

皮膚細菌叢を制御する脂肪酸

永尾 寿浩^{1*}・宇山 彩香²・田中 重光¹・杉野 哲造²

はじめに

微生物は“汚いバイ菌”として、すべて排除することは正しいだろうか？

ヒトの腸、口腔、皮膚などの臓器の中または表面上には多数の微生物が常在し、それらは、①健康に寄与する微生物（善玉菌）、②疾病に関与する微生物（悪玉菌）、③無作用または作用不明の微生物、および④中間的な微生物（たとえば、普段は無作用だが、免疫力の低下時だけ疾病に関与する日和見菌）、の4グループに分類できる¹⁾。つまり、「悪い微生物」と「良い微生物」があることから、すべての微生物の生育を抑制するのではなく、疾病に関与する微生物だけの生育を選択的に抑制すれば、ヒトと微生物の良好な共生関係が成立し、人体の健康が保たれる。本稿では、ヒトの皮膚に常在する微生物（皮膚細菌叢、学術的にはskin microbiota, skin microbiome, 消費者用語ではスキnfローラ）に焦点を絞った。

皮膚細菌叢の多様性

皮膚の表層上や、毛穴・皮脂腺・汗腺の中には多数の微生物〔細菌、糸状菌や酵母（医学用語：真菌）、ウイルス〕が常在し^{2,3)}、その総菌数は一人当たり 10^{12} 個に及ぶ。近年の菌叢解析技術の発展により、皮膚に常在する微生物の種類が部位別（たとえば、顔、肘、掌、足など）に詳しく調べられた²⁻⁴⁾。存在量が多すぎる微生物は細菌であり、細菌叢は、乾燥部位（前腕掌側など）、湿潤部位（鼻孔など）、脂漏部位（鼻先など）、足（つま先や足底など）の4グループに大別することができた。顔面上の細菌はアクネ菌（*Cutibacterium acnes*, 旧称：*Propionibacterium acnes*）が多かった。糸状菌や酵母の中では、足を除いたすべての部位でマラセチア（*Malassezia restricta*, *M. globosa*）が大多数であった⁵⁾。*C. acnes*と表皮ブドウ球菌（*Staphylococcus epidermidis*）の菌株（strain）レベルでの系統解析によると、*C. acnes*の場合、部位間での菌株の相違は認められなかったが、個人間での菌株の相違が認められた⁴⁾。一方、*S. epidermidis*の場合、個人間での菌株の相違は認められなかったが、足は他の部位と菌株が異なっていた。

黄色ブドウ球菌と皮膚疾患

アトピー性皮膚炎（Atopic dermatitis, AD）はさまざまな要因が複合して発症・増悪化するが、その要因の一つが炎症部における黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus*）の顕著な増加である⁶⁾。種々の毒素を産生し、食中毒や院内感染の原因菌として知られている。*S. aureus*は、炎症を惹起するプロテインAや δ -トキシン^{7,8)}、皮膚バリアを破壊するプロテアーゼなどを分泌し⁹⁾、ADの増悪化に関与する。一方、健常者では*S. epidermidis*が*S. aureus*より優勢であり、*S. epidermidis*は、*S. aureus*の生育抑制作用のあるphenol-soluble modulin (PSM)の分泌¹⁰⁾、ケラチノサイトによる抗菌ペプチド（ヒト β -ディフェンシン, hBD）の分泌促進¹¹⁾、*S. aureus*によるバイオフィーム形成抑制（*S. aureus*定着抑制）¹²⁾、炎症抑制物質リポテイコ酸の分泌など¹³⁾、さまざまな有用機能を持つ。また、*S. epidermidis*と*Staphylococcus hominis*の一部の菌株¹⁴⁾、および*Staphylococcus lugdunensis*¹⁵⁾は、*S. aureus*の生育を抑制する抗菌ペプチド（バクテリオシンの一種）を分泌する。興味深いことに、*S. epidermidis*と*S. hominis*のうちの抗菌ペプチドを産生する菌株は、健常者から高頻度で見いだされたのに対して、AD患者からはあまり見いだされなかった¹⁴⁾。これらのことから、近年、*S. epidermidis*は善玉菌、あるいは美肌菌として認知されている。

*C. acnes*は、*S. aureus*のバイオフィーム形成促進物質を産生する有害な側面と、皮脂の加水分解産物であるグリセリンをプロピオン酸に変換して*S. aureus*の生育を抑制する有益な側面を持つ^{16,17)}。

好中球は生体内に侵入してきた細菌などを貪食・殺菌することで細菌感染を防ぐが、*S. aureus*については事情が異なる。好中球周辺に*S. aureus*が多いこと、それは好中球細胞外トラップと関連性があること、*S. epidermidis*は好中球の減少を介して*S. aureus*を減少させることが解明されており、更なる究明が待たれる¹⁸⁾。以上のように、皮膚細菌叢は、ホストであるヒトの健康/疾病と密接に相互作用している。

病院のICU労働者の手には、高頻度で*S. aureus*が検出されることが報告されている¹⁹⁾。これは、手洗いの繰り返

*著者紹介 大阪産業技術研究所森之宮センター・生物・生活材料研究部（総括研究員兼室長） E-mail: nagao@omtri.or.jp

¹大阪産業技術研究所森之宮センター・生物・生活材料研究部、²桃谷順天館・桃谷総合文化研究所
生物工学 第98巻 第10号（2020）

返しにより、後述のような抗菌活性を持つ油脂の減少が要因と推定される。

黄色ブドウ球菌を選択的に抑制する脂肪酸

ヒトの皮脂中に存在するサピエン酸 (6-*cis*-C16:1, SA) は、弱酸性条件下において、*S. aureus* に対して強く、*S. epidermidis* に対して弱い選択的抗菌活性を示す (図1)¹⁾。健常者の皮脂中のSA含量は平均約2 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ であるが²⁰⁾、このSA含量で*S. aureus*が抑制され、さらに、PSMやhBDなどの作用も複合し、健全な皮膚細菌叢が維持されると考えられる (図2)。しかし、AD患者では、炎症部でのSA含量の減少により*S. aureus*の生育抑制作用が効かなくなり、*S. aureus*が顕著に増加し、前節に述べた種々の産生タンパク質の作用によりAD炎症が増悪化すると推定される (図3)。手洗いの多い病院のICU労働者の手に*S. aureus*が高頻度で検出されるという事実は、手洗いにより皮脂中のSAが減少することが要因の一つであると推定される。

ヒトの皮膚に存在するタンパク質の一つであるフィラグリンは、セラチノサイトが皮膚表層に移行するにつれて加水分解されてアミノ酸になり、Argなどがシトルリンなどの保湿物質に変換されてpKa値が低下し、皮膚

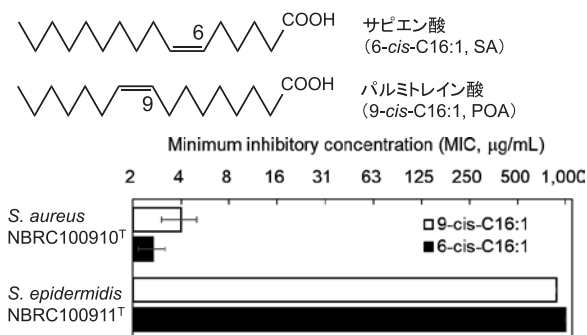


図1. サピエン酸とパルミトレイン酸の構造、および*S. aureus*と*S. epidermidis*に対する各脂肪酸の抗菌活性

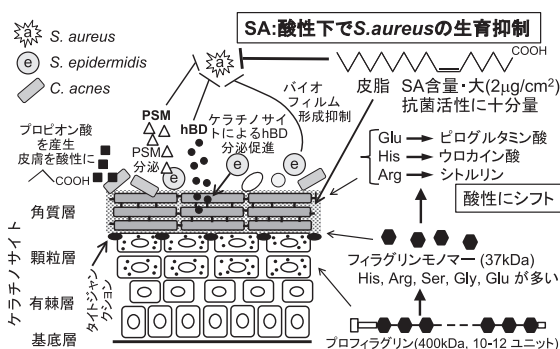


図2. 健常者の皮膚における皮膚細菌叢と油脂の推定相互作用

表層は弱酸性に保たれる (図2)。しかし、AD患者ではフィラグリン遺伝子や皮脂分泌関連遺伝子などに変異が認められる²¹⁾。このため、AD患者では皮膚表層が弱酸性に保たれない (図3)。*S. aureus*に対するSAの抗菌活性は中〜アルカリ性で弱いことから、AD患者の皮膚表層が*S. aureus*が増える一因であると推定される。

セラチノサイトは、セラミドやトリアシルグリセロール (TAG) などで構成される皮脂を分泌する。TAGを構成する脂肪酸の一つであるSAは、TAGの形態では抗菌活性を発揮しないが、TAGが加水分解されて遊離脂肪酸に変換されると選択的抗菌活性が発揮される。TAGの加水分解には、皮膚細菌叢が発現するリパーゼが関与する。関連研究は少なく、今後の解明が待たれるが、少なくとも、皮膚細菌叢とリパーゼと皮脂と疾病は密接に関係していることは確かである。

SAは皮膚細菌叢の制御に寄与していることから、SAを皮膚に供給すれば良いが、このSAは天然油脂からの有効な供給源に乏しい。そこで筆者 (本稿代表者) は、植物油中のパルミトレイン酸 (9-*cis*-C16:1, POA) がSAと同じ選択的抗菌活性を示すことを見いだした (図1)¹⁾。また、炭素数14〜22で二重結合が1個の脂肪酸の*S. aureus*と*S. epidermidis*に対する抗菌活性を調べたところ、*S. aureus*に対する抗菌活性は炭素数16のSAとPOAがもっとも強いこと、POAの選択的抗菌活性 (図1) は弱酸性下でのみ見いだされること、弱酸性下で選択的抗菌活性があるのは炭素数16の脂肪酸だけであること、中〜アルカリ性では抗菌活性が弱くなること、をそれぞれ見いだした^{22,23)}。*S. epidermidis*が善玉菌として化粧品業界で注目されている背景に後押しされ、筆者らは、POAを含む素材を配合した化粧品の研究・開発を行った。この過程で、POAを配合した模擬クリームが、*S. aureus*の生育を抑制し、*S. epidermidis*の生育を抑制しないことを、寒天プレートによる微生物試験で確認し、2019年夏、ブランド名・モイストラボフローラの化粧品を商品化し

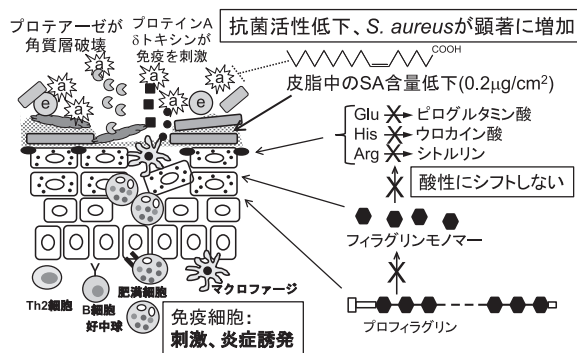


図3. ADの皮膚における皮膚細菌叢と油脂の推定相互作用

た（販売会社：明色化粧品）^{22,23}。この商品化をきっかけとして、今後、筆者（本稿代表者）は、ADの炎症抑制や肌荒れ予防などを目的とした研究に発展させていきたい。

POAを生産する微生物の開発

POAの供給源は限定的であり、魚油（イワシ、マグロなど）、牛脂、豚脂には2～10 %のPOA、マカダミアナッツ油やシーベリー果肉油には20～40 %のPOAがそれぞれ含まれている。一部の藻類（*Nannochloropsis oceanica*など）は、50 %のPOAを含有する油脂を生産する²⁴。しかし、POAの供給源は必ずしも十分ではない。そこで、POAとPOA異性体を生産する微生物に関する研究を行った。

産業技術総合研究所のKamisakaらは、*Saccharomyces cerevisiae* BY4741 ($\Delta gal + DGAL$)の構築と培養条件の改変より、POA含量の高いTAGの生産に成功した²⁵。しかし、酵母TAG中にはPOAの抗菌活性を妨害するオレイン酸（9-*cis*-C18:1, OA）が多い。そのため、このTAGを遊離脂肪酸に変換したとき、一部の*S. aureus*株に対する抗菌活性が弱かった。そこで、 $\Delta 9$ 不飽和化酵素（*ole1*）の破壊とPOA合成特異的 $\Delta 9$ 不飽和化酵素（*cFAT*）の発現などを行った*S. cerevisiae*形質転換株を構築したところ、OA含量が大きく低下し、POA含量が69 %に高められた。このTAGを遊離脂肪酸に変換したとき、検討した全*S. aureus*株に対する抗菌活性が、改良前よりも強くなった（産業技術総合研究所、大阪産業技術研究所、ヤエガキ醗酵技研の共同研究）²⁶。

菜種油を基質として新規脂質を生産する微生物のスクリーニングを行ったところ、ワックス（脂肪酸と脂肪族アルコールのエステル体）を貯蔵栄養源として菌体内に蓄積する*Aeromonas hydrophila* subsp. *hydrophila*が単離された²⁷。興味深いことに、この*A. hydrophila*が生産するワックスを構成する脂肪酸は、基質の構成脂肪酸よ

りも炭素数が2または4短くなっていた（図4）。これは、 β -酸化の作用によるものである。OAを豊富に含む菜種油を基質としたとき、POA異性体（7-*cis*-C16:1）とミリストレイン酸異性体（5-*cis*-C14:1）などの希少な不飽和脂肪酸に変換された。同時に生産される希少な不飽和脂肪族アルコールは、還元酵素群によりカルボン酸が水酸基に還元され、先の脂肪酸とエステル結合してワックスとなっていた。残念ながら、*A. hydrophila*はBSL2に属するため、実用化のハードルは高いが、7-*cis*-C16:1は、SAとPOAと同じ選択的抗菌活性を保持する有用物質であった（大阪産業技術研究所、近畿大学の共同研究）²⁸。

アクネ菌ニキビ患者株を選択的に抑制する脂肪酸

ニキビ（尋常性ざ瘡）は、顔面、胸背部の毛包・脂腺に見られる炎症性疾患であり、青年期に多く発症する。その発症には、脂質代謝異常、角化異常、*C. acnes*などの微生物が複合的に関与する。近年、米国の研究グループにより*C. acnes*の株レベルでの系統的な分類が行われた。その分類法は複数あるが、16S rDNA配列（ribotype, RT）で分類した時、ニキビ患者群に多い*C. acnes*株（RT4とRT5）、健常者群に多い*C. acnes*株（RT6）、および両群に均等に存在する*C. acnes*株（RT1～RT3）があることが見いだされた^{29,30}。さらに、*C. acnes*はsubsp.で再分類され、*C. acnes* subsp. *acnes*、*C. acnes* subsp. *defendens*、*C. acnes* subsp. *elongatum*に再編された³¹。

RT4とRT5株は、ゲノム中の2か所の挿入配列とプラスミドを保持し²⁹、ニキビの原因の一つであるポルフィリン産生量が多く³²、末梢血単核細胞と共培養時において炎症性サイトカインIFN- γ とIL-17産生を他株より促進し³³、ニキビ治療に常用される複数の抗生物質に耐性を持っていた³⁴。これら好ましくない性質を有することが明らかになっている。一方、RT6株は、ポルフィリン産生量が少なく³²、末梢血単核細胞と共培養時において抗炎症性サイトカインIL-10産生を他株より促進し³³、二つあるリパーゼ遺伝子の片方に欠失変異がある³⁵、などの有益な特徴を持つ。なお、リパーゼは皮脂を遊離脂肪酸に変換して毛穴を詰らせ、ニキビの原因の一つとなる。

そこで筆者らは、RT4とRT5株の生育を抑制し、RT6株の生育を抑制しない物質のスクリーニングを行った。サリチル酸や過酸化ベンゾイルなどの市販抗菌剤41種類には選択的抗菌活性が認められなかったが、ペンタデカン酸やヘプタデカン酸には、目的とする選択的抗菌活性を保持することを見いだした^{1,34,36,37}。

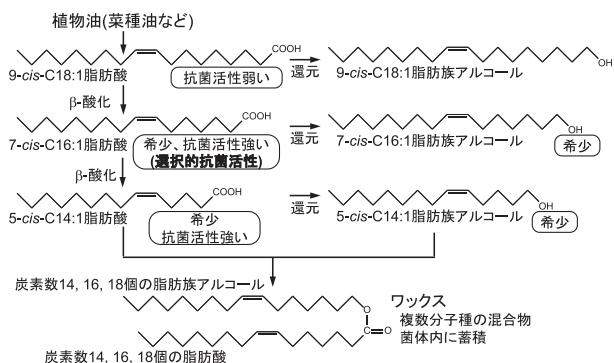


図4. *A. hydrophila*による植物油からの希少な不飽和脂肪酸と希少な不飽和脂肪族アルコールの生産

おわりに

近年、多数の抗菌や除菌グッズが出回り、微生物の存在しない無菌環境で暮らすことが最善かのような風潮である。特に、コロナウイルスの問題がある現在はそれが顕著である。しかし、それはすべての場面において正しいとは言えない。環境中には微生物が多数存在し、それらは動・植物や生態系に恩恵を与えていること、「悪い微生物」と「良い微生物」を明確に区別すべきであること、などは『生物工学会誌』で説明する必要はないだろう。しかし、消費者レベルでは、ヒトの皮膚上には 10^{12} 個の微生物が常在するという認識に乏しく、「悪い微生物」も「良い微生物」もすべて除去すべきと思い込んでいるような気がする。本稿の結論として述べたいことは、微生物の生育抑制や除去は、状況に応じて、下記の中から選択すべきであり、これらの考えを普及することが、微生物の研究者の責務であると考えている。

- ①ほぼすべての微生物の生育抑制や除去（例：手術の時、長期間流通する食品など）
- ②疾病に関与する微生物だけの選択的生育抑制や除去（例：ヒトに共生する微生物など）
- ③過剰な数の微生物の除去、または微生物が過剰にならないように制御（例：微生物由来の体臭の防止、本日中に消費する弁当など）
- ④すべての微生物の生育抑制や除去の必要なし（例：土壌など）

コロナウイルスによる感染が深刻化し、感染予防のための手洗いが推奨されている。それは不可欠なことであるが、その反面、手荒れの増加が問題化している。詳しくは解明されていないが、病院のICU労働者と同様、皮脂減少が原因の可能性がある。今後、手洗いによる肌荒れ後に使用するPOA配合保湿クリームが開発されることを期待している。

謝 辞

本研究の遂行にあたり、元近畿大学農学部岸本憲明先生、元産業技術総合研究所神坂泰先生、および共同研究をさせていただいた企業の研究者の皆様方に感謝いたします。また、本研究の一部は、JSPS科学研究補助金（No. 20580093、他2件）、H22-23年度発酵研究所一般助成金、H24-25年度JST、A-STEP（探索タイプ）、H28年度NEDO中堅・中小企業への橋渡し研究開発促進事業の助成を受けて実施されたものである。

文 献

- 1) Nagao, T. *et al.*: *INFORM*, **31**, 12 (2020).
- 2) Grice, E. A. and Segre, J. A.: *Nat. Rev. Microbiol.*, **9**, 244 (2011).
- 3) Byrd, A. L. *et al.*: *Nat. Rev. Microbiol.*, **16**, 143 (2018).
- 4) Oh, J. *et al.*: *Nature*, **514**, 59 (2014).
- 5) Findley, K. *et al.*: *Nature*, **498**, 367 (2013).
- 6) Kong, H. H. *et al.*: *Genome Res.*, **22**, 850 (2012).
- 7) Terada, M. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 8816 (2006).
- 8) Nakamura, Y. *et al.*: *Nature*, **503**, 397 (2013).
- 9) Nakatsuji, T. *et al.*: *J. Invest. Dermatol.*, **136**, 2192 (2016).
- 10) Cogen, A. L. *et al.*: *J. Invest. Dermatol.*, **130**, 192 (2010).
- 11) Lai, Y. *et al.*: *J. Invest. Dermatol.*, **130**, 2211 (2010).
- 12) Iwase, T. *et al.*: *Nature*, **465**, 346 (2010).
- 13) Lai, Y. *et al.*: *Nat. Med.*, **15**, 1377 (2009).
- 14) Nakatsuji, T. *et al.*: *Sci. Transl. Med.*, **9**, eaah4680 (2017).
- 15) Zipperer, A. *et al.*: *Nature*, **535**, 511 (2016).
- 16) Wollenberg, M. S. *et al.*: *mBio*, **5**, e01286 (2014).
- 17) Shu, M. *et al.*: *PLoS ONE*, **8**, e55380 (2013).
- 18) Bitschar, K. *et al.*: *J. Invest. Dermatol.*, **140**, 1054 (2020).
- 19) Rosenthal, M. *et al.*: *Pathogens*, **3**, 1 (2014).
- 20) Takigawa, H., *et al.*: *Dermatol.*, **211**, 240 (2005).
- 21) Egawa, G. and Kabashima, K.: *J. Allergy. Clin. Immunol.*, **138**, 350 (2016).
- 22) Nagao, T. *et al.*: ISBAB2019講演要旨集, p. 40 (2019).
- 23) 永尾寿浩：日本生物工学会 2019年度第1回脂質駆動学術産業創生研究部会, https://www.sbj.or.jp/event/division_lipd_based_sympto_20200207.html (2020/8/6).
- 24) 瀧村 靖, 齋藤 猛：日本生物工学会, 2019年度第1回脂質駆動学術産業創生研究部会, https://www.sbj.or.jp/event/division_lipd_based_sympto_20200207.html (2020/8/6).
- 25) Kamisaka, Y. *et al.*: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **99**, 201 (2015).
- 26) 永尾寿浩ら：日本農芸化学会講演要旨集, 4D1a05 (2019).
- 27) Nagao, T. *et al.*: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **86**, 1189 (2009).
- 28) 永尾寿浩：天然系抗菌・防カビ剤の開発と応用（坂上吉一監修）, p. 104, CMC出版 (2019).
- 29) Fitz-Gibbon, S. *et al.*: *J. Invest. Dermatol.*, **133**, 2152 (2013).
- 30) 富田秀太ら：実験医学, **32**, 739 (2014).
- 31) Dekio, I. *et al.*: *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **69**, 1087 (2019).
- 32) Johnson, T. *et al.*: *mSphere*, **1**, e00023 (2016).
- 33) Yu, Y. *et al.*: *J. Invest. Dermatol.*, **136**, 2221 (2016).
- 34) 永尾寿浩ら：日本農芸化学会講演要旨集, 2A02a10 (2018).
- 35) Tomida, S. *et al.*: *mBio*, **4**, e00003 (2013).
- 36) 杉野哲造ら：フレッグランスジャーナル, **46**, 46 (2018).
- 37) Uyama, A. *et al.*: *PCT/JP2017/039144* (2017).