

化粧品科学研究開発専門誌 フレグランスジャーナル

FRAGRANCE JOURNAL

2015
8
August

Research & Development for Cosmetics, Toiletries & Allied Industries

1回使切り型制汗剤によるワキでのストレス性発汗の抑制

「ミドル脂臭」に着目したデオドラント技術

嗅覚受容体を対象とした選択的消臭技術

殺菌成分・制汗成分の滞留性向上技術

体臭を可視化するイメージセンサの開発

現代人の体臭・多汗事情とそのケア

加齢に伴う女性の頭皮臭の変化

香気成分の経口摂取による

皮膚放出促進の検討と応用



特集 汗, 体臭の研究と 制汗・デオドラント製品の開発

最新研究 毛乳頭細胞におけるミトコンドリア活性化機構と加水分解酵母エキスの効果
連載 未来の美肌/中国市場に挑む/ドクターコスメの声/ビューティサイエンティストの窓

特集／汗、体臭の研究と制汗・デオドラント製品の開発 Sweat, body odor research and antiperspirant, deodorant products development

現代人の体臭・多汗事情とそのケア

Today's therapy and care of body odor and excessive sweating

.....五味クリニック 五味常明 (14)

「ミドル脂臭」に着目したデオドラント技術の開発

Development of deodorant system for the effective suppression of diacetyl generation

.....マンダム 技術開発センター 原 武史・松井 宏 (18)

嗅覚受容体を対象とした選択的消臭技術の開発と応用

Development of the new technique targeting at odorant receptors to reduce malodors selectively

.....花王 感性科学研究所 難波 綾・齋藤菜穂子・中村純二 (24)

1回使切り型制汗剤によるワキでのストレス性発汗の抑制

Effective prevention of axillary stress-induced sweating and malodor with antiperspirant/deodorant product in a single-use package

.....ニベア花王 研究所 犬飼桂子・伴 和佳・井上和郎 (30)

殺菌成分・制汗成分の滞留性向上技術の開発

Development of retention enhanced techniques of bactericidal agents and antiperspirant agents

.....ライオン ビューティケア研究所 友松公樹 (37)

加齢に伴う女性の頭皮臭の変化について

Age-related changes in female scalp odor

.....ミルボン 中央研究所 水野紗耶香・伊藤 廉・長野庸一 (43)

香気成分の経口摂取による皮膚放出促進の検討及び食品開発への応用

Study on acceleration of aromatic compounds release from skin by oral intake and application of food products development

.....クラシエフーズ 食品研究所 伊藤健司 (47)

体臭を可視化するイメージセンサの開発と応用の可能性

Development and application of odor image sensor for body odor

.....九州大学 大学院システム情報科学研究所 林 健司
九州大学 味覚・嗅覚センサ研究開発センター 劉 傳軍 (52)

〔最新研究〕

毛乳頭細胞におけるミトコンドリア活性化機構と加水分解酵母エキスの効果

.....サラヴィオ化粧品 サラヴィオ中央研究所 御筆千絵・加世田国与士 (60)



毛乳頭細胞における ミトコンドリア活性化機構と加水分解酵母エキスの効果

御筆千絵*¹ 加世田国与士*²

1. はじめに

毛乳頭細胞 (Dermal Papilla cell, DP 細胞) は毛包の基部にあり、毛包の形成や毛周期の制御に密接に関与している。毛周期の各段階において様々な制御因子が重要な役割を担うことが知られている。

中でも、表皮のケラチノサイトで産生される PDGF-AA (血小板由来成長因子) は、細胞塊 (Dermal condensate) を誘導し、毛包の形態形成に関与すること¹⁾²⁾、毛周期においては成長期の誘導や維持に関与する重要な因子であることがわかっている³⁾。

毛包形成時にみられる細胞の遊走や、シグナル因子の産生などの細胞機能には多くのエネルギー (ATP, アデノシン三リン酸) が必要であり、その大部分がミトコンドリアと呼ばれる細胞小器官によって産生される。細胞の機能に応じて、ミトコンドリアは融合・分裂により線維状や断片型などの形態をとることがわかってきた⁴⁾。いくつかの細胞種を用いた実験で、ミトコンドリアの形態変化と細胞機能についての報告があるが^{5)~7)}、現在までに、DP 細胞におけるミトコンドリアの調節機構についての報告はない。

そこで、私たちは DP 細胞のミトコンドリアの形態と機能の関係を調べた。本稿では、PDGF-AA がどのように DP 細胞のミトコンドリアを制御しているのかを明らかにした。また、ミトコンドリアの機能を活性化させる

天然由来原料として、自社原料の 1 つである加水分解酵母エキスを紹介する。

2. ミトコンドリア調節機構

2-1. ミトコンドリアの形態と機能の関係

栄養飢餓状態にしたマウス線維芽細胞では、細長い線維状ミトコンドリアの割合が高くなり、線維状ミトコンドリアは、断片的なミトコンドリアよりも効率よく ATP を産生することが報告されている⁵⁾。また、細胞周期の G1/S 遷移期では細長いミトコンドリアが支配的となり、より多くの ATP を産生することも示されている⁶⁾。これらの報告から、細長い線維状のミトコンドリアは断片的な短いものと比較して、より多くのエネルギーを産生するのに有利であると考えられる。しかしながら、ラット小脳皮質では、ミトコンドリアが長くなると代謝能力が低下するという報告もあるため⁷⁾、ミトコンドリアの形態変化と機能の関係は組織及び細胞に特異的であると考えられる。

2-2. DP 細胞ミトコンドリアの形態

私たちは、エネルギー要求性が高い毛包形成や毛周期にミトコンドリアの形態や機能の調節が関与するのではないかと考え、DP 細胞中のミトコンドリアの形態変化に注目した。

初代培養ヒト DP 細胞のミトコンドリアを蛍光染色法で可視化したところ、従来から知られている細長い線維型 (Filamentous) のミトコンドリアと、DP 細胞に特徴的と思われる大きめの円形型 (Rounded) のミトコンドリアが観察された。線維型ミトコンドリアは細胞内での運動性が高いが、円形型ミトコンドリアは運動性が低かった (data not shown)。

毛乳頭細胞を、①線維型ミトコンドリアのみを持つもの、②円形型ミトコンドリアのみを持つもの、③両者の混合型 (Mixture) に分類した (図 1A~D)。

2-3. PDGF-AA によるミトコンドリアの活性化

PDGF-AA を添加し、DP 細胞を刺激した際のミトコンドリアの形態変化を調べた。その結果、PDGF-AA は

"The regulation of mitochondrial function in dermal papilla cells and the evaluation of hydrolyzed yeast extract."

*¹ Chie Mifude, *² Kuniyoshi Kaseda (Saravio Central Inst., Saravio Cosmetics Ltd., 株式会社サラヴィオ化粧品 サラヴィオ中央研究所 〒874-0842 大分県別府市大字鶴見 1356-6)

*¹ 2008 年長崎国際大学健康管理学部健康栄養学科卒業。2011 年 (株)サラヴィオ化粧品入社。現在、サラヴィオ中央研究所主任研究員、大分大学客員研究員。

*² 1999 年九州工業大学大学院情報工学研究科情報科学専攻修了。情報工学博士。同年産業技術総合研究所、2004 年マリーキュリー研究所 (英国) 博士研究員を経て、2010 年 (株)サラヴィオ化粧品入社。現在、サラヴィオ中央研究所所長。

濃度依存的に線維型ミトコンドリアの割合を増加させることがわかった(図2A~B)。PDGF-AAのアイソフォームであるPDGF-BBでは、線維型ミトコンドリアの増加は認められなかったため、PDGF-AAは特異的に線維型ミトコンドリアを増加させると考えられる。

次に、PDGF-AAが引き起こすミトコンドリアの形態変化の生理的な意義を明らかにするために、ミトコンドリアに関する細胞機能について調べた。

まず、ミトコンドリアの脱水素酵素活性に由来するMTTアッセイを行った。その結果、PDGF-AAは濃度依存的にMTT活性を高めることが示された(図3A)。また、細胞内のATP総量もPDGF-AAの濃度依存的な増加傾向を示し(図3B)、MTT活性と細胞内ATP量

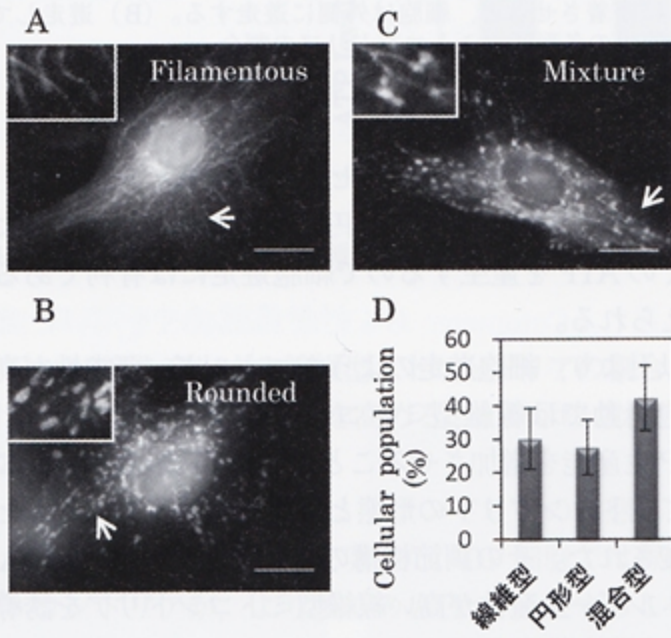


図1 DP細胞中のミトコンドリアの形態と割合
DP細胞(PromoCell社)を24時間培養した後、ミトコンドリアを蛍光染色した。(A)~(C)ミトコンドリア蛍光プローブ(Mito Tracker[®]Red CMXRos)による染色。枠内は拡大図。(D)ミトコンドリアの形態別割合。

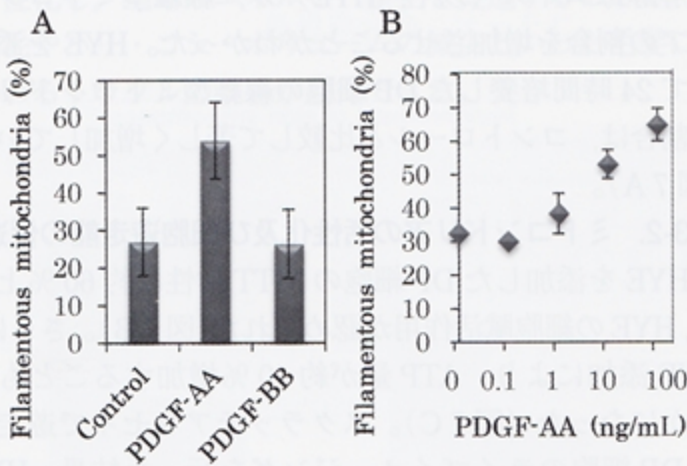


図2 PDGF-AAは特異的に線維型ミトコンドリアを増加させる

(A) PDGF-AA, -BB共に100ng/mL加えて24時間培養した。(B) PDGF-AAの効果は濃度依存的である。

には、著しい相関関係が成り立つことも明らかとなった(図3C)。

一方、PDGF-AAは細胞増殖やミトコンドリアの膜電位、ROS(Reactive Oxygen Species)活性には影響を与えなかった(図4A~C)。

これらの結果より、PDGF-AAは細胞増殖やミトコンドリアの膜電位、ROS活性に影響せず、特異的にミトコンドリアを活性化し、効率よくATP産生を行うことが示唆された。

2-4. 細胞遊走中のミトコンドリアの形態

スクラッチアッセイを用いて、遊走しているDP細胞中のミトコンドリアを観察した。興味深いことに、通常の培養条件(図1D)と比べて、遊走中のDP細胞のミトコンドリアは線維型の割合が高くなり、74%を占めていた(図5A)。PDGF-AA存在下では線維型ミトコンドリアの割合がさらに増加し(図5A)、細胞遊走速度の上昇も認められた(図5B)。同アッセイにおいて、遊走していない細胞では円形型ミトコンドリアの割合が多かった(data not shown)。

以上の結果から、線維型ミトコンドリアは遊走活性に関与することが示唆された。

遊走中のDP細胞のミトコンドリアを別のアッセイ系でも観察した。非接着性の培養器を用いて形成した細胞塊(スフェロイド)を、コラーゲンコーティングしたス

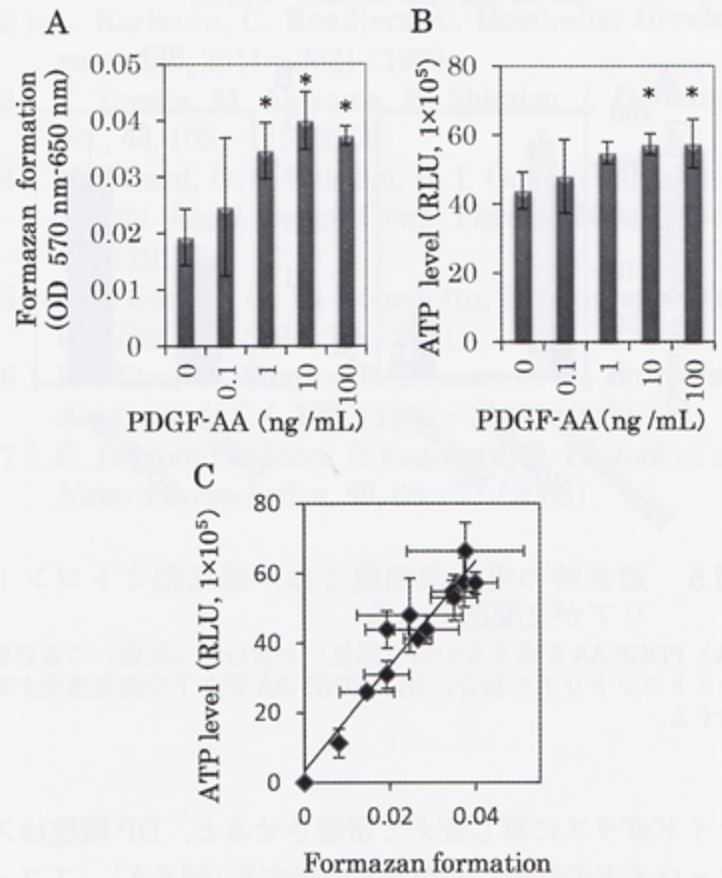


図3 PDGF-AAはMTT活性とATP産生を促進する
(A) PDGF-AAは、濃度依存的にMTT活性を促進する。(B) ATP産生も濃度依存的に促進する。(C) ATP産生とMTT活性の間には相関関係が見られる。

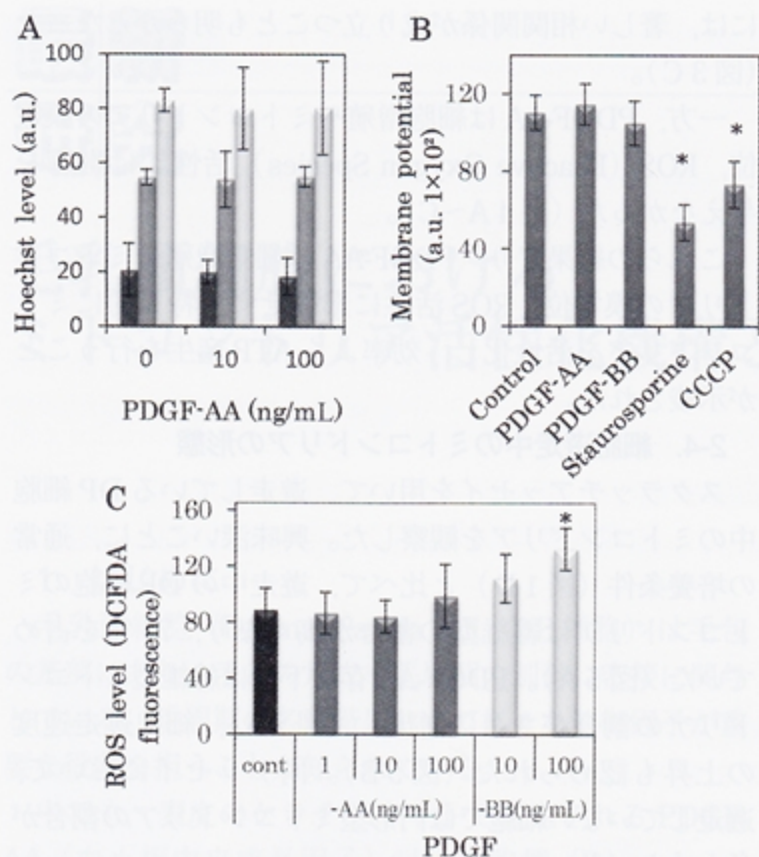


図4 PDGF-AAは細胞増殖、ミトコンドリア膜電位、ROS活性に影響を与えない

(A) PDGF-AAを添加後、1日(黒)、4日(灰色)、7日(薄灰色)培養を行った。(B) PDGF-AA (100 ng/mL, 24 h), PDGF-BB (100 ng/mL, 24 h), staurosporine (1 μM, 3 h) or CCCP (25 μM, 1 h), を添加した場合のミトコンドリアの膜電位。蛍光プレートリーダー fluorescent microplate reader (Ex 488 nm, Em 600 nm) で測定。(C) PDGF-AAはROS活性に影響を与えない。蛍光プレートリーダー (Ex 485 nm, Em 535 nm) で測定。

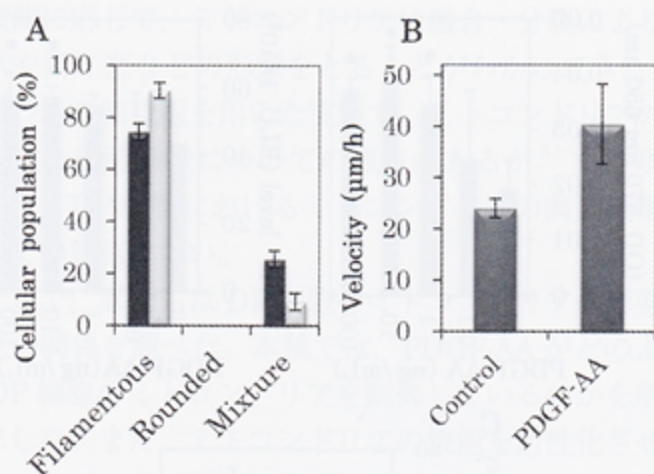


図5 遊走時の毛乳頭細胞では、線維型ミトコンドリアが支配的である

(A) PDGF-AAを含まない時(黒色)と含む時(灰色)の各形態のミトコンドリアの割合。(B) PDGF-AA存在下で遊走速度が増加する。

ライドガラスに移し変えて密着させると、DP細胞はスフェロイドの外側に向かって遊走する(図6A)。スフェロイド内部のDP細胞では、円形型ミトコンドリアが支配的であるのに対して (data not shown), 遊走している細胞ではほとんどのミトコンドリアが線維型であり

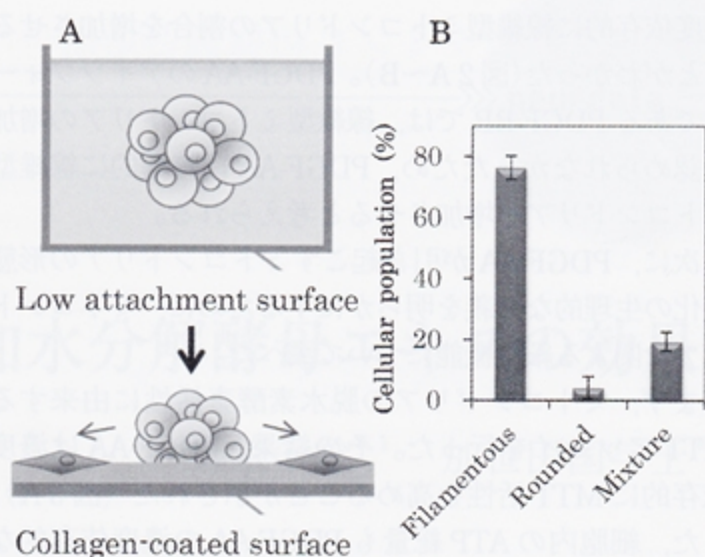


図6 遊走している細胞中のミトコンドリアを観察 (A) 非密着プレート(上図)を使用しDP細胞の塊(スフェロイド)を作成。コラーゲンコーティングしたスライドガラス(下図)に密着させると、細胞は外側に遊走する。(B) 遊走している細胞中の各形態のミトコンドリアの割合。

(図6B), スクラッチアッセイでの結果と一致した。

線維型ミトコンドリアは円形型のそれと比べて、より多くのATPを産生するので細胞遊走には有利であると考えられる。

以上より、細胞遊走のようなエネルギー要求性が高い細胞活動では線維型ミトコンドリアの割合が上昇し、ATP生産能を増加させることから、DP細胞は必要に応じてミトコンドリアの形態と機能を調節していることが示唆された。その調節機構の1つとして、PDGF-AAはエネルギー生産性が高い線維型ミトコンドリアを誘導することが判明した。

3. 加水分解酵母エキスによるミトコンドリアの活性化

3-1. 線維型ミトコンドリアを増加

私たちが独自に開発した天然原料の1つである加水分解酵母エキス(以下、HYE)が、線維型ミトコンドリアの割合を増加させることがわかった。HYEを添加して24時間培養したDP細胞の線維型ミトコンドリアの割合は、コントロールと比較して著しく増加していた(図7A)。

3-2. ミトコンドリアの活性化及び細胞遊走能の促進

HYEを添加したDP細胞のMTT活性は約60%上昇し、HYEの細胞賦活作用が認められた(図7B)。さらに、HYE添加により、ATP量が約40%増加することも明らかになった(図7C)。スクラッチアッセイで遊走中のDP細胞のライブイメージングを行った結果、HYEはDP細胞の遊走能を促進する作用を持つことがわかった(図7D)。

以上をまとめると、HYEはPDGF-AAと同様に、より

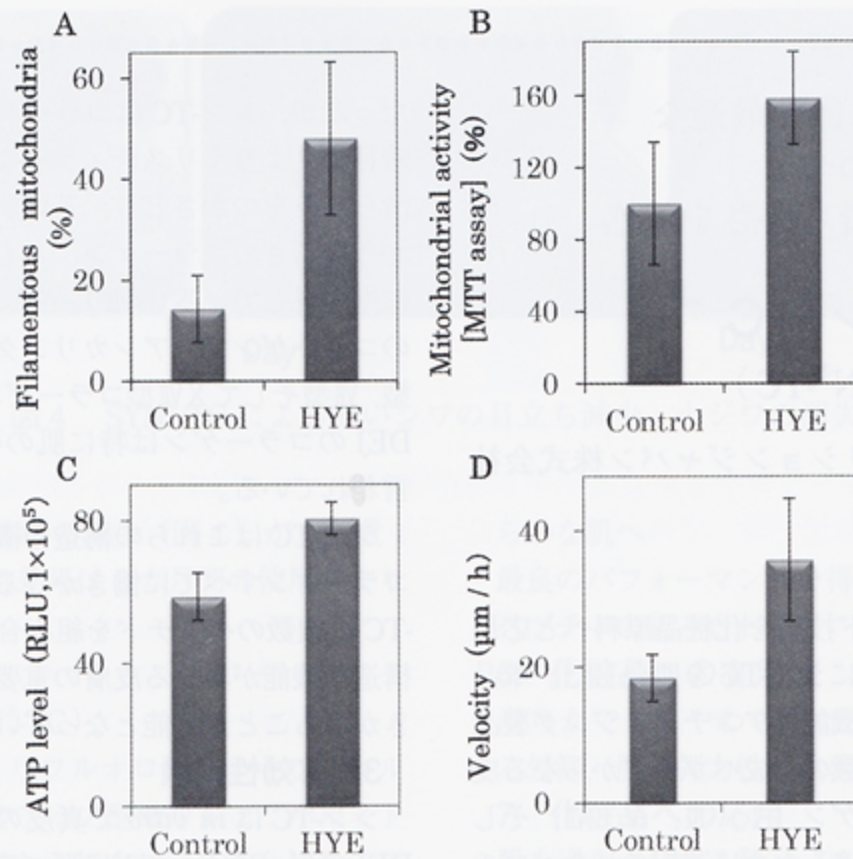


図7 加水分解酵母エキスの効果

HYEの添加により、(A)線維型ミトコンドリアの増加、(B)MTT活性、(C)ATP産生、(D)細胞遊走速度の上昇が見られた。

多くのATPを産生する線維型ミトコンドリアの割合を増加させることで、細胞機能を高めることが示唆された。

4. おわりに

今回、DP細胞におけるミトコンドリアの形態と機能の相関を見いだすことに成功した。DP細胞では線維型ミトコンドリアが、より多くのATPを産生することがわかり、PDGF-AAによる特異的な調節機構も明らかとなった。今後、PDGF-AAをはじめとする一連の内因性因子が関連した、より複雑なミトコンドリアの調節機構の解明につながることを期待している。

HYE配合製品の使用がDP細胞のミトコンドリアを活性化し、毛球のエネルギー産生を促進することで、抜け毛やハリ・コシ・ボリュームの減少といった毛髪にかかわるトラブルの改善が期待できる。

参考文献

- 1) S.E. Millar, *J. Invest. Dermatol.*, **118**, 216~225 (2002)
- 2) L. Karlsson, C. Bondjers, C. Betsholtz, *Development*, **126**, 2611~2621 (1999)
- 3) Y. Tomita, M. Akiyama, H. Shimizu, *J. Dermatol. Sci.*, **43**, 105~115 (2006)
- 4) M. Picard, O. S. Shirihai, B. J. Gentil et al., *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, **304**, R393~406 (2013)
- 5) L.C. Gomes, G. Di Benedetto, L. Scorrano, *Nat. Cell Biol.*, **13**, 589~598 (2011)
- 6) K. Mitra, C. Wunder, B. Roysam et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **106**, 11960~11965 (2009)
- 7) C. Bertoni-Freddari, P. Fattoretti, R. Paoloni et al., *Naturwissenschaften*, **90**, 68~71 (2003)