の高い化粧品は、アイシャドウ、アイライナー、マスカラ、そしてチ

Table 2 使用化粧品傾向についての因子分析結果のまとめ一主因子法により、Varimax回転後の因子負荷量

	FACTOR1	FACTOR2	FACTOR3	Communality
アイシャドウ	0.91858	0.11430	0.13277	0.874481
アイライナー	0.72020	0.07245	-0.02817	0.524732
マスカラ	0.57179	0.05102	0.45698	0.538379
チーク	0.36882	0.11155	-0.02152	0.148939
マニキュア	0.26580	0.14568	0.11487	0.105064
口紅	0.27206	0.74901	0.05915	0.638537
ファンデーション	0.30825	0.74490	0.01709	0.650180
ミルクローション	-0.03800	0.60716	0.21056	0.414420
スキンケアローション	0.05669	0.49460	0.12486	0.263437
アイブロウ	0.37160	0.41731	0.25283	0.376157
香水等	0.03215	0.21375	0.57192	0.373812
$\Sigma \alpha^2$	2.208908	2.003588	0.695641	4.908137
$\Sigma \alpha^2 \%$	20.080982	18.214437	6.324009	44.619427

ーク、マニキュアであり、顔に華やかさを演出する化粧品の負荷量が高い。これは、「メイクアップ演出」の因子と名づけられよう。第2因子は、口紅、ファンデーション、ミルクローション、スキンローション、アイブロウの負荷量が高く、これは、化粧する前に肌を整える基礎化粧品と、華やかさを演出する意味よりも肌の色、眉毛の長さ、口の形などの欠点をカバーするような意味合いが強い化粧品が並んでいる。これを、「基礎化粧品」因子と名づけられる。第3因子は「香水等」のみで、これは「アロマ空間の演出」因子と言える。

なお、ここで得られた因子得点を算出し、これと回答者のパーソナリティ、ACTとの相関係数を求めたところ、ACTと第3因子との間にのみ有意な正の相関係数が得られた(.225、 $p < .016$)。感情表出の豊かな者ほど、アロマ演出の傾向香水の使用の多さが強いと考えられる。

(2) 化粧条件ごとの顔の印象得点の比較

Fig. 6は3化粧条件での各自己印象評定値の平均値を示したものである。「好きな一嫌いな」、「親しみやすい一にくい」、「セクシーな一清楚な」(上記いずれも素顔一ナチュラル)、「女性的一男性的」(ナチュラル一ヘビーメイク)のみで有意差が見られないだけで、いずれの条件間にも高度な有意差が示された。

化粧することは女性的なことであるが、ヘビーメイクには、否定的で親近さを抱いていないことが分かる。特に、派手で、外向的、嫌い、似合わないとされている。他2条件に比してヘビーメイクの得点の極端さがうかがわれる。また、この年代を考慮しなければならないが、「かわいさ」、「あたたかさ」はナチュラルメイク > 素顔 > ヘビーメイクであり、ナチュラルメイクへの許容度が高い。

化粧すること自体の社会的積極さにはきわめて敏感であるが、メイクアップに慣れていないことによる「怖れ」がこの評定には反映していると思われる。

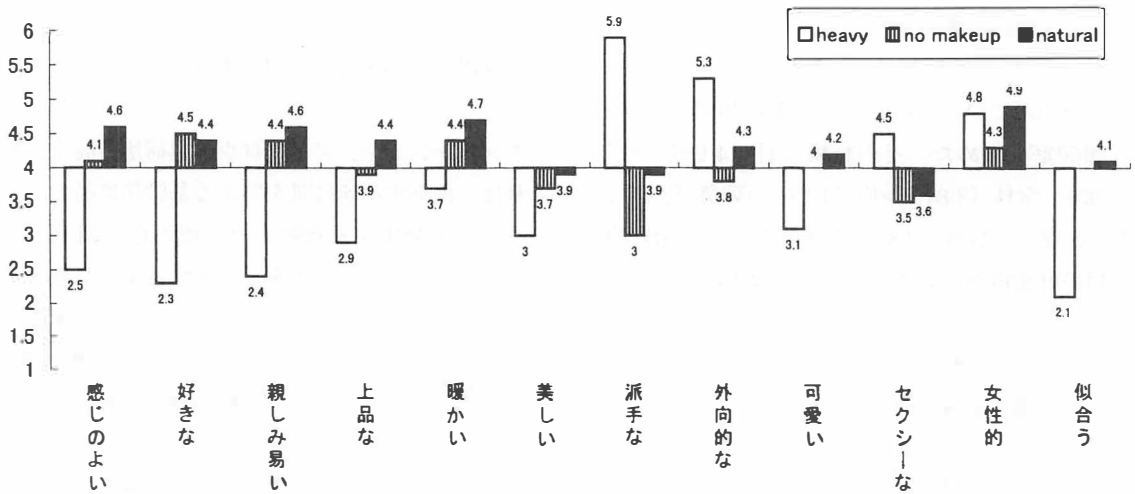


Fig. 6 化粧条件ごとの平均評定値の比較

(3) 顔の印象の因子構造

次に(2)で示した、顔の印象を問う3条件下の35項目(NOの11項目、NAの12項目、HEの12項目)について、素颜、ナチュラル・メイク、ヘビー・メイク条件の関連性を検討するために、前項と同様に、共通性の推定値1.0、最低固有値1.0の基準で8因子を抽出し、その後Varimax回転を行なった。

その結果、8因子(合計説明率、60.61%)が抽出された。説明率は、第1因子から順に、16.66%、16.23%、9.59%、6.11%、3.87%、3.03%、2.88%、2.25%であった。

第1因子の中で、因子負荷量が高かった項目は、全てナチュラル・メイク時に実施した項目、12.「化粧が似合っている(似合っていない)」、1.「感じのよい(悪い)」、2.「好きな(嫌いな)」、4.「上品な(下品な)」、3.「親しみやすい(親しみにくい)」、6.「美しい(醜い)」、9.「可愛い(にこらしい)」、10.「(セクシーな)清楚な」、7.「(派手な)地味な」、5.「(つめたい)あたたかい」、そして11.「女性的(男性的)」の11項目で高い負荷量を示していた。これは、「ナチュラル・メイク魅力」因子と名づけられる(なお、括弧内の語は高い得点方向になるので、数値的には高いなど

魅力の低さを示す)。

第2因子は全てヘビー・メイク時に実施した項目で、1.「感じのよい(悪い)」、2.「好きな(嫌いな)」、3.「親しみやすい(親しみにくい)」、6.「美しい(醜い)」、12.「化粧が似合っている(似合っていない)」、4.「上品な(下品な)」、9.「可愛い(にこらしい)」の7項目であった。これは、「ヘビー・メイク魅力」因子と言える。

第3因子は全て素颜時に実施した項目で、6.「美しい(醜い)」、1.「感じのよい(悪い)」、2.「好きな(嫌いな)」、4.「上品な(下品な)」、9.「可愛い(にこらしい)」、3.「親しみやすい(親しみにくい)」の6項目であった。これは、素颜時に対人的な場面で感じる印象を示すもので、「素颜魅力」因子と名づけた。

第4因子は、8.「内向的(外向的)」、7.「派手な(地味な)」、10.「セクシーな(清楚な)」、11.「女性的(男性的)」、そして弱いのが、8.「内向的(外向的)」(ここでは唯一のナチュラル・メイク)の5項目で、概ねヘビー・メイク時の項目であった。これは、ヘビー・メイク時に対人的な場面で感じる印象を示すと思われるため、「ヘビーメイク/女性性強調」因子と名づけた。

第5因子は、素颜時の7.「派手な(地味な)」、

8.「(内向的な)外向的な」、10.「セクシーな(清楚な)」の3項目であった。これは、普段本人が素顔でいる時、感じている感情を示す項目で「素顔/社会性」因子と言える。

第6因子以降は、説明率が低く、十分な解釈は難し誤差的なものである。「つめたいーあたたかい」の項目が6、7因子に分散し、第8因子には素顔時の「女性的(男性的)」のみが高い負荷量を示していた。

3.4.3 化粧顔の印象と印象因子得点との相関分析

(1) 顔の印象に関する因子得点とパーソナリティとの関係

ACT、WSS (N)、SEと素顔魅力(第3)因子得点との間に負の相関関係が見られる(順に、 $r = -.189, -.221, -.211, p < .05$)。即ち、社会的スキルや自尊心が高いほど素顔の魅力が高く捉えていることが示されている。

また、第1因子とACTの間に正の($.172, p < .06$; 非言語的コミュニケーション表現力の高い者は、ナチュラル・メイクの魅力を重視していない)、第3因子とSOCとの間に正の($.159, p < .09$; 対人不安の高い者は素顔の魅力が高く認知していない)、第5因子とPUBとの間に負の($-.176, p < .06$; 他者を意識する傾向は化粧が外向的效果を持つこととして認知している)、SEとの間に正の相関関係の傾向($.172, p < .08$; 自尊心の高い者ほど素顔の持つ社会的積極性を低く評価している)が見られた。

なお、平均評定魅力度とは有意な相関係数は示されなかった。

(2) 顔の印象に関する因子得点と化粧品使用頻度等との関係

3種類の状況別化粧度、口紅の所持本数、化粧が好きな程度を問う項目と相関分析を行なった。第3因子と化粧品使用状況(学校)得点との間に負の高い相関関係が見られ、素顔の魅力が高く捉えている者ほど化粧品を多数使用する傾向がうか

がわれる($-.249, p < .01$)。

5%水準での相関関係にある項目は、4か所に見られた。第1因子と1週間の化粧品使用頻度得点と($-.192$)、デートに行く時の化粧品使用得点との間に負の($-.188$)、素顔魅力(第3)因子と化粧品使用頻度得点($-.188$)とデートに行く時の化粧品使用得点との間に負の相関関係が見られた($-.213$)。

また、第3因子と口紅の所持本数との間に負の相関関係がある傾向が見られた($-.170, p < .07$)。素顔の魅力度を高く捉える者ほど口紅所持数が多い。

つまり、素顔の魅力が高く捉える者ほど、学校やデートに出かける際に多くの化粧品を使用し、粧うことに敏感、積極的であることを示している。

なお、顔の魅力評定値については、有意な相関関係は見られなかった。

3.4.4 顔の印象因子得点、化粧行動についての被験者属性要因の効果

(1) 顔印象因子得点に関するパーソナリティなどの影響

ACT、PUB、PRI、SOC、WSS (N)、SEを属性要因とした1要因の分散分析を行った。

パーソナリティなどの属性要因について、その得点人数分布に基づき、高群・中群・低群の3段階に分けた。それぞれの群間の比較を行なった。

その結果、「素顔魅力」(第3)因子得点についてACT水準間に有意差が見られた($F = 4.54, p < .013$)。下位検定によると、中群-低群の間($p < .013$)で有意な差が見られた。また第3因子についてPUB得点水準間に有意差の傾向が見られた($F = 2.43, p < .093$)。

(2) 化粧品使用傾向とパーソナリティとの関連

パーソナリティ要因について、各得点分布から高低の2群とし、他のパーソナリティ特徴との関連を捉えることとした。

自尊心得点水準について有意な主効果がある傾

向が見られ ($F=3.25, p<0.07$)、自尊心が高いほど化粧品使用得点が高くなる傾向が見られた。また、ACT水準と私的自己意識尺度 (PRI) 水準間 ($F=2.79, p<0.090$) に有意な交互作用がある傾向が見られた。

次に、化粧品使用頻度、3種類の状況別化粧程度、化粧が好きな程度を被験者の顔の魅力水準と学年水準で比較するために2要因の分散分析をした。

(3) 顔の平均評定魅力度と顔印象因子得点、および化粧行動との関連

心理学専攻で化粧、顔の研究に詳しい女子学生群による平均評定魅力度を基にして、その顔の魅力評定値の得点分布に基づき高、中、低魅力群 (高群: H群、中群: M群、低群: L群) の3段階に分けた。また、被験者の学年分布状況を考慮して、低学年、高学年 (高学年群: H群、3年以上、低学年群: L群、1、2年) の2群に分けた。

魅力要因、学年要因で化粧品使用頻度得点、3種類の状況別化粧程度得点、化粧が好きな程度を比較するための分散分析を行なった。

1) 顔の印象因子得点

いずれの因子得点についても、魅力度による高・中・低3水準による分散分析では、有意差は認められなかった。

2) 化粧品使用頻度得点

学年水準に有意な主効果がある傾向が見られ、高学年の得点が高い傾向が見られた ($F=3.21, p<.08$)。

3) 化粧の好きな程度

魅力要因と学年要因間に有意な交互作用が見られた ($F=3.13, p<.049$)。低学年群では、魅力中群<低群、高群の順で化粧が好きであるが、高学年群では、これと異なり、低魅力群<高群<中群の順で化粧が好きとなっている。

4) 大学での化粧品使用状況得点

学年要因の主効果が有意であり、高学年で状況得点が高かった ($F=7.43, p<.008$)。

5) デートに行く時の化粧品使用状況得点

学年要因に有意な主効果がある傾向が見られ、高学年で使用得点が高い傾向が見られた ($F=2.29, p<.087$)。

6) 化粧品使用因子得点との関連

第1因子 (メイクアップ演出) 得点と平均評定魅力度との間に有意な正の相関係数が得られた ($.208, p<.04$)。顔の華やかさを演出するツールを多く用いる傾向のある者は、他者から魅力的 (美しい) と評定される関係のあることが分かる (この評定は基礎化粧の段階の顔についてなされたものであるが、容貌部位特徴から演出の可能性が評定に反映されたものであろうか)。また、第3因子 (アロマ空間の演出) 得点とACT得点との正の有意な相関係数が得られた ($.225, p<.02$)。香水は、化粧ツールのなかでは他とは異なる因子を構成したものであり、コミュニケーションの多様な表現力が豊かな者であるほど、空間的なメイクへの指向性が強いことがうかがわれる。

(5) 顔部位特徴への好悪度と化粧品使用傾向、顔印象因子得点との関係

自分の顔の部位特徴についての好悪・受容の程度は、化粧時に用いる化粧品使用と関係することが考えられる。顔部位等の好悪度と化粧品使用度との相関係数を求めたところ、「口」への好意度が高いほど、アイライナー、チークを使う程度が高く、ブローについてもこれに準じて多い傾向がある (順に、 $.236p<.02, .231p<.02, .169p<.09$)。また、学校へ行く際の使用化粧品が多いことも示された ($.195, p<.05$)。「輪郭」への好意度は、チーク使用と有意な正の相関が ($.222, p<.03$)、アイライナー使用との相関が有意な傾向を示した ($.172, p<.09$)。また、「目」への好意度は、マスカラ使用の多さと正の相関係数を示している ($.165, p<.10$)。

次に、顔の印象因子得点との相関関係を見ると、第4因子 (ヘビーメイク女性性強調) との間には鼻、全体への好意度と有意な負の相関関係が見られているにとどまっている (鼻: $-.200, p<.04$ 、全体: $-.242, p<.01$)。

3.5 考察

化粧は化粧をする人に様々な効用をもたらす。化粧する行為自体に快い緊張感をもたらしたり、積極的なストレス解消の効用もある。それだけではなく、外見上の欠点をカバーし、目立たなくさせるという改善の効果を望むことができ、そのことが自信や快適感をもたらす、積極的な自己表現が可能になるという対人的効用もある。

このような効用からすると、化粧は対人関係を円滑に行なうためのスキル足り得ると考えられる。人間にとって、顔は表情や音声を生み出すコミュニケーションの場であり重要なメディアである。化粧はそのコミュニケーションの場である顔に施されるものである。化粧は他の社会的スキルと同様な効用を有すものであり、不足する自己主張などを補うことが十分に可能であろう。

スキル得点と普通のメイクアップとの関係を見ると、概ね正の関連性があると言える。ただし、素顔への魅力は、社会的スキルと関連し、自信のある者ほど自分の素顔への感受性も強いことが分かる。また、同時に、化粧品の保有数も多く、柔軟な指向性を持って切り替え可能なことを示唆される。

対象者の年代や学生集団であることを十分に勘案しなければならないが、スキル得点の高低にかかわらず、多くの者は「化粧」への関心を有しており、他のコミュニケーション表現に比べて指向性は高い。しかし、ヘビーメイクについては、日常との距離が感じられたようであり、積極性は高まるが、美的、好意的判断は抑制されている。この点については飛田(1996)¹⁰⁾の報告もあるが、パーソナリティ等の個人要因の他に、化粧自体への慣れ、色彩パターンについての選好による個人差は検討課題にならざるを得ない。今回は被験者に応じてピンク系、レッド系と合わせたメイクを施したが、そのパターンについてはさらに細分化して検討が必要と思われる。具体的な化粧遂行に向かうには、適切な日々の観察や情報の選択がうまくなされなければならない。各種情報の蓄積のあ

る上級学年の方が化粧品使用傾向の高いことにそのことが知られる。

4 研究Ⅲ 顔の構造的特徴と個人特徴との関係

4.1 目的

対人認知を行う際に利用している手がかりの1つに、相手の容貌がある。われわれは、相手の容貌からその人のパーソナリティ特徴を種々推論し対人行動の手がかりとしている。例えば、「丸顔だから優しそう」「頬がこけているから神経質そう」など、中には失礼な表現もあるが、容貌的特徴と性格特性の間にはある種の関連性が存在していると考えることが多い。

このような、容貌から相手の性格特性を推定するという考え方は古くから存在する。顔や身体的特徴といった相貌特徴と性格との関連性を組織的に記述しようとする相貌学(physiognomy)なる研究分野も成立している。しかしこの相貌学は理論的根拠にとぼしいうえ、相貌特徴と性格特性との相関は非常に弱いものであったため、その後、この種の研究はあまりなされなくなった。しかしながら、人びとが今なお、他者の相貌特徴と性格特性との間になんらかの関連性を暗黙のうちにせよ仮定しているとするならば、われわれがそれを研究する必要度は高い。

大坊(1986)¹¹⁾は、林ら(1983)⁸⁾の容貌認知次元を用いて、パーソナリティ認知および対人魅力認知との関係を検討している。その結果、「色白で目元はっきり」「細っそりした、目鼻立ちの整った」の肯定タイプが特にポジティブに認知された。これに対して、「口が小さい、下がり目」の否定タイプが最も社会的に活動的であると認知された。また、個人のパーソナリティ特徴がこれらの認知に作用することも示されている。例えば、外向的な人は「細っそり」「色白」タイプを可愛く、そして問題解決能力に長けていると認知しているのに対して、内向的な人は「細っそりしていない」「ふっくら」「口が小さい」タイプを、

問題解決能力に長けていると認知している。

村澤 (1988)¹⁴⁾ は、女性の顔写真 (10歳代後半～40歳代前半) の印象評定を、女性被験者に求めた。その評定結果と容貌特徴との関係を因子分析によって検討している。その結果、目の丸さ (大きさ) は「親しみやすさ」と、目の上がり、顎に対する口の大きさは「大人っぽさ」と、目の二重は「セクシーさ」「派手さ」とそれぞれ正の相関関係がみられた。

これらの諸研究からすると、顔の特徴からその人らしさを広範に判断し、いくつかのステレオタイプがあると思われる。

そこで、顔の実際のサイズ特徴がストレートにその人の性格等と関係しているのであろうか。その研究は必ずしも十分になされていない。また、同時に化粧を施す際に、目や口などの特徴を強調/抑制する工夫がされていることは、これらの「見られ方」を懸念したものであり、この点からしても、顔の構造的特徴とパーソナリティなどの個人特性との検討が必要であろう。

4.2 方法

被験者は北星学園大学の1～4年の女子学生43名 (平均年齢19.5歳、SD 0.88) であり、正面顔・横顔の2枚の写真を撮影し、合わせて自己受容尺度 (伊藤、1991)¹²⁾、感情表出コミュニケーション尺度 (ACT; 大坊、1991a)³⁾、自尊心尺度 (SE; 井上、1992)¹¹⁾、押見ら (1986)¹⁶⁾ の自己意識尺度 (SCS)、また、顔について、いくつかの状況での意識度を問う質問紙 (大坊、1988)²⁾ を実施した。撮影した写真をphotoCDを介してパソコンに取り込み、先行研究を基にしながら選んだ顔形態指標57種類について画面上で測定した (なお、人類学で用いられているMartin式の人体計測法によっている。人類学講座編纂委員会、1991; 大坊・村澤・趙、1992)^{13), 8)}。これらの形態測定値とパーソナリティ特性との関連を検討した。

4.3 結果

4.3.1 パーソナリティ、スキル尺度との関係

得られた指標値についてパーソナリティ、ACT等の尺度得点との相関係数 (Pearson) を求めた (Table 3)。

投影全赤唇高、唇面積とACTの間にそれぞれ負の相関がみられ、唇の大きさはコミュニケーションの表現力とは逆の関係にある。唇全体の幅に対する人中幅 (上唇上部中央の隆起幅) の比は、正の相関を示していた (富士山様のここの隆起の大きいことは、表現力と関係している)。

私的自己意識は、瞳の大きさ (顔の面積に対する瞳の面積の比など) と有意な正の相関を呈していた。公的自己意識は、目の大きさ (目の面積、眼の上下高など) と正の相関を示している。対人不安と瞳子内縁間幅、頤結節点高の間にそれぞれ正の相関がみられた。

自己受容度と両目の間隔、つまり瞳子外縁間幅、瞳子内縁間幅の間にそれぞれ負の相関がみられた。自尊心は唇の厚さと負の相関を示している。また、顔について意識している程度は、目の大きさ、鼻の長さ、大きさほど顔を意識する程度が高いことが示されており、個人的特徴として優先的に認知されやすい部位特徴が関連していることが分かる。ただし、用いた測定指標数からすると多くの指標については関係が少なくと言わざるを得ない。

4.3.2 自己のパーソナリティ認知との関係

鼻下上唇高と「健康な—不健康な」、鼻根顔高、下顎高比と「無口な—おしゃべりな」の間にそれぞれ正の相関がみられた。また、鼻根点—鼻下点高と「ふまじめな—まじめな」の間に正の相関が、鼻根点鼻下点高比との間に負の相関がみられた。以上はいずれも5%の水準で有意な相関であった。

鼻下上唇高が長いほど「不健康な」、鼻根顔高が長いほど、また下顎高比が大きいほど「おしゃべりな」、鼻根点—鼻下点高が長いほど「まじめ

Table 3 顔の部位サイズと個人特性との相関関係

	ACT	対人不安	私的自己意識	公的自己意識	自己受容度	自尊心	顔意識度 (逆転)
A74 唇面積	-0.35931 0.0180	0.22566 0.1457	0.03651 0.8162	-0.02642 0.8664	0.24618 0.1111	-0.21727 0.1616	-0.14983 0.3376
T1 人中幅/口裂幅	0.31996 0.0365	-0.11865 0.4186	0.15560 0.3191	0.15959 0.3067	-0.02825 0.8573	0.02589 0.8691	-0.09787 0.5321
A73 投影全赤唇高	-0.30587 0.0461	0.24662 0.1109	0.02071 0.8952	-0.00715 0.9637	0.24342 0.1157	-0.18289 0.2404	-0.03982 0.7999
A24 頤結節点高	-0.28686 0.0622	0.36132 0.0173	-0.14850 0.3419	0.08939 0.5686	0.01090 0.9447	-0.20446 0.1885	-0.01038 0.9473
A39 瞳子内縁間幅	-0.23888 0.1229	0.32500 0.0335	-0.28611 0.0629	0.06317 0.6874	0.34570 0.0232	-0.10530 0.5016	-0.19007 0.2222
T5 瞳子直径/眼裂幅	-0.03644 0.8166	0.18788 0.2276	0.46185 0.0018	0.02985 0.8493	0.08207 0.6009	-0.09056 0.5636	0.30561 0.0463
T17 瞳の面積/顔の面積	0.05861 0.7089	-0.20528 0.1866	0.38954 0.0098	0.18500 0.2350	0.03561 0.8207	-0.27064 0.0792	0.06418 0.6826
T8 鼻根顔高/相貌学顔高	0.01655 0.9161	0.04159 0.7911	0.31676 0.0385	0.16667 0.2854	0.04603 0.7695	0.30701 0.0452	-0.04586 0.7703
T6 瞳子直径2/頬骨弓幅	0.01725 0.9126	-0.23278 0.1331	0.30840 0.0442	0.18355 0.2387	0.13819 0.3758	-0.22831 0.1409	0.04270 0.7857
A76 目の面積	-0.00178 0.9910	0.18891 0.2250	-0.03439 0.8267	0.36265 0.0169	0.15205 0.3301	-0.16192 0.2996	-0.13690 0.3813
T15 目の面積2/顔の面積	0.10491 0.5032	0.08914 0.5684	0.04405 0.7791	0.34686 0.0227	0.25753 0.0955	-0.18015 0.2477	-0.12172 0.4368
A72 眼上下高	0.02373 0.8799	0.15935 0.3074	0.01794 0.9091	0.32574 0.0330	0.22827 0.1410	-0.12498 0.4245	-0.04207 0.7888
A37 瞳子外縁間幅	-0.27183 0.0778	0.26830 0.0819	-0.15511 0.3206	0.12278 0.4328	-0.37069 0.0144	-0.17629 0.2581	-0.15584 0.3183
A78 下赤唇高	-0.27318 0.0763	0.16936 0.2776	0.07561 0.6299	0.05014 0.7495	0.06459 0.6807	-0.32909 0.0312	0.10675 0.4957
T16 唇面積/顔の面積	-0.29314 0.0564	0.17361 0.2655	0.03471 0.8251	-0.02175 0.8899	-0.18198 0.2428	-0.32605 0.0329	-0.15253 0.3288
T13 外眼角幅/頬骨弓幅	-0.01851 0.9062	0.06715 0.6688	-0.26374 0.0875	0.17961 0.2491	0.06324 0.6871	-0.16456 0.2917	-0.40931 0.0064
T1 眼裂幅2/頬骨弓幅	0.05331 0.7342	-0.00793 0.9598	-0.25560 0.0981	0.18903 0.2248	0.05346 0.7335	-0.15922 0.3078	-0.37036 0.0145
A80 鼻尖高	0.05209 0.7401	-0.04191 0.7896	-0.16331 0.2954	0.12099 0.4396	0.03614 0.8180	0.03747 0.8115	-0.32071 0.0360
A81 鼻根点 鼻下点高	0.04816 0.7591	-0.03664 0.8156	0.10560 0.5003	0.11447 0.4618	0.04325 0.7830	0.03616 0.8179	-0.31362 0.0406
A70 眼裂幅	-0.10224 0.5142	0.13714 0.3805	0.25276 0.1020	0.14119 0.3665	0.24349 0.1156	-0.10646 0.4968	-0.30591 0.0460

付記 (女子大学生 43人) 上段は r、下段は、sig.ラベル中2は2倍を示す。
顔の意識度は1(高)→4(低)

な」、鼻根点鼻下点高比が大きいほど「ふまじめな」と認知している。

特に鼻から下の長さが自己のパーソナリティ認知における一要因となっていることが言える。鼻の下口の上までの長(高)さは不健康さ、鼻の長さはまじめさの要因となる。

4.3.3 顔の特徴の自意識

自分の顔の特徴について該当するか否かの回答(例、「面長な」：はい、いいえ)を求めた結果から被験者を2群化し、諸形態サイズ値についての分散分析を行った。

「面長な」については、鼻幅(いいえ>はい)、鼻尖高(はい>いいえ)、顔高幅比(顔の長さに対する横幅の比)(はい>いいえ)が有意であった(各 $p < .05$)。「面長な」に対する認知は正確であると言える。

「口の小さな」については、投影全赤唇高(唇の縦の長さ)と唇面積でいずれも「いいえ」>「はい」の関係が有意であった($p < .01$)。大きな口をしている人は、自分が大きな口をしていることを認知していると言える。

「頬のこけた」については、眼上下高、目の面積で「いいえ」>「はい」が有意であった($p < .001$)。

「目の大きな」については、内眼角比、内眼角間幅で「いいえ」>「はい」の関係が見られた($p < .01$, $p < .05$)。

これらの測定値は大きいほど目と目の間がはなれていることを示す。自分の目が小さいと認知している人の方が、目が大きいと認知している人よりも、これらの値は大きかった。つまり、目と目の間がはなれている人は、自分が小さな目をしていると認知していると言える。ところが、実際に目の大きさを示す測定値、目の面積、眼裂幅、眼上下高においては、有意な結果が得られなかった。このことから、目の大きさに対する認知は、実際の目の面積や長さによるのではなく、目と目の間の長さによってなされているのではないだろ

うかと考えられる。

「鼻が高い」については、鼻尖高で「はい」>「いいえ」、鼻尖高比については「いいえ」>「はい」、鼻根点-鼻下点高(の間隔)が「はい」>「いいえ」の関係が有意であった(順に $p < .001$, $p < .001$, $p < .01$)。

鼻尖高は鼻のつけ根から先端までの長さを表す測定値であり、鼻根点-鼻下点高は鼻の先端から鼻の下までの長さを表す測定値である。自分の鼻が高いと認知している人の方が、鼻が低いと認知している人よりも、これらの値は大きかった。つまり、鼻の長さが長い人は、自分の鼻が高いと認知していると言える。

4.4 考察

このように、形態測定値と各パーソナリティ特性との相関分析を行ったところ、高魅力の要因となる部位と各パーソナリティ特性との相関関係はきわめて少ないものであった。巷間で一般的に交わされる暗黙の見解とは異なり、用いた指標数からすると、容貌特徴が当人のパーソナリティなどの特徴を表しているという可能性は低いと思われる。ただ、ここで用いた個人的特性指標は限られたものであり、社会的な評価や自己像との関係を目指した特徴との間についてまで拡大しての断定はできない。しかし、ここでの結果からすると、容貌特徴とパーソナリティ等の特性の間には積極的な関係は見られないと言う方が賢明と言えよう。

これに対して、顔の特徴をどの程度意識できているかについては、ある程度に関連は認められた。その主な結果からすると、輪郭、口、目の大きさについては、容易に日々認識しやすい、注意の向かっている箇所であるがためか、自己認知はほぼ正確と言える。

パーソナリティ認知との関連では、鼻から下の長さが自己のパーソナリティ認知における一要因となっていることが言える。鼻の下口の上までの長(高)さは不健康さ、鼻の長さはまじめさの要

因となるが、その因果関係についてはここでは追究できない。多数者の特徴を収集した研究の展開が必要であろう。

また、自分の鼻が高いと認知している人の方が、鼻が低いと認知している人よりも、鼻部の長さの値は大きかった。つまり、鼻の長さが、鼻の高さの認知の有力な手がかりになっていると言える。

顔の構造的特徴は、そのサイズ自体とともに、他の部位との相対的な比較で主観的に自己認知されていることも十分に考慮した検討が必要と言えよう。

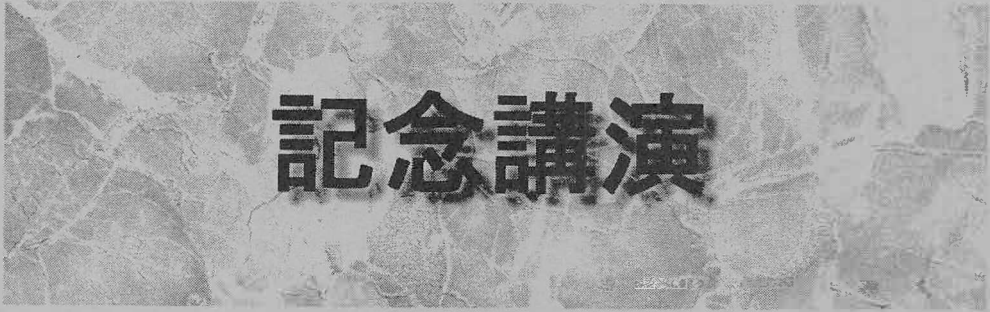
引用文献

- 1) 大坊郁夫 1986 対人魅力印象に及ぼす身体的特徴の影響. 日本社会心理学会第27回・日本グループ・ダイナミックス学会第34回大会発表論文集, 67-68.
- 2) 大坊郁夫 1988 顔の意識～顔、横顔そして自己意識. 化粧文化, 18, 76-88.
- 3) 大坊郁夫 1991a 非言語的表出性の測定: ACT尺度の構成. 北星学園大学文学部北星論集, 28, 1-12.
- 4) 大坊郁夫 1991b 容貌の構造的特徴と対人魅力. 化粧文化, 24, 55-68
- 5) 大坊郁夫 1992 外見印象管理におけるブランド選択と流行意識. 北星学園大学文学部北星論集, 29, 91-113.
- 6) 大坊郁夫 1995 気持ちいい顔—好まれる顔、好まれない顔. (アクロス編集室編 気持ちいい身体—進化する「カラダと快感」—, Pp.24-41., パルコ出版)
- 7) 大坊郁夫 1996 化粧心理学の動向(高木修監修 大坊郁夫・神山進編 被服と化粧の社会心理学, 北大路書房, 2章 Pp.28-46.)
- 8) 大坊郁夫・村澤博人・趙鏞珍 1992 魅力的な顔と美的感情—日本と韓国における女性の顔の美意識の比較—. 感情心理学研究, 1, 101

- 123.

- 9) 林文俊・大橋正夫・廣岡秀一 1983 暗黙裡の性格観に関する研究(I)—個別尺度法によるパーソナリティ認知次元の抽出 実験心理学研究, 23, 9-25.
- 10) 飛田操 1996 化粧の個人的効果と対人的効果に関する実証的研究. コスメトロジー研究報告, 4, 145-157.
- 11) 井上祥治 1992 セルフ・エスティームの測定法とその応用. 遠藤辰雄・井上祥治・蘭千壽編 セルフ・エスティームの心理学, 第2章 ナカニシヤ出版. Pp.26-36.
- 12) 伊藤美奈子 1991 自己受容尺度作成と青年期自己受容の発達的变化. 発達心理学研究, 2, 70-77.
- 13) 人類学講座編纂委員会編 1991 人体計測法: I 生体計測法 人類学講座別 巻1 雄山閣出版
- 14) 村澤博人 1988 顔の印象度の基礎的研究. 化粧文化, 18, 89-100.
- 15) 村澤博人 1992 顔の文化誌. 東京書籍
- 16) 押見輝男・渡辺浪二・石川直弘 1986 自己意識尺度の検討. 立教大学心理学研究年報, 28, 1-10.
- 17) 遠山尚孝・千葉良雄・末広晃二 1976 不安感情—特性尺度(STAI)に関する研究. 日本心理学会第40回大会発表論文集, 891-892.
- 18) 和田実 1992 ノンバーバルスキルおよびソーシャルスキル尺度の改訂. 東京学芸大学紀要第一部門(教育科学)第43集, 123-136.

【付記】 この研究の実施に際し、扇野歌織、小山内ゆり、沼田綾、佐々木綾子さんの協力を得ましたので、記して謝意を表します。また、コスメトロジー研究振興財団事務局の宮川安正氏、および、コーセー化粧品の研究員の方々のご配慮に厚く感謝いたします。



●
平成 8 年度記念講演 鷺 田 清 一
●

コスメティックとコスミック

大阪大学文学部 教授

鷺田 清一

場所 日本薬学会長井記念ホール
日時 平成8年11月20日(水)

サハラの水部族には、女性が男性の「美」的優劣を決めるダンス・コンテストがある。男は髪を生え際を剃り落とし、眼と歯の白さを際立たせるメイクをし、顔を絵の具で塗り分け、魔除けのネックレスで飾る。そして、女に向かって眼を大きく見開き、目くばせする。背を高く見せるために爪先で立ち、前方に揺れる……。

このシーンを見ていて考えさせられるのは、化粧について論じるとき、メイクしながらメイクしていることを見せないようにする、つまりもともとこういう顔であったかのように偽装することを本質とするような「ナチュラル・メイク」が、化粧の常態であると考え、大きな誤りにおちいるということだ。

化粧をしていることを隠さないメイクは、偽装のメイクの長い伝統を破って、わたしたちの周辺にもしだいに広がりつつある。茶髪、細い眉、そしてブルーやブラックのマニキュア／ペディキュアの流行、いわゆる悪趣味メイクがその一例である。これらはじぶんの外見がフェイクであることを隠さない。むしろそういう変換のプロセスこそ見せあっている。

そこで一つの区別を導入したい。それはコスメティックにおける水平性と垂直性の区別である。

ひとはその社会的生活のなかで、他人の眼に身体としてのじぶんの存在を映す。そこで視線を交わしながら、それぞれが〈わたし〉というイメージを調整しあうのである。ファッションとは、人びとがそれぞれのセルフ・イメージを構成し、補強し、相互に調整するために、共通の可視性のスタイルへとじぶんの身体的存在を加工・変形するこの共同のいとなみのことである。装いという現象はこのようにまずは共同性というレベルで出現するのであって、まことに「ロビンソンにとってはモードは存在しない」のである。ファッションとは、このように、人びとがたがいに自己を映しあうという、そういう〈鏡〉のゲームのもっとも重要な媒体なのである。いいかえると、ファッションはこのようにひとを秩序の内部へと組み入れるメディアである。

が、その同じファッションが、ひとをその秩序の外部へと連れだす。既存の秩序の枠組みのなかでそれぞれのセルフ・イメージを相互に演出したり操作したりするためのメディアとしてのファッションを〈水平のファッション〉とよぶならば、ひとをその外部へと連れだし、いわば世界の尺度や社会のならわしを全面的にひっくりかえすかたちで外見の変化をおこなう作業を、わたしたちは宇宙的な意味をもった存在の変化という意味で、〈垂直のファッション〉とよぶことができる。

身だしなみや身づくろいの技法であるコスメティック (cosmétique) は、本来、コスミック (宇宙的=cosmique) な意味で浸されていたのであった。身体の塗飾や変工としての装いには、かつて



Cosmétique and Cosmique

Kiyokazu Wasida
Osaka University

宗教儀礼や科学的探究に擬することのできるようなパワーがあったのである。ここで宗教や科学と言っているのは、見えないものを掴む技法としてのそれである。宗教は超自然的なもの、世界を超えたものへの祈りであり、また科学はかつてはこの世界を動かしているある見えないものを掴もうとする技法であったが、化粧や服飾もまた同じように、わたしたちの目に見えているもの以上のものを掴もうとする技法であり、そのために、感覚の器官(=媒体)であり、感覚が出現する場そのものである身体の諸様相をさまざまに変換する装置としてあった。つまり、「別の世界」へと移行するために、あるいは「別の世界」を呼び込むために、じぶんの身体を可変的な状態に置く、そういう装置としてあったのである。

しかし、見える世界のなかには存在せず、むしろわたしにとって世界の可視性の裂け目そのものであるようなわたしの顔、あるいは宇宙を感受するその感覚の場であり、感覚の出来事そのものである身体が、世界の「内部」に引きずり込まれ、顔はこの世界の「外部」に向けられることはなくなってゆく。「仮面の衰退とともに、近代の頹廢が始まった」とは、ロジェ・カイヨワの指摘である。マスク(顔=制服)が市民の制服としてのおさまりのよい顔に縮小していったのである。

これとともに、化粧や装いが、変身とエキスタシーの媒体としての機能を見失ってしまった。身体の表面、とくにその開口部(目や口や耳)や指先といったわたしたちの感覚器官は、墨で、紅で、鉱石や金属で、そしてエナメルで飾られていても、それはもはや、宇宙をより深く、より瑞々しく迎え入れるためのものではなくなる。それらはむしろ他者、つまり同じ社会の別の構成員に向けられた誘惑の手段、もしくは対人関係の微調整のための手段としてしかなくなる。あるいはせいぜい、一定のルールのなかでかすかな逸脱を演出するものでしかなくなっている。

こうした歴史的なコンテキストのなかで、もう一度現代の化粧についてみてみよう。

一般にメイク・アップというのは、ひとが顔の表面を変えることによって、別のものになろうとする行為である。それは、顔を現にあるものとは別の顔にするという意味では一種の〈変身〉であろうし、また現にある顔を隠す、偽るという意味では一種の〈変装〉とみなすことができる。そしてその極限状態が、それぞれ仮面と覆面である。

顔に仮面をかぶる、覆面をするといった習慣は、現代では、祭儀のときですらめずらしくなっているが、逆にそのより穏やかな形態としての化粧は普遍化して、ほとんどのひとがほとんどの時間、じぶんの顔になんらかの加工を施すようになっている。そしてそれとともに、化粧の水準が、「化ける」ことから、「粧う^{よそお}」こと、つまり「おこしらえ」へとスライドしてきたと言える。

化粧がもはや変身のメディアでも、変装のメソッドでもなくなったということは、いいかえると、化粧しているという事実をできるだけ目立たせないような仕方では顔をこしらえるようになったということだ。人びとはじぶんの「素顔」を、まるで生まれつきにそんなに美しかったかのように、懸命に演出しようとするのである。ひとはそこで、別のものになるというよりむしろ、じぶんの別のイメージをたぐり寄せようとするのである。だからスターやアイドルの化粧はすぐに模倣されるが、鳥や猛獣や霊などといった昔からあるモデルは参照されない。そして模倣されるセルフ・イメージのモデルがメディアを通してみんなに供給されるので、結果としてみんなが同じ化粧品、同じ化粧法で自己のイメージを構成することになる。このように、人びとを本質的に個性化し、多様化するはずのコスメティックという装置は、逆説的にも人びとの存在を同質化し、平準化してしまうのである。

しかしそれは、ひとの存在が長らく、そしてより巧妙に身体のうちへと囲われ、さらには顔面へと収縮させられてきたからかもしれない。あるいは『エッセー』のモンテーニュをまねて、こんなふうに言うこともできる。かつてわたしたちは身体

じゅうが顔であった。身体じゅうに絵を描き、疵をつけ、装っていた。それがいまでは、顔が顔面に収縮しているからこそ、変身といっても、化粧品でじぶんのイメージをちょっとシミュレートすることくらいしかできなくなっているのだ、と。

顔を思い浮かべずにだれかを思い浮かべることができないが、その存在を顔に還元することもできない。ひとは顔よりも、もっと見えにくい存在を、あるいはくわしたの意識などそれのたんなる表層効果にすぎないような「影」をもっている。そうした個人の存在の重層性は、表面としての顔のメイクを超えて、もっと多様なコスメティックのチャンネルを要求しているのではないだろうか。じぶんを他人と同調（あるいは対抗）させるためにではなく、じぶんの重層的な存在を発見するための垂直のコスメティック、じぶんの皮膚の内部に入っていきようなコスメティックを。

じぶんの重層的な存在を発見するためには、おそらくはまず、コスメティックに時間性を回復させねばならないだろう。いまのメイクは老いを回避しようとしている。そして顔面に透明の被いをかけ、いわば防水加工をほどこす。しかし美しい顔というのは、ほんとうに時間を消去した顔のことなのだろうか。そのような「つやつやの」顔は、時間という契機があらかじめ抹消されている顔、つまりだれの顔でもないただの皮膚ではないか。

時間ももたえも哀しみも傷もない顔。それは顔ではない。それは匿名のボディにすぎない。

目尻の皺がチャーミングだな、とふと思う女のひとがいる。掌の濃やかな髷がかわいいなと思う女のひともある。その言葉をためらいなしにそのひとに届けることのできるようなコスメティックを夢見たいとつくづく思う。

ミシェル・セールも言っているように、人類が太古から入れ墨や塗飾などのコスメティックを施してきたのは、人びとの感覚の表面である皮膚が折り畳まれ、髷となって、みずからと接触している部分、あるいはそれが他と交感しようとしている場所、つまりは「魂」が宿っている場所である。そして垂直のコスメティックは、皮膚のあちこちに散在するその「魂」の声にもっと耳を傾けることを要求している。そのときその声は、おそらく、美しく飾られた耳にこそもっとも清澄に響くことだろう。コスメティックとは、世界へのわたしたちの感受性を飾るものとして、宇宙(コスモス)の解釈法にほかならないのだから。

コスメティックはわたしたちの存在を飾るのではなくて、かたどるのだ。そしてそのことをつうじて世界に深く浸透していくのだ。わたしはいま、そういう視点から、失われたコスメティックとしての化粧を論じてみたいと思っている。



コスメトロジー—研究雑感

測させるに十分な根拠を与えるものとして評価されよう。今後さらにこれらの基礎研究を継続して実施する予定であるが、近い将来必ずや遠赤外線の決定的な効果が明らかになると思われる。そのような場合、遠赤外線の機能、生体での役割等が

より一層鮮明になるため、新たな化粧品開発への夢が広がる可能性があり、コスメトロジー領域に及ぼす影響ははかりしれないものがあると思われる。
(静岡県立大学)

(平成7年度)

水を自然に保つポリマーとコスメトロジー

石原 一彦

生命は水を媒体として、特異的、選択的な反応を確実に行うということで進化してきた。今、人工材料と生命・生体との関わりでバイオテクノロジーやライフサイエンスが進みつつあるが、必ず水を意識して考えることが大切である。

今回、助成の対象となった研究は、新しいポリマーを生体にいかになじませるかの研究の過程で、水の構造と生体反応の関連を検討したものである。生体(細胞)膜表面を単純なモデルとはいえ、生体膜を構成しているリン脂質極性基を有するポリマー(MPCポリマーの誕生)で再現し、これを取り巻く水の状態についての知見を得たことは、皮膚に対して直接接触する化粧料の効果を理解する上でも有効である。さらに、生体反応を司るタンパク質の構造変化や機能発現と水の構造との相関関係を知ることができ、コラーゲンの変性過程における皮膚表面近傍の水の状態を推測する

極めて効果的な知見となった。これにより皮膚老化や機能低下のメカニズムを知ると同時に、これらの好ましくない生体反応を防止する化粧料の開発にも拍車がかかると考える。

本研究の遂行中に単に保水性という観点ではなく、健全な生体膜と同様に周囲の水の構造を自然の状態に維持できる合成ポリマー構造が規定できた。近年、乾燥や大気汚染による皮膚機能の低下が、肌荒れを引き起こすことがわかってきている。ここで人工材料で第二の皮膚と言えような生体適合性の高い被覆層を作ることができればこれらの原因を除けるであろう。このMPCポリマーを化粧料の添加材として利用することにより、“肌に優しく、肌を健康に保ち続ける”または“水を感じ続けることができる”新しい概念の化粧料の開発も可能である。
(東京医科歯科大学)

(平成7年度)

コスメトロジーのなかの物理化学

今栄 東洋子

コスメトロジーの対象物は、両親媒性分子/水/油または助剤からなる多成分系である場合が多い。初期の研究は多成分系の相図の作成とミクロ

エマルジョンの熱力学的安定性の議論が主流であったが、電子顕微鏡による観察や散乱による計測法が導入されるに至ってその研究は飛躍的に進歩

した。すなわち、マイクロエマルジョンが球形であるのはある(水リッチ、油リッチ)相のみであり、他の多くの相内では複雑な組織体が形成されていることが明らかにされた。

多成分系内での組織体構造の解明と並行して、関連する自己組織体分散系を熱力学以外の観点から、すなわち、動力学的、流体力学的、分子論的な立場から解明することが可能になった。このことは“物理化学に基づいたコスメトロジー”の研究に対して大きく貢献している。特に、私の研究対象の一つである両親媒性分子/水/助剤の3成分系は、水性商品に対する機能性分子の取り込みのみならず、ドラッグデリバリーシステムにおける薬物の可溶化に関する基礎研究の対象系として

注目されている。

物理化学における分子論的研究手段として近年注目されているのは、走査プローブ顕微鏡と表面分光学である。電子顕微鏡よりも分解能が高く、大気中での観測が可能である原子間力顕微鏡の普及によって組織体の構造がナノスケールで観察可能になった。ここから得られる情報に従って、分子のレベルでの議論が急激に進歩した。一方、分光学を表面解析に利用した研究が注目されている。装置上の改良によって単分子膜程度の微量分子数であっても計測可能になったためである。これら方法をコスメトロジーに適応することによって、その物理化学的研究はさらに発展するであろう。
(名古屋大学)

(平成7年度)

香り人間

中田 雅久

化粧というと口紅やアイシャドウなど視覚に訴える“化けること”を思い浮かべるが、人に与える印象とかその場の雰囲気醸し出す要素として香料も目に見えない化粧として挙げられるだろう。

動物では、香りは別の意味があるらしい。例えばイヌやネコが自分の匂いを縄張りに放ったり、餌のありかを嗅ぎつけるなど、香りはむしろ生き続けるための情報源のようだ。

人間は視聴覚を主な情報伝達的手段として高度情報化社会を築き上げてきたためか、嗅覚の必要性は低くなったといえる。ただし、香りそのものは、いかなるメディアを使っても伝えるのは非常に困難であるから、香りはある光景、経験や感情とともに人の記憶にリアルに残るものとして無視できない。ある香りを嗅ぐと昔の記憶が蘇ったり、何かを連想する人も多いだろう。香りと人に与える印象とが同時に認識され記憶されるから

か、人と人の距離が接近している都会で香りを身に纏う人が多いのは気のせいだろうか。

香りの正体は分子量千以内の小分子がほとんどで、構造式で書き表すことができる。これが鼻に入ると人はその分子を香りとして認識するのだが、面白いことにその分子Aを鏡に映した化合物(鏡像体)が分子Aと重ねられないものは似て異なるものとして、香りと認識されなかったりする。これは多くの医薬品の作用機構においても同様で、このような場合、所望の化合物をいかに選択的に効率良く合成するかが有機合成化学者の永遠のテーマの一つである。その研究のここ十年の進歩は目覚ましいものがあるが、依然として更なる進展が望まれている。

香りは有機化学者の手にかかると亀の甲の話になってしまうのだが、人間に対してはある情感を呼び起こすほどの作用を持つ。光学活性化化合物の合成法の進歩を天然資源保全に対応する光学活性

(平成7年度)

コスメトロジーは不滅の学問？

野村 大成

コスメトロジー研究振興財団の助成金申請書を手にした時、私の専門分野（放射線の人体影響）とは性格を全く異にするが面白い学問があるものだと思った。というのは、私はこの十年間、膨大な予算をつぎ込んで免疫機能のないマウスの改良を行い、ヒト臓器・組織をマウスの体を借りて長期間維持することを試みてきたからである。特にヒト皮膚および皮膚疾患はSCIDマウスに2年以上にわたって維持され、今般とやかく問題になっている臨床治療実験にかわるものとして、化粧品の適性や皮膚アレルギー、治療実験に広く応用される可能性を明らかにしてきた。

我々の研究をよく理解して頂き、本財団より研究助成金を戴くことになった。贈呈式の席上、(株)コーセーの研究所の方々と雑談した折、コスメトロジーの研究のため、研究所をつくり、このような研究助成までもされていることを知り、はからずも「不景気になったり、また戦争でもあったら、一番先にけずられるのが化粧品と思うし、バブルがはじけて大変でしょう」とお尋ねし

たら、何と「不景気になっても、化粧品の使用は増えることはあっても減りはしない。減るのは旦那の小遣いだけです。きちんと化粧品を買って頂いています。」との返事だった。かねてより、家内から「主婦は化粧品にお金を使うなんてしない。」と絶えず聞かされていたが、知らぬは亭主ばかりなのか。女性の美への願望のすごさに驚いた。女性が(男子が?)いる限り、コスメトロジーとは永遠の学問なのかなとふと考え込んでしまった。かつて、私の教室で仕事をしているお嬢さんが「化粧品って何て高いんでしょう」と言った時、先輩(主婦)が「わずか5千円で男性をだませると思えば安いものよ」と笑って言った。やはり男性の責任か。という私も沖縄がまだ米国軍政下にあった頃、船医として訪れたことがある。その時、米国系のデパートで新妻のため、最も高価で、最も美しいコンパクトを買い、意気揚々と帰って帰馬鹿にされた。その時初めて、コーセーが日本の化粧品会社と知った。二十数年ぶりに思い出した。(大阪大学)

(平成7年度)

「化粧をする」ことについて

工藤 一郎

あと2、3年で50歳になる基礎の薬学研究者である私にとって、日常生活に必要な「化粧品」といえば、洗髪後のヘアートニックと朝出がけに使う整髪料ぐらいで、いわゆる「化粧をする」と

いう行為はいかにも縁遠い。そんな私が今回、コスメトロジー財団の助成金を頂いた。これまでに本助成金を受けられた多くの研究者の方たちと同様、従来私が手がけてきた研究の一環としてコス

メトロジーを捉えて研究をさせていただいた。即時型アレルギーの担い手である肥満細胞の研究、およびそこに関わる脂質性生理活性物質の研究をした。本助成金を頂くことを契機に、教室では皮膚由来の細胞も扱うようになり、研究のいっそうの展開を期した。大変ありがたいことである。

専門の報告と将来展望は報告書の項で充分述べたので、ここでは、「化粧品」あるいは「化粧をする」ということについて、ズブの素人の立場で考えてみる。

アメリカで開かれる研究会でよく経験することだが、多くの参加者が、国際的に著名な研究者ですら、非常にラフな服装で登場する。我々日本人とはといえば、大学での講義は必ずネクタイをして、上着を着てする、目上の人に会うときは正装しなければいけない、等々なかなか難しい。かく言う私も、新しくつくった背広を着ると、中身ま

でグレードアップしたような錯覚に陥り、それを、難問の解決に利用したりする。「化粧をする」ということはちょうどこれに相当するのかもしれない。中身はもちろん普段着の自分なのだが、うまくすると外見が中身を元気づけてくれる。

私は私立薬系大学に勤務している。約7割が女子学生。教室配属の年齢ともなると多くの学生が「化粧をする」ようになる。学生たちはちょうどこの時期に、卒業後の就職を決め、国家試験の合格を目指し本気で努力を始める。内面的な充実がうまく外面とマッチした場合に、彼女たちは文字どおり輝き始める。

「化粧品」は効果的であり、かつ安全でなくてはならない。化学物質に関する基礎的な科学知識の集積が、高度に複雑な繊細な形で応用される。なかなか興味深く、やりがいのある応用分野であることを改めて認識した。(昭和大学)

(平成7年度)

コスメトロジーにおける本研究の意義

藤井 博

高齢化が進む現代社会において、化粧品は、単に皮膚の美しさを保つだけでなく皮膚の保護や老化防止の為にその重要性が増している。本研究では、皮膚の保護や老化防止を考える上で重要な基礎的研究を行った。皮膚は、体温や水分の損失を防ぐ防護組織として大変重要な機能を持っている。皮膚の水分保護バリアーは、脂質から構成されていることから、皮膚における脂質代謝調節機構の研究は、皮膚の恒常性維持機構を考える上で大変重要である。また、これらの脂質は、単に皮膚の水分保護バリアーを構成するだけでなく、細胞増殖、分化、細胞死といった細胞機能の発現に重要なシグナル伝達因子として働いていることもわかっている。とりわけ、リポドバイオフィクターと呼ばれる一群の生理活性脂質は、皮膚の機

能と密接に関係している。例えば、必須脂肪酸であるリノール酸は皮膚の水分保護バリアーの必須構成脂質であり、コレステロール硫酸は、ケラチノサイトの分化誘導因子として、またレチノイン酸は、ケラチノサイトの分化制御因子として知られている。これらのリポドバイオフィクターは、脂溶性の為、その機能発現には、特異的レセプターや結合蛋白質を必要とすると考えられている。我々は、これまでに、これらのリポドバイオフィクターのうち、長鎖脂肪酸やプロスタグランジンなどと結合する蛋白質群、脂肪酸結合蛋白質(FABP)の構造と機能の相関、遺伝子発現調節機構を解析してきたが、今回、新たに皮膚型FABPを単離同定し、その構造と機能、皮膚における発現に関する基礎データを得ることができた。皮膚

型FABPの発現は、分化過程特異的で水分保護バリアーを構成する脂質の構築機構と密接に関係していることが示唆された。また、乾癬や扁平上皮癌などの皮膚疾病でこのFABPの発現が亢進していることから、今後、これらの疾患への関与機構に興味もたれる。更に、レチノイン酸は、ケラチノサイトの分化を抑制することが知られているが、FABPと相同性が高く、同一ファミリーの

蛋白質 CRABP と結合することがわかっている。皮膚におけるレチノイン酸のシグナリング機構及びCRABPの機能などについては、不明の点が多く残されている。従って、コスメトロジー研究の新たな展開においても、今後これらのリピドバイオファクターの機能発現機構に関する基礎研究が重要であると思われる。(新潟大学)

(平成7年度)

コスメトロジー雑感

井階 幸一

「色の白いは七難隠す」といわれるから、どうやら日本人は肌の色の白い方を美人としてきたようだ。同じことは古来、中国でもいわれていたから金髪美人に弱いかという明治以来の白人コンプレックスではないのであろう。私の専門とする皮膚科でもシミの類を治してほしいという患者は多い。皮膚の色の人種差はメラニン色素の分布の違いにより決定される。そして、メラニンが太陽光線からの紫外線を遮断して、私たちの皮膚を守っている。従って、北欧に住む民族は色が白く、熱帯地方に住む人は色が黒いことは自明のことであって私たちは何も疑問をさしはさまなかった。しかし、すこし考えてみると、いくら色が白くて紫外線に弱くても、その人の生殖能力に影響はしないと思われる。つまり、熱帯地方に色の白い人が住んでいても、それによる障害、すなわち皮膚癌で死ぬかもしれないのは子供を作ってからである。従って、なぜ、北欧の人は色が白く、熱帯の人は色が黒いのか、考えてみれば不思議である。

白人と黒人は数百万年も前から住むところが違っていたので、まあそれ位長い期間なら自然淘汰が生じてもよいかもしれないが、印欧語を話す人々(アーリア人といわれたが)があるものはインドへ、あるものはヨーロッパへ向かってコ-カサス地方(?)から民族移動したのは、たかだか5千年位前のことと思われる。たったそれ位の期間にインドの人とスカンジナビアの人肌の色があれほどまでに違ったのはなぜか? オーストラリアの白人はあと5千年たてばインド人のような肌の色になるのだろうか? 誰か説明できればぜひ教えてほしい。ともかく『コスメトロジー』の大きな目標の一つは『色を白く』することである。単にシミを隠したり、メラニン合成を抑える位では患者さんを満足させることはできない。何かもっと大きな、未知のメカニズムがあってヒトの皮膚への色が決定されているのかもしれない。まだまだ分からないことは多い。(京都大学)

(平成7年度)

コスメトロジーとオルガネラ

藤木 幸夫

コスメトロジー (cosmetology) という語に触れた折、果たしてこれはcosmeticを研究開発する学問だろうと想定し辞書 (Webster) をめくってみると、“the cosmetic treatment of the skin, hair, and nails”と説明されており、邦訳では美容学、化粧品とある。いずれにしても私達生命科学基礎研究者にとっては、皮膚化学 (dermatology) とも大きくオーバーラップした形でとらえることになる。従って研究内容となればUV照射、酸化ラジカル、DNA障害、細胞膜、脂質代謝など多くの分野の研究対象となることから、私などオルガネラを研究している者にとっても興味ある縄張領域である。オルガネラの1つペルオキシソームは、プラズマローゲンと呼ばれるエーテルリン脂質の合成や極長鎖脂肪酸 (炭素鎖C 22以上) の代謝には必須の小器官として近年注目されている。ペルオキシソーム欠損症は先天性代謝異常であり乳幼児期早期に死亡する重篤な疾患である。

この意味において、コスメトロジーは脂質の合成・代謝系のみならず生体膜、細胞内膜系の形成としても重要なリン脂質類の合成と輸送を含んだ細胞内及び細胞間ダイナミズムを対象とした学問と解される。これらの問いに対して現在いかほどの解答が得られているのだろうか。探求の旅のほんの出発点にいるというのが実感である。21世紀のコスメトロジーはこれらの解決へ向けて大きく発展することが期待される。

また、これは極私的な感想だが、近頃街で見かける若い人にルックス・教養・言葉遣い・品等トータルに揃った人を見かけられなくなったと常々思っていた。現在のコスメトロジーの“skin, hair, and nail”という説明の中に、近い将来に“heart”という語が入った総合ヒューマンサイエンスの一分野となる日がくることを切望し、「雑感」としたい。(九州大学)

(平成7年度)

コスメトロジー雑感

杉林 堅次

私の学生時代の研究テーマは薬物の経皮吸収に関するものであった。モデル薬物としてサルファ剤を使ったが、皮膚を介して薬物を吸収させ薬効を期待するなど、当時は夢物語であった。現在の大学に奉職するようになって別の研究を始めることとなったが、米国留学を機会にまた経皮吸収の研究を始めることとなった。しかし今度は夢物語ではなくなった。薬物の経皮吸収を促進する添加剤が十分満足できるものではなかったものの開発

されたし、また、微量で薬効を示す薬物が数多く世の中に出てきたからである。さらに、研究を始めた頃にニトログリセリンの経皮吸収型製剤が開発され、商業的にも大成功したため、薬物が皮膚を介して吸収され全身循環系に移行していくことは薬学の世界では常識となった。この間の研究で皮膚に適用する製剤の科学的レベルは大きく前進した。では化粧品ではどうであろうか。また、化粧品中の成分や添加剤は皮膚を経て全身循環系ま

で移行しないのであろうか。物質の微量分析法の進歩により、今まで吸収されないと考えられていたものが、定量感度が上がっていけば、極微量であるが吸収されていると考えねばならなくなる。化粧品は毎日使用するものであるから、成分や添加剤がどの程度皮膚組織に浸透し、また吸収していくのか、今後科学的にかつ広範に検証してみる必要があるようだ。添加物が皮膚深くに浸透する

こととなれば副作用に関しても注意を払う必要が生じてくるが、効果を科学的に論証する絶好のチャンスともなる。当然、医薬品や化粧品成分の皮膚への浸透や吸収を促進することに加えて、皮膚浸透・透過を制御するための研究も今後ますます必要になるものと考えている。今後とも薬学サイドから化粧品を見ていこうと思っている。

(城西大学)

(平成6年度)

人との出会い

松岡 成明

学生時代、脳外科入局以来先輩達から、患者の顔をよく見て判断するよう教えられてきた。

ヒトの顔にその人の生活が出る、健康状態を映す、そして人生を映す鏡でもあるといわれている。美人・ハンサムを超えたい顔をつくることは大切である。いい顔は環境とその人の努力次第である。

誰でも目を見てニコリ、目を見て握手、スマイル・コミュニケーションができるようになる。会うだけでホッとする顔、聞くだけでホッとする声、そんなホットラインが果たして何人あるだろうか？

現在400床の老人病院で痴呆患者がベッドから何回となくナースコールのボタンを押す。

訴えを聞いた事例によって、「あゝ、またか」と思うような事はないか、慣れというもの恐ろしいもので、そのように感じる時、人の感性は鈍くなり、ナースとして、医師としての大切な姿勢を失っている事が多いものである。「なぜ」「どうして」とその意味を追いつめていけばそれがショックの前駆症状であることに気づいて、必要な対応処置がとれる事をたびたび経験している。

われわれは何時いかなる時も3つの目を持たなければならない。

「1. 見逃さない目、2. 見つめる目、3. 見抜く目」の3つである。

20数年前1人の笑い症状を呈する脳腫瘍の患者と出会った。巨大な腫瘍摘出後、その病的笑いは全く見られなくなった。それ以来、笑いにまつわる問題が小生のライフワークとなり、その後、80歳になるも、綺麗な顔・綺麗な笑いを見る度に人との出会いの大切さを痛感している。造形美術論の中で口の表情が造形上一番重要であると強調されているが、他面目の表情に対する役割を軽視するわけにはいかない。笑い顔・泣き顔にも目元・口元の役割はそれぞれ大きい。目元には新皮笑の精神が反映し、口元には辺縁皮笑の心が漂う、という考えはどうであろうか。「モナ・リザの微笑」の謎も目元・口元の笑いの競合ということで解けそうな気がする時実氏は述べておられる。

最近神経学の大家である豊倉先生がある雑誌に「モナ・リザの胸鎖乳突筋」というタイトルで書かれている論文に、モナ・リザは顔をやゝ左方に向けるとともに、眼球は強く左方共同視、そして胸鎖乳突筋は逆に右側のみ収縮していることである。このパラドキシカルな現象の説明に有益な神経学的考察をされ、16世紀のはじめ、奇しくもレ

オナルド・ダ・ビンチの描いたモナ・リザの胸鎖乳突筋は、彼女の「神秘的な微笑」とともに500年近く経た今日もなお神秘のヴェールに包まれたままといわねばならないと結ばれている。

わたしは笑いの講義の終わりにいつもこのモナ・リザのスライドを見せて、これはハッピーかアンハッピーの微笑と思うかと問うたものである。どうしても左口角が右に比してつり上がっていると感じるのはいすごしであろうか。

奇しくも研究費授与式で原島氏の顔のコンピュータ科学について特別講演で拝聴し、そして氏等の近著“人の顔を変えたのは何か”の中の“モナ・

リザはなぜ魅力的に見えるのか”と種々述べられている。幸い畏友野呂氏と汽車の中で会ったのが縁で、笑い療法時の笑顔をバーチャル・リアリティ通信方法を用いて痴呆患者の笑い顔を真正面からとらえて分析することができたのは、今回の研究費のお蔭と深甚の謝意を表すると共に、老人痴呆の応接の基本の一つである言葉遣いをていねいに、大きな声ではっきりと、近くからほゝ笑い、目を合わせ、時には手や肩に触れながら話して、楽しく痴呆患者との笑い療法に励みたいと思っている。(産業医科大学)

(平成6年度)

「活きのいい」コスメトロジー研究と自己表現

大坊 郁夫

「粧(装)う」というと、なにかしら、「振りをする」、本当の自分を「偽る」かのようなニュアンスが付きまといやすいものである。ところが、「自分」というもの自体がそう確たるものではなく、他者や世間の中でいつの間にか形造られるものであると言っていいものである。身近な友人、家庭の特徴によって好むと好まざるとにかかわりなく、考え方や行動の仕方まで強く影響されている。しかし、大方は、なんとなくは分かっているが、敢えてこのことを認めたくないものようである。自分は独自・独特、そう易々と誰かの影響を受けてはいないと思いたいのも人情である。でも、このような姿勢は世情に流され、気づかないうちに周りの意見を自分のものと簡単に誤解してしまうことにつながりかねない。時々立ち止まって、「はて、自分はこれまでどう表現してきたのか、考えていたのか」をチェックすることが大切である。

「粧う」ことは、相手や状況に合わせて柔軟に

行動すること、社会的な関係を担うことに他ならないと言える。つまり、どのような場面、相手に対しても自分が期待する目的というものはある。言いたいことだけ示しても伝えたことにはならない。目的に合わせてコミュニケーションの仕方を工夫し、自分の伝えたいことと相手の意図との折り合いをうまく見つけていくものである。その際に、服装も同様であるが、「自分」の識別子の代表である「顔」に施すメイクアップは相手の視線にアピールする大きな枠を与える。その技法だけが切り離されて問題になるのではなく、顔全体、そして表情を始めとするコミュニケーションスタイル等々と常に同時に関連している。

したがって、コミュニケーションのための手がかり要因の優先性、その相互の関係についてさらに仕事を展開しなければならぬ。日常の行動をリアルに扱おうとするほど、コトはやっかいになっていく。でも、素材の「活き」をうまく生かした仕事をしたいものである。(北星学園大学)

化粧皿からギリシャ美人の秘密を探る？

服部 等作

美人の化けの皮の秘密をはぐことは勇気のいることである。とりわけ古代のヘレニズム世界にはアフロディテ（ローマではビーナス）、ニケ、アルテミスなど女神が壁画、陶器のモチーフに多く登場する。これらの女神たちは、紀元前4世紀マケドニアのアレクサンダ大王のインド遠征—現在パキスタン西北部、によって東の古代ガンダーラ地方に伝わった。この地は、いわゆるシルクロードの要衝の地であり大王の遠征以降も東西の文化、民族が興亡を繰り返した。

この地を支配したギリシャ、イラン、インド、スキタイといった多くの民族、王朝は、交易と経済活動で化粧文化を示す遺品も多数残している。例えば、スキタイ朝からクシャン朝にかかるバクトリアのティリアテベ遺跡においてはギリシャの化粧道具だけでなく遙か東の漢時代の鏡が、さらにパルティア支配下、ガンダーラのタキシラ・シルカップ遺跡では、遙か西のエジプト、ギリシャ、ローマ世界に及ぶ化粧道具が見出される。

とりわけシルカップ遺跡から多数出土した化粧皿は、そのテーマの多くが西方のギリシャ神話、とりわけディオニソスの祭を代表にエロス、ニンフ、怪獣テーマなど男性好みのテーマが好んで採用されている。いっぽう化粧する女性の姿が残されているのは、女性が鏡や化粧道具を使う姿がベグラム遺跡の象牙装飾板に、また女性が化粧皿を用いる場面が仏教寺院のレリーフで残されている程度で、本当の古代美人の化粧の秘密はわからないことが多い。

東西文化が興亡するこの地で、おそらく古代の女性たちは、特別な階級意識や環境での化粧文化であるに違いない。

この化粧皿と文化について、幸いコスメトロジー研究財団による今回の助成により、皿を一枚ずつ明らかにする機会は、近寄ることすらできない古代美人たちの化粧の秘密に一步近づくことになりそうである。

(神戸芸術工科大学)

付 録

●
事業報告書（平成8年度）

役 員

研究助成課題一覧
●

事業報告書

(自平成8年4月1日 至平成9年3月31日)

I. 7年度事業 (平成8年度)

昨年に引き続き以下のような事業を計画し、実行しました。

自然科学や社会科学の各分野にわたり、ひろくかかわりをもつ化粧品を総合的に体系化することを目的として

- ①化粧品学の調査・研究に関して顕著な成績をあげた研究者や機関に対して功労金をもってこれを表彰する。(1件あたり100万円)
- ②皮膚の生理機能や老化機構の解明、美容に役立つ素材の研究等化粧品学に関連した生命科学、その他の分野の調査・研究に対する助成を行う。
(1件あたり200万円及び100万円)
- ③化粧品学の調査・研究にたずさわる研究者の海外派遣や招聘に対して資金援助を行う。(1件あたり50万円まで)

II. 募集及び選考の経過

本年度の各事業につきましては平成8年5月7日より募集を開始し同8年7月10日をもって締切りました。

研究助成事業は本年度も一般公募を原則とし全国195ヶ所の大学・病院・研究機関等にダイレクトメールで推薦書を送付するほか、関係学術雑誌8誌にも広告し、その結果多数の応募をいただきました。応募者の研究分野が多岐にわたった為、選考委員会の中に3分科会を設け、それぞれにおいて予備選考を行い平成8年9月24日(火)ルビーホールにおいて本選考委員会を開催して受賞候補者を決定し、11月20日の理事会及び評議員会の議決を経て、受賞者を最終決定しました。

III. 第7回功労賞・研究助成等の結果

以下のとおり合計19件が決定され研究助成金2,600万円、国際交流援助金135万円が交付されました。

功労表彰 (小林 孝三郎賞)	0件
研究助成	16件
国際交流援助	3件

Ⅳ. 会議等

理事会

第1回通常理事会

開催日時 平成8年6月18日(火) 午後5時

開催場所 東京都千代田区大手町1-5-1 大手町ファーストスクエア23階 宴「銀河」

理事総数 13名 本人出席 12名 委任状出席 1名(賛成)

監事 2名 出席 2名

審議事項

第一号議案 事業報告ならびに収支決算報告について

平成7年度の事業内容が事務局より詳細に説明された。続いて収支計算、財産内容などが詳しく説明された。次に小田倉監事より上記内容が適正適法である旨の監査結果が表明された。質疑応答、審議の後、本議案は書面表決者を含め、全員一致で賛同を得、可決承認された。

報告事項

平成8年度の研究助成課題の公募について

研究助成事業の方式について、昨年との相違点を主とした詳細な説明がなされ、理事会全員でその趣旨を認めた。

その他

本年8月中にコスメトロジー研究報告第4号(収載論文20編)が発刊される予定であることが報告された。

評議員会

第1回通常評議員会

開催日時・場所は理事会に同じ。

評議員総数 14名 本人出席 10名 委任状出席 4名(賛成)

上記理事会の決議を全員一致で確認した。

第2回通常理事会

開催日時 平成8年11月20日(水) 午後2時30分

開催場所 東京都渋谷区渋谷2-12-15 日本薬学会館会議室

理事総数 13名 本人出席 11名 委任状出席 2名(賛成)

監事 2名 出席 2名

審議事項

第一号議案 第7回表彰・贈呈者の決定について

表彰・贈呈の候補者について、選考枠、選考経過などに及ぶ詳細な説明の後、分野別の応募状況の確認などを含めた活発な意見が交換された。なお今回は功労表彰対象者として該当者なしが提案された。しかるのち本議案は書面表決者を含め全員一致で原案通り可決された。

第二号議案 平成9年度事業計画案及び予算案について

配付された資料に基づき、事業計画、予算案について財源、財団運営指導に基づく仕訳の変更などにもふれた説明があり、前年の事業規模を維持、継承した提案がなされた。原案は書面表決者を含め、全員一致の賛同を得た。

第三号議案 選考委員を選任する件について

配付された資料に基づき、厚生省の人事異動に連動する選考委員の交替が提案された。慎重審議の結果、原案は書面表決者を含め、全員一致の賛同を得た。

報告事項

研究報告について

平成8年9月に第4巻が発行、配付された点と、今後も年報を継続発行する旨の報告があり、了解された。

その他

株式増資割当への対応、今後の予定などが報告され、理事会はこれを確認した。

第2回通常評議員会

開催日時・場所は理事会に同じ。

評議員総数 14名 本人出席 9名 委任状出席 3名(賛成)

上記理事会の決議を全員一致で確認した。

選考委員会

分科会Ⅰ

開催日時 平成8年9月3日(火) 午後6時

開催場所 東京都港区虎の門1-8-7 富田屋会議室

審議事項 素材、物性に関する分野の選考

分科会Ⅱ

開催日時 平成8年9月5日(木) 午後6時

開催場所 東京都千代田区大手町1-5-1 トップオブザスクエア会議室

審議事項 生体作用、安全性に関する分野の選考

分科会Ⅲ

開催日時 平成8年9月19日(木) 午後7時30分

開催場所 東京都新宿区西新宿2-2-1 京王プラザホテル会議室

審議事項 精神、文化に関する分野の選考

本選考委員会

開催日時 平成8年9月24日(火) 午後5時30分

開催場所 東京都千代田区丸の内1-9-1 ルビーホール会議室

審議事項 各分科会の結果を総合的に判断して助成候補者が決定された。

表彰贈呈式

開催日時 平成8年11月20日(水) 午後4時

開催場所 東京都渋谷区渋谷2-12-15 日本薬学会長井記念ホール

以上

第7回 研究助成を受けられたかたがた

(JA-一般研究助成A、JB-一般研究助成B、H-国際交流援助)

管理番号	研究課題	分野	代表研究者
JA-96-01	化粧品用生理活性物質の皮膚透過と皮内貯留性及びヒト皮膚と動物並びに培養皮膚との比較	生物薬剤学 皮膚科学	近畿大学薬学部教授 小木曾 太郎
JA-96-02	単分散無機顔料粒子のモルフォロジー制御とそのキャラクターゼイション	コロイド化学 界面化学	大阪教育大学教育学部助教授 神鳥 和彦
JA-96-03	酸化ストレスにより生体膜に生成する酸化型リン脂質の代謝機構の解明	生化学 薬学	北里大学薬学部教授 中川 靖一
JA-96-04	化粧品の香り表現に関する研究	心理学 官能評価	東京学芸大学教育学部助教授 神宮 英夫
JA-96-05	合成糖脂質の超分子集合体に関する研究	高分子化学 高分子物性	早稲田大学理工学部助教授 武岡 真司
JA-96-06	HGFによる皮膚の再生促進と老化防止の基礎的研究	生化学 細胞生物学	大阪大学医学部助教授 松本 邦夫
JA-96-07	高分子経皮吸収促進剤の開発と応用研究	高分子化学 製剤学	相模中央化学研究所主任研究員 長瀬 裕
JA-96-08	新発見の糊代を持ったタンパク質の基礎と応用（タンパク質接着能を有する化粧品素材の開発）	生物化学	東京工業大学生命理工学部教授 広瀬 茂久
JA-96-09	in vitroヒト樹状細胞培養系を用いた化学物質の感作性試験の可能性についての基礎的検討	皮膚科学 皮膚免疫	東北大学医学部講師 相場 節也
JA-96-10	ケラチノサイトの発現するエラスチンと皮膚老化の関連について	皮膚科学 生化学 分子生物学	防衛医科大学校助教授 多島 新吾

管理番号	研究課題	分野	代表研究者
JB-96-01	光老化におけるフリーラジカルの関与—長期紫外線 反復照射による皮膚抗酸化能の変化	細胞生物学 光生物学	金沢大学医学部助手 安井裕子
JB-96-02	食用乳酸菌による化粧品素材としての機能性多糖の 生産とその改質	生物材料化学 応用生物化学	新潟大学工学部教授 谷口正之
JB-96-03	メラニン生合成阻害作用を示す海洋天然物の探索	生薬学 天然物化学	北海道大学薬学部教授 小林淳一
JB-96-04	高齢女性における情動活性化の試み：リハビリテー ション・プログラムへの適用可能性の検討	情動心理学 発達心理学	同志社大学文学部学生(博士課程) 伊波和恵
JB-96-05	免疫不全マウス再構成皮膚における培養毛乳頭細胞 による毛包形成の誘導と関連因子の検討	皮膚科学	聖マリアンナ医科大学助教授 窪田泰夫
JB-96-06	細胞増殖因子および接着分子による皮膚硬化制御に 関する分子生物学的研究	皮膚科学 膠原病学	獨協医科大学助教授 山蔭明生
H-96-01	宇宙に滞在する人間のための室内デザインと宇宙に 於ける人間行動とくに顔の表情について	Ergonomics	欧州宇宙開発機構 Human Factors Engineers Nicholas Colford 受入責任者 早稲田大学人間科学部 野呂影勇
H-96-02	接着分子におけるムチン型糖鎖の構造機能解析	細胞生物学 微生物学	近畿大学農学総合研究所助教授 吉田元信
H-96-03	SCF/c-KIT情報伝達と神経冠細胞の分化・発達の関 連について	生物学	オレゴン大学神経科学研究所 Professor of Biology James A. Weston 受入責任者 聖マリアンナ医科大学 溝口昌子

(敬称略 受付順)

平成9年3月31日現在

役員

理事長	小林禮次郎	(株)コーセー 代表取締役会長
専務理事	宮澤 香	
理事	有本 亨	日本化粧品工業連合会 専務理事
理事	磯邊 律男	(株)博報堂 代表取締役会長
理事	宇佐美昭次	早稲田大学理工学部 教授
理事	内山 充	(財)日本薬剤師研修センター 理事長
理事	小林 保清	(株)コーセー 代表取締役社長
理事	菅原 正文	高砂香料工業(株) 代表取締役社長
理事	高橋 久	帝京大学医学部 教授
理事	高山富士雄	安田信託銀行(株) 相談役
理事	西川 武二	慶應義塾大学医学部 教授
理事	花輪 隆昭	社会福祉法人 福利厚生センター 理事長
理事	廣部 雅昭	東京大学 名誉教授
監事	小田倉正典	公認会計士
監事	黒田 節哉	弁護士
評議員	秋吉 信夫	(株)コーセー 常務取締役
評議員	市原 久照	元食薬センター 副所長
評議員	上野 芳夫	東京理科大学薬学部 教授
評議員	緒方 宏泰	明治薬科大学 教授
評議員	北原 文雄	東京理科大学 名誉教授
評議員	近藤 保	東京理科大学 名誉教授
評議員	長野 哲雄	東京大学薬学部 教授
評議員	西岡 清	東京医科歯科大学医学部 教授
評議員	野呂 影勇	早稲田大学人間科学部 教授
評議員	福内 靖男	慶應義塾大学医学部 教授
評議員	溝口 昌子	聖マリアンナ医科大学 教授
評議員	宮崎 榮三	東京工業大学 名誉教授
評議員	山崎 幹夫	千葉大学薬学部 教授
評議員	渡辺 徹	日本薬剤師会 専務理事

素材、物性に関する分野

管理番号	研究課題	分野	代表研究者
J 90-03	リン脂質膜の表面修飾と分子集合体としての機能発現に関する研究	界面物理化学	筑波大学化学系助教授 古澤邦夫
J 90-06	ヒアルロン酸で表面を修飾したりポソームからの内容物の温度による放出制御	薬品物理化学	東京理科大学薬学部助手 牧野公子
J 90-07	皮膚DDSとしての高分子脂質リポソームの基礎研究	高分子合成	早稲田大学理工学部教授 西出宏之
J 90-15	皮膚への作用性を有する各種糖脂質の合成	有機合成化学	千葉大学薬学部助教授 中川昌子
J 90-16	新製剤法及び新素材を用いた化粧品品の品質確保に関する研究	衛生化学	国立衛生試験所 環境衛生化学部長 武田明治
J 91-02	生体適合性逆型ベシクルの生成、安定化と応用に関する研究	溶液論 界面化学	横浜国立大学工学部助教授 国枝博信
J 91-05	新しいDDS剤型としての高分子ミセルの設計と機能開発	高分子合成 DDS	東京理科大学 生命科学研究所助教授 片岡一則
J 91-06	化粧品素材としての利用が可能な乳酸菌の新規育種技術の開発	応用生物化学	早稲田大学理工学部専任講師 桐村光太郎
J 91-08	化粧品素材としての竹節人參並びに甘草の組織培養による物質生産並びに大量増殖に関する研究	生薬 薬用生物学	広島大学医学部助教授 神田博史
J 91-10	界面活性剤を含む溶液混合系の相挙動と濡れの挙動に関する研究	界面化学 物理化学	九州大学理学部助教授 荒殿誠
J 91-11	超微粒子分散系の構造と物性及び自己制御コロイド系の開発	高分子物性 コロイド物性	京都大学工学部助手 松本孝芳
J 91-20	各種界面活性物質によるマクロ及びマイクロエマルジョンの調製並びに物性に関する物理化学的研究	応用界面化学	東京理科大学理工学部講師 阿部正彦

管理番号	研究課題	分野	代表研究者
J 92-01	ヒトリゾチームタンパク質を高分泌する酵母突然変異体を用いた素材生産の効率化研究	分子生物学 遺伝学	広島大学理学部助手 鈴木 克 周
J 92-03	化粧品の紫外線照射による光酸化メカニズムの研究	物理化学 界面化学	明星大学理工学部教授 日 高 久 夫
J 92-04	水素添加大豆リン脂質を用いた油性ゲル及び水性ゲルの保湿作用に関する研究	薬剤学	昭和薬科大学薬学部講師 藤 井 ま き 子
J 92-05	アスパラギン酸プロテアーゼ類の蛋白工学的機能改変によるケラチナーゼの開発	蛋白工学 生化学	東京大学理学部助手 井 上 英 史
JA-93-05	細胞膜の脂質の物性と機能の基礎的な研究 ーリン脂質物性のコスメトロジーへの応用ー	生物物性学 細胞生物物理学	東北大学理学部教授 大 木 和 夫
JA-93-06	化粧品基本素材金属酸化物の酸性大気汚染物質との相互作用	物理化学 固体界面化学	千葉大学理学部教授 金 子 克 美
JA-93-07	色素化合物の光照射下での反応の解析	生物物理化学 光化学治療 光増感化学	東京工業大学生命理工学部教授 大 倉 一 郎
JA-93-08	新規な構造を有するヒアルロン酸類似多糖の開発	糖鎖工学 高分子化学	東京工業大学生命理工学部助教授 畑 中 研 一
JB-93-01	ペプチドシナージストによるビタミンEの抗酸化能の向上ーヒト血清アルブミン由来のペプチドシナージストの開発ー	脂質生化学 食品化学	水産大学校講師 幡 手 英 雄
JB-93-02	層状鉱物を用いたホストーゲスト反応による有機色素のカプセル化	無機材料化学 粘土科学	早稲田大学理工学部助教授 菅 原 義 之
JA-94-01	ハーダー腺の分泌するアルキルジアシルグリセロールの物性解明とその素材としての応用開発	生化学 脂質生化学	東京大学医学部教授 脊 山 洋 右
JA-94-02	植物組織培養法を用いたクチナシ植物からの橙黄色色素Crocin及び青色色素イリドイド配糖体の生成に関する研究	植物細胞工学	東京理科大学総合研究所助教授 生 田 安 喜 良

管理番号	研究課題	分野	代表研究者
JA-94-04	植物培養細胞・組織による化粧品素材としての活性成分の生産と育種に関する研究	生薬学 植物細胞・組織培養	九州大学薬学部教授 正山 征洋
JA-94-07	遺伝子工学的手法を用いた必須脂肪酸 γ -リノレン酸の高等植物における多量生産	植物生理学 植物細胞工学	九州大学理学部助教授 射場 厚
JA-94-10	遠赤外線の水の構造と物性に及ぼす影響及び遠赤水の保湿効果に関する研究	物理化学 (薬学・医学系)	静岡県立大学薬学部助教授 片山 誠二
JB-94-05	弾性線維蛋白質エラスチンの自己組織化集合体の構造、物性、機能に関する研究	物理化学 生体物性学	九州大学理学部助手 甲斐原 梢
JB-94-06	バイオシグナル分子を固定化した細胞成長促進タンパク質ハイブリッド材料の合成	生体材料化学 高分子化学	京都大学工学部助手 伊藤 嘉浩
JA-95-01	材料表面-生体分子間相互作用の直接解析に基づく生体適合性の発現機構の解明	高分子化学	九州大学工学部助教授 高原 淳
JA-95-06	生体膜構造をもつ高分子中の水の構造解析と生体反応の解明に関する研究	高分子化学 生体材料学	東京医科歯科大学 医用器材研究所助教授 石原 一彦
JA-95-07	オリゴ糖による皮膚の耐乾燥保護の分子メカニズムに関する基礎的研究	生体分子工学	東京工業大学生命理工学部教授 井上 義夫
JA-95-10	両親媒性分子が構築する超分子の構造と機能性に関する研究	超分子物性化学 高分子物性	名古屋大学理学部助教授 今栄 東洋子
JB-95-02	光学活性化化合物合成を目的とする新規不斉触媒及び新規不斉触媒サイクルの開発研究	有機合成化学	早稲田大学理工学部助教授 中田 雅久
JA-96-02	単分散無機顔料粒子のモルフォロジー制御とそのキャラクタリゼーション	コロイド化学 界面化学	大阪教育大学教育学部助教授 神鳥 和彦
JA-96-05	合成糖脂質の超分子集合体に関する研究	高分子化学 高分子物性	早稲田大学理工学部助教授 武岡 真司

管理番号	研究課題	分野	代表研究者
JA-96-07	高分子経皮吸収促進剤の開発と応用研究	高分子化学 製剤学	相模中央化学研究所主任研究員 長瀬 裕
JA-96-08	新発見の糊代を持ったタンパク質の基と応用 (タンパク質接着能を有する化粧品素材の開発)	生物化学	東京工業大学生命理工学部教授 広瀬 茂久
JB-96-02	食用乳酸菌による化粧品素材としての機能性多糖の 生産とその改質	生物材料化学 応用生物化学	新潟大学工学部教授 谷口 正之
JB-96-03	メラニン生合成阻害作用を示す海洋天然物の探索	生薬学 天然物化学	北海道大学薬学部教授 小林 淳一

生体作用、安全性に関する分野

管理番号	研究課題	分野	代表研究者
J 90-01	染毛剤成分の代謝に関する研究	薬物代謝	食品薬品安全センター秦野研究所 中尾 美津男
J 90-02	ドレイズ試験代替法の開発—ヒト細胞、昆虫細胞を用いた高感度迅速試験法の開発研究—	組織培養学	理化学研究所副主任研究員 大野 忠夫
J 90-05	胆汁酸生合成のメカニズムに関する研究	生物有機化学	東京工業大学理学部助教授 藤本 善徳
J 90-08	皮膚の老化に伴うエラスチン遺伝子発現の動態	皮膚科学	慶應義塾大学医学部講師 多島 新吾
J 90-09	Werner症候群患者皮膚由来培養線維芽細胞のサイトカイン細胞成長因子に対する応答性	皮膚科学	横浜市立大学医学部助手 佐々木 哲雄
J 90-10	光化学反応によるフリーラジカルの産生と表皮培養細胞に対する影響	医科学 生化学	東京大学医科学研究所教授 金ヶ崎 士朗
J 90-11	色素性皮膚病変に対するレーザー療法の研究	皮膚科学	帝京大学医学部助教授 渡辺 晋一
J 90-12	表皮糖脂質の生化学的、形態学的並びに臨床的研究 (エピデルモンド)	皮膚科学 生化学	山口労災病院皮膚科部長 浜中 すみ子
J 90-13	生体の酸化的障害に対する防御機構の生化学的研究—ビタミンEの活性発現機構の解析—	生化学	東京大学薬学部助手 新井 洋由
J 90-14	皮膚生理機能賦活物質の経皮吸収に対する評価解析理論の確立	薬剤学	京都大学薬学部教授 瀬崎 仁
J 91-01	培養表皮細胞及び線維芽細胞におけるグリコサミノグリカン及びコラーゲンの代謝	生化学	東京薬科大学教授 森 陽
J 91-03	活性酸素、フリーラジカルによる生体膜障害の防止に関する研究	有機生化学	東京大学 先端科学技術研究センター教授 二木 鋭雄

管理番号	研究課題	分野	代表研究者
J 91-04	パッチテスト結果のコンピューター処理システムの開発	皮膚科学 接触皮膚炎	名古屋大学 医学部附属病院分院皮膚科長 早川 律子
J 91-07	皮膚過敏症に対するマスト細胞の役割—マスト細胞欠損動物を用いた検定法の開発—	実験病理学	大阪大学医学部教授 北村 幸彦
J 91-09	マウス悪性黒色腫を用いたチロシナーゼ抑制因子の精製と応用	皮膚科学	北里大学医学部講師 亀山 孝一郎
J 91-12	接触光過敏症のマウスモデルを用いた化粧品による光アレルギーのスクリーニング及びサンスクリーンの効果の評価	光生物学 皮膚免疫	浜松医科大学教授 滝川 雅浩
J 91-14	メラニン生合成の調節	分子生物学	東北大学医学部教授 此木原 茂樹
J 91-16	ビタミンCと上皮成長因子によるヒト皮膚線維芽細胞の増殖とコラーゲン代謝調節機構の分子細胞生物学的研究	分子細胞生物学 医化学	東京医科歯科大学助手 畑 隆一郎
J 91-17	人工皮膚を用いた皮膚の形成機構及び皮膚の反応性試験に関する研究	細胞生物学	広島大学理学部教授 吉里 勝利
J 91-18	サンスクリーンの紫外線性表皮障害に対する防御作用の免疫生物学的研究	皮膚科学	京都大学医学部講師 古川 福実
J 91-19	ダイレクトスキンセンサーを用いて測定した皮溝と加齢の関係	老年病学 動脈硬化	慶應義塾大学医学部助手 本間 聡起
J 91-22	フリーラジカルとポルフィリン代謝に関連する皮膚の老化機構解明に関する研究	環境科学 毒性学	国立公衆衛生院 労働衛生学部室長 市川 勇
J 92-02	光熱変換分光法による薬物の組織及び細胞への非侵襲吸収計測法の開発	分析化学	東京大学工学部教授 澤田 嗣郎
J 92-06	神経ペプチドによる皮膚炎症反応の成立機序とその特異的制御	内科学 アレルギー学	千葉大学医学部助手 岩本 逸夫

管理番号	研究課題	分野	代表研究者
J 92-07	皮膚の機能と脂質代謝に関する基礎的研究	生化学	新潟大学医学部教授 小野輝夫
J 92-08	転移因子を用いたアントシアニン色素合成遺伝子とその発現調節因子遺伝子の解析	分子遺伝学 分子生物学	東京理科大学基礎工学部教授 飯田 滋
J 92-09	モノクローナル抗体を用いた紫外線誘発DNA損傷の定量とメラニン色素のサンスクリーン効果の実験的証明	皮膚科学	奈良県立医科大学大学院生 小林信彦
J 92-10	皮膚の老化における染色体構造の変化と遺伝子修復機構に関する研究	細胞生理学	理化学研究所主任研究員 花岡文雄
J 92-11	アスコルビン酸 2-グルコシドの生物学的有用性研究—経皮吸収によるビタミンC活性発現の評価—	免疫薬理学	岡山大学薬学部教授 山本 格
JA-93-01	還元型ネオプテリン (NPH-4) の紫外線照射皮膚障害に対する効果	放射化学 薬理学 生化学	東京理科大学 生命科学研究所講師 小島周二
JA-93-02	化粧品による光老化の抗酸化的制御に関する細胞生物学的及び生化学的研究	皮膚科学 紫外線生物学	群馬大学医学部教授 宮地良樹
JA-93-03	太陽光紫外線でヒトDNA中に誘発される損傷とその修復に関する研究	放射線生物学 細胞生物学	金沢大学薬学部教授 二階堂 修
JA-93-09	いわゆる“しみ”(肝斑など)の発症機構とその増悪因子に関する研究	皮膚科学	東北大学医学部講師 富田 靖
JB-93-04	尋常性痤瘡の発症機序の解明のための皮膚の保湿機能と脂質代謝に関する研究	皮膚科学	新潟大学医学部助教授 山本綾子
JB-93-05	哺乳類皮膚細胞のアポトーシスと細胞接着をつかさどるセラミドの研究	糖生物学 発生生物学 生化学	九州大学理学部助教授 野村一也
JB-93-06	不飽和脂肪酸とその過酸化生成物の皮膚角質層への作用に関する研究	製剤学	大阪薬科大学薬学部助教授 森本一洋

管理番号	研究課題	分野	代表研究者
JA-94-03	表皮ケラチノサイトにおけるヒト細胞老化因子の研究	皮膚科学	大阪大学医学部助教授 橋本公二
JA-94-06	皮膚生理機能賦活物質の合理的吸収促進法の開発	薬剤学	京都大学薬学部教授 橋田充
JA-94-08	リポソーム封入薬剤の皮膚吸収過程の解析と皮膚内ラジカル消去への応用	生物物理化学 生体医用化学	九州大学薬学部教授 内海英雄
JA-94-09	表皮細胞の細胞接着と角化制御に関するシグナル伝達	皮膚科学 細胞生物学	岐阜大学医学部教授 北島康雄
JA-94-11	微生物に由来する多糖分解酵素のコスメトロジーへの応用	遺伝子工学 生化学	東京工業大学 生命理工学部助教授 中村聡
JB-94-01	皮膚発現型レチノイン酸受容体のドミナントネガティブ・トランスジェニックマウスを用いた皮膚の成熟過程の検討	皮膚科学 遺伝子工学	京都大学医学部助手 田中俊宏
JB-94-02	化粧品が高温環境下の発汗反応及び選択的脳冷却機構に及ぼす影響	環境生理学 温熱生理学	金沢大学医学部助手 田辺実
JB-94-03	サンスクリーン剤の光ハプテンとしての性格	皮膚科学	浜松医科大学医学部講師 戸倉新樹
JA-95-02	脂質皮膚モデルを利用した化粧品及び水の浸透と安全性に関する基礎的研究	生物物理化学 高分子物性	東京工業大学工学部助教授 谷岡明彦
JA-95-03	小分子化学物質によるアトピー性皮膚炎の発症と予防についての基礎研究	免疫薬理学	岐阜薬科大学教授 永井博式
JA-95-04	ヒト皮膚移植SCIDマウスを用いた新しいコスメトロジー研究	実験病理学	大阪大学医学部教授 野村大成
JA-95-08	接触皮膚炎におけるマスト細胞活性化反応の解析	生化学	昭和大学薬学部教授 工藤一郎

管理番号	研究課題	分野	代表研究者
JA-95-09	放射線照射あるいは制癌剤投与による脱毛の抑制	生化学 放射線生物学	星薬科大学講師 太田節子
JB-95-01	皮膚表皮細胞におけるリポドバイオフィクターの機能発現機構	生化学 分子生物学	新潟大学医学部助教授 藤井博
JB-95-03	炎症後色素沈着におけるエイコサノイドによるメラノサイト活性化機構の解明	皮膚科学 生化学	京都大学医学部助教授 井階幸一
JB-95-04	細胞内小器官ペルオキシソーム：エーテルリン脂質の生合成と酸素ラジカスカベンジャー機能及び欠損症	細胞生化学 分子生物学	九州大学理学部教授 藤木幸夫
JB-95-06	多成分油性皮膚浸透促進システムの有効性及び作用機構に関する研究	製剤学	城西大学薬学部助教授 杉林堅次
JA-96-01	化粧品用生理活性物質の皮膚透過と皮内貯留性及びヒト皮膚と動物並びに培養皮膚との比較	生物薬剤学 皮膚科学	近畿大学薬学部教授 小木曾太郎
JA-96-03	酸化ストレスにより生体膜に生成する酸化型リン脂質の代謝機構の解明	生化学 薬学	北里大学薬学部教授 中川靖一
JA-96-06	HGFによる皮膚の再生促進と老化防止の基礎的研究	生化学 細胞生物学	大阪大学医学部助教授 松本邦夫
JA-96-09	in vitroヒト樹状細胞培養系を用いた化学物質の感作性試験の可能性についての基礎的検討	皮膚科学 皮膚免疫	東北大学医学部講師 相場節也
JA-96-10	ケラチノサイトの発現するエラスチンと皮膚老化の関連について	皮膚科学 生化学 分子生物学	防衛医科大学校助教授 多島新吾
JB-96-01	光老化におけるフリーラジカルの関与一長期紫外線反復照射による皮膚抗酸化能の変化	細胞生物学 光生物学	金沢大学医学部助手 安井裕子
JB-96-05	免疫不全マウス再構成皮膚における培養毛乳頭細胞による毛包形成の誘導と関連因子の検討	皮膚科学	聖マリアンナ医科大学助教授 窪田泰夫

管理番号	研究課題	分野	代表研究者
JB-96-06	細胞増殖因子および接着分子による皮膚硬化制御に関する分子生物学的研究	皮膚科学 膠原病学	獨協医科大学助教授 山 蔭 明 生

精神、文化に関する分野

管理番号	研究課題	分野	代表研究者
J 90-04	化粧が意識性に及ぼす効果の研究	心理学	早稲田大学人間科学部教授 春木 豊
J 91-13	香料に関する定量的解析	感覚生理学	北海道大学薬学部教授 栗原 士 ^三
J 91-15	アルツハイマー型老年痴呆症、ぼけ症状を呈する人々への化粧による情動活性化の研究	感情心理学 臨床心理学	同志社大学文学部教授 浜 治世子
J 91-21	「色白」の嗜好構造に関する一考察	心理学 色彩心理学 造形心理学	早稲田大学 人間総合研究センター 齋藤 美穂
Js-92-01	病院看護における化粧に関する研究	基礎看護学	埼玉県立衛生短期大学教授 大河原 千鶴子
Js-92-02	高齢者のおしゃれ行動とその評価に関する研究	人間行動科学	北海道教育大学教育学部助教授 藤森 立男
JA-93-04	色彩の心理学的意味空間の研究	計量心理学 認知心理学 行動計量学	金沢大学文学部助教授 岡本 安晴
JB-93-03	化粧の個人的効果と対人的効果に関する実証的研究	社会心理学	福島大学教育学部助教授 飛田 操
JA-94-05	化粧と痴呆老人に関する基礎的研究	脳神経外科学 心理学	産業医科大学名誉教授 松岡 成明
JB-94-04	対人魅力の形成にかかわる顔の構造的特徴と化粧行動の影響の研究	社会心理学 対人魅力	北星学園大学文学部教授 大坊 郁夫
JA-95-05	化粧皿を通じた古代ヘレニズム世界における化粧文化の研究	装飾文化 デザイン	神戸芸術工科大学助教授 服部 等作
JB-95-05	化粧品の表示に関する研究—ことに警告表現について—	社会心理学	筑波大学社会工学系講師 吉川 肇子

管理番号	研究課題	分野	代表研究者
JA-96-04	化粧品の香り表現に関する研究	心理学 官能評価	東京学芸大学教育学部助教授 神宮英夫
JB-96-04	高齢女性における情動活性化の試み：リハビリテーション・プログラムへの適用可能性の検討	情動心理学 発達心理学	同志社大学 文学部学生（博士課程） 伊波和恵

*本財団についてのお問い合わせは下記に
お願いいたします。

財団法人 コスメトロジー研究振興財団

〒104 東京都中央区銀座三丁目5番12号
電話 東京 03(3564)6731

コスメトロジー研究報告 Vol. 5 / '97

非売品

1997年9月1日発行

編 者 宮澤 香、徳田 純一
発 行 財団法人 コスメトロジー研究振興財団
〒104 東京都中央区銀座三丁目5番12号
電 話 東京 03(3564)6731
製 作 エイエム企画
〒170 東京都豊島区東池袋一丁目33番7号
電 話 東京 03(3590)5375
印 刷 宮崎印刷