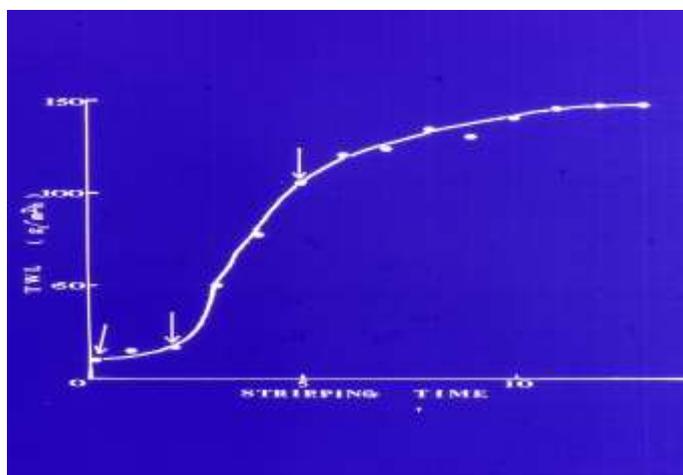


角層バリア機能の最新メカニズム：  
バリアー機能に関与するセラミドの種類、  
UVによるバリアー破壊の新しいメカニズム、  
洗浄によるバリア破壊の実態

### 1. 角層バリアー機能とその最新メカニズム

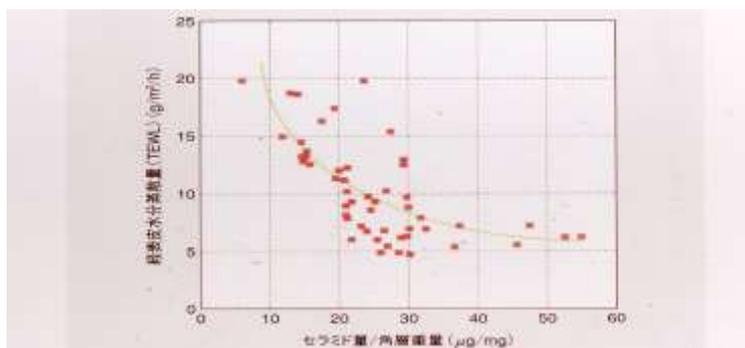
角層はエパロリメーターなどで評価できる水分蒸散(不感蒸せつ)に対するバリアー機能を有することが知られている。すなわち皮膚角層をスコッチテープで剥離することにより、剥離回数に比例して皮膚内部からの経表皮水分蒸散 transepidermal water loss (TEWL)が増加し、角層全体が省かれたところでその増加は飽和に達することより【図-1】、角層全体としてバリアー機能を持って

図-1：



いると考えられている。この水分蒸散に対するバリアー機能は経皮吸収バリアーと相関していることも知られている【o-16】。このバリアー機能は角層の厚さよりもむしろ角層内に存在する角質細胞間脂質の量と良い相関をもっている【o-17, 18】。なかでもセラミド量と水分蒸散量はよい相関を示す【図-2】ことなど

図-2



から、角質細胞間に存在するセラミドを主体とした脂質の脂質二重層によってバリアー機能が営まれていると考えられる。

角層バリアー機能とセラミドの関係を解析するモデルとして、必須脂肪酸欠乏 essential fatty acid deficiency (EFAD) 動物の角層バリアー機能障害があげられる。EFAD 動物の角層内のセラミドは量的にはほとんど異常が無いにもかかわらず、バリアー機能が著しく減少しており、セラミド組成の詳細な解析より 0-アシルセラミドのアシル部位におけるリノール酸エステルがほとんどオレイン酸エステルに変化していることが発見された【o-19, 20】。このアシル部位におけるリノール酸からオレイン酸への変化は必須脂肪酸を欠如した餌により随時生じるが、その脂肪酸組成の変化と対応して水分蒸散量で示される角層バリアー機能も減少し【図-3】【o-20】、またリノール酸をエステル基にもつ合成アシルセラミド【図-4】の皮膚塗布により EFAD 動物のバリアー機能（T

図-3：

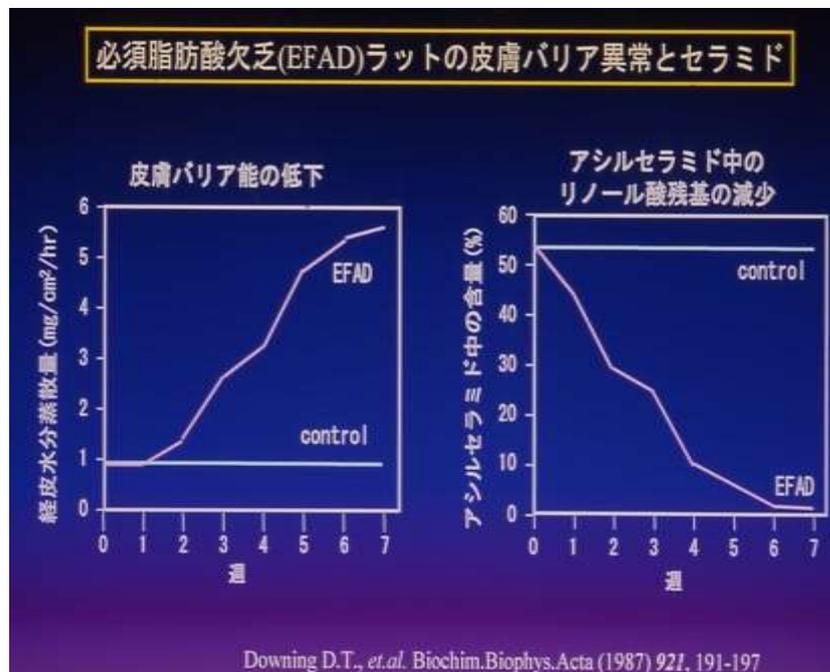
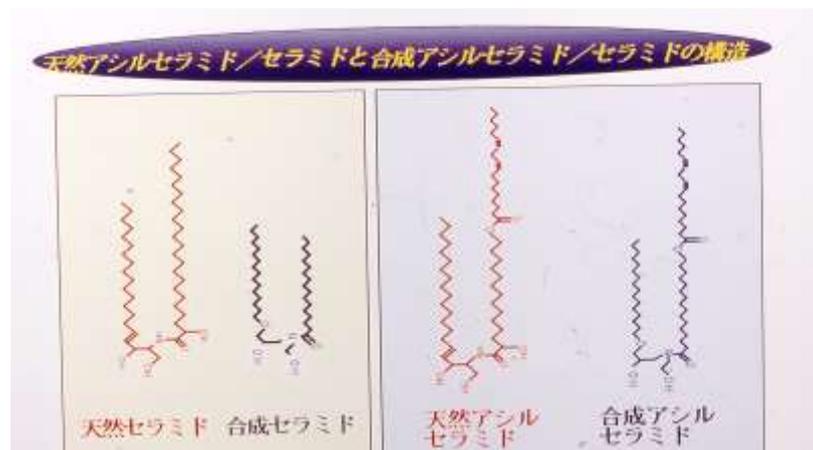


図-4：



EWL及びサリチル酸の経皮吸収性) がほぼ完全に回復【図-5, 6】するの  
 に対し、オレイン酸をエステル基にもつ合成アシルセラミドではまったく回復  
 効果が見ら

図-5 :

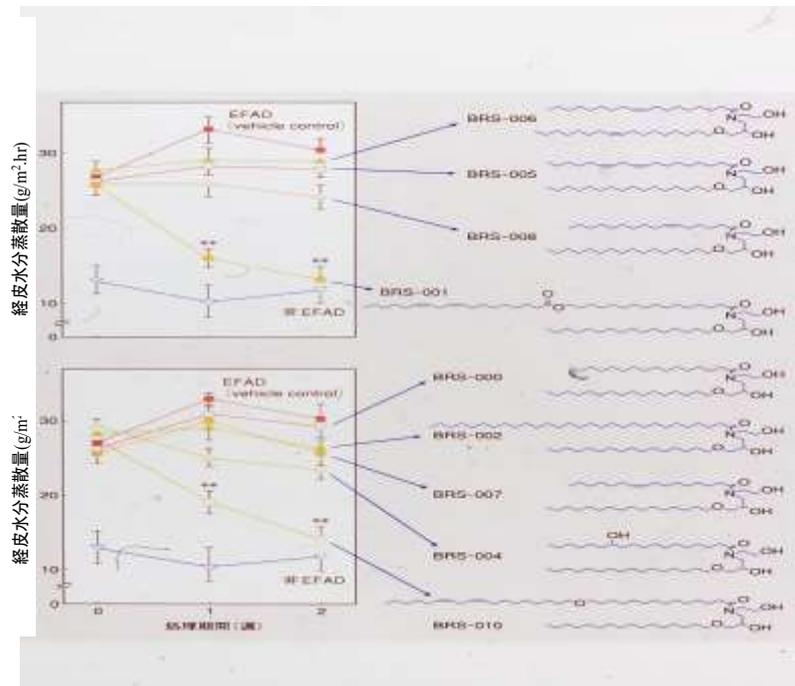
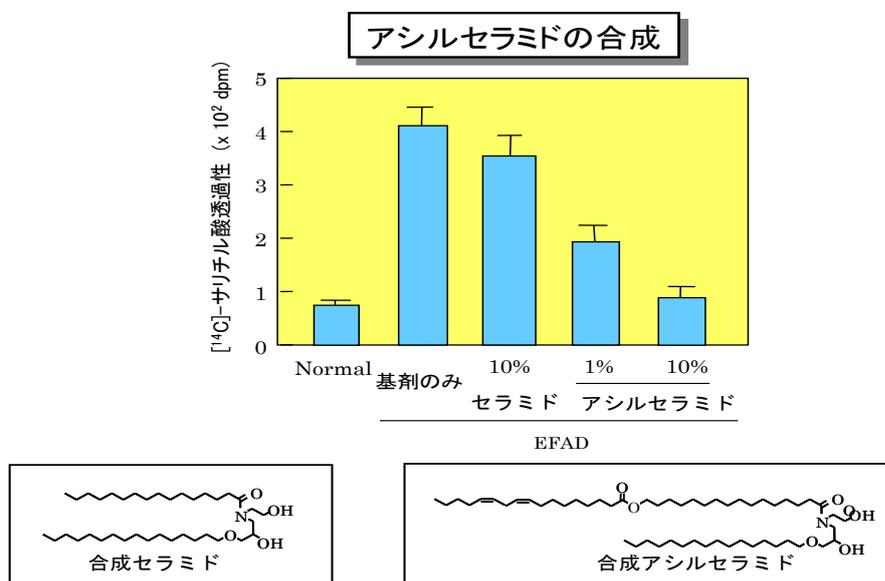
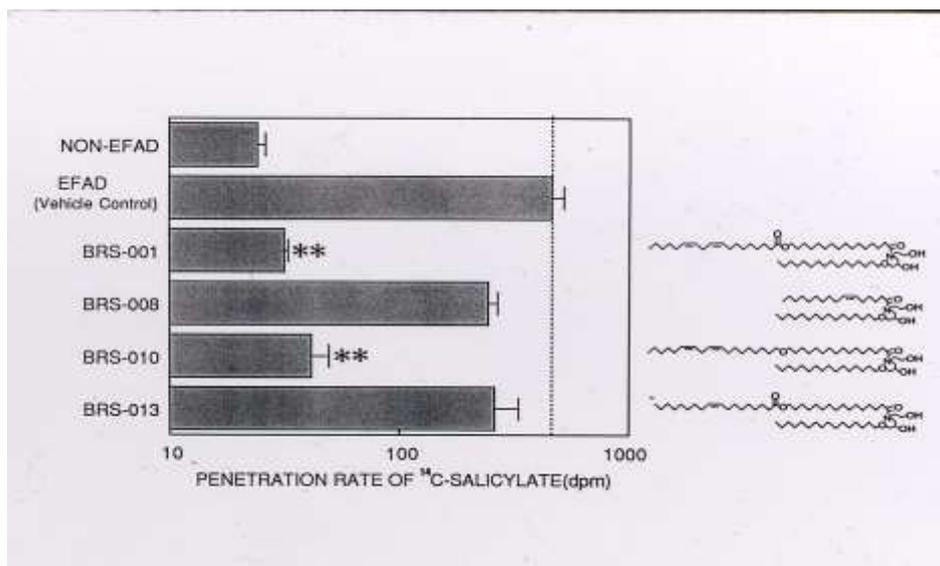


図-6 :



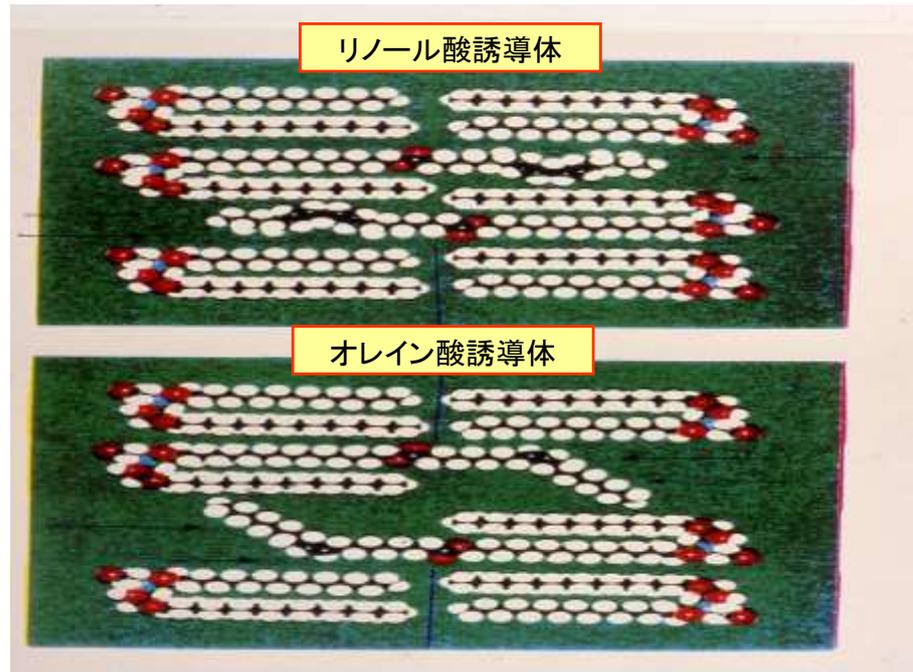
れない【図-7】【a-26】ことから、セラミドのなかでもリノール酸エステルを有するアシルセラミドがバリアー機能に重要な役割をになっているものと考えられている。

図-7：



リノール酸エステルを有するアシルセラミドがオレイン酸に変化することによるバリアー機能の低下は【図-8】の如く分子の整列を行うことによりオレイン酸のアシルセラミドでは分子の配列に隙間が生じる可能性が推察され、またリノール酸エステルのアシルセラミドはラメラ構造のリベットの役割が報告されている【o-19】。

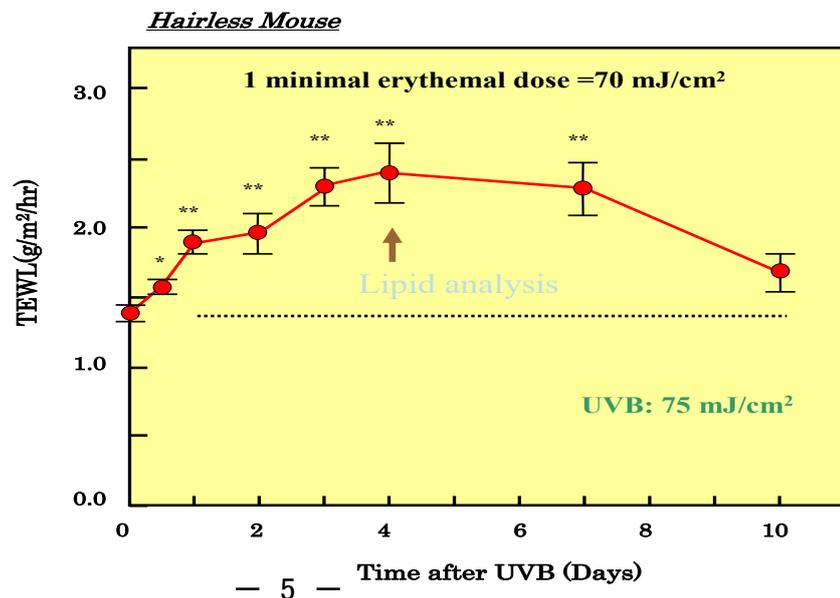
図-8 :



## 2. 角層成分の変化とバリア機能

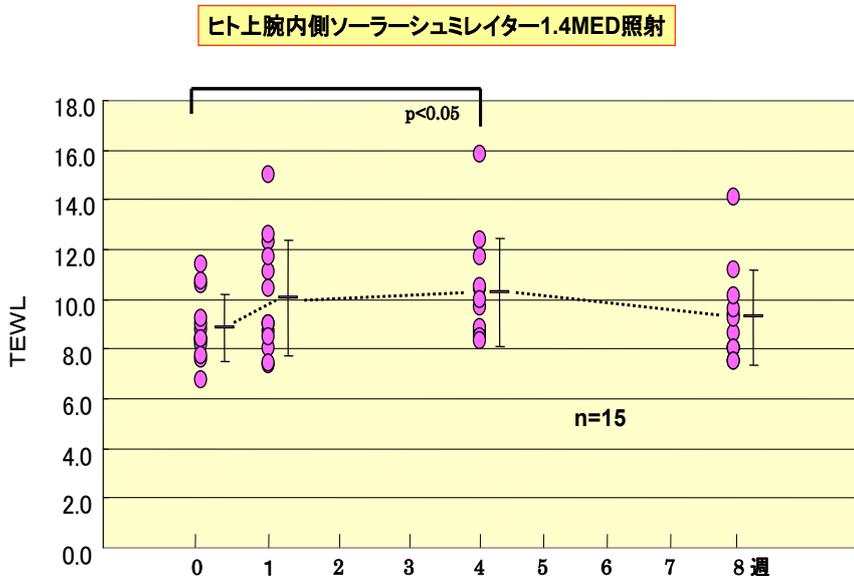
角層のバリア機能が角層細胞間脂質から構築される脂質2重層(ラメラ層)によることは前述したが、このラメラ層の主要な成分であるセラミド以外にもそれらの変動によりバリア機能が変化することをわれわれは最近紫外線照射によるバリア能低下の際に見出した【a-50, 52】。ヘアレスマウス皮膚に紫外線(UVB)を1MED強のエネルギーで照射すると【図-9】の如く照射後4日目をピークとしてバリア機能の低下(TEWL値の増加)

図-9 :



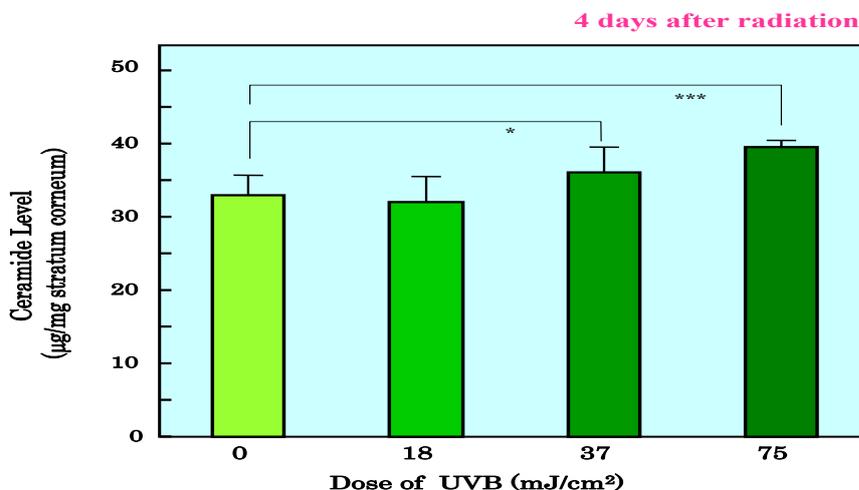
が認められる。紫外線照射による同様なバリア機能の低下はヒト前腕皮膚においても【図-10】の如く認められる。このバリア能低下のピークの4日目に角層の細胞間脂

図-10 :



質を角層重量当たりで測定した結果、バリア機能の主成分であるセラミドはむしろ有意に増加し、またコレステロールはほとんど変化が認められないものの、脂肪酸も有意な増加を示し、バリア能の低下は細胞間脂質の量的変化では説明できない結果であった。この紫外線照射による角層内のセラミド量の変化は紫外線量に依存し【図-11】の如

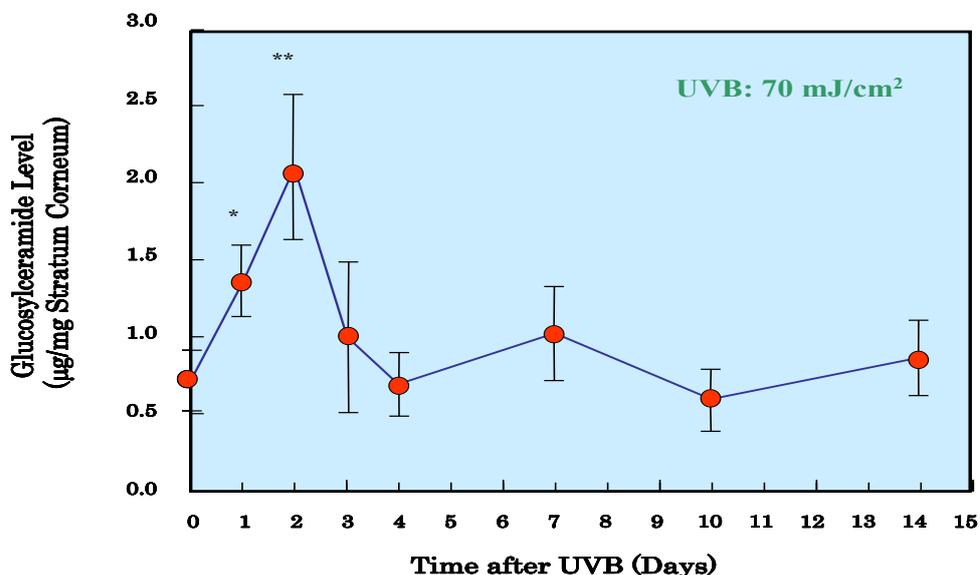
図-11 :



く18、37、75 mJ/cm<sup>2</sup>照射では37 mJ/cm<sup>2</sup>から有意な増加を示し、75mJ/cm<sup>2</sup>ではセラミド量はさらに増加している。このセラミドの増加に関与するセラミド種はCer (EOS), Cer (EOH), Cer (AS), Cer (AP)であることが明らかとなった。したがって、セ

ラミド以外の成分が紫外線暴露によるバリア能低下を引き起こしている可能性を考え、グルコシルセラミド量を測定したところ紫外線照射後2日後をピークとした有意な増加を認め【図-12】、このグルコシルセラミドの増加が初期のバリア能低下に関与していることが明らかとなった。この2日後のグルコシルセラミドの増加は紫外線照射

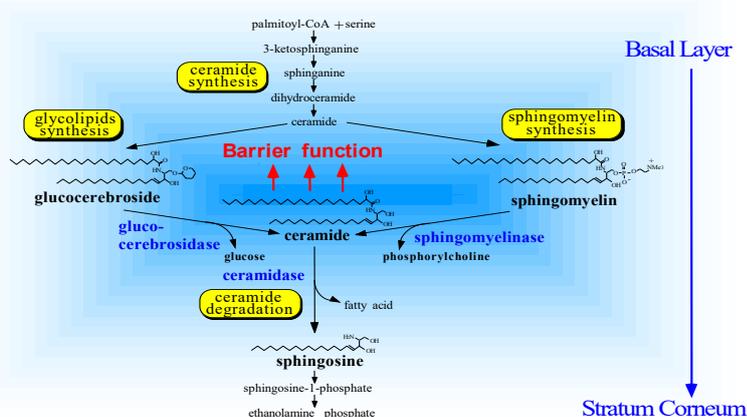
図-12：



量に依存して増加し、35 mJ/cm<sup>2</sup> から有意な増加を示し、70 および 150 mJ/cm<sup>2</sup> で暫時有意な増加を示した。角層のセラミドやグルコシルセラミドの量をコントロールしているメカニズムは【図-13】のごとき表皮におけるスフィンゴ脂質代謝に基づいてお

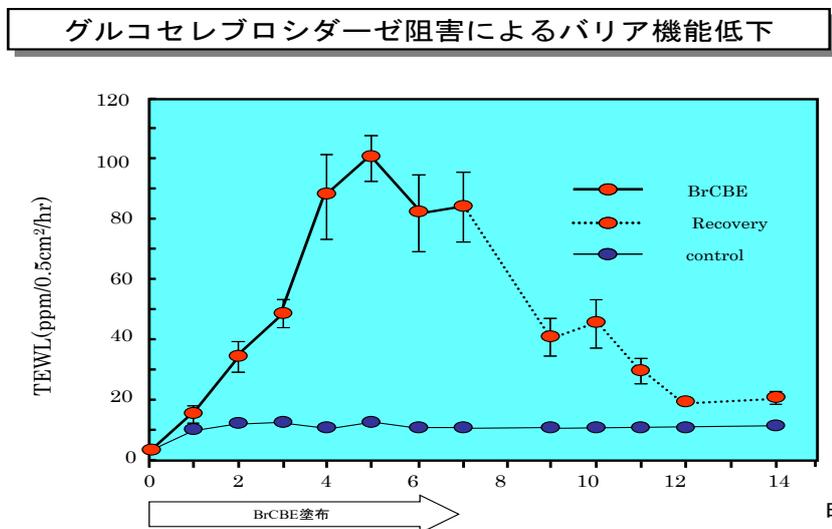
図-13：

### Sphingolipid Metabolisms in the Epidermis of Healthy Skin



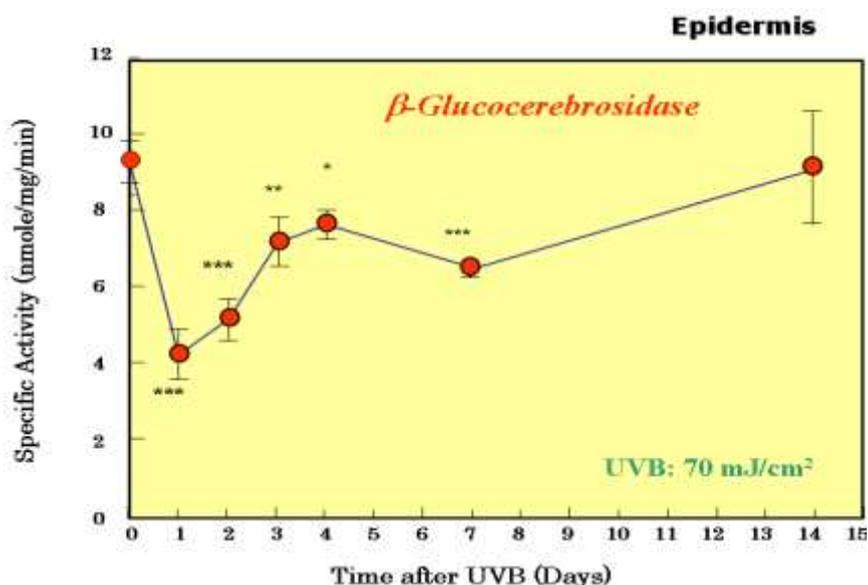
り、グルコシルセラミドを分解してセラミドを生成させる酵素であるグルコセレブロシダーゼが関与しており、このグルコシルセラミドの増加はグルコセレブロシダーゼ酵素活性の BrCBE による阻害の際にもバリア障害を伴って認められることから、【図-14】  
【a-23】

図-14：



グルコセラブロシダーゼの関与を考え、本酵素の紫外線照射後の活性の変動を調べたところ、紫外線照射1日後をピークとする有意な低下を示した【図-15】ことから、グルコセラブロシダーゼの紫外線暴露による活性の低下が原因していることが示唆された。本酵素活性の照射1日後の低下は 35mJ/cm<sup>2</sup> から有意に認められ、70および150 mJ/cm<sup>2</sup> と照射エネルギーが増加するにつれて暫時さらに減少した。紫外線照射後の表皮で Northern Blotting による測定したベーターグルコセレブロシダーゼの mRNA レベルは9時間後でむしろ増加していることから、蛋白レベルの減少ではなく、活性レベルの低下が引き起こされていることが明らかとなった。

図-15：



一方、このベーターグルコセブロシダーゼ活性の紫外線照射による低下とそれに伴う角層内のグルコシルセラミドの増加は紫外線暴露の初期に生じており、その後数日で紫外線照射前のレベルに戻っているのので、バリア能低下の中期から後期におけるメカニズムへの関与の可能性は低いと考えられた。バリア能低下の中期から後期におけるメカニズムを解析するため、角層細胞膜に結合している結合セラミド量を測定したところ、【図-16】に示す如くUVB照射エネルギーに依存した有意な減少が37mJ/cm<sup>2</sup>から誘導され、75mJ/cm<sup>2</sup>ではさらに有意な減少を示した【a-50】。75mJ/cm<sup>2</sup>での照射で引き起こされる結合セラミドの減少の照射後の時間経過を観察したところ3、4日での減少のピークが認められ【図-17】、紫外線誘導バリア能の低下の原因となっていることが示唆された。

図-16：

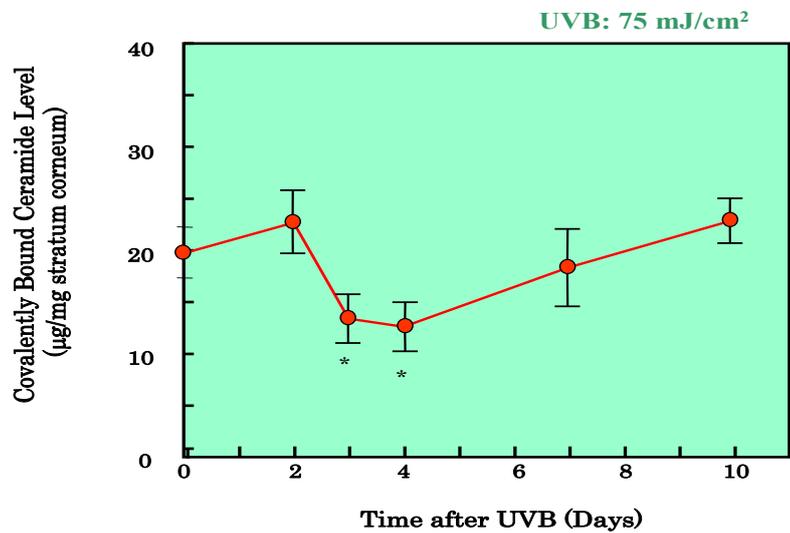
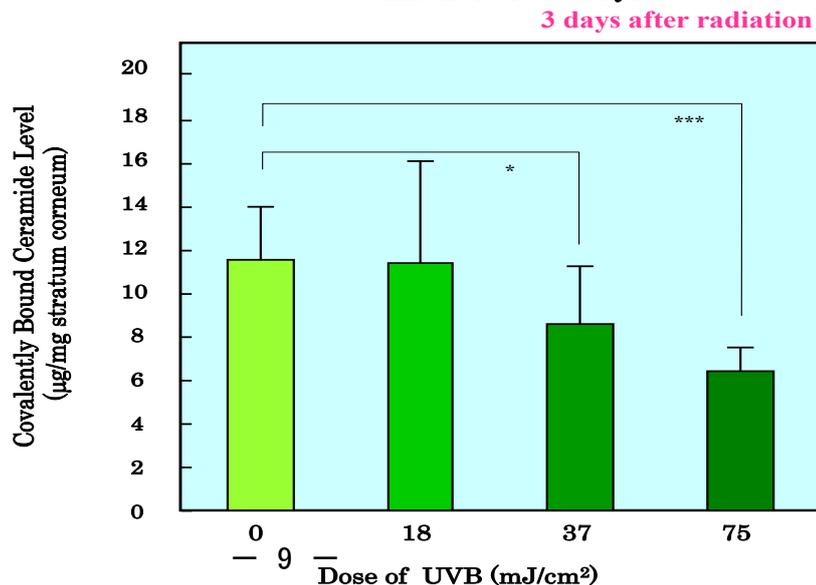


図-17：



この紫外線照射による結合セラミド量の低下のメカニズムを解析するため、結合セラミドの形成の【図-18】のごとき最終段階に関与している酵素であるトランスグルタミナーゼI酵素に紫外線照射がどう影響するかを調べた結果、本酵素の遺伝子発現量は紫外線照射後2, 4日で有意に減少し【図-19】、結合セラミドの低下の原因として働

図-18 :

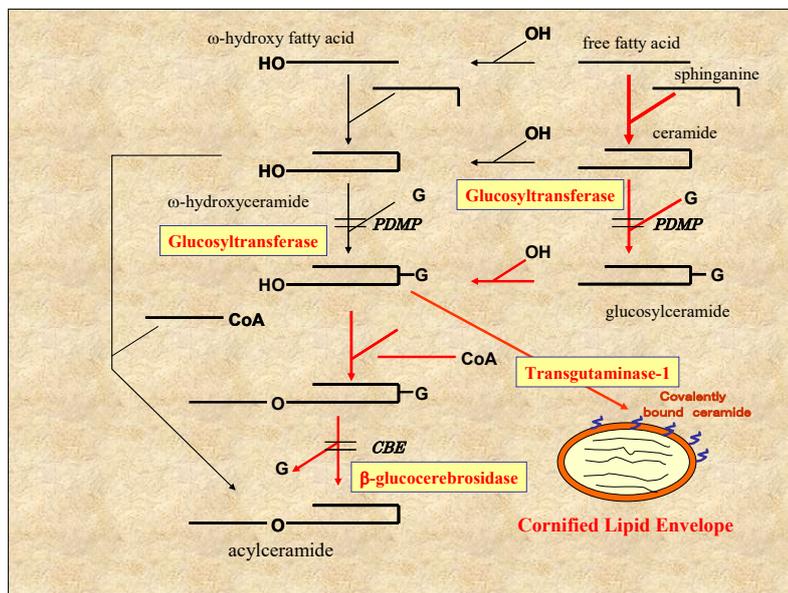
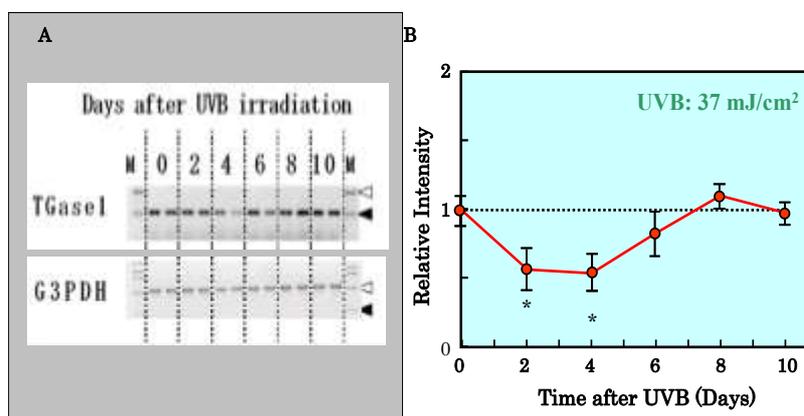


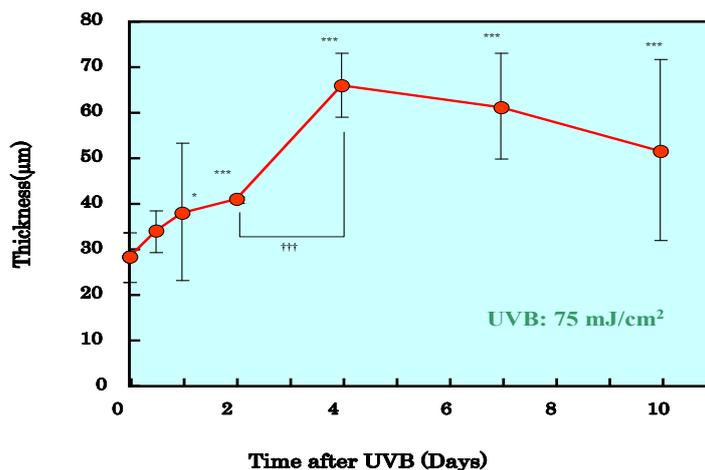
図-19 :



\* \*

いている可能性が示唆された。このトランスグルタミナーゼ遺伝子発現量の紫外線暴露後の減少の原因としては、照射後に生じる表皮細胞の増殖と表皮の肥厚【図-20】を

図-20 :



推察し、同様に刺激による表皮の肥厚が生じる SDS 洗浄処理や角層ストリッピングを行った皮膚では同様にバリア能が低下するとともに結合セラミドが有意に減少【図-21】するがセラミドはむしろ紫外線照射後と同様に増加または変化ない【図-22】ことから、トランスグルタミナーゼ発現の低下とともに生じる結合セラミドの減少に、表皮の角化の亢進状態が関与する可能性が考えられた【a-50】。

図-21 :

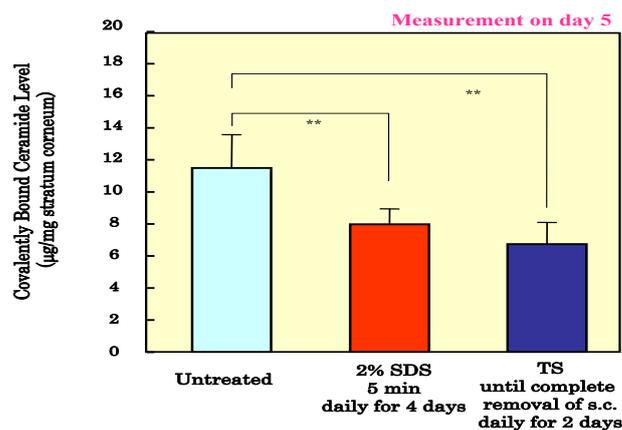
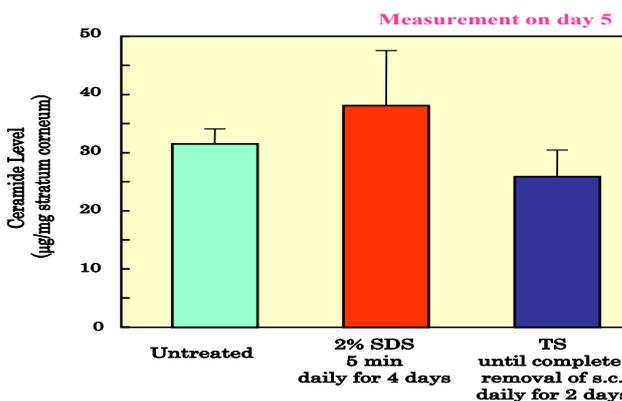


図-22 :



以上の結果をまとめてみると【図-23】、紫外線照射により生じるTEWLの上昇として認められるバリア機能の低下の時間経過はグルコシルセラミドの増加が初期に、また結合セラミドの減少が中期に關与し手いる可能性を示唆し、UVB照射によるバリア破壊メカニズムは【図-24】の如く推察することができる。

図-23：

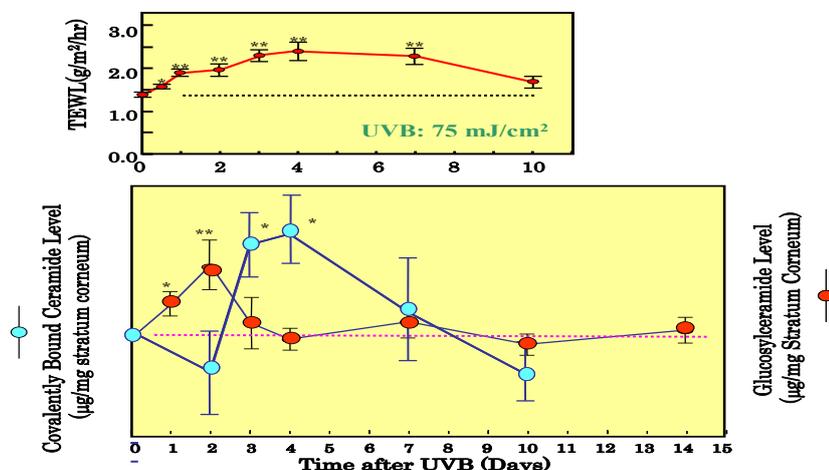
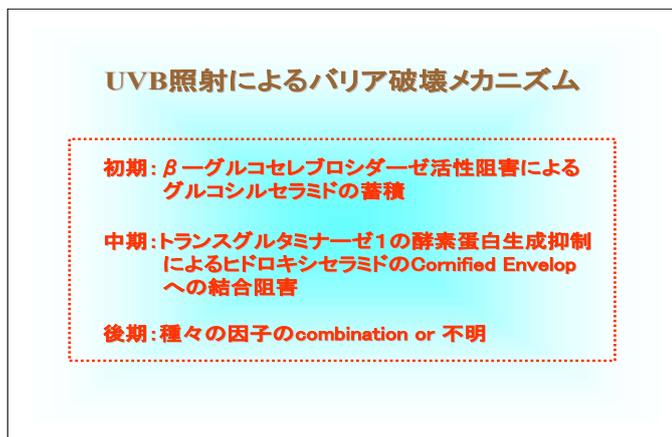


図-24：



### 3. アトピー性皮膚炎のバリアー機能異常

アトピー性皮膚炎は難治性および再発性の皮膚炎として知られ、近年従来の免疫異常に加えて、皮膚バリアー機能の異常が注目されてきている。このバリアー機能異常は易刺激性、ダニアレルギー、皮膚表面での黄色ブドウ球菌の colonization や本菌の感染症であるトビヒなどで見られる易感染性に代表されるアトピー性皮膚炎患者皮膚の特徴に大きく関与している。また我々の研究で、この皮膚バリアー機能異常がアトピー性皮膚炎患者で認められる皮膚免疫異常の引き金になっている可能性も明らかとなりつつある【a-32, d-29】。本稿ではアトピー性皮膚炎患者皮膚に認められるバリアー機能異常について、経皮吸収

バリアー機能および抗菌バリアー機能の2局面からその異常の状態およびその発症メカニズムについて論述し、さらにこの経皮吸収バリアー機能異常が皮膚免疫異常にも関連している可能性についても最後に述べる。

### 3-1. 経皮吸収バリアー機能異常

#### ● 経皮水分蒸散バリアーの発現メカニズム

一般に経皮吸収バリアー機能は経皮水分蒸散量 (Trans-Epidermal Water Loss) で評価されることが多く、エバポリメーターで測定した経皮水分蒸散量は種々ケミカルの経皮吸収量との相関が高いとされている【o-43】。よく間違えられるのは経皮水分蒸散量は角層の水分含量(電気抵抗の逆数のコンダクタンス値で表されインピーダンスメーターなどで測定する)と関連していると思われる場合があるが、両機能とも角層の細胞間脂質であるセラミドの状態や量が関連している【f-11】ものの、この経皮水分蒸散量はまったく独立した機能で水分含量とは相互に関係はあまり強くない。この経皮水分蒸散量は角層をスコッチテープで剥離すると剥離回数に応じて増加し、角層が完全に剥離されるとプラトーに達することから、角層全体としてその機能を担っていることがすでに判明している【e-2】。また角層から細胞間脂質(特にセラミドなど)を溶剤で溶出することにより、経皮水分蒸散量は著しく上昇することより角層細胞間に存在する細胞間脂質(セラミドが主体)がその経皮吸収バリアー機能の本体であることも明らかとなっている【d-16】。本バリアー機能は前述した如く必須脂肪酸欠如ラット皮膚(経皮吸収バリアー機能が低下している)を用いたバリアー誘導実験より、必須脂肪酸(リノール酸)欠如の餌を与え続けることにより、角層細胞間脂質中のアシルセラミドのアシル基がリノール酸からオレイン酸に変換するのに伴ってバリアー機能が消失したり【o-20】、リノール酸がアシル結合した合成アシルセラミドの皮膚塗布によりバリアー機能が回復する事実より、セラミドの中でも特にリノール酸をエステル結合で持つアシルセラミドがバリアー機能の発揮に重要な役割を持っていることが判明している【a-26】。これと一致して、アトピー性皮膚炎患者皮膚角層におけるアシルセラミドにおいても、リノール酸エステル型が減少し、オレイン酸エステル型が増加しており、これも本症でのバリアー異常の原因の一つとして考えられている。

#### ● アトピー性皮膚炎での経皮水分蒸散バリアー機能異常

アトピー性皮膚炎患者皮膚【図-25、26】は皮疹部および無疹部皮膚においても【図-27】の如く皮膚角層の水分保持機能やバリアー機能が健常者に比べて著しく低下し

図-25:



図-26:

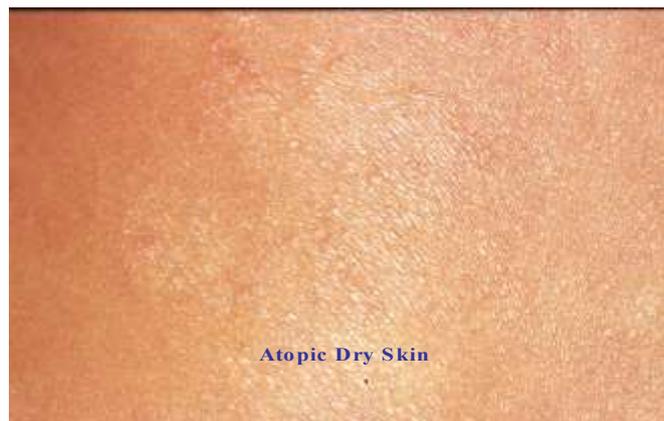
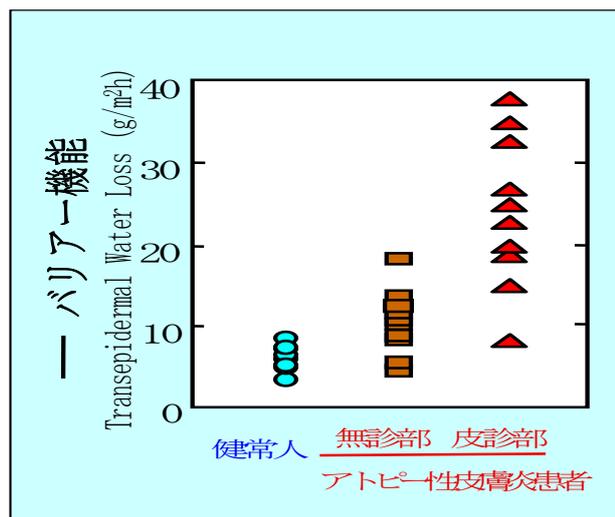
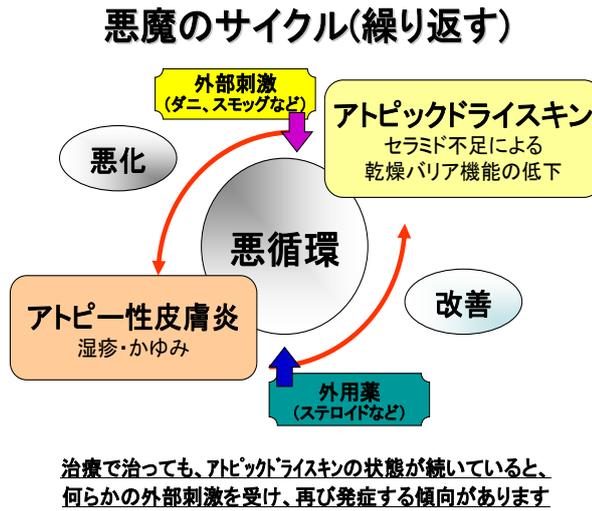


図-27:



ていることが知られており【d-20】、この無疹部皮膚はアトピー性皮膚と呼ばれアトピー性皮膚炎の再発難治化の原因の一つとしてあげられている。すなわちステロイド治療などで皮膚炎が消失した状態（無疹部）でも、このバリアー機能異常は依然として回復していないことから、この無疹部皮膚のケアを怠ると、【図-28】の如くバリアー機能が低下しているため種々の刺激物やアレ

図-28：



ルゲンさらには自身の汗の成分などの容易な侵入を招き、皮膚炎が再発しやすく、これがアトピー性皮膚炎の再発性や難治化に結びついているものと考えられている。またこのアトピー皮膚はバリア機能が低下していると同時に水分保持機能も低下しているため、冬季には乾燥しやすく、衣服とのまさつなどでのかゆみが誘発されやすく、走破による皮疹の悪化を招きやすい。アトピー性皮膚炎患者の無疹部皮膚でのTEWLで評価した皮膚バリア機能は健常者と比べても有意な低下を認めると同時にその低下の程度は、アトピー性皮膚炎患者の病気重症度と極めて高い相関関係があり、軽症においてもすでに健常者と比べて有意なTEWL値の上昇を示し、さらに中等症および重症と重症度が高くなるにつれてTEWL値も有意に増加する【図-29】。このTEWL値と重症度(0, 1, 2, 3と点数を与える)の間には非常に高い相関関係 ( $r=0.915267$ 、 $p<0.0001$ 、 $n=68$ ) が認められ、また皮膚での落屑などの皮膚所見が認められない軽症のアトピー性皮膚炎患者の無疹部皮膚でも、健常者に比べて有意に高いTEWL値を示すこと【図-30】【a-53】からTEWL値はアトピー性皮膚炎の診断や治療経過を観察する上でも便利な指標となっている。

図-29：

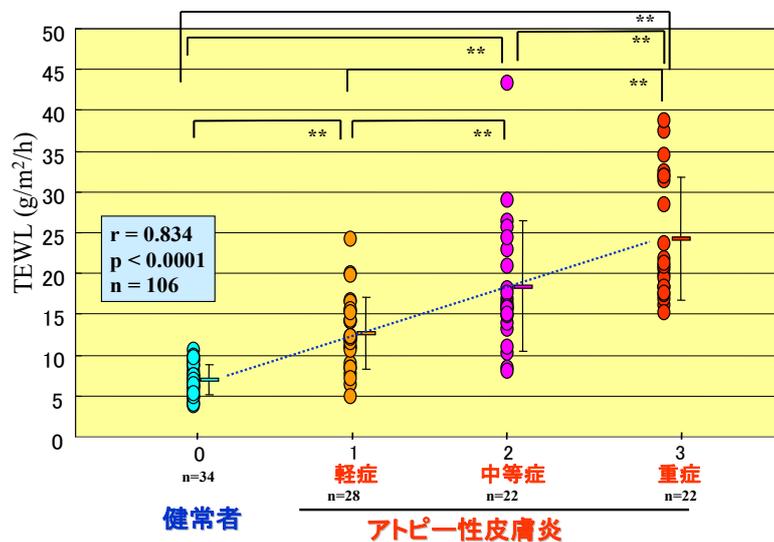
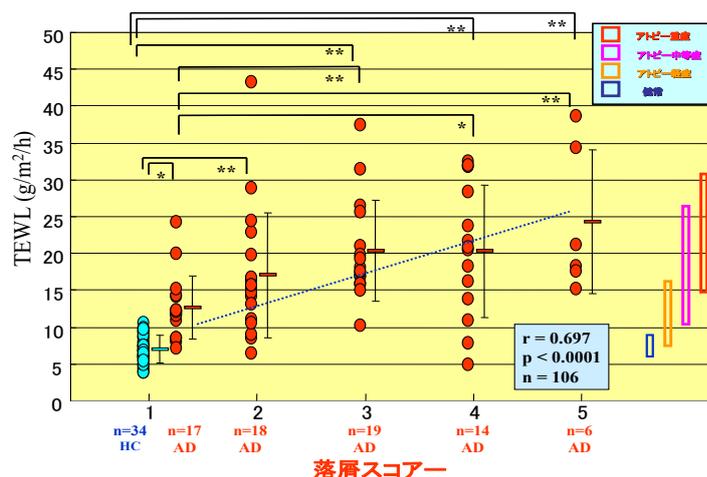


図-30：



### ● アトピー性皮膚炎での皮膚バリア機能異常のメカニズム

経皮吸収バリア機能に角層中のセラミドが主体となった脂質 2 重層(ラメラ)が重要であることから、アトピー性皮膚炎患者の皮膚角層中のセラミド量を測定してみた結果、アトピー性皮膚炎患者の皮診部及び無疹部皮膚では健常者に比べ顕著にセラミド量が減少していることが判明し【図-A 7 0】【a-20】、セラミド種のなかでもバリア機能に関連の深いアシルセラミドが最も減少しており、アトピー性皮膚炎患者皮膚での水分保持やバリアー機能の低下の原因とされている。アトピー性皮膚炎患者前腕無疹部皮膚でのバリアー機能の指標であるTEWL値と同じ皮膚部位角層中のセラミド量は【図-2】の如く明確な相関を示し【f-11】、アトピー性皮膚炎患者皮膚角層でのセラミドの減少がバリアー機能の低下に直接的に関与していることが示されている。また最近では紫外線(UVB)暴露の際に生じるバリア機能障害の原因として示されている角層細胞膜結合セラミドの減少もアトピー性皮膚炎患者皮膚では顕著に観察されていることから【a-50】、この結合セラミドの減少もアトピー性皮膚炎患者皮膚でのバリアー機能異常の要因として指摘されている。アトピー性皮膚炎でのセラミドの減少のメカニズムとしては、皮膚表皮におけるセラミドの産生に関与する三つの脂質代謝酵素【図-A 6 7】の中で、加齢によるセラミダーゼ活性の亢進【a-27】とは異なり、またスフィンゴミエリナーゼやベーターグルコセラブロシダーゼ活性も健常者と差がないなど、従来のセラミド代謝酵素活性レベルはなんら変化していないが、セラミドの前駆体であるスフィンゴミエリンやグルコシルセラミドをデアシレーションする未知の酵素であるスフィンゴミエリリングルコシルセラミドデアシラーゼ酵素活性の異常発現【図-3 1、3 2】が推察されている【a-38, 39, 46, 47, c-2】。

図-31 :

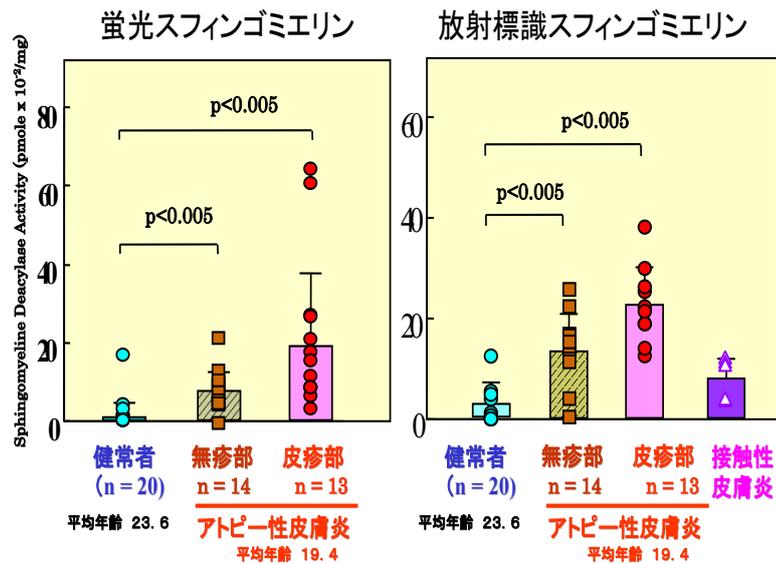
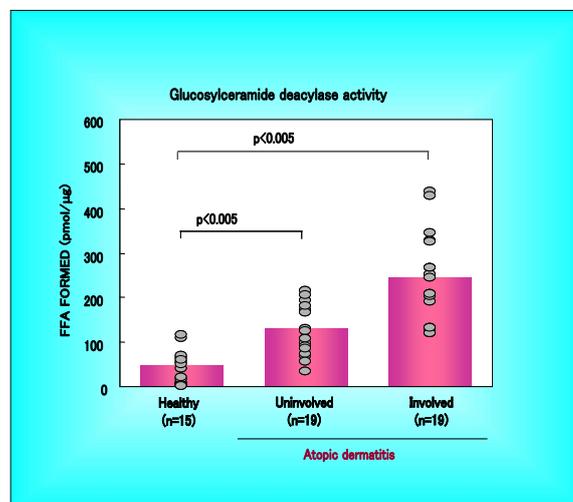
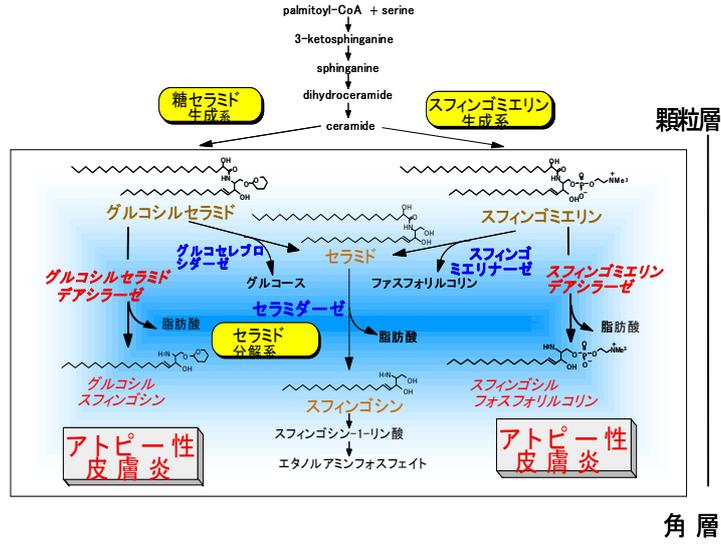


図-32 :



本酵素が発現すると、【図-33】で示す如くスフィンゴミエリナーゼと基質であるスフィンゴミエリンをまたはベーターグルコセレブロシダーゼとその基質であるグルコシルセラミドを競走することによりセラミドの替わりにスフィンゴシルフォスフォルコリンもしくはグルコシルスフィンゴシンを生成することにより、セラミドの減少が引き起こされると推察される。このことを裏付け

図-33:



るが如く、アトピー性皮膚炎皮膚角層中にはスフィンゴシルホスホリルコリン【図-34】【a-46】およびグルコシルスフィンゴシン【図-35】【a-47】が無疹

図-34:

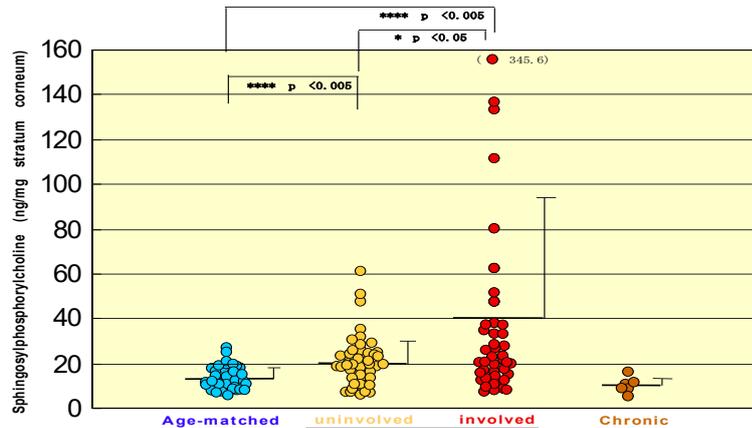
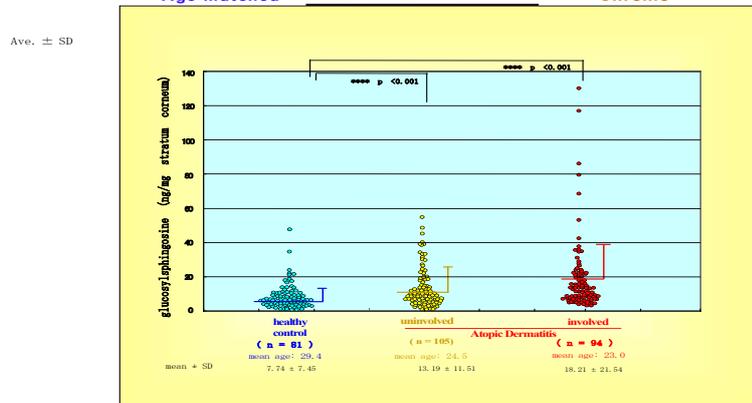


図-35:



部および皮疹部皮膚で健常者皮膚に比べて有意に増加しており、他の皮膚炎である接触皮膚炎や慢性湿疹では増加していないこと、またこれらのデアシラーゼ活性により産生されたスフィンゴシルホスホリルコリンおよびグルコシルスフィンゴシンの増加の程度は同じ角層部位でのセラミドの減少の程度と有意な相関関係を示すこと【図-36、37】【a-46,47】より、これらの酵素の

図-36：

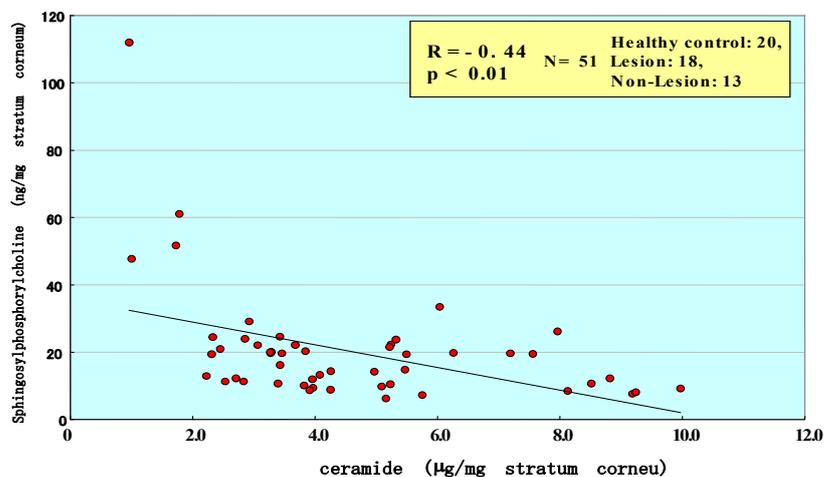
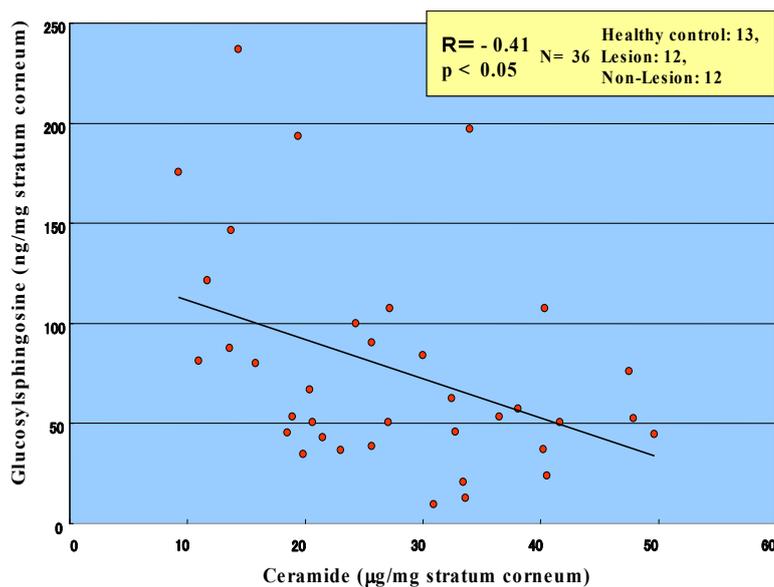


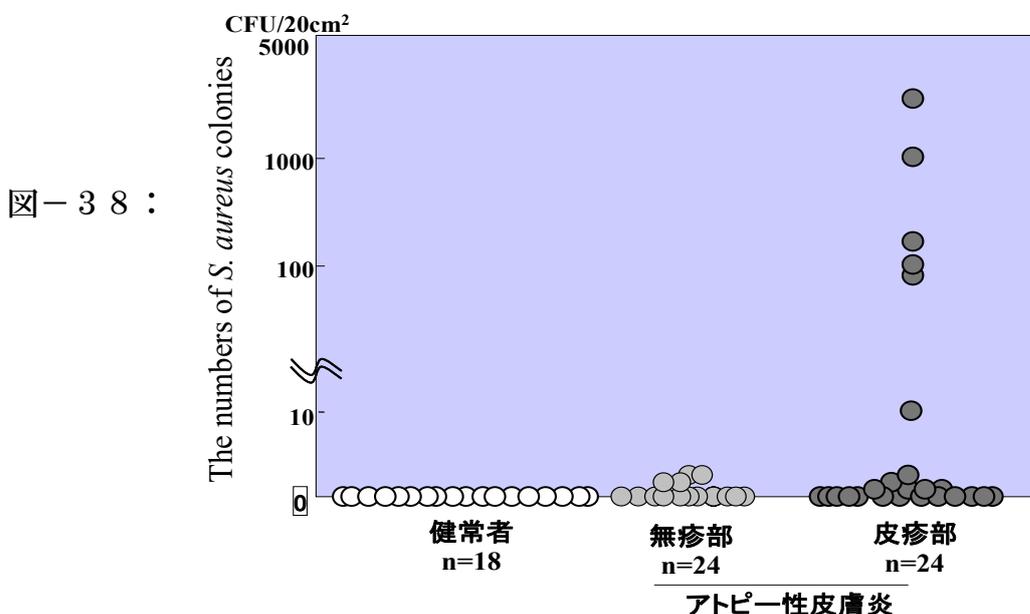
図-37：



アトピー性皮膚炎患者皮膚表皮での特異的異常発現によりセラミドの減少が生じ、バリア機能が低下している可能性が確認された【図-33】。

● アトピー性皮膚炎での抗菌バリアー機能異常

アトピー性皮膚炎患者皮膚表面には黄色ブドウ球菌のコロナイゼーションが頻度高く認められ【図-38】、皮疹部ではほぼ100%、無疹部でも約30%の患者で認められ、



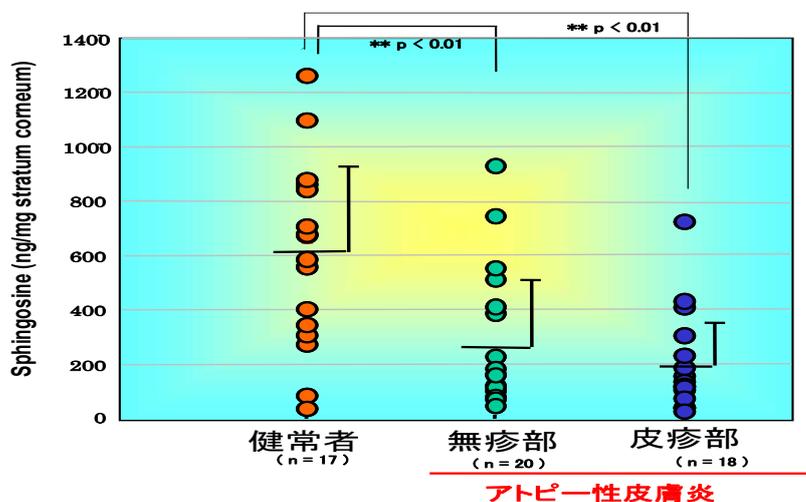
このコロナイゼーションは健常者で認められるのはまれである。アトピー性皮膚炎患者皮膚で高頻度で認められる黄色ブドウ球菌のコロナイゼーションは、感染症であるトビヒの引き金になる可能性が高い。アトピー性皮膚炎患者皮膚で生じている抗菌バリアー機能の障害は、経皮吸収バリアー機能異常が菌などの角層への侵入を招きやすいことや、アトピー性皮膚炎患者皮膚は発汗異常があることから皮膚表面のpHが健常者に比べてアルカリ側に偏りやすく、このAcid Mantleの乱れが抗菌バリアーの異常に結びついているとの推測がなされていた。しかし経皮吸収バリアー異常を抗菌バリアー機能に結びつける説は少々無理があり、またpHのアルカリ側への傾斜も健常者で平均pH 5.0からアトピー性皮膚炎患者で平均pH 5.5程度の変化であり、この程度の変化で抗菌バリアー機能異常に至るとの説も十分な説得力を持ち得ないものであった。

● 角層細胞間脂質スフィンゴシンと抗菌バリアー機能

我々は健常角層に存在する抗菌脂質として知られる【o-32】であるスフィンゴシンがアトピー性皮膚炎患者皮膚角層では低下しているため、抗菌の最前線である角層の天然の抗菌活性が低下した結果、黄色ブドウ球菌のコロナイゼーションが生じやすくなる可能性を考え解析を行った【a-44】。スフィンゴシンが黄色ブドウ球菌に強い抗菌活性を示すことは1986年にBibel DJらが報告【o-32, 33】したが、その後スフィン

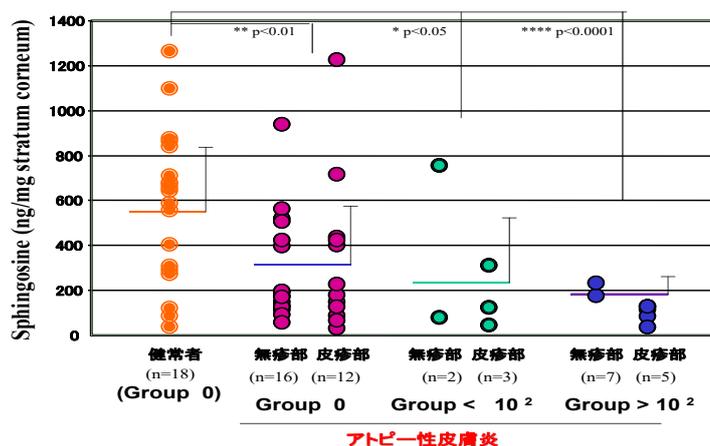
ゴシンがもつ抗菌活性に注目した研究はなされていなかった。アトピー性皮膚炎患者皮膚角層に存在するスフィンゴシン量を放射化ラベル法で放射化セラミドに変化し、それを Radio-TLC にて分離定量した結果、角層重量当たりのスフィンゴシン量はアトピー性皮膚炎患者皮膚で健常者皮膚に比べて有意に無疹部および皮疹部で減少しており、その減少の程度は皮疹部で無疹部に比べより強い傾向がみとめられた【図-39】。この

図-39 :



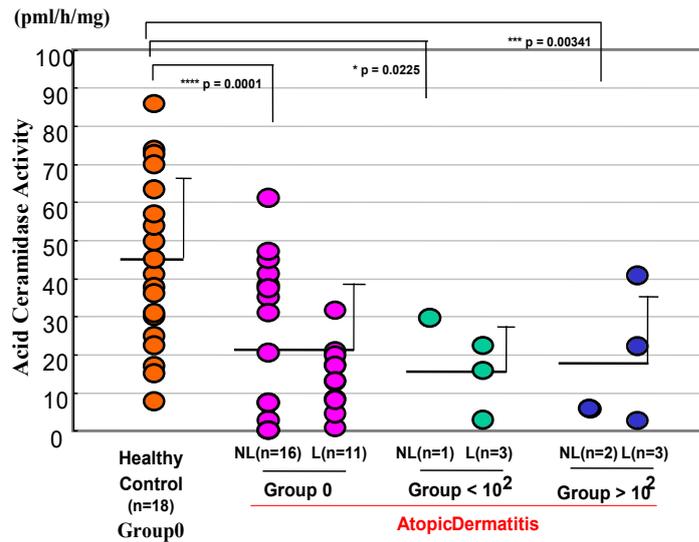
スフィンゴシンの減少の程度と同じ皮膚部位における黄色ブドウ球菌のコロナイゼーションの程度を比較すると【図-40】、黄色ブドウ球菌のコロナイゼーションが

図-40 :



0、100 以下、および 100 以上のグループで、この順にスフィンゴシン量は健常者皮膚に比べ有意に減少していることが判明し、スフィンゴシン量の低下が黄色ブドウ球菌のコロナイゼーションの増加に関与している可能性が示唆された。またセラミドからスフィンゴシンを生成させる酵素である酸性セラミダーゼ活性も黄色ブドウ球菌のコロニー数の増加に伴って低下していた【図-41】。このスフィンゴシン量の低

図-41:



下の程度は同じ角層部位におけるセラミド量の低下の程度【図-42】およびセラミドの天然の分解酵素である酸性セラミダーゼ【a-28】活性の低下【図-43】と有意な相関を示すことから、アトピー性皮膚炎患者皮膚角層におけるスフィンゴシン量の低下は、経皮吸収バリアー機能異常の原因とされるセラミドの減少とセラミドをスフィンゴシンに分解する酸性セラミダーゼの活性の減少の両方の要因により生じていることが示唆された。

図-42:

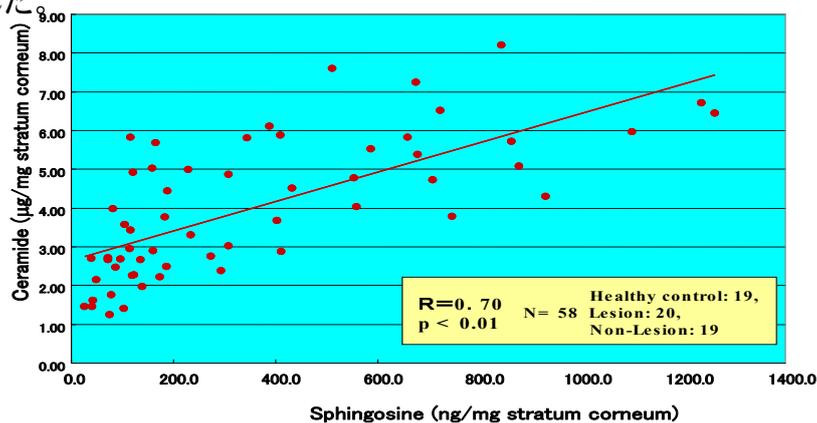
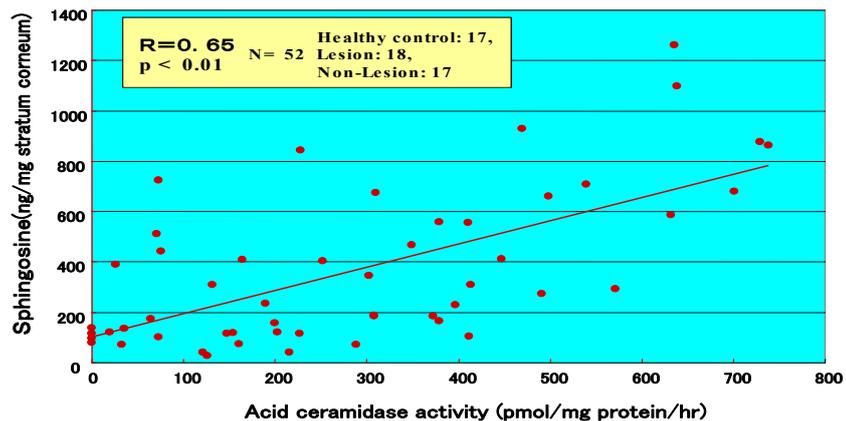


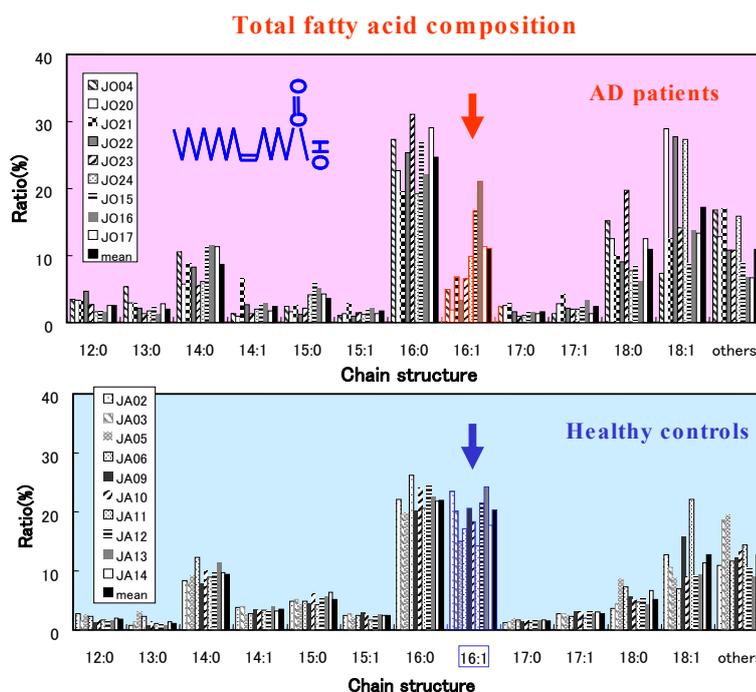
図-43:



● 皮脂成分ヘキサデセノイック酸と抗菌バリアー機能

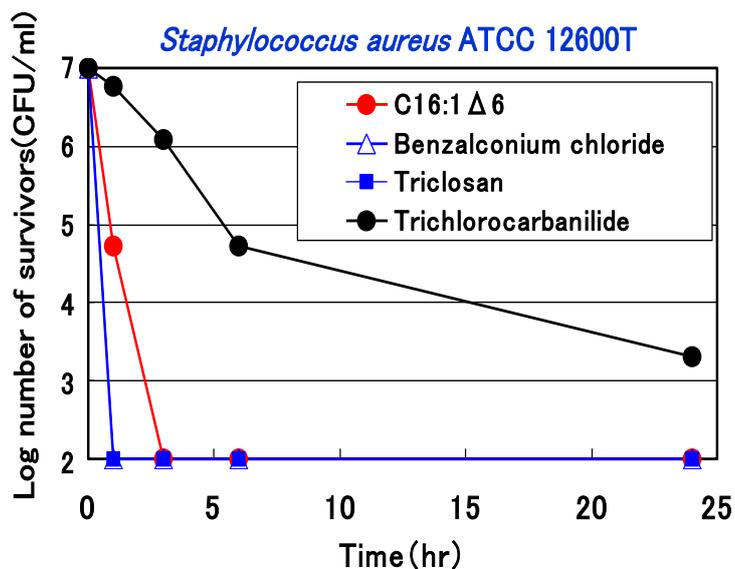
同様な抗菌脂質に関連して、以前より皮脂腺由来脂質成分も抗菌活性を示すことが報告されてきていたので、アトピー性皮膚炎患者皮膚表面の皮脂組成の健常者皮膚との比較を詳細に行ったところ、脂肪酸の一種である *cis*-6-hexadecenoic acid (C16:1Δ6) 量がアトピー性皮膚炎患者皮膚では健常者皮膚に比べ極端に減少していることが判明した【図-44】【o-55】。本脂肪酸は

図-44：



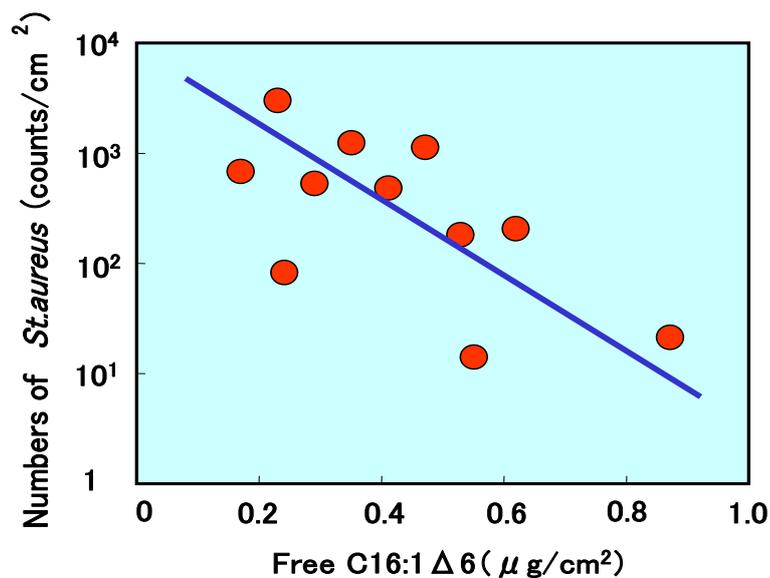
皮脂中のトリグリセライドやワックスエステルの構成脂肪酸中でもアトピー性皮膚炎患者で顕著な減少が示され、皮脂組成中の脂肪酸種そのものがアトピー性皮膚炎では変化していることを示した【o-55】。本脂肪酸は黄色ブドウ球菌に強い抗菌活性を示す【図-45】ことや、この減少の程度は同じ皮膚部位における

図-45 :



黄色ブドウ球菌のコロナイゼーションの程度と有意な相関を示す【図-46】ことから、この皮脂中に存在する *cis*-6-hexadecenoic acid 減少もアトピー性皮膚炎患者皮膚における黄色ブドウ球菌のコロナイゼーションに見られるごとき抗菌バリアー機能異常の要因として重要な役割を果たしていることが示唆さ

図-46 :



れた。さらにこのことは*cis*-6-hexadecenoic acid を黄色ブドウ球菌のコロナイゼイションが生じているアトピー性皮膚炎患者皮膚に数日間塗布することにより、黄色ブドウ球菌のコロナイゼイションが減少または消失する【図-47、48】ことから【0-55】、その重要な役割が裏付けられた。

図-47：

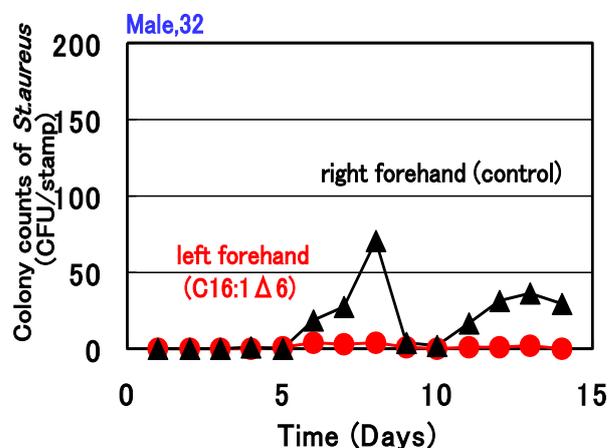
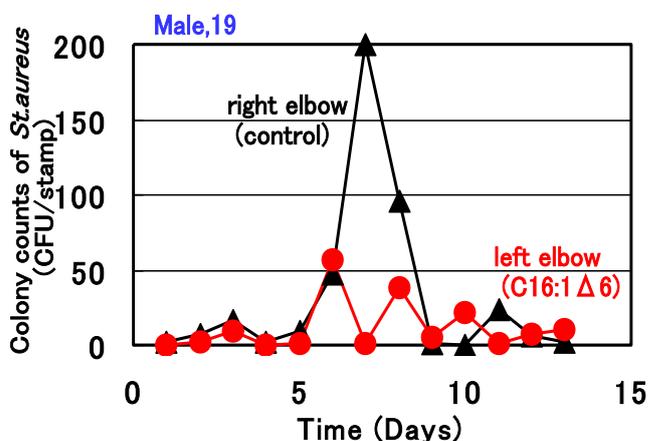


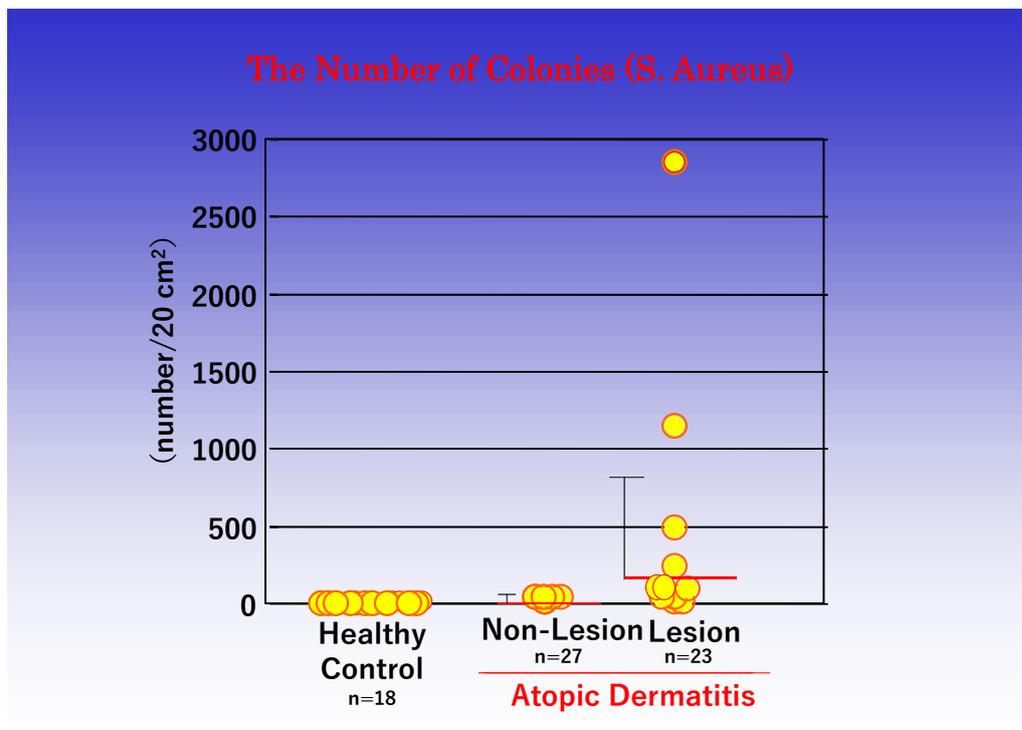
図-48：



● 抗菌ペプチド、ベーターデフェンシン-2と抗菌バリアー機能

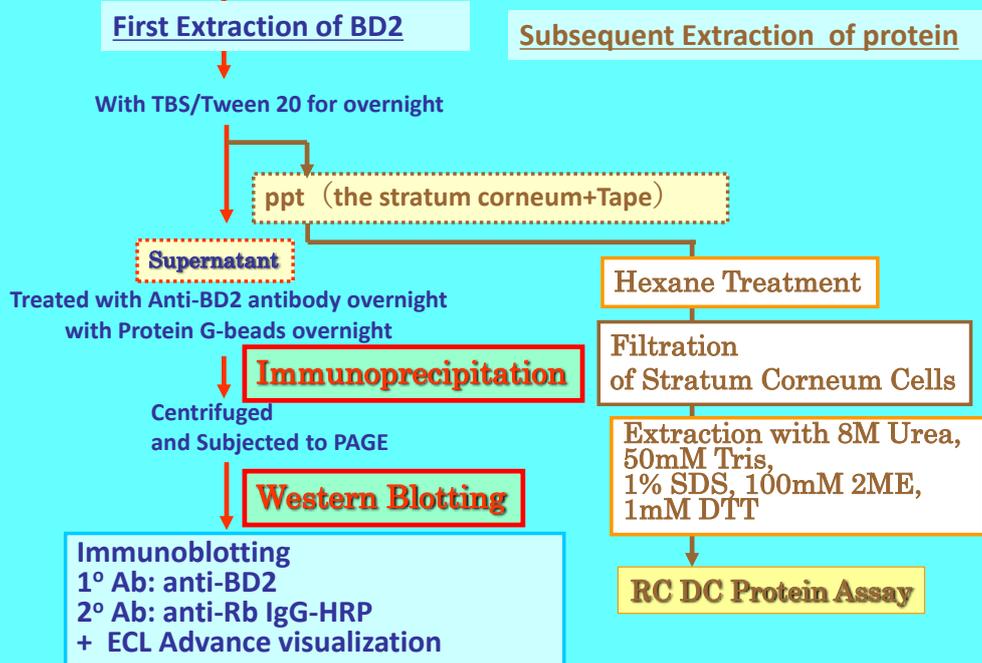
一方、最近注目されている抗菌ペプチドであるデフェンシンやカセリシジン量に関しては、アトピー性皮膚炎患者皮膚中で乾癬患者皮膚に比べて減少しているとの報告【0-34】もあるが、健常者皮膚に比べると明確な減少は認められないことから、その黄色ブドウ球菌のコロナイゼイションに対する役割は不明であった。我々は正確にデフェンシン量を免疫沈降を利用して測定する方法を新たに開発し、抗菌バリアーの最前線である角層中のデフェンシン量を角層ケラチン量当たりで定量した結果、ベーターデフェンシン-2量はアトピー性皮膚炎患者皮膚角層では無疹部では有意ではないが増加傾向および皮疹部ではむしろ

ろ健常者皮膚に比べて有意な増加をみとめた【b'-1】。またアトピー性皮膚炎患者皮膚に存在する黄色ブドウ球菌のコロナイゼーションの程度と同一皮膚角層中のデフェンシン量にはむしろ正の有意な相関が認められ、アトピー性皮膚炎の重症度が強くなるにしたがってデフェンシン量はむしろ増加を示したことより、抗菌ペプチドの抗菌バリアー機能への関与は弱く、むしろ炎症に伴って産生される抗炎症ペプチドの性質を持つことが示唆された。

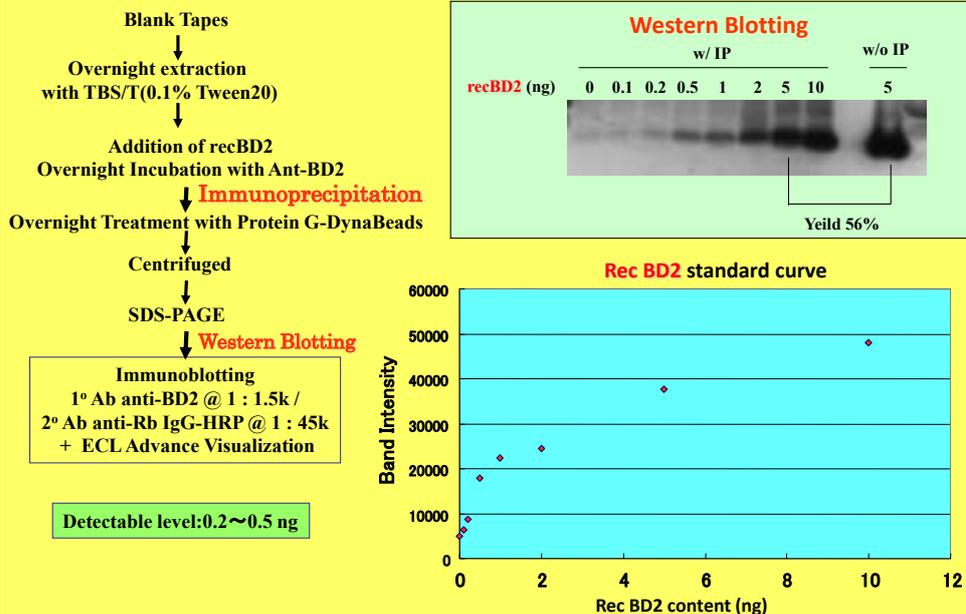


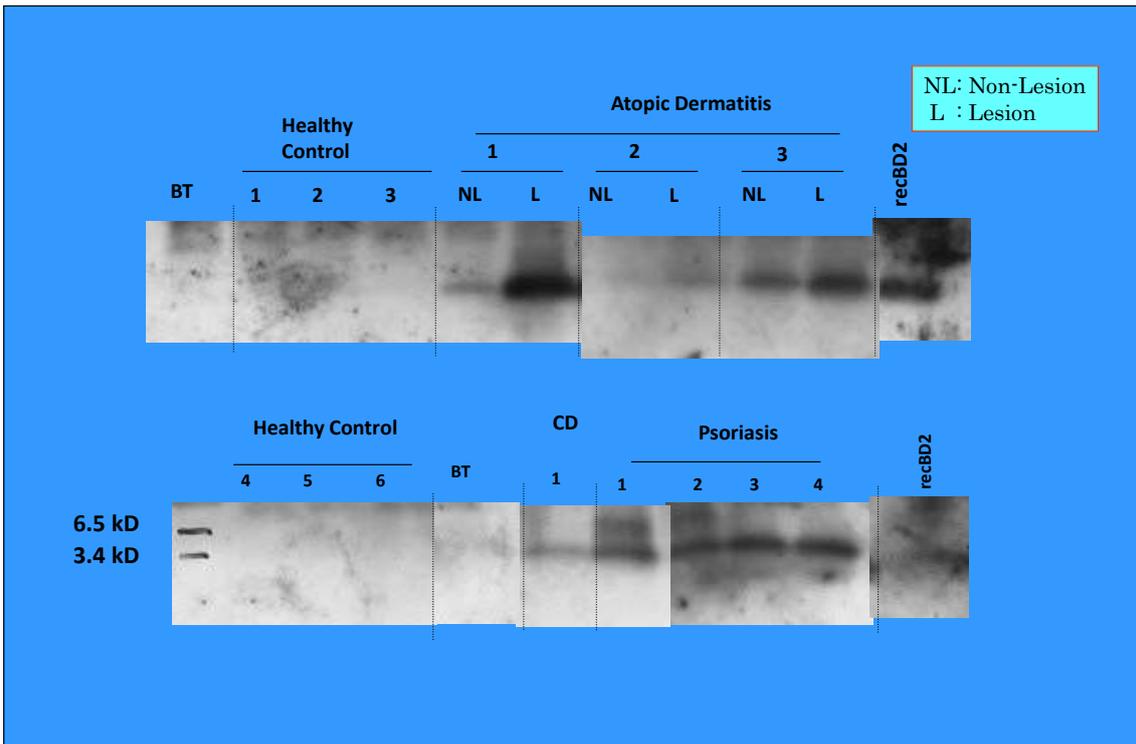
## Procedure for Quantitation of BD2 in the Stratum Corneum

Healthy • AD • Psoriasis  
the stratum corneum (3 strips tapes)

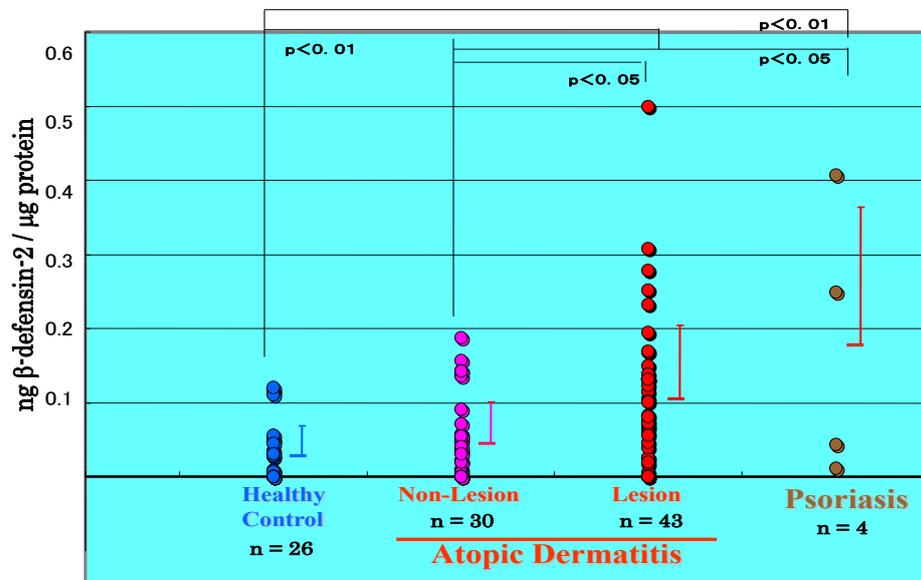


## Standard Curve using rec $\beta$ -Defensin(BD2) by Immunoprecipitation /Western Blotting

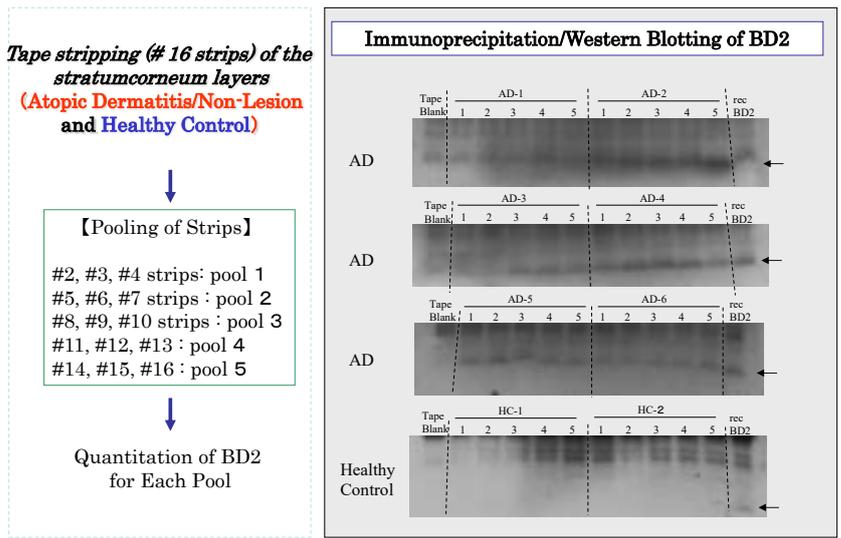




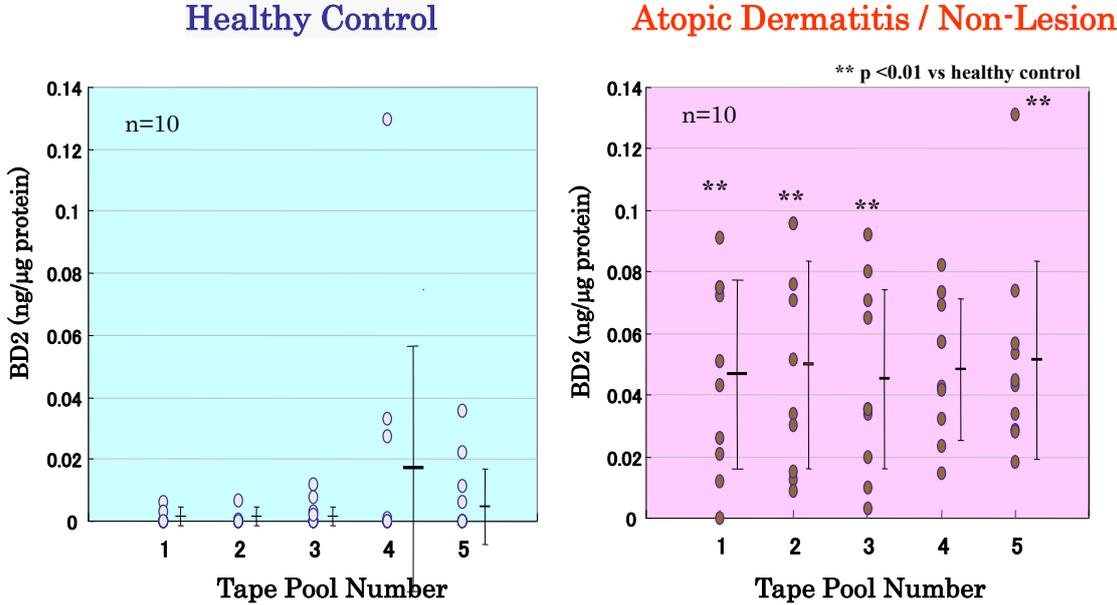
Immunoprecipitation/Western Blotting of BD2 in the Stratum Corneum of Patients with Atopic Dermatitis (AD) /Psoriasis/Contact Dermatitis (CD)



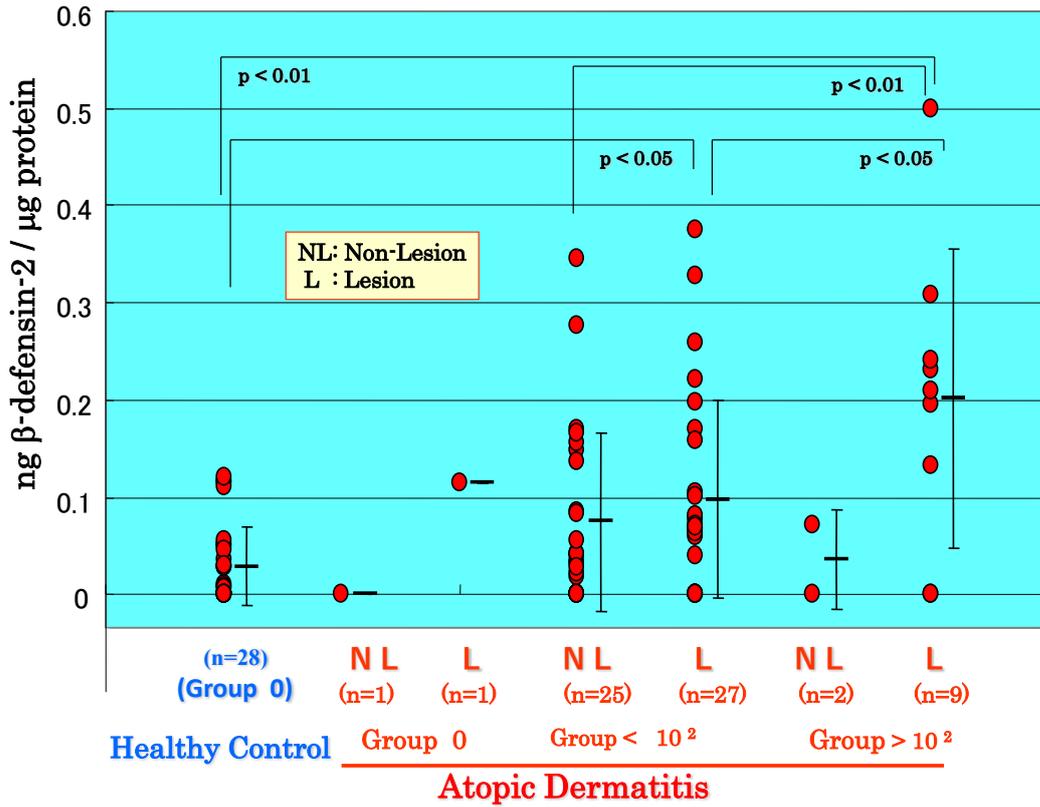
Comparison of beta-defensin-2 levels among atopic dermatitis, psoriasis and healthy control



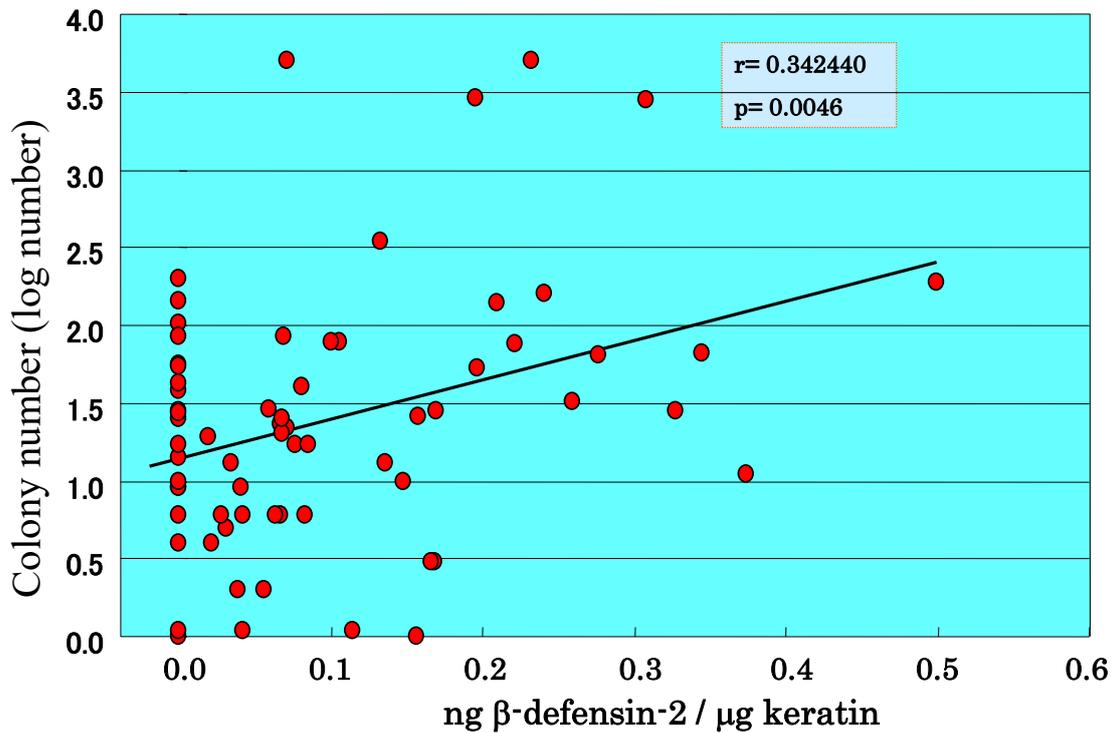
Comparison of beta-defensin-2 level through the stratum corneum layers depending on the depth



Comparison of beta-defensin-2 level through the stratum corneum layers depending on the depth



$\beta$ -defensin-2 Content in the Stratum Corneum (3 Strips) of AD in Relation to *S. Aureus* Colonization



## Relationship between b-defensin-2 Content and S. Aureus Colonization in the Lesional and Non-Lesional Stratum Corneum of AD

### 3. バリア機能異常と皮膚免疫異常

バリア機能異常の存在はアトピー性皮膚炎の発症に重要な因子と考えられるようになってきたが、一方アトピー性皮膚炎の発症要因に皮膚免疫反応の異常を考える人も多い。アトピー性皮膚炎の皮膚免疫異常の典型的な現象としては、通常の接触アレルギー反応がサイトカインバランスでの Th1/Th2 バランスが Th1 優位状態になっているのに対し、アトピー性皮膚炎の特に急性期のアレルギー反応は Th2 優位になり、IgE の増加や炎症皮膚におけるエオジノフィルの浸潤を引き起こすとされている【o-1, 2, 3】。この血中の IgE の増加や皮膚の免疫担当細胞である表皮ランゲルハンス細胞の Fc $\epsilon$  受容体を介した IgE の結合【o-5】、さらにはこのランゲルハンス細胞に結合した IgE を介しての皮膚免疫反応の修飾反応【o-6】が注目されている。これらアトピー性皮膚炎患者では種々免疫サイトカイン (IL-4, IL-13) や受容体 (Fc $\epsilon$ 鎖) 遺伝子の家族性変異が見出されているものの【o-7, 8, 9】、これらの異常とアトピー性皮膚炎患者で実際に認められている皮膚免疫異常との因果関連については、いまだ明快な説明はなされていない。我々は皮膚バリア機能の異常は皮膚炎の発症要因のみならず、皮膚免疫応答の修飾をもたらし、アトピー性皮膚炎に特徴的な皮膚免疫応答を引き起こす可能性を検証するため、バリア破壊がもたらすハプテン及び蛋白抗原での接触アレルギーにおける皮膚免疫応答の変化について解析した【a-32, d-29】。

### 皮膚のバリア機能と皮膚での免疫応答

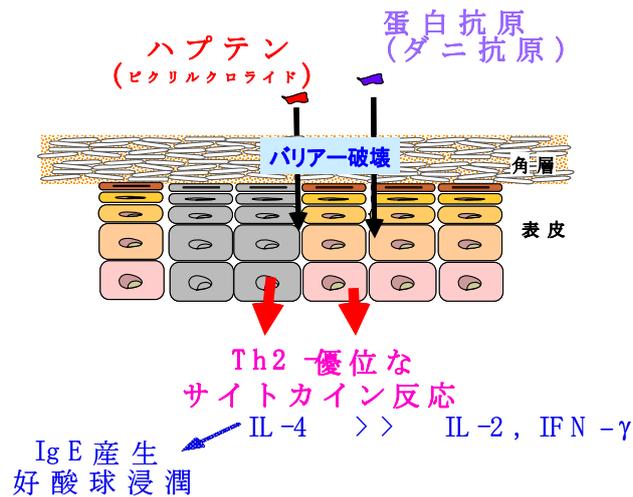
#### 1. 研究の背景

皮膚は外界からの刺激物の侵入を防ぎ、また組織中からの水分の蒸散による水分の損失を防ぐ目的で、皮膚最上層に角層という何層にも重なった角質細胞の層とその細胞間にスフィンゴ脂質を主成分として脂質二重層からなる多重脂質層を形成し、バリア機能を発揮している【a-26】。難治性皮膚炎として知られる、アトピー性皮膚炎における無疹部皮膚では角層中のセラミドの減少【a-20】によりバリア機能の異常【d-23】が生じており、これがアトピー性皮膚炎の発生や再発また難治性の要因と考えられている。このバリア異常の存在はアトピー性皮膚炎の発症に重要な因子と考えられるようになってきたが、一方アトピー性皮膚炎の発症要因に皮膚免疫反応の異常を考える人も多い。アトピー性皮膚炎の皮膚免疫異常の典型的な現象としては、通常の接触アレルギー反応がサイトカインバランスでの Th1/Th2 バランスが Th1 優位状態になっているのに対

し、アトピー性皮膚炎の特に急性期のアレルギー反応は Th2 優位になり、IgE の増加や炎症皮膚におけるエオジノフィルの浸潤を引き起こすとされている【0-1, 2, 3】。この血中の IgE の増加や皮膚の免疫担当細胞である表皮ランゲルハンス細胞の Fc・受容体を介した IgE の結合【0-4】、さらにはこのランゲルハンス細胞に結合した IgE を介しての皮膚免疫反応の修飾反応【0-5】が注目されている。これらアトピー性皮膚炎患者では種々免疫サイトカイン (IL-4, IL-13) や受容体 (Fc・鎖) 遺伝子の家族性変異が見出されているもの【0-6, 7, 8】、これらの異常とアトピー性皮膚炎患者で実際に認められている皮膚免疫異常との因果関連については、いまだ明快な説明はなされていない。我々は皮膚バリア機能の異常は皮膚炎の発症要因のみならず、皮膚免疫応答の修飾をもたらし、アトピー性皮膚炎に特徴的な皮膚免疫応答を引き起こす可能性【図-49】を検証するため、バリア破壊がもたらすハプテン及び蛋白抗原での接触アレルギーにおける皮膚免疫応答の変化について解析した【0-9】。

**バリア破壊はTh2タイプ優位なアレルギー反応を引き起こすか？**

図-49：



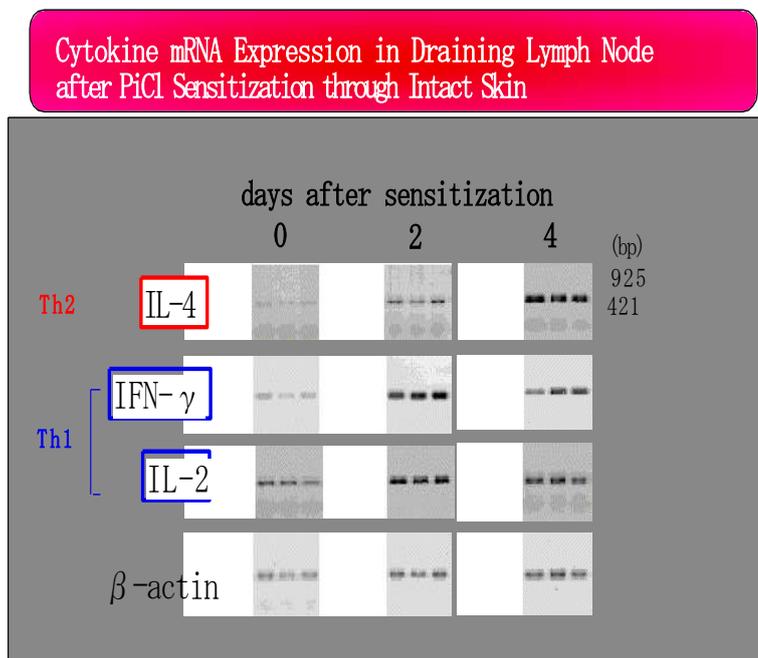
## 2. バリア破壊後のハプテン感作による免疫応答

### 2-1. ピクリルクロライド感作による所属リンパ節でのサイトカイン応答

Balb/c マウス皮膚でバリアを壊すことなく通常ハプテン (ピクリルクロライド、Pic1) 皮膚塗布による感作を行った後、所属リンパ節での、インターロイキン-2 (IL-2), インターロイキン-4 (IL-4), インターフェロンガンマー (IFN- $\gamma$ ) mRNA の発現を RT-PCR 解析にて観察すると、いずれ

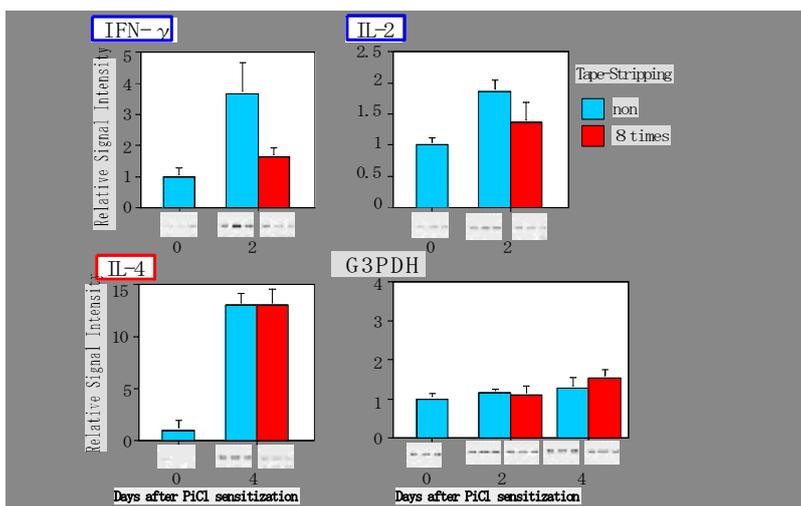
のサイトカインの遺伝子の発現は増強し、Th-1 サイトカインである IL-2 と IFN- $\gamma$  は感作後2日目で発現が最大となるのに対し、Th-2 サイトカインである IL-4 は感作後4日目でその発現は最大となる【図-50】。同じピクリルクロライドの皮膚塗付による感作を、テープストリッピングを8回行うことによりバリア破壊後6時間でおこなった場合、所属リンパ節でのTh-1 サイト

図-50 :



カインである IL-2 と IFN- $\gamma$  の mRNA の感作2日後の発現は、バリア破壊を行わなかった場合に比べ著しく抑制されることが判明した【図-51】。一方、Th-2 タイプのサイトカインである IL-4 の mRNA の感作4日後の発現はまったく影響

図-51 :



されることなく、一定の強い発現が認められる。この Th1 タイプのサイトカインの発現抑制率は感作操作をバリア破壊直後に行うとほぼ100%までになる【図-52】。バリア破壊の程度と IFN- $\gamma$  mRNA 発現の抑制の関連を見てみると、感作前におこなったテープstripping回数に比例して IFN- $\gamma$  mRNA 発現が顕著に阻害されており、バリア破壊が Th-1 サイトカインの発現の著明な抑制を引き起こすことが明らかとなった【図-53】。

図-52 :

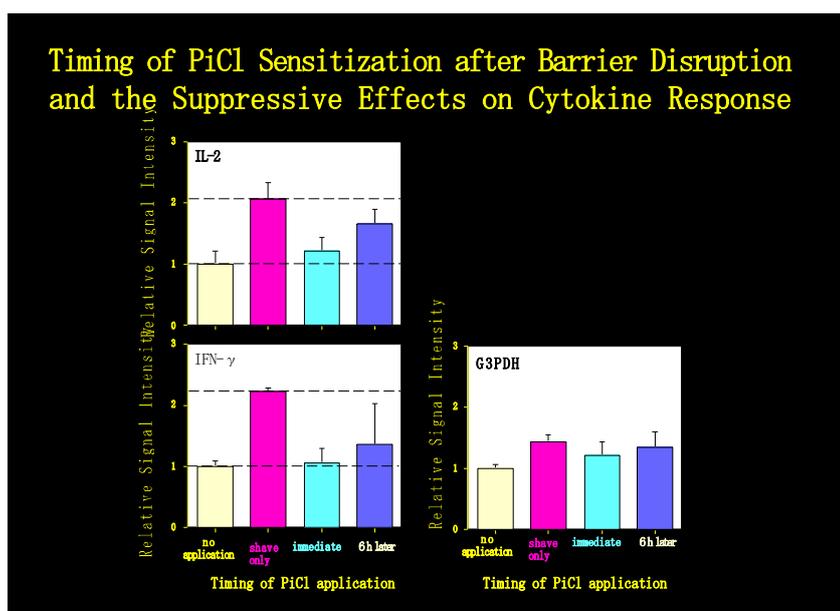
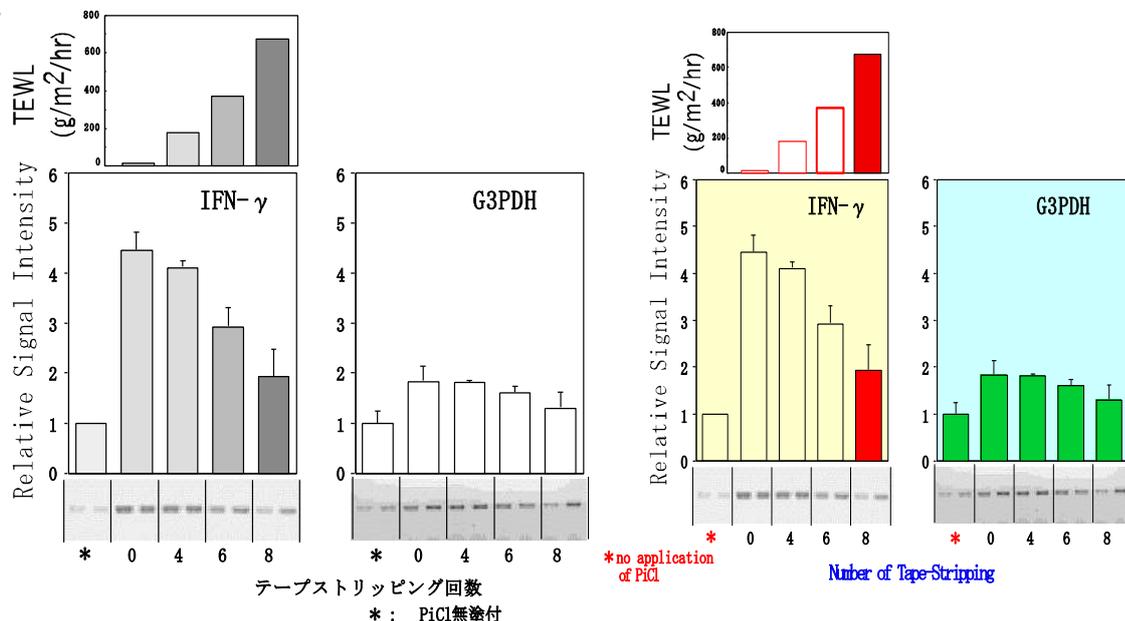


図-53 :

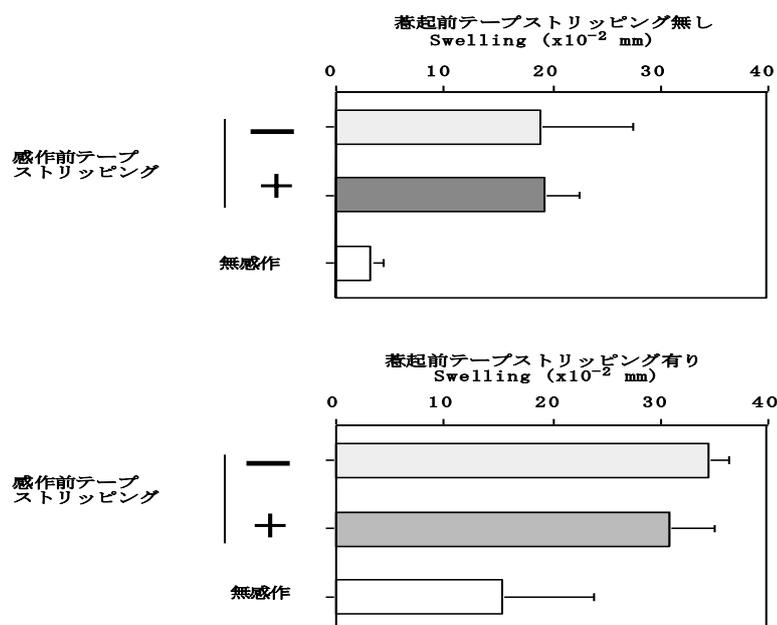


2-2. バリア破壊後の脾臓及び血清中の IgE mRNA 発現及び IgE 蛋白量への影響  
 バリア破壊を伴った感作による引き起こされる Th1 タイプのサイトカインの発現抑制が、相対的な Th2 タイプのサイトカインの優位状態を作り出し、その結果 IgE 蛋白の発現増強に結びつくのかいなかを調べるため、バリア破壊後に DNCB で感作し、B a l b/c マウス脾臓における IgE mRNA 発現をバリア破壊しないで感作した場合と RT-PCR 解析で比較検討した。脾臓における IgE mRNA 発現はバリア破壊後感作した場合、バリア破壊しない場合と比べ有意に増加していた。つまりバリア破壊は脾臓における IgE の産生を増加させる方向に働くことが明らかとなった。さらに血清中の IgE, IgG1, IgG2a 蛋白量を抗原特異的 ELISA で測定した結果、IgG1 及び IgG2a 量には変化が無かったが、IgE 量は有意な増加を認め、バリア破壊後のハプテン感作により IgE 産生がバリア無破壊での感作に比べ有意に増加することが確かめられた。

### 3. バリア破壊後の惹起皮膚におけるサイトカイン応答

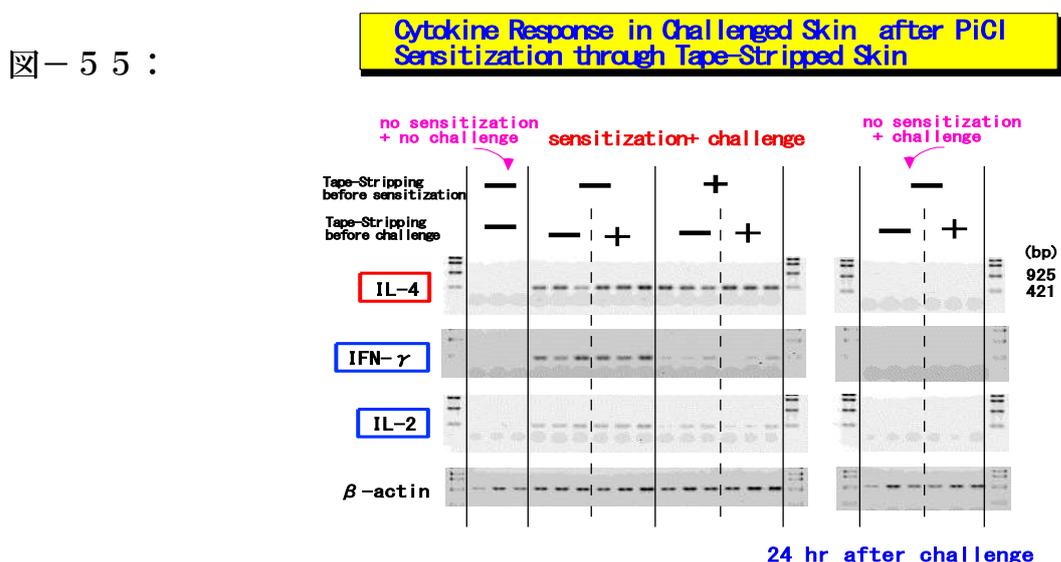
ピクリルクロライドによるバリア破壊後の感作にひきつづき、耳介にてバリア破壊もしくは非破壊後に惹起を行い、皮膚腫脹の程度および皮膚でのサイトカイン mRNA の発現強度を見てみると、皮膚の腫脹は惹起時にバリア破壊を行ったほうが強い傾向を示したが、感作時のバリア破壊の有無に関わらず、皮膚の腫脹の強さはほとんど影響されず、感作時のバリア破壊は免疫抑制的には働いていないことが判明した【図-54】。この惹起皮膚でのサイトカイン mRNA の発現

図-54 :



をバリア破壊の有無での感作及び惹起別に見てみると、バリア破壊後感作を行った場合は、惹起の際のバリア破壊の有無に関わらず、バリア破壊なしの感作

の場合に比べTh1 サイトカインである IL-2 及び IFN- $\gamma$  の mRNA の顕著な抑制が生じ、一方 Th2 サイトカインである IL-4 mRNA の発現は、感作時及び惹起時のバリア破壊の有無に関わらず、明瞭で一定の発現を示した【図-55】。すなわち感作時にリンパ節で認められた Th1 サイトカイン発現の抑制は、惹起皮膚領域に存在する細胞においても同様なパターンで Th1 タイプのサイトカイン発現が抑制されていることが明らかとなった。このTh1タイプサイトカインである IFN-



$\gamma$  の発現抑制状態はアトピー性皮膚炎患者で認められている典型的な皮膚免疫異常であることが知られている【0-1,2】。

#### 4. バリアー破壊後のダニ感作による免疫応答

##### 4-1. ダニ抗原感作による所属リンパ節でのサイトカイン応答

アトピー性皮膚炎患者ではハウスダスト、ダニ等の環境抗原に対する感作率が相対的に高いことが知られ、ダニ抗原はアトピー性皮膚炎の発症に重要なアレルゲンの一つとして認知されている【0-9】。ダニ抗原自身はその分子量の大きさから通常は皮膚に侵入できないので、バリア破壊を行った後ダニ抗原を皮膚に塗布することにより初めてダニ抗原による感作を成立させることができる。KLH などの他の抗原性の強い蛋白抗原を用いても同様にバリア破壊後の感作により、接触アレルギー反応を誘導することができる。テープストリッピング8回後にダニ抗原を塗付することにより、感作を行い、その後に所属リンパ節でのサイトカインの mRNA の発現を経時的に RT-PCR で解析すると、Th1 タイプのサイトカインである IL-2 や IFN- $\gamma$  の発現はほとんど認められないのに対し、Th2 タイプのサイトカインの IL-4 の mRNA の発現は1日後より増強し、感作後4日目でピークを示し、この増強は7日後でも認められた【図-56】。バリア破

壊後のダニ感作と PiCl 非バリア破壊感作の所属リンパ節での IL-4, IL-2 及び IFN- $\gamma$ の遺伝子発現を感作後 1, 2, 4 日後と比較してみると、2 日目での IL-2 と IFN- $\gamma$ の発現低下と 4 日目での IL-4 の発現増加がダニ感作で認められている【図-57】。

図-56：

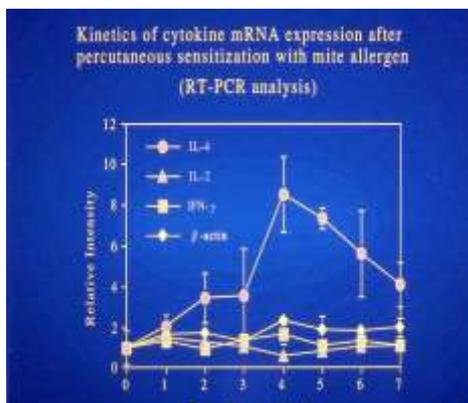
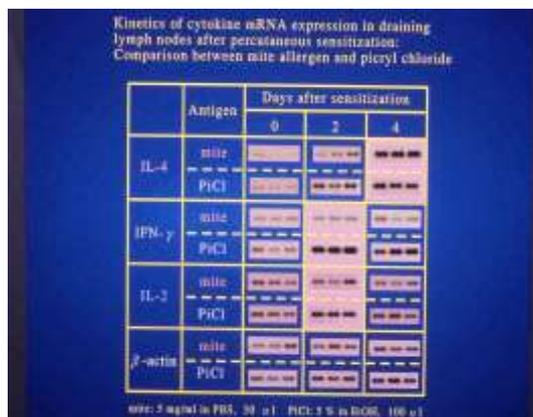
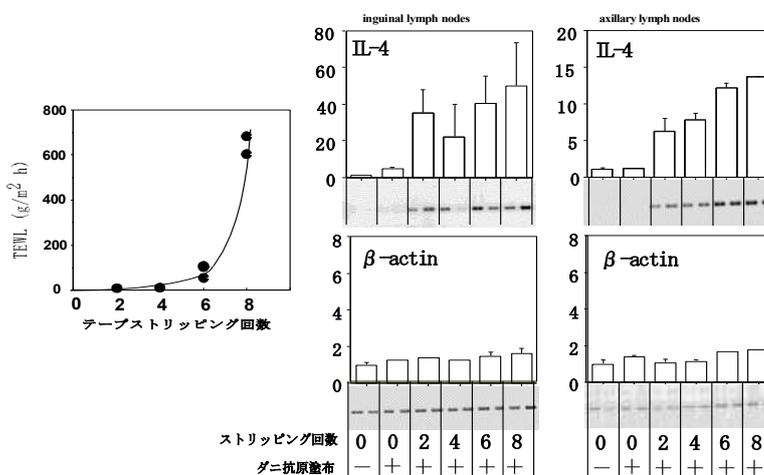


図-57：



このバリアー破壊後のダニ抗原感作による所属リンパ節での感作 4 日目での IL-4 mRNA の発現増強は、テープストリッピングの回数や経皮水分蒸散量に比例して、えきか、及びそけい部リンパ節で生じており【図-58】、バリアー破壊に依存した皮膚免疫応答ということが出来る。

図-58：

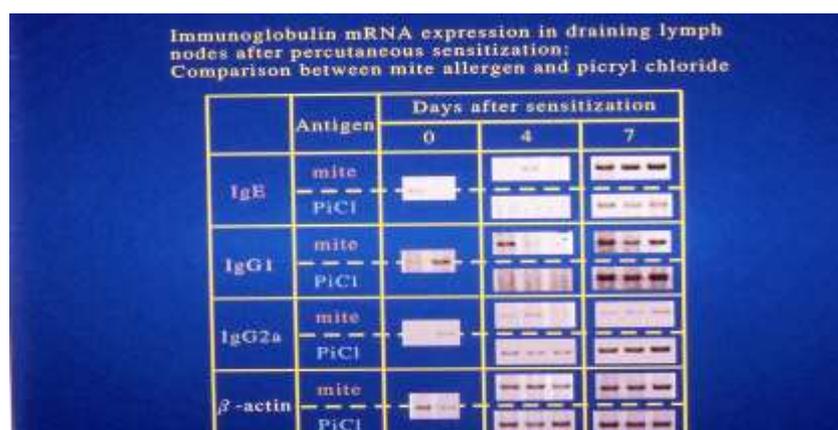


#### 4-2. ダニ抗原感作による所属リンパ節での IgE 遺伝子の発現

バリア破壊後のダニ抗原感作による所属リンパ節での IL-4 mRNA の発現増強

が、その後の IL-4 産生増強により、IgE の産生増強に結びついているのかどうかを検証するため、所属リンパ節での IgE, IgG1, IgG2a の mRNA の発現を RT-PCR で解析した。一般に Th1 サイトカインの IFN- $\gamma$  は T リンパ球で産生された後、B リンパ球に作用して IgG2a の産生をうながすのに対し、Th2 サイトカインの IL-4 は IgE や IgG1 の産生をうながすことが知られている。バリアー破壊後のダニ抗原での感作とバリアー破壊をしないでのピクリルクロライドでの通常感作を比較すると、ダニ抗原では感作後 7 日目で IgE mRNA の強い発現が認められるのに対し、ピクリルクロライドでの通常感作では、IgE の発現はほとんど認められない【図-59】。一方ピクリルクロライド感作では 7 日後に IgG2a の mRNA

図-59：

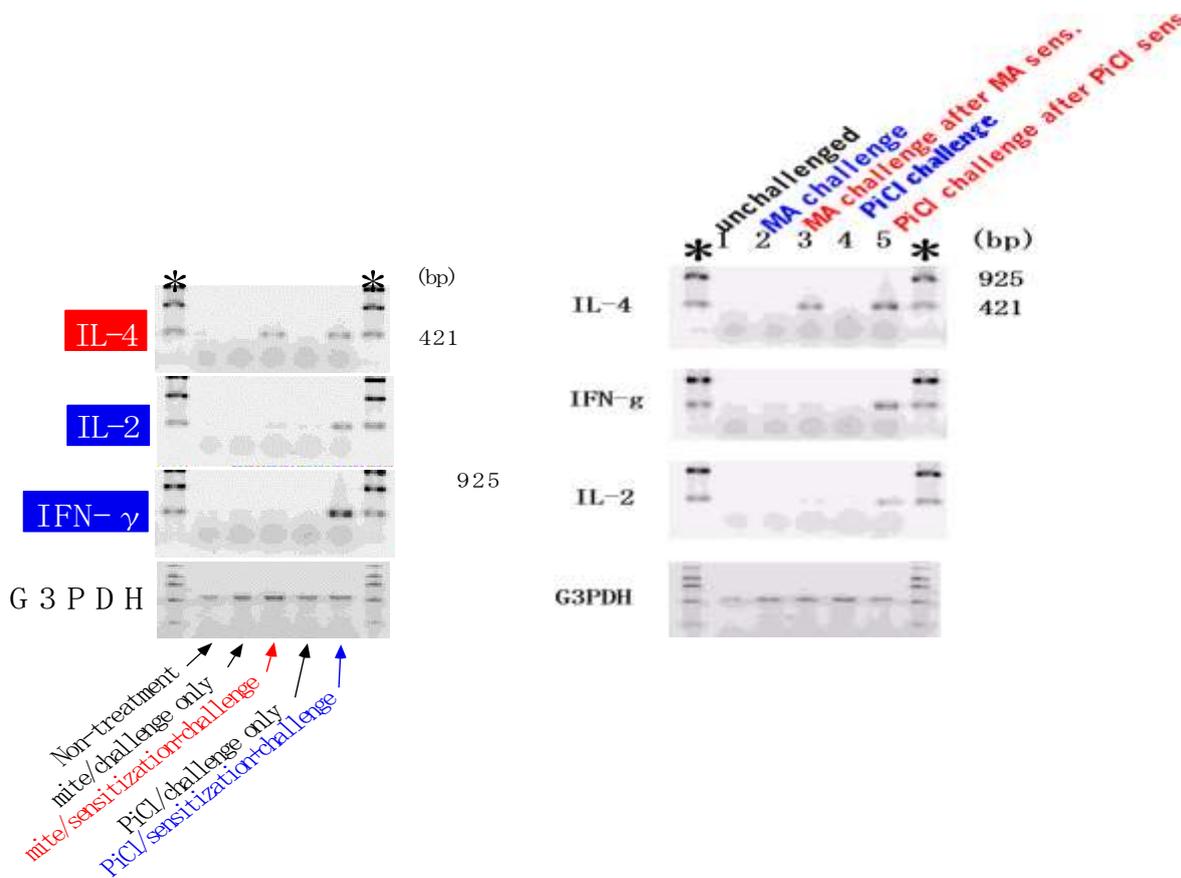


の強い発現が認められるのに対し、ダニ抗原感作では、この発現はほとんど認められず、リンパ節でのダニ抗原感作での IL-4 の発現増強は IgE の発現増強まで連動していることがうらざけられた。この IgE の発現増強と一致して、血清中での総 IgE 及びダニ特異的 IgE レベルも、ダニ感作後有意に増加することも判明している。

#### 4-3. ダニ抗原惹起皮膚でのサイトカイン応答とエオジノフィルの浸潤

バリアー破壊後ダニ抗原で感作したマウスを、耳介皮膚でダニ抗原の皮内注射に惹起し、炎症皮膚でのサイトカイン mRNA の発現を通常のピクリルクロライドでの感作及び惹起での結果と比較してみると、ダニ抗原では通常のピクリルクロライドでの惹起皮膚に比べ Th1 サイトカインである IL-2 及び IFN- $\gamma$  の mRNA の顕著な抑制が生じ、一方 Th2 サイトカインである IL-4 mRNA の発現は、両者ともに明瞭な一定の発現を示した【図-60】。すなわち感作時にリンパ節で認めら

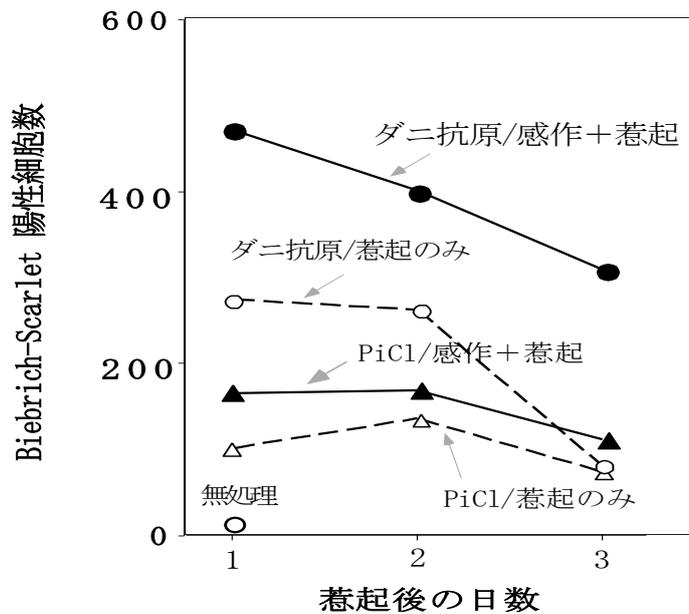
図—60 :



れた Th 2 サイトカイン発現の増強と、Th1 サイトカインの発現抑制は、惹起皮膚領域に存在する細胞においても同様なパターンで生じていることが明らかとなった。同様な Th 2 タイプのサイトカインの遺伝子発現の抑制はアトピー性皮膚炎患者にダニ抗原をパッチテストして生じる炎症皮膚でも報告されている【o-10】。

Th2 タイプのサイトカイン反応として、IL-4 や IL-5 を介しての好酸球の炎症部位への浸潤の増強作用が知られている【o-11, 12】。バリアー破壊後のダニ抗原感作による一連の Th2 タイプの反応が、この好酸球の浸潤の増強を引き起こす特徴を有するものかどうかを検討するため、ダニ抗原による皮内惹起を耳介部でおこない、通常のピクリルクロライドによる接触アレルギー反応と比較して好酸球の浸潤の強さを、炎症部へ浸潤した好酸球の数を Birbrich Scarlet 染色により測定した。その結果、耳介皮膚真皮に浸潤してきている好酸球数はバリアー破壊後ダニ抗原塗付感作・皮内惹起では、ピクリルクロライド通常塗付感作・塗付惹起に比べ 2 倍以上の浸潤細胞数を示し【図—61】、ダニ抗原による皮膚アレルギー反応が Th2 タイプの反応を増強することが裏付けられた。一方、同じ炎症部位でのマスト細胞やマクロファージの数には差は認められなかった。

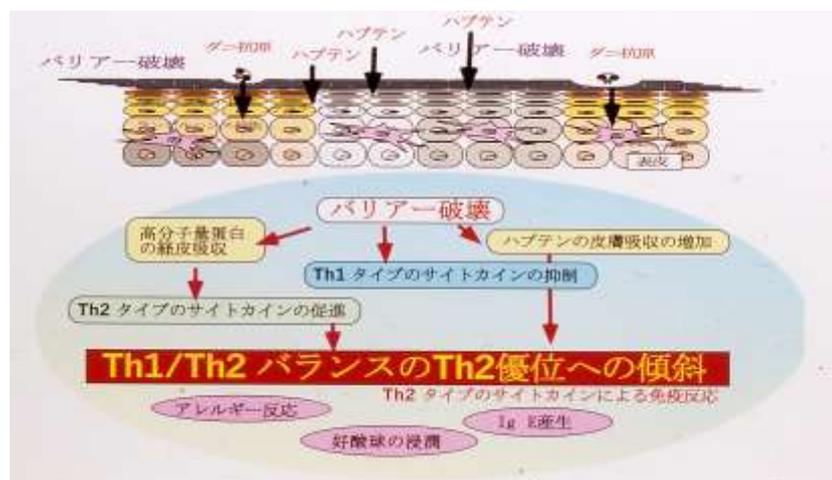
図-61:



### 5. まとめ

【図-62】に示した如く接触アレルギー反応において、バリアー破壊は抗原がハプテンの場合は、Th1タイプの反応を抑制し、その結果Th2タイプの反応を相対的に優位にするのに対し、抗原がダニ抗原の如き蛋白抗原の場合は、Th2タイプの反応を促進する方向に働き、バリアー破壊はいずれの抗原の場合でもTh2優位に傾斜することが判明した。アトピー性皮膚炎患者の皮膚では無疹部においてもバリアー破壊状態が永続しており、ここで皮膚上で種々のアレルゲンにより引き起こされる免疫反応は、いままでの知見をベースに考えれば、Th2タイプに傾斜することが容易に推察できる。すなわち、アトピー性皮膚炎患者皮膚で認められている皮膚免疫異常は実は、アトピー乾燥皮膚の特徴であるバリアー破壊がもたらした結果とも考えることができる。

図-62:



## バリアー機能雑感

バリアー障害は肉眼ではわからない。

皮膚の如何なる皮診とも関係が認められない。

バリアー障害があると、いろいろな環境物質に対する経皮吸収が亢進して一次刺激やアレルギー刺激が誘発されやすくなる。

アトピー性皮膚炎患者の無疹部皮膚ではバリアー機能が顕著に低下していることがわかっているが、この疾患以外ではあまり問題にされたことがない。

しかし最近敏感肌の約30%はアトピー素因が関与していることが明らかとなり

化粧品使用者の中でも敏感肌認知者が増加し化粧品使用人口の約30%を占めるにいたり、敏感肌のかなりの部分はアトピー性皮膚炎患者の軽症との考えかたが主流をしめるに至っている。これらの事実と一致して、敏感肌のヒトの皮膚特に顔面では健常者と比べてバリアー機能が有意に減少しているとの報告が相次いでいる。

すなわちバリアー機能を改善することのできる剤は化粧品関係ではアトピー性皮膚炎患者よりも敏感肌対応の化粧品でもっともその意義を発揮できる。

日常の生活活動で皮膚角層バリア機能が  
障害を受ける2大要因

過度の洗浄

紫外線

敏感肌

### 3. 角層バリア機能のヒト皮膚評価測定法：

#### ● バリア機能の測定法

##### 1. ニコチン酸メチルにより経皮吸収バリアー機能の測定法

ニコチン酸メチルの血管拡張作用による発赤を指標にして角層バリアー機能を測定する方法で、ヒト前腕屈側部に直径8mmの濾紙を置き、ニコチン酸メチルの $1 \times 10^{-2} \text{M}$ 濃度の水溶液を2・1を添加する。一分後に濾紙を除去し、ペーパータオルで付着している試料液を拭き取り以下の基準により発赤に程度を0.5単位で評価する。0：反応なし、1：かすかな紅斑(大体の輪郭が認められる)、2：明瞭な紅斑、3：明瞭で強度な紅斑、4：浮腫を伴う紅斑

これらの測定は温度 20 °C, 湿度 50 % に調整した環境可変室内でおこなう。

【図-6 3】は 2 名の前腕屈側部でニコチン酸メチルを塗布した後に認められた発赤で上下図いずれも a が塗布部、b が無塗布部である。【図-6 4】はヒト前腕屈側部で 3 cm 離して 2 箇所ニコチン酸メチルを塗布し同時に発赤(紅斑)とレーザードップラー装置で血流量を測定した 2 例の結果で、紅斑強度と血流量

図-6 3 :

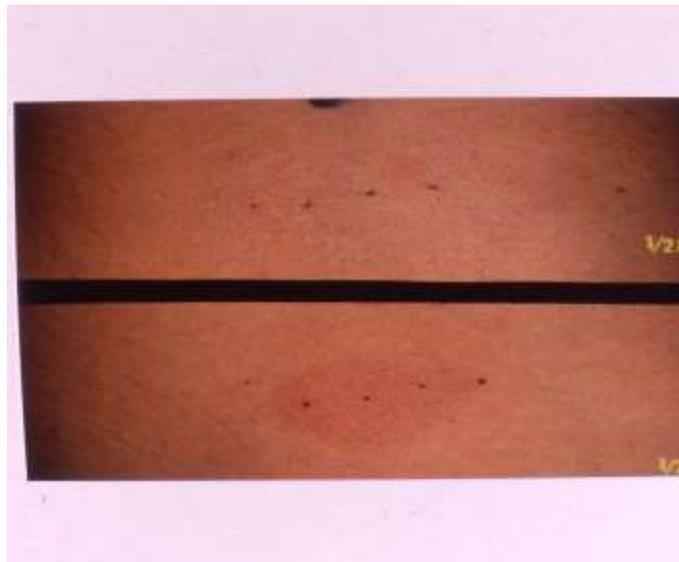
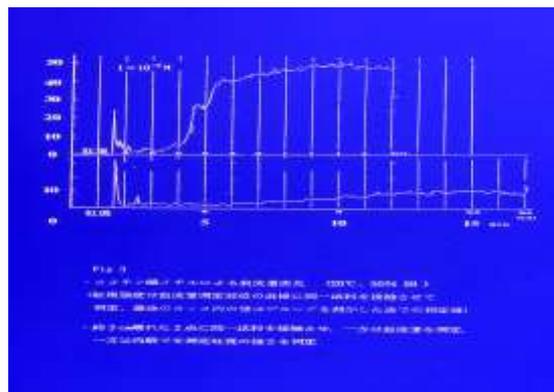
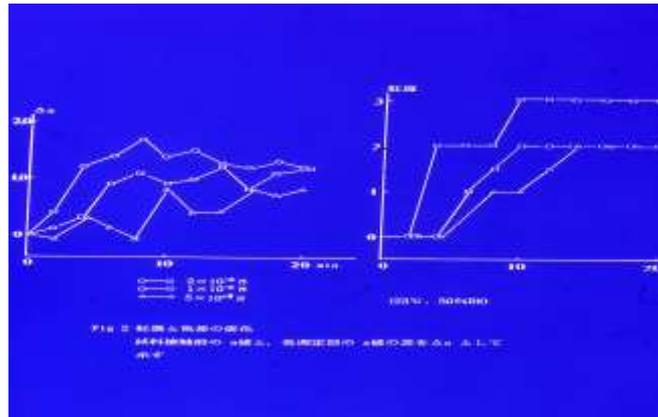


図-6 4 :



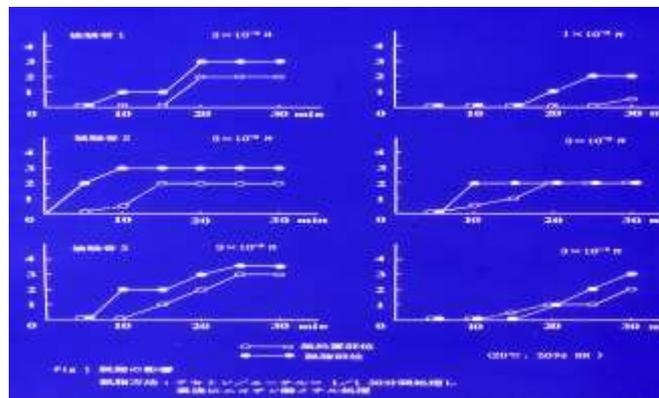
はほぼ相関して変動することを示している。【図-6 5】は 3 種濃度でのニコチン酸メチル水溶液を塗布した後に認められる紅斑強度と色差計で測定した a 値の関係を調べたもので、紅斑と a 値はほぼ比例した形で変動していることがわか

図-65:



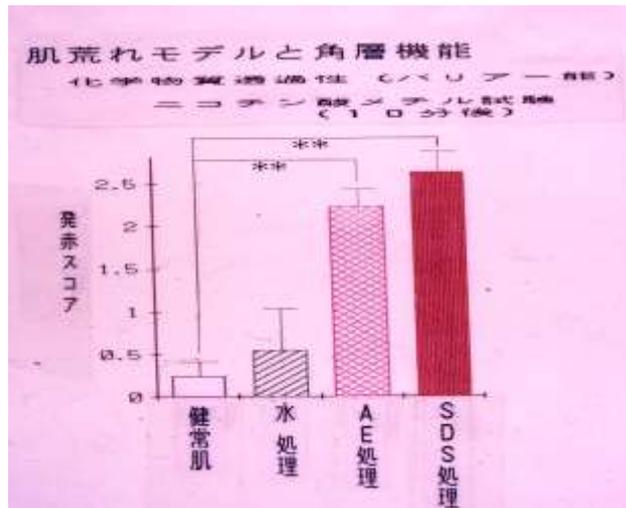
る。すなわちニコチン酸メチル塗布後に認められる紅斑の強度により角層バリア機能が相対的に測定できることが明らかとなったので、バリア機能をアセトン・エーテルの30分処理にて破壊し、その後このニコチン酸メチル法によりバリア破壊の程度を測定した結果が【図-66】でアセトン・エーテル

図-66:



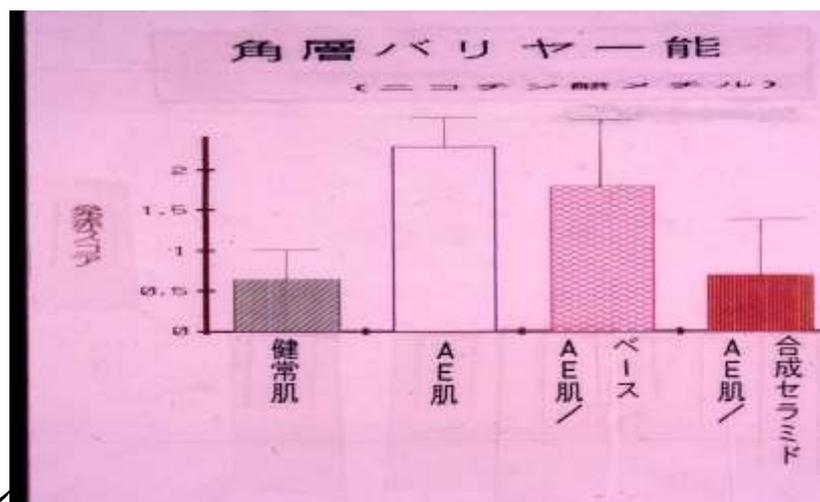
処理をした部位ではニコチン酸メチル塗布による紅斑の強度が高く出現し、バリア機能の低下が生じていることが明らかである。アニオン洗浄剤の sodium dodecyl sulfate (SDS) 水溶液を cup shaking 法にて1日30分間洗浄した1, 2, 3日後のニコチン酸メチル塗布による紅斑の出現の時間経過を見た場合も、洗浄剤によるバリア機能低下のため、紅斑のコントロールの蒸留水処理にくらべ早い出現が認められる。【図-67】はアセトン・エーテルおよび SDS による

図-67:



バリア障害の程度をまとめたもので、発赤スコアは健常肌や水処理のみに比べ有意な増加を示し、両処理により角層バリアー機能が明瞭に低下していることがわかる。さらにアセトン・エーテル処理により障害されたバリアー機能は合成擬似セラミドの塗布により、健常肌のレベルまで回復していることがこのニコチン酸メチル法により証明されている【図-68】。

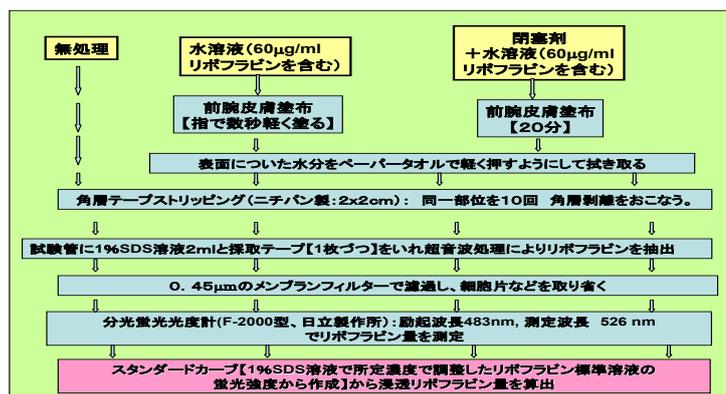
図-68:



## 2. リボフラビン

本法では【図-69】の如く環境可変室【温度20℃、湿度40%】にて左右前腕皮膚に30μg/ml濃度のリボフラビンを含む水溶液の塗布処理を行い、処理

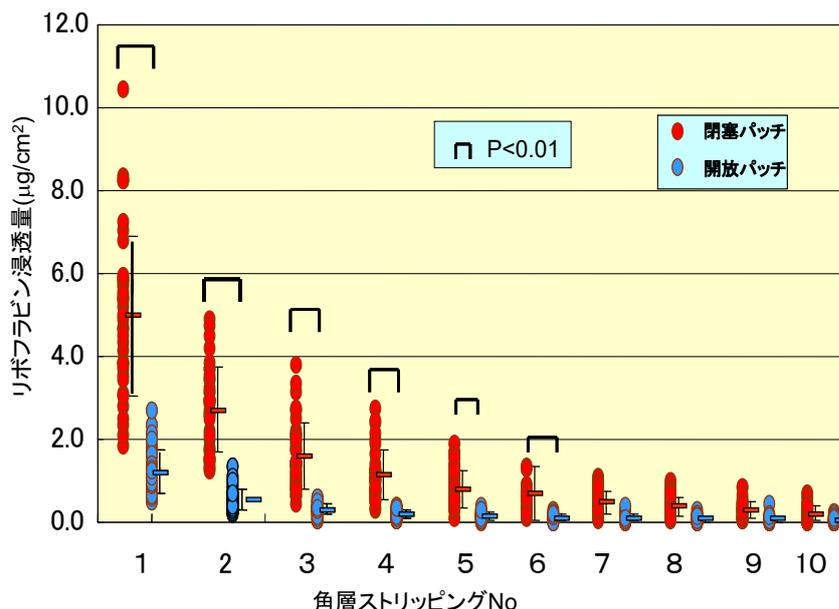
図一69：



終了後ペーパータオルで軽く残っている液を拭くとる。リボフラビン浸透量の測定は、塗布した皮膚部位に  $2\text{ cm} \times 2\text{ cm}$  のニチバンスコッチテープを皮膚表面に適度な圧力で押さえつけ、ゆっくりと剥がしす。同じ操作を同じ皮膚部位で計 10 回行い、剥離角層を 10 枚用意する。剥離回数に応じて番号を 1-10 番まで記載し、剥離テープはスライドグラス上に貼り付け、 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  にて保存する。角層からのリボフラビンの抽出法は、試験管に 1%SDS 溶液 2 ml と採取テープ (1 枚ずつ別々に) をいれ超音波処理によりリボフラビンを抽出し、 $0.45\text{ }\mu\text{m}$  のメンブランフィルターで濾過し (セントリコンで遠心)、細胞片などを取り省く。リボフラビン濃度の測定は分光蛍光光度計 (F-2000 型、日立製作所) : 励起波長  $483\text{ nm}$  , 測定波長  $526\text{ nm}$  でリボフラビン量を測定スタンダードカーブ (1%SDS 溶液で所定濃度に調整したリボフラビン標準溶液の蛍光強度から作成) から浸透リボフラビン量を算出する。リボフラビン浸透量の測定は一枚ごとの剥離角層中の  $\text{cm}^2$  辺りのリボフラビン重量 ( $\text{ng}/\text{cm}^2$ ) を算出し、角層の剥離番号を横軸にとり、プロットし、処理の違いによる浸透量の差を評価する。本法により

皮膚閉塞パッチによる経皮吸収量の増加効果を測定した実例を【図一70】に示した。

図-70:



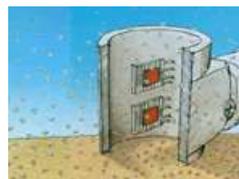
● 経皮水分蒸散量によるバリア機能の測定

1. 経皮水分蒸散量の測定法

インテグラル社製の経皮水分蒸散量測定装置 Tewameter (Courage-Khazaaka electronic GmbH, Cologne, Germany) 【図-71】ではプローブは筒にな

図-71:

水分蒸散量測定



手元スイッチで更に便利

水分蒸散量シングルタイプTM300

この図は皮膚の蒸散量(TEWL)を測定する装置とその原理を示しています。プローブは筒になって内部に2対の温湿度センサーがついています。皮膚から蒸散した水分がこのセンサーを通過する時の温度と湿度の変化を計測することにより、皮膚の蒸散量を測定します。

一般に皮膚のバリア機能が損なわれると、TEWLは増加します。

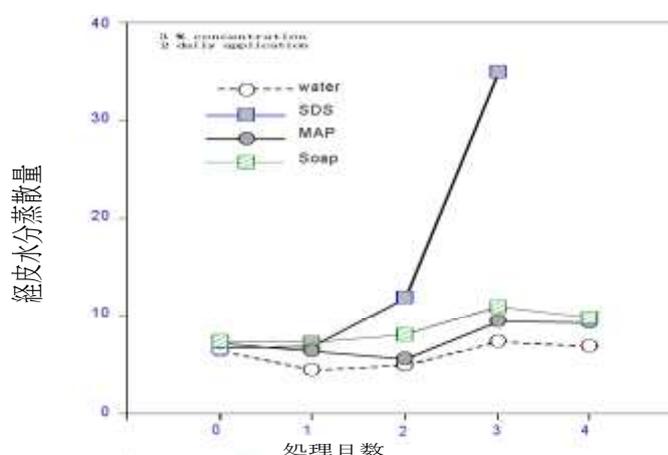
っていて(つまり開放系で)内部に2対の温湿度センサーがついていて、皮膚から蒸散した水分がこのセンサーを通過する時の温度と湿度の変化を計測することにより皮膚の蒸散量を測定する。同様な測定原理で経皮水分蒸散量を閉塞系で測定する機器としては他に Evaporimeter (ServoMed, Stockholm, Sweden) がある。閉塞系としては水晶発振器により空気気流中で水分蒸散を測るフロースルーセル型経皮水分蒸散量測定装置(花王株式会社製)【b-5】やN2気流中で経皮水分蒸散量を測定する機器(Warrington, PA, USA)もある。またキャリアガスを必要としないタイプの経皮水分蒸散量測定装置

(VapoMeter, Keystone Scientific K.K. Tokyo, Japan) も販売されている。

### 1-1. アニオン性界面活性剤での洗浄による角層バリアー機能の変化

皮膚刺激性に最も結びつく皮膚バリアー機能への影響は、【図-72】の如くヒト

図-72 :



皮膚での3%洗浄剤1日2回洗浄処理で、SDSがエバポリメーターで評価した水分蒸散量の測定により、洗浄2日目より最も強いバリアー破壊作用を示したが、それに対し同様な洗浄処理条件では石鹼やMAP等のバリアー機能に対する影響は軽微なものであった【75】。皮膚バリアー機能の本体は脂質2重層を形成して角質細胞間に存在する細胞間脂質によることがほぼ確立されており、やはりこの細胞間脂質の溶出能の最も高いSDS【o-17, f-4】が試験した洗浄剤中で最も高いバリアー破壊能を示した。

### 2. 光音響法を用いた経皮吸収バリアー機能の測定

経皮吸収バリアー機能の評価に頻度高く使われるエバポリメーターによる経皮水分蒸散量は、水分の蒸散量を測定していることから、必ずしも経皮吸収バリアー機能と同じではなく、この両因子がまったく関連していないとの論文【o-30】も存在する。実際にin vivoでの経皮吸収バリアー機能が種々の皮膚でどの程度異常になっているのは充分には解析されていなかった。これは皮膚角層を通した物質の経皮吸収量を正確に測定するためにはアイソトープの塗布による血中や尿中への移行量の測定や、生検皮膚でのチャンバー法での実験が必要であり、いずれの方法も現状ではかなり困難であることが、種々皮膚における経皮吸収バリアー機能の異常を定量化することを妨げていた。我々は無浸襲で短時間で正確に物質の経皮吸収量を測定できる光音響分光法(PAS)を開発し、脂溶性と水溶性の2種類の色素の経皮吸収量やその皮膚部位での差を健常者で比較してみた【a-45】。本PAS装置の外観とブロック図を【図-73】に示した。また開放型光音響セルの構造

と実際にヒト皮膚で測定している時の写真を【図-74】に示した。この方法の原理は【図-75】に示す如く、角層上層から約15・mの間に存在する物質の量を測定するために、

### PAS装置外観

図-73：

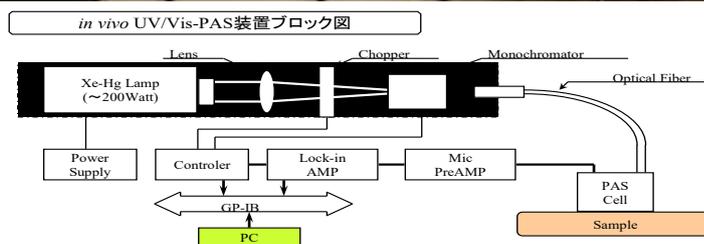
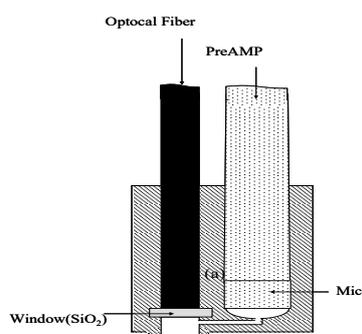


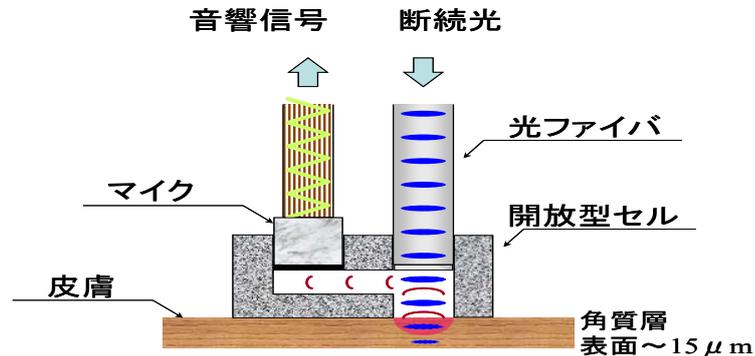
図-74：



(a) in vivo 測定用開放型光音響セルのブロック図  
(b) 開放型光音響セルにより、人皮膚を測定している時の写真

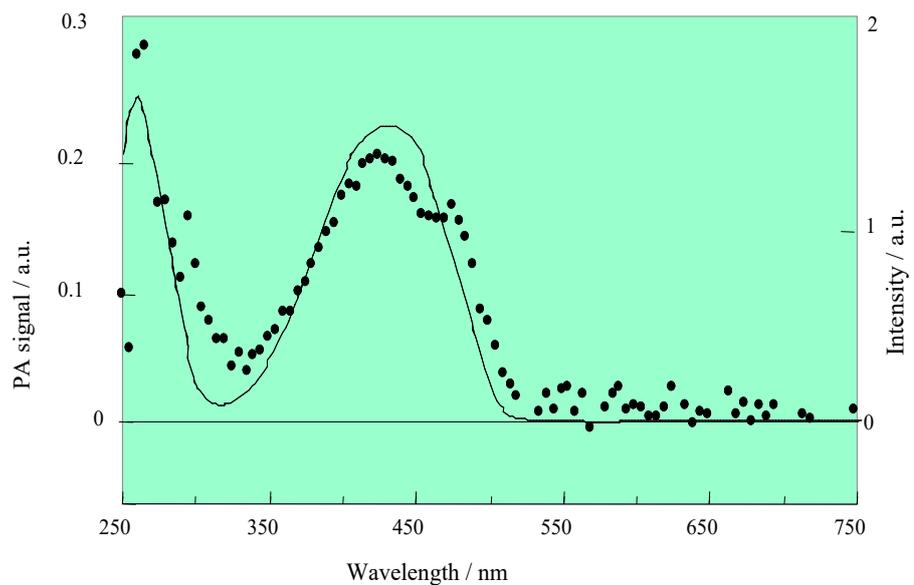
光音響分光法(PAS)によるバリア機能の測定方法

図-75:



検出物質の光吸収ピークを含む光を断続的に皮膚に照射し、物質が光を吸収し励起状態になりその後基底状態に変化する際に放出した断続的な熱による周辺空気の断続的な膨張から生じる音を検出することにより、その物質量を測定するものである。【図-76】には黄色色素塗布前後の豚皮膚の光音響スペクトルの差スペクトルと黄色色素エタノール溶液の吸収スペクトルを示した。

図-76:

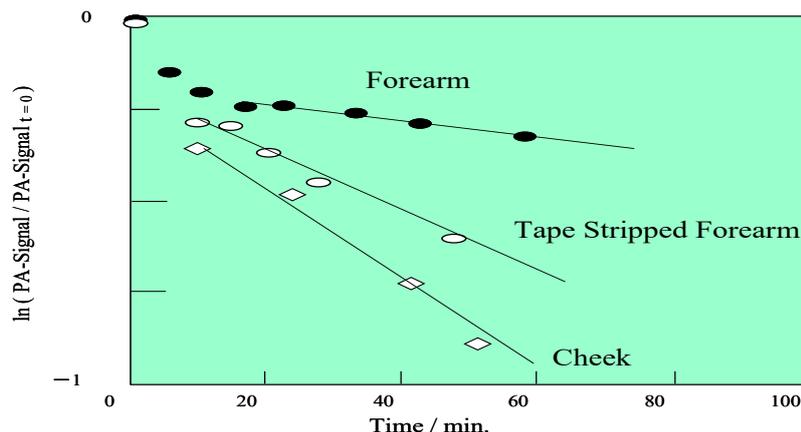


2-3-1. 健常皮膚での光音響法を用いた経皮吸収速度の測定

【図-77】はベーターカロチンの経皮吸収を図に示す条件にて測定した結果で、前腕と頬では角層からベーターカロチンが消失する速度(経皮吸収速度)は頬の方が明瞭に早く、

前腕に比べ頬で経皮吸収が高いという一般的な概念と一致している。

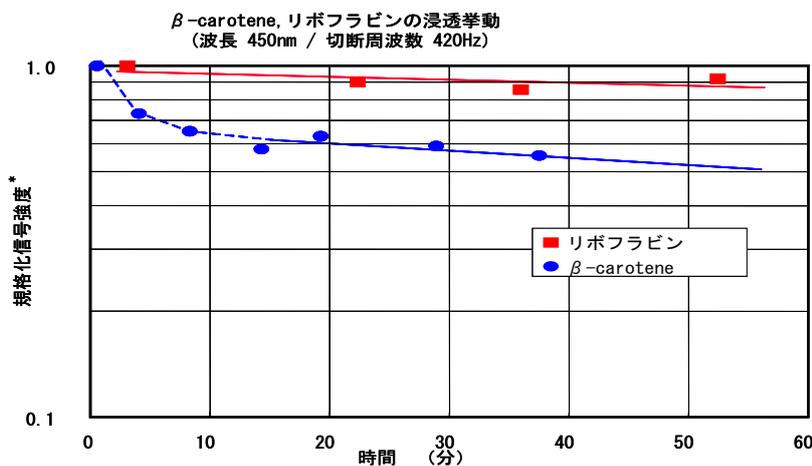
図-77:



人前腕 (a) とテープで角層を剥離した人前腕 (b) および人類部 (c) それぞれに βカロチンアセトン溶液を塗布した場合の光音響信号強度の時間変化

次に前腕皮膚で水溶性色素であるリボフラビンと脂溶性色素であるベータカロチンの経皮吸収速度を比較してみた結果を【図-78】に示す。水溶性色素のリボフラビンはこの条件ではほとんど経皮吸収されていないのに対し、脂溶性色素のベータカロチンはある程度の経皮吸収を示し、一般的には脂溶性物質が水溶性物質より皮膚に入りやすい概念と一致している。

図-78:

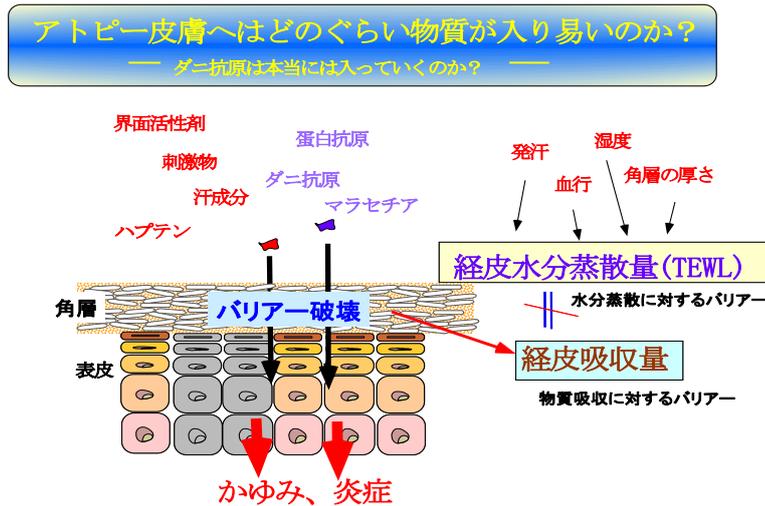


規格化信号強度 = (観測信号強度 - 塗布前信号強度) / (初期信号強度 - 塗布前信号強度)

### 1-3. アトピー性皮膚炎での経皮吸収バリアー機能異常

前項でも触れたが、経皮吸収バリアー機能の評価に頻度高く使われるエバポリメーターによる経皮水分蒸散量は、水分の蒸散量を測定していることから、必ずしも経皮吸収バリアー機能と同じではなく、この両因子がまったく関連していないとの論文【o-30】も存在する。実際にin vivoでの経皮吸収バリアー機能がアトピー性皮膚炎皮膚でどの程度異常になっているのは充分には解析されていなかった【図-79】。これは皮

図-79 :



膚角層を通した物質の経皮吸収量を正確に測定するためにはアイソトープの塗布による血中や尿中への移行量の測定や、生検皮膚でのチャンバー法での実験が必要であり、いずれの方法も現状ではかなり困難であることが、アトピー性皮膚炎患者皮膚における経皮吸収バリアー機能の異常を定量化することを妨げていた。我々は無浸襲で短時間で正確に物質の経皮吸収量を測定できる光音響スペクトロメーターを開発し、アトピー性皮膚炎患者皮膚における【図-80、81】の如き脂溶性と水溶性の2種類の色素の経皮吸収量を健常者と比較してみた(13)【a-45】。この方法の原理は角層上層から約15 $\mu$ mの間

図-80 :

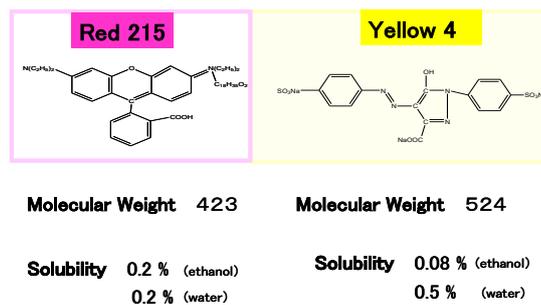
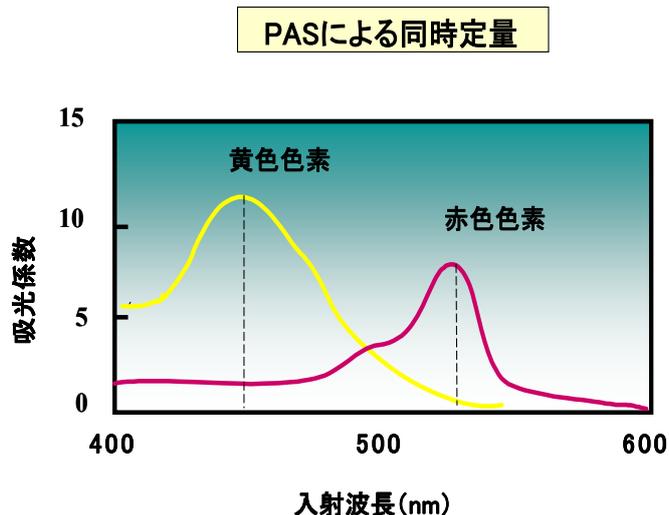
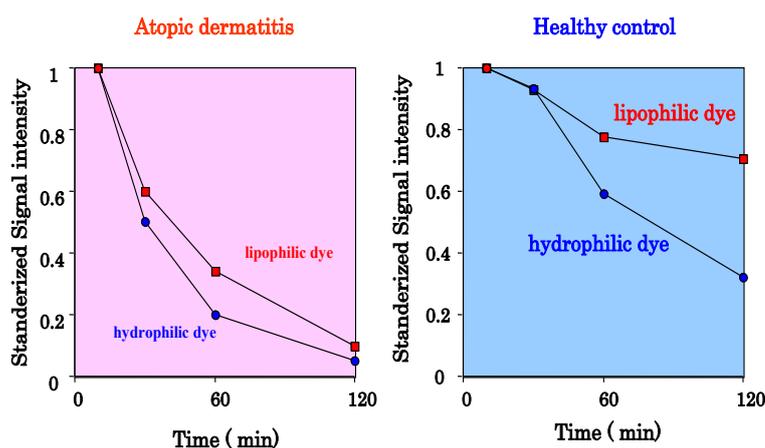


図-81 :



に存在する物質の量を測定するために、検出物質の光吸収ピークを含む光を断続的に皮膚に照射し、物質が光を吸収し励起状態になりその後基底状態に変化する際に放出した断続的な熱による周辺空気の断続的な膨張から生じる音を検出することにより、その物質量を測定するものである。【図-82】はアトピー性皮膚炎患者前腕皮膚の無疹部と健常者の前腕皮膚であらかじめ塗布した水溶性色素と脂溶性色素の角層からの表皮への移行量を経過時間とともに測定したもので、いずれの色素もアトピー性皮膚炎患者皮膚の方で健常者に比較してより早く角層から表皮へ移行し、経皮吸収がより高いことを示した。

図-82 :



さらに短時間で経皮吸収量を評価するため、【図-83】の如き方法により2-5分の色素のパッチテスト後の角層中への吸収量を測定したところ、【図-84】に示す如くアトピー性皮膚炎患者皮膚角層は健常者に比べて約2倍以上の経皮吸収の有意な上昇を水溶性色素および脂溶性色素のいずれでも示し、経皮吸収性の亢進が確認された。またこの無疹部皮膚での経皮吸収性の亢進は、アトピー性皮膚炎の重症度にほぼ比例

角層内(14 μm)への浸透量測定の実際

図-83 :

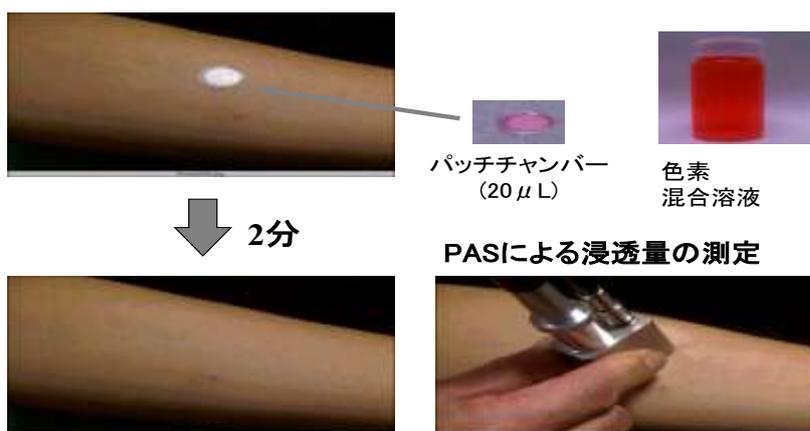
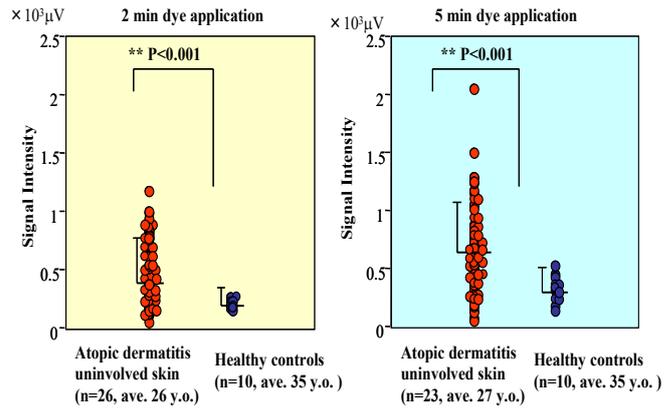


図-84 :



して強くなることも判明した【図-85】。さらに興味深いことに、重症のアトピー性皮膚炎患者群では水溶性色素の角層への吸収量と患者血中のIgE量が強い相関を示し【図-86】、重症のアトピー性皮膚炎患者で、水溶性の物質、おそらくダニ抗原などに高い経皮吸収性を示す患者は、これにより感作が成立しやすく、その結果とし

図-85 :

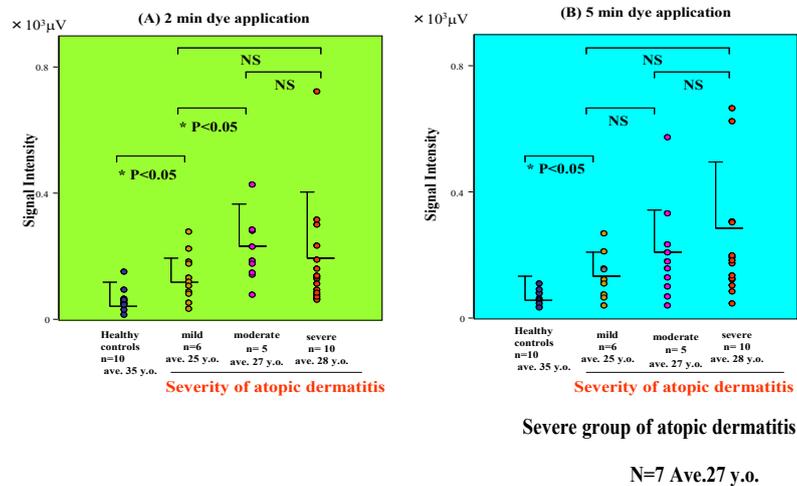
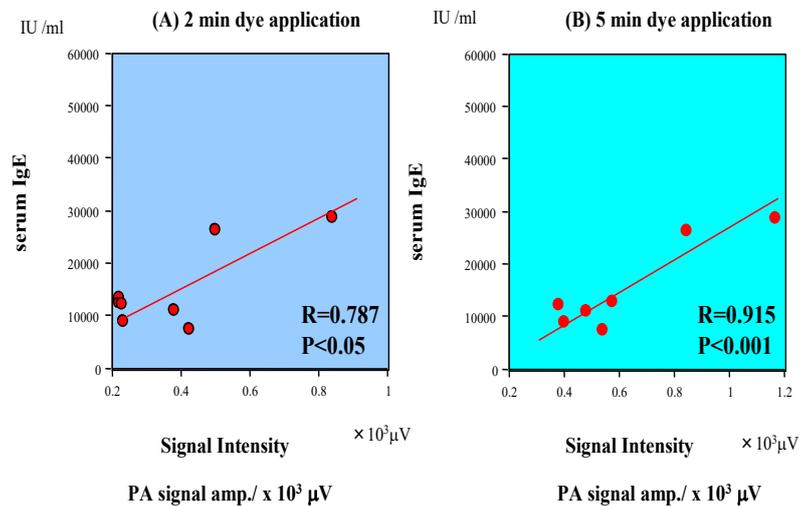
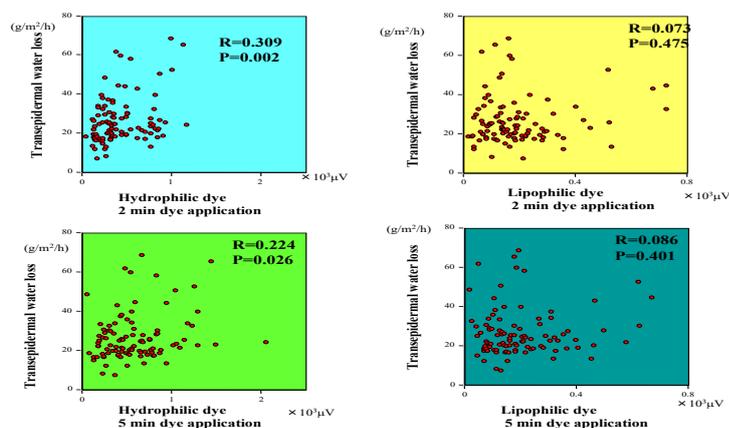


図-86 :



てIgEの産生も高まる可能性が示唆された。また無疹部皮膚での両色素の経皮吸収性は同じ患者皮膚でのTEWL値とは良い相関関係を示さず【図-87】、両者が独立した異なる物理化学的性質であることを示した。

図-87：



#### 4. バリア機能の破壊法とバリア補強剤評価プロトコール

##### 背景

皮膚のバリア機能は最上層の角層に存在し、体内からの水分蒸散を防ぎ、また外界からの刺激物の容易な侵入を防ぐ重要な機能である。またこのバリアー機能は日常生活では特に洗浄剤の過剰な使用により障害を受けることが知られており、また紫外線による紫外線皮膚炎の結果としても障害を受ける。またこの異常は敏感肌の顔面皮膚にも認められ、さらにアトピー性皮膚炎ではこのバリアー機能の極端な低下が生じており、皮膚炎発症の主要な原因となっている。すなわちバリアー補強剤は洗浄や紫外線暴露により生じるバリアー障害の予防や修復に使用されると同時に敏感肌皮膚へのケア剤さらにはアトピー性皮膚炎のスキンケア剤としても有用であることが証明されている。したがってバリア補強剤の評価は一般に健常皮膚にバリア破壊を誘導し、その前後で使用し、バリア破壊の予防や回復効果を、エバポリメーターを用いて経皮水分蒸散量を測定することにより、評価するのが一般的である。またバリア異常の認められる敏感肌のヒトや明瞭な継続的なバリア障害の認められるアトピー性皮膚炎患者皮膚の無疹部でのバリアー能回復効果を調べるのもよい評価法となる。

##### 1. バリアー機能の破壊法

###### a) テープストリッピング

スコッチテープを使い、前腕皮膚に数秒押し当てて、剥がす操作を 20 回ほど繰り返すことにより角層全層を剥がす事によりバリアー機能のほぼ完全な破壊を引き起こすことができる。角層全層が図れた際にはきらきら光る光沢の層が現れればそれは角層の下の顆粒層が出てきているわけで、角層が完全に剥がされていることを意味する。またシアノアクリレート（瞬間接着剤）液体をガラスプレパラートに数滴たらし、それを前腕皮膚に押し当て、樹脂が重合するのを待って静かに剥がすことにより、角層全層の約半分（14 層程度）を一度に剥がすことができる【図-88, 89, 90】【a-20】。角層全層

図-88：



図-89：



図-90：



を剥がし、バリアー機能を完全に破壊するためにはこの操作を2回行う必要がある。本法ではバリア補強剤がテープストリッピングにより剥がされた角層の再構築およびそれに伴うバリアー機能の回復をいかに促進するかを評価できる。すなわちバリア改善効果というよりはバリアー回復促進効果といえることができる。

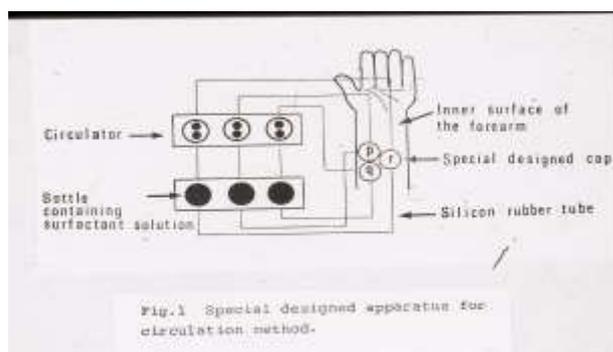
### b) SDS処理

より日常の状態に近いバリアー破壊法としては5-10% SDSでの洗浄法がある。前腕皮膚にガラスカップを設置し20分ほど腕を揺らすことにより洗浄状態を作り出すことによりバリアー能を破壊することができる【図-91】。同じ操作を一日1回数日間繰り返すことにより、より強いバリアー破壊を誘導することができる。またSDSでの洗浄はサーキュレーション法【図-92】【a-1】により行ってもほぼ同じ程度のバリアー破壊を誘導することができる。より長く続くバリアー破壊状態を作るためにはSDS洗浄前に後で述べるアセトン/エーテル処理を設置したガラスカップを用いて約30分行うと、容易に比較的長く（5日間程度）永続するバリアー破壊を誘導することができる。

図-90 :

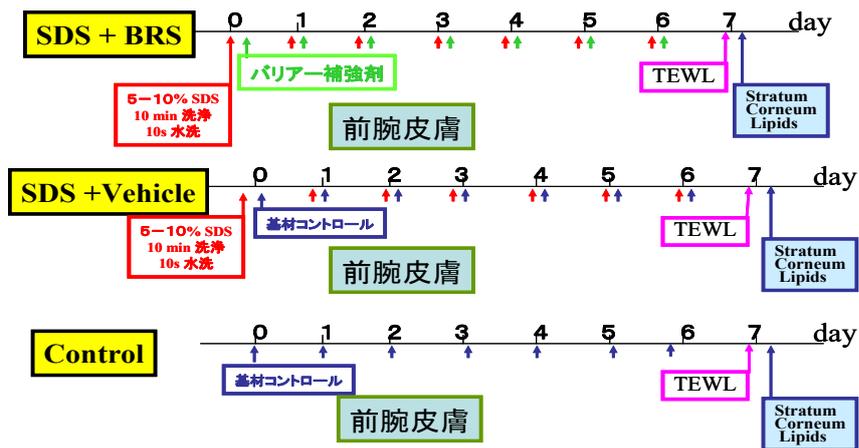


図-93 :



SDS 処理よりバリア破壊を引き起こす試験でのバリア補強剤の評価系は【**図-94**】の如く洗浄直前もしくは直後にバリア補強剤を塗付し、この操作を数日間継続して、試験終了日に TEWL 値その他を測定する方法がある【**a-51**】。

図-94： SDS処理バリア誘導試験におけるバリアー改善剤の評価プロトコール



### c) アセトン/エーテル処理

被験者の前腕内側に、特製のガラスカップ（直径3 cm）を装着し、そこにアセトン/エーテル（1/1）の溶液を、皮膚が十分に浸る量（約10 ml）を注入する。約30分わずかにガラスカップを揺らしながら放置し皮膚を処理する。この処理では皮膚角層から皮脂及び細胞間脂質を抽出除去し、数日間持続するバリアー破壊が誘導される。しかしSDS洗浄に比べるとバリアー破壊の程度は弱い傾向がある。バリアー破壊の程度が弱い場合はこの操作を一日一回数日間繰り返し、アセトン/エーテル処理の後に温水処理を20分行うとより明瞭なバリアー破壊を誘導できる。アセトン・エーテル処理によるバリア破壊法を用いたバリア補強剤の評価法は最後の最適プロトコールで詳述する。

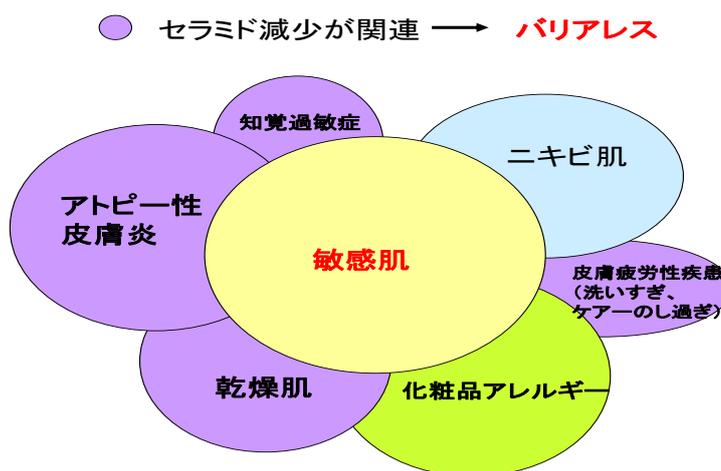
## ● バリア破壊がすでに生じている皮膚症状によるバリア補強剤の評価法

### 1. 敏感肌の使用

敏感肌を有する顔面皮膚でバリアー機能の低下が認められる被験者【**図-95**】

を使用してもバリアー補強剤の評価が可能である。敏感肌の中でもバリアー障害が相対的に強い場合でも、その程度はアトピー性皮膚炎に比べるとはるかに弱いので、被験者の数を多くし、使用期間も長めに（2ヶ月程度）設定する必要がある。使用部位が顔面に限られるため左右の塗りわけは難しく、同様なレベルでのバリアー障害が認められる被験者の2群で試験を行う必要がある。2ヶ月程度のバリアー補強剤の顔面への使用によりバリアー機能の変化をエバポリメーターで測定すると同時に敏感肌の特徴である感覚刺激閾値に関連するパラメーターも測定することにより、より正しいバリアー補強効果の評価および化粧品的効能を得ることができる。

図-95 :



### 敏感肌の使用のポイント

バリアー補強剤配合の化粧料を少なくとも一ヶ月以上使用した後の使用前と同じ条件でのバリアー機能の改善を評価すると同時にCPTなどによる感覚閾値の改善も解析する。

#### 1-1. 敏感肌とバリア機能【0'-1】

敏感肌の原因はいまだ不明であるが、化粧品の顔面塗布による感覚刺激の閾値【図-96, 97, 98】を指標にして分類選択した敏感肌群では、顔面の水

図-96 :



図-97:

モデル化粧水処方	
精製水	バランス
保湿剤*	26.0 wt%
pH調整剤	0.7
PEO型活性剤	0.5
極性油剤	0.25
防腐剤(パラベン)	0.2
香料	0.01

\*(ポリオール、その他)

図-98:

化粧品に対する感覚刺激(痒みやヒリヒリ感等)の評点基準  
 -頸側部への貼付試験(5分)及び30分の全顔使用試験に於いて-

評点スコア	感覚刺激評点の基準
6	我慢できない強い感覚刺激を感じる。
5	強い感覚刺激を感じる。
4	はっきりした感覚刺激を感じる。
3	一瞬、感覚刺激を感じる。
2	何となくムズムズする、気のせいかもしれないなど形容詞が付く感覚刺激を感じる。
1	スーとする冷感、温かな感じ、つっぱり感など何となく違和感を感じる。
0	刺激感、違和感を感じない。

みる評価は任意であった  
 感覚刺激を感知

分蒸散量で測定したバリア能が非敏感肌群と比べて有意に低下していることが報告されている。この低下傾向は顔面以外の皮膚でも認められるが、有意な差までには至っていない。一方角層水分量も敏感肌群で低下傾向を示すが、有意な差は認められない。この敏感肌群の顔面皮膚におけるバリア能低下と一致して、PAS法による色素の角層侵入量で評価した経皮吸収速度は敏感肌群に有意に増加しており、ニューロメーターで評価したヒト皮膚末梢神経機能(知覚過敏~知覚鈍磨)の指標であるCPT値の有意な減少も認められ、経皮吸収バリア能の低下に基づく感覚刺激の閾値の低下が、本敏感肌の原因の一つになっていることが示唆されている。また重症のアトピー性皮膚炎患者皮膚でのPAS法による経皮吸収バリア能の低下の程度と血中IgEレベルが強い相関関係を持っていたことと同様に、敏感肌群では非敏感肌群に比べ血中IgEレベルが高い傾向にあることも明らかとなり、アトピー性皮膚炎の場合と同様なメカニズムでバリア能の低下がこの血中IgEレベルの変化に影響している可能性を示唆している。軽症のアトピー性皮膚炎の無疹部でのバリア能低下は合成セラミドの塗布により健常者のレベルまでバリア能を回復させることが可能であるので【a-54】、バリア能の低下をともしなう敏感肌に対して、バリア能の補強が可能

な化粧品基材によるスキンケアによる敏感肌改善の試みが期待される。

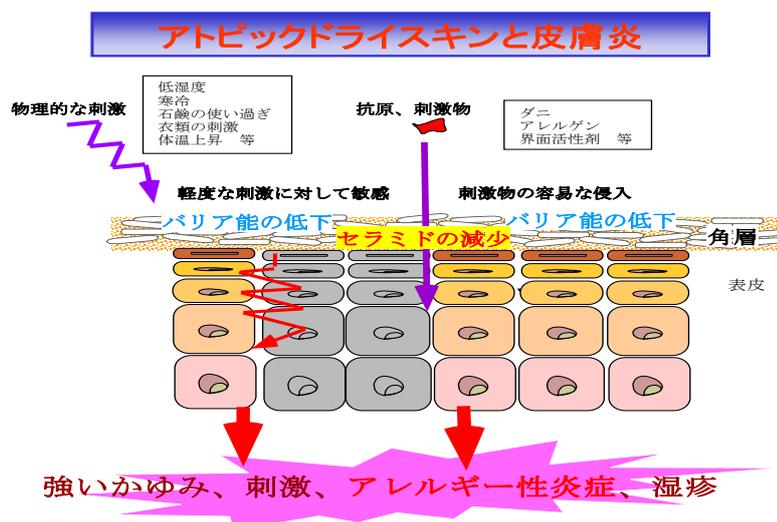
## 2. アトピー性皮膚炎患者の使用

アトピー性皮膚炎患者の前腕無疹部皮膚は軽症群においても健常者皮膚に比べて有意な永続的なバリアー機能の低下が認められ、通常の保湿剤の塗布ではバリアー機能の改善はほとんど認められない。したがってバリア補強剤の効果の評価にはもっとも優れた条件を提供できる。少なくとも4週間以上バリア補強剤を含有したクリームおよびコントロールクリームとの左右前腕無疹部皮膚での比較を行う。

### 2-1. アトピー性皮膚炎患者無疹部皮膚への合成セラミドの効果

アトピー性皮膚炎患者は健常者に比べて皮膚角質層の水分保持機能およびバリア機能が低下しており、このため皮膚表面の乾燥落屑性変化が起こりやすく、これが衣服との摩擦などを通してかゆみひいては掻破による皮膚炎の原因になる。またバリア能の低下は、抗原を含む外来物質の容易な侵入を招き一次刺激性皮膚炎やアレルギー性皮膚炎の誘因となっている【d-33, o-51】。これらの特徴スキームを【図-99】に示した。

図-99：



すなわちアトピー性皮膚炎の本体は皮膚炎というよりはむしろ、もともと基盤として存在する皮膚角層内のセラミドの減少により生じているアトピー性乾燥皮膚<sup>3, 4</sup>がその本体である可能性があり、したがってこのアトピー性乾燥皮膚をいかにケアし、角層の機能を長期間健常レベルに保つことができるかが、皮膚炎の再発を防ぎ、カユミ等を防止する意味でも大切と考えられるようになってきている。

従来アトピー性皮膚炎の治療は皮膚炎に対してはステロイドなどの抗炎症剤による治療が、炎症の消退後やアトピー性乾燥皮膚に対しては白色ワセリン、尿素軟膏、ヘパリノイド軟膏を中心としたいわゆる保湿剤を使用する治療が行われてきた<sup>5, 6</sup>。

近年これらアトピー性皮膚炎患者の皮膚角層において、角層細胞間に存在する細胞間脂質、とりわけセラミドが健常皮膚と比較して有意に減少しており、このことが皮膚バリア機能異常の要因の1つであることが報告されている【a-20, f-11】。さらに、表皮内セラミド生合成の過程において健常皮膚ではスフィンゴミエリンがスフィンゴミエリナーゼによりセラミドに加水分解されるが、アトピー性皮膚炎ではスフィンゴミエリンデアシラーゼの異常発現によりスフィンゴシルホスホリルコリンが生成され、その結果、表皮内のセラミド総量が減少する可能性が明らかとなってきた【a-29, 38, 39】。またセラミドの代わりに産生するスフィンゴシルホスホリルコリンはアトピー性皮膚炎患者皮疹部および無疹部皮膚角層で健常者角層に比べて有意に増加していることも報告されている【a-46】。このほかにもセラミドが減少するメカニズムとしては角層に生息する細菌由来のセラミダーゼによる分解の促進や【o-52】、スフィンゴミエリナーゼ酵素活性そのものが減少していることが要因であるとの報告【o-53】も存在する。いずれのメカニズムが正しいにしても、セラミドの角層での有意な減少がバリアー機能の異常の主要因である以上、アトピー性皮膚炎患者の皮膚のセラミド量を健常者皮膚レベルに長期間補充することがアトピー性皮膚炎の合理的で有効な治療の1つとなることが類推される。

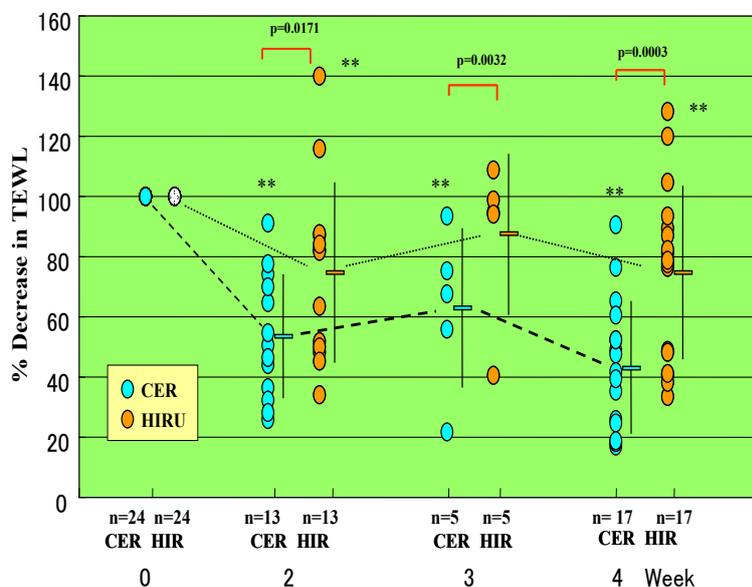
すでにアトピー性皮膚炎患者の無疹部皮膚への保湿剤クリームの使用試験は数多く為されているが【o-54-58】、アトピー性皮膚炎患者皮膚のバリアー損傷を直接的に改善できる化粧品基材はそれほど多くないため、バリアー機能の補強が無疹部皮膚の乾燥落屑性変化の改善にどう関与しているのか、またアトピー性皮膚炎の重症度への低減効果やバリア補強の程度はどこまで必要なのかなどの不明な点が多々存在した。そこで我々は上述の不明点を明らかとするために、天然セラミドのタイプ2と類似の合成セラミド類似脂質（8 wt%）【a-18, 1998】の使用をアトピー性皮膚炎患者皮膚において行った【a-54】。尚、この試験には0.3%のヘパリン類似物質を含むヘパリノイド軟膏(マルホ社製)を比較対照として用いた。

合成セラミドクリーム4週間の前腕無疹部皮膚への塗布により乾燥・落屑スコアは有意に減少したのに対し、ヒルドイドクリーム4週間の塗布も乾燥・落屑スコアのわずかに弱い有意な減少を示し、この減少効果は合成セラミドクリームがヒルドイドクリームよりも有意に強い結果であった【図-A116】。また皮膚乾燥性皮膚所見による皮疹改善度は合成セラミドクリームが著明改善50%、中程度改善35.7%、わずかに改善14.3%に対し、ヒルドイドクリームではそれぞれ0%、15.4%、80.8%であり【図-A117】、また有用性の比較では【図-A118】、合成セラミド>>ヒルドイドクリーム38.5%、合成セラミド>ヒルドイドクリーム53.9%、

合成セラミド=ヒルドイドクリーム7.7%、いずれの比較においても合成セラミドクリームがヒルドイドクリームに対しても皮膚乾燥性皮膚所見への顕著に高い低減

効果を示している。平行して測定した TEWL 値【図-100】は合成セラミドクリームおよびヘパリノイドクリームともに2および4週間塗布で有意な減少を示したが、これらの程度も合成セラミドクリームがヒルドイドクリームに比べ有意に強い結果であった。

図-100：



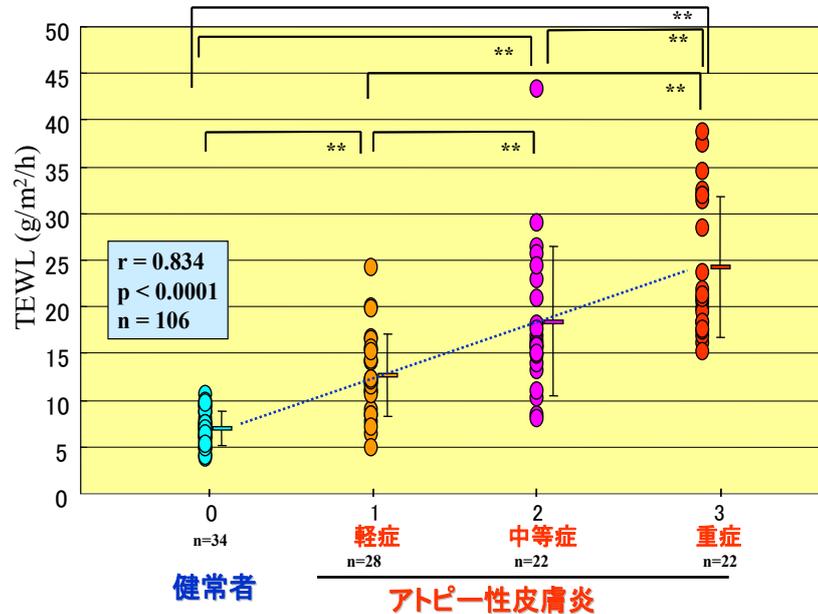
すなわち2種類のバリアー補強効果の異なるクリームを用いて、4週間にわたりアトピー性皮膚炎患者前腕皮膚に処理した結果、バリアー補強効果を有する合成セラミドクリームで、バリア補強効果をほとんど有しないヒルドイドクリームに比べて乾燥や落屑スコアのより有意で強い低減効果が得られた。この乾燥皮膚所見での低減効果と一致して、無疹部皮膚でのバリアー機能はいずれのクリームでも有意な改善効果が認められたが、合成セラミドクリームがヒルドイドクリームに比べて有意なより強い効果を示した。これらの結果は合成セラミドクリームがヒルドイドクリームに比べより高いバリアー機能の改善効果を有し、総合的に見て皮膚角層機能をアトピー性皮膚炎のレベルから健常者のレベルまで回復させていることが明瞭に示された。つまりアトピー性皮膚炎患者無疹部皮膚の処置においてバリアー機能の補強効果を持つクリームの使用の優位性が強く示唆されているものと考えられる。

ここでヒルドイドクリームの如く通常の保湿クリームでもアトピー性皮膚炎患者無疹部皮膚である程度のバリアー改善効果を示す能力が明らかとなった。通常の保湿クリームによるこのような弱いバリアー機能改善効果はアトピー性皮膚炎【0-54, 56】や非アトピー性の乾皮症【0-60】でも報告があるものの、これらのバリアー機能改善効果のメカニズムは今のところ不明である。

我々はすでにアトピー性皮膚炎患者無疹部皮膚でのTEWL値がアトピー性皮膚炎の、Hanifin & Rajikaの基準【0-49】に基づく重症度と相関係数0.834を持つ強い相関を示し【図-101】、無疹部皮膚でのバリアー機能の低下の程度が明瞭に

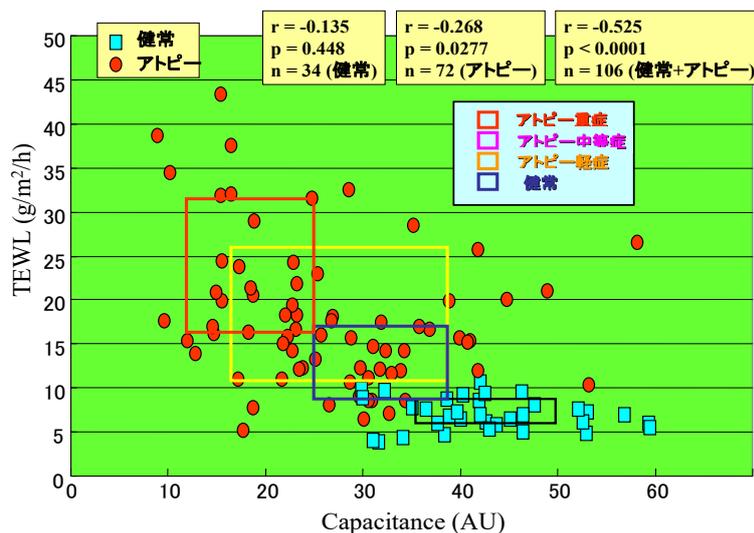
重症度を反映していることを報告した【a-53】。すなわち、種々の保湿クリーム of 処理により変化す

図-101 :



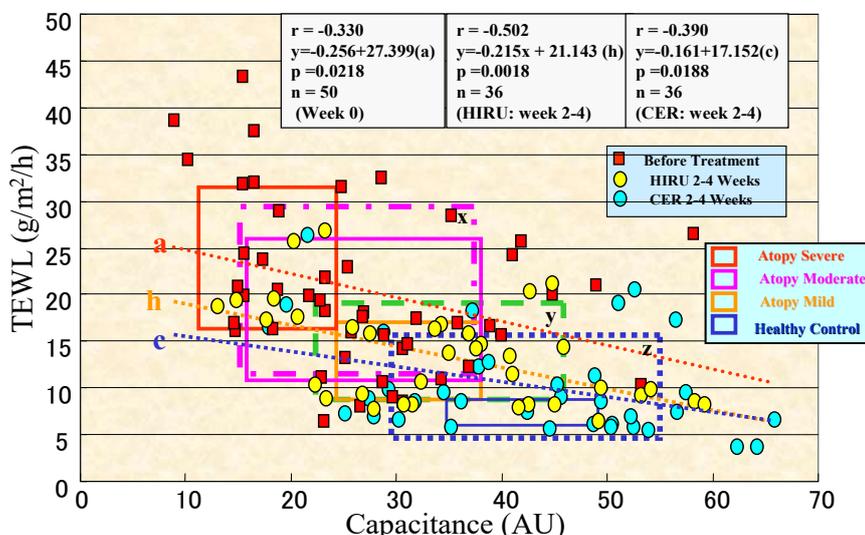
るTEWL値を測定することにより、クリームの臨床効果の程度をより客観的に知ることができ、同時にCapacitance値の測定も併用することにより正確な臨床効果の判断材料になることが推察された。さらにTEWL値とCapacitance値の相関プロット図にアトピー性皮膚炎の重症度分布を当てはめるために、重症、中等症、軽症および健常者群のTEWLおよびCapacitance値をその平均値±標準偏差で表示された四角枠であらわすと【図-102】、この四角枠はTEWLおよびCapacitance両値の

図-102 :



増加および低下の方向に配列しており、この両角層機能の値により、アトピー性皮膚炎の重症度分布がより明瞭に示された【a-53】。また重症度群の両値の平均値±標準偏差幅をあらわした四角枠の縦および横の幅を比較すると、TEWL値の方がCapacitance値に比べて重症度群間の重なりがはるかに少ない、すなわち標準偏差値が小さいことが明瞭に示され、無疹部皮膚でのバリアー機能の程度により重症度の推定や治療の際の改善度の程度を推察することが可能であることを示し、水分含量との併用により、より正確な推測が可能であることをすでに明らかとした【a-53】。この方式に従って、両クリーム処理4週間目でのTEWL値とCapacitance値の両値の相関プロット図を作成し【図-103】、それぞれの平均値±標準偏差であらわされる四角枠を解析すると、両クリームの重症度分類に関連した臨床効果が以下のごとく明らかと成った。すなわちヒルドイドクリーム4週処理皮膚では両値の四角枠は、無処理皮膚

図-103：



で測定された、軽症もしくは中等症の四角枠のレベルにとどまっているのに対し、合成セラミドクリームのそれはほぼ健常者レベルまで改善していることが判明した。すなわちヒルドイドクリームの処理ではTEWL値とCapacitance値の両値の改善効果で示されたその程度は有意な効果ではあるものの、いまだ健常者レベルまで到達していないのに対し、合成セラミドクリームの処理ではほぼADレベルを乗り越えて健常者レベルまで角層機能が改善していることが明らかと成った。

以上の証左は角層機能を測らずに乾燥落屑スコアの如き皮膚所見のみで評価した場合は、これほど明確にはならないものと推察され、これは皮膚所見がほとんど健常者と差が無い場合でも、アトピー性皮膚炎患者皮膚では角層機能が有意に低下している症例が多数存在すること【a-53】から考えても、臨床効果の判定にも角層機能の測

定が重要であることを示唆している。以上の結果は、両クリーム4週間塗布過程において、皮膚所見の改善が同じ程度に認められる場合においても、合成セラミドクリームはヒルドイドクリームよりもバリアー機能および角層水分含量をより強く改善していた事実とも一致する。

以上の結果よりバリアー機能の回復は臨床的に認められる乾燥落屑性の改善を水分回復効果よりより強く反映しており、バリアー回復効果は水分回復効果に比べてアトピックドライスキンのケアーとしてより重要な因子であることが示唆され、保湿作用と同時にバリアー改善効果を有する機能性化粧品が、アトピー性皮膚炎患者無疹部皮膚への明瞭な治療効果を発揮することが証明され、バリアー補強剤の評価にはアトピー性皮膚炎患者皮膚無疹部皮膚が最適であることが明らかとなった。

### 2-3. 角層バリアー補強剤開発の最適プロトコール：

#### バリア補強剤開発に向けての最適実験評価計画

- ユーカリエキスのバリアー改善効果

健常者前腕皮膚にアセトン/エーテル処理バリア低下肌での4日間塗布後のバリアー補強効果で評価する。

健常皮膚ではバリアー機能は十分に維持されているので、バリア補強剤の評価には適さない。したがって、何らかの手段により、いずれかの皮膚部位においてバリア機能の低下を誘導する必要がある。またバリア能の測定にも簡便な方法が求められる。試験期間もバリア補強効果が確実に評価でき、かつできるだけ短期であることが求められる。このような条件を考慮して、バリア補強剤の評価のための最適実験プロトコールを作成してみた。バリア機能の変化を検証するために最終判定日においてセラミド定量を行うプロトコールにした。

後で記載するプロトコールにしたがってセラミダーゼ阻害活性を持つユーカリエキスのバリア補強効果を測定した結果、4日後における総セラミド量とアシルセラミド量の有意な増加と【図-104】それに伴った水分量及びTEWL値の低下が観察された【図-105】。

アセトン・エーテル処理誘導乾燥肌に対する  
ユーカリエキスのセラミド回復促進効果

図-104 :

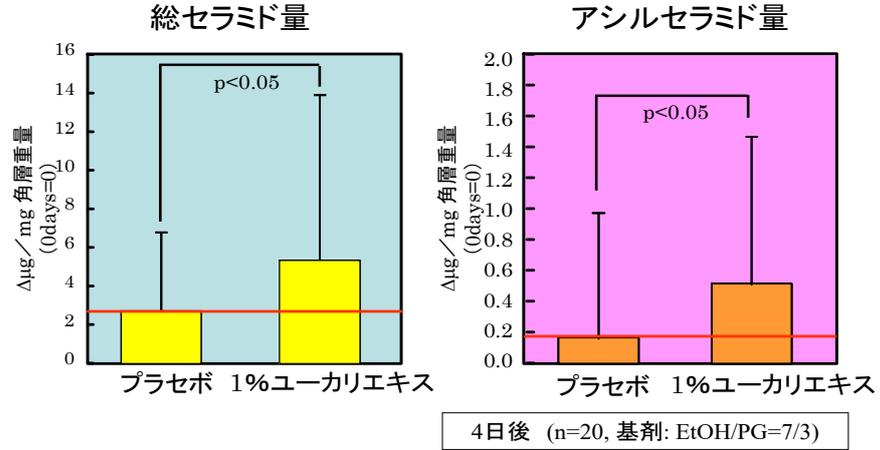
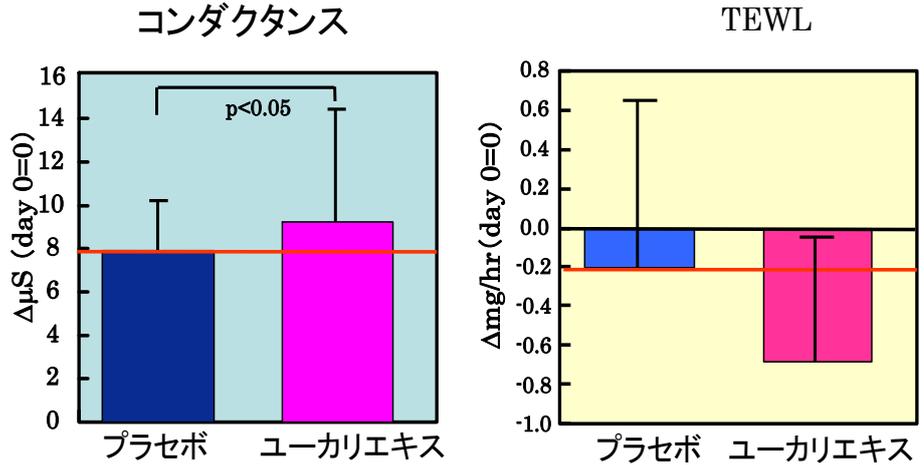


図-105 :

アセトン・エーテル処理誘導乾燥肌に対する  
ユーカリエキスの回復促進効果



## バリア補強剤の前腕での評価のための短期使用試験プロトコール

試験名	I. バリア補強剤の前腕での短期使用試験
試験目的	バリア補強剤のバリア能改善作用に関する有用性を、左右前腕皮膚にアセトン・エーテル処理で誘導したバリア損傷状態に対して5日間使用し、評価する。
対象	健常な前腕皮膚を有する方
除外基準	a) 本試験の評価に影響を与える皮膚症状を前腕有する方 b) その他、担当医師が不相当と判断した方
デザイン	アーム コンペアー テスト
被験部位	左右前腕
試験試料	A群 ①バリア補強剤配合クリーム ②コントロールクリーム B群 ③バリア補強剤配合美容液 ④ コントロール美容液
試験方法	左右前腕皮膚にアセトン・エーテル処理 30分を行った直後に、試験試料を、被験部位に原則として直後と1日1回、5日間使用し、試験開始時と開始1時間後及びその後連日5日間の肌状態を観察し、バリアー機能を測定する。
試験期間	200x年x月xx日～200x年x月xx日 の5日間
実施施設 および 目標例数	(株)xxxx ラボ 20例 x 2群 = 40例

## 1. 目的

バリア補強剤のバリア改善作用に関する有用性を、左右前腕皮膚にアセトン・エーテルで誘導したバリア損傷状態に対し、5日間連続使用により検討する。

## 2. 対象

左右前腕にアセトン・エーテル処理 30 分でバリア損傷皮膚を誘導した皮膚部位。1群20例で2群 計 40例

### 除外基準

- a) 本試験の評価に影響を与える皮膚症状を有する方
- b) その他、担当医師が不相当と判断した方

## 3. 被験者の同意

試験開始前に、担当医は文書または口頭にて被験者から承諾を得る。

## 4. 試験方法

### (1) 被験試料

- 1. バリア補強剤配合クリーム
- 2. バリア補強剤配合美容液
- 3. コントロールクリーム
- 4. コントロール美容液

### (2) 試験部位

左右前腕皮膚。

### (3) 方法

#### <使用方法および試料の割り振り>

1) 試験開始日に左右前腕皮膚にアセトン・エーテル処理を30分に行い誘導されたバリア損傷皮膚に試験品をアセトン・エーテル処理直後およびその後連日4日間一日一回使用し、被験部位の乾燥性変化およびバリアー機能を開始日、3日目及び5日目に測定する。被験部位を明瞭にするため、アセトン・エーテル処理部皮膚の周辺2点に黒マジックにてマークする。

2) 試験期間中では被験者は試験部前腕皮膚への一切の外用を不可とする。

3) 左右前腕への試料の割り付けは別紙にて割り付け表を作成し、皮膚観察者には提示せずし、単盲験試験とする、

#### <試験開始日>

- 1) 被験者のイニシャル、性別、生年月日、カルテ No.、職業、実施施

設、担当医師名、被験者の同意年月日とその種類、左右前腕皮膚の乾燥の程度、既往症、合併症について所定の欄に記録する。

2) アセトン・エーテル部位を処理前および処理後20分、試料塗布直前および処理後1時間、開始日、3、5日目観察し、乾燥、落屑についてその症状を、1：なし、2：軽微、3：軽度、4：中等度、5：重度の5段階で判定し、所定の欄に記入する

3) 症状観察部位と同一部位を皮膚測定部位として定め、皮膚測定を以下の評価項目で行う。なお皮膚症状の観察および皮膚測定は湿度40%以下、温度20度前後の環境可変室にて30分以上皮膚を馴化した後に、同環境条件にて行う。

項目\実施時期		A/E 処理直前	A/E 処理後20分試料塗布直前	開始日試料塗布後1時間	3、5日目塗布直前	3、5日目塗布後1時間
診察		○	○	○	○	○
被験者への説明と同意取得		○				
観察・問診項目	被験者背景	○				
	皮膚所見	○	○	○	○	○
	皮膚測定(※)	○	○	○	○	○
	有害事象				←————→	
評価項目(※)	皮膚所見	○	○	○	○	○
	経表皮水分蒸散量	○	○	○	○	○
	角層セラミド量					○

※評価項目の凡例 ○：1部位のみで評価を行う

1. 経表皮水分蒸散量：VAPO METER (or TEWA METER)：アセトン・エーテル処理後試料塗布部内で計3回異なる部位で測定した平均を測定値とする。
2. 角層セラミド量：試験塗布皮膚部位を3回特殊溶媒抵抗性テープでストリッピングし、剥離角層中に含まれるセラミド量/角層重量を測定する。

4) 必要に応じて写真撮影を行う。撮影の有無については、所定の欄に記入する。

<3日、5日目>

1) 3日および5日目は可能な限り試験開始日と同様な時刻に皮膚観察および皮膚測定を行う。

- 2) 症状観察部位と同一部位を皮膚測定部位として定め、皮膚測定を以下の評価項目で行う。なお皮膚症状の観察および皮膚測定は湿度40%以下、温度20度前後の環境可変室にて30分以上皮膚を馴化した後に、同環境条件にて行う。
- 3) 症状観察部位を観察し、上述のように各症状について判定し、所定の欄に記入する。5：重度より悪化した場合は、数字を◎で囲む。
- 4) 試験開始時からの各症状の改善度を総合的に判断し、++：著しく改善、+：改善、±：やや改善、-：不変、×：悪化の5段階で判定し、所定の欄に記入する。
- 5) 有害事象について、その発現の有無を所定の欄に記入する。有害事象が発生した場合、その程度と試験品使用との因果関係について下表に従い判定し、その発現日、症状、程度、因果関係を所定の欄に記入する。

程度	試験品との因果関係
<p>A：即座に中止し、症状が重い 重篤な皮膚炎(紅斑、浮腫、丘疹、水疱などを伴う)、ざ傷などが生じて使用を中止し、皮膚科で治療を行った、あるいは行う必要があった場合など。</p>	
<p>B：中止はしたが、症状は軽度 軽度な皮膚炎(軽い紅斑、刺激感など)、ざ傷などが生じ、治療の必要はないが使用を中止した場合など。</p>	1. 明らかに関連あり
<p>C：中止はしたが、症状は軽微 軽微な発赤、乾燥、痒み、痛みなどにより使用を中止した場合など。</p>	2. おそらく関連あり
<p>D：中止はしたが、症状は軽度または軽微で再使用可能 軽度あるいは軽微な皮膚症状が生じ一時使用を中止したが、再使用が可能であった場合。</p>	3. 関連を否定できない
<p>E：中止はなく、症状は軽度または軽微で継続可能 軽度あるいは軽微な皮膚症状が生じたが、継続使用が可能であった場合。</p>	4. 関連なし
<p>F：中止はなく、感覚的症状であり継続可能 症状がなく、継続使用が可能であった場合。</p>	

- 6) 有害事象について、その発現の有無を所定の欄に記入する。有害事象が発生した必要に応じて写真撮影を行う。撮影の有無については、所定の欄に記入する。
- 7) 担当医師にコメントがあれば、所定の欄に記入する。

<試験2，4日目>

1. 被験者は自宅にて就寝前に15分間試料を左右前腕の決められた部位に決められた試験試料を塗布する。

<最終判定日：5日目>

- 1)試験開始時からの乾燥状態の改善度を総合的に判断し、それぞれの質の改善度として、++：著しく改善、+：改善、±：やや改善、-：不変、×：悪化の5段階で判定し、所定の欄に記入する。
- 2)左右前腕の改善度の比較を行う。
- 3)皮膚測定で改善効果が認められた項目を所定の欄に記入する。
- 4)皮膚状態及び乾燥状態の最終改善度および皮膚測定結果を総合的に判断し、1：きわめて有用、2：有用、3：やや有用、4：無用、5：有害の5段階で有用性を判定し、所定の欄に記入する。
- 5)担当医師にコメントがあれば、所定の欄に記入する。

<中止・脱落時、その他>

1)中止・脱落が発生した場合、中止日を記入し、その分類、理由について、下表の選択肢より選び記入する。

2)

分類	理由
1. 中止 (担当医師の判断) 2. 中止 (被験者の判断) 3. 脱落 (被験者の判断)	1.試験品による有害事象 (副作用) 2.試験品以外が原因による皮膚異常 (1)合併症の悪化 (2)アトピー性皮膚炎の悪化 (3)その他 3.アトピー性皮膚炎の改善 4.来院せず 5.その他

3) 中止の場合は中止時点で改善度・安全性などの評価を行い有効症例とする。脱落の場合は評価対象外とし、有効症例とはしない。

4) 本来不適格な例が後で判明した場合や、被験者の試験参加同意の撤回などによる除外例、医師側または被験者側の試験計画違反による逸脱例は、有効症例としない。

5. 実施施設および施設別目標例数

---

実施施設	目標例数
A 群 例	20
B群 0 例	2
-----	
合計	40例

6. 試験期間

200x 年 x 月 xx 日 ~ 200x 年 x 月 xx 日

7. 連絡先

x x x x

株式会社 x x x x x

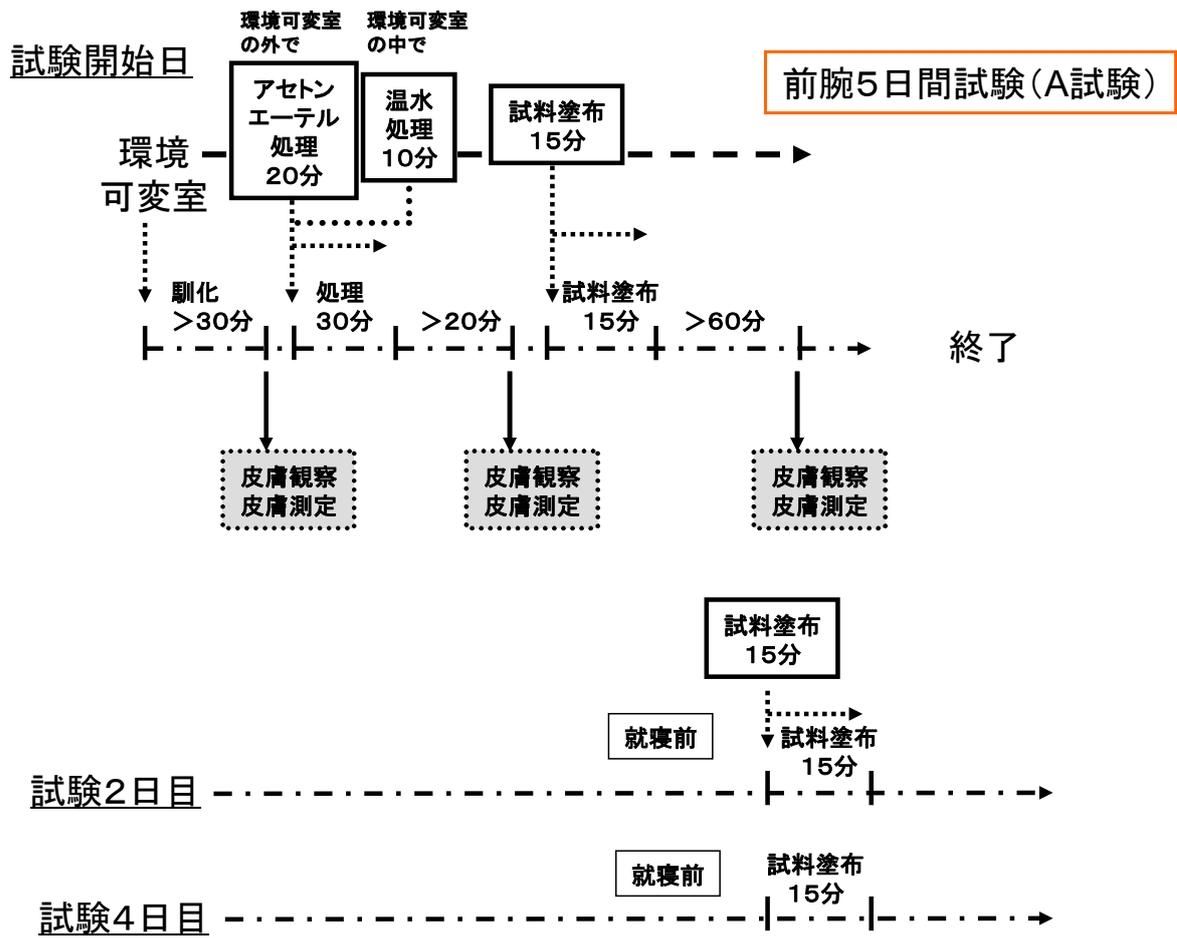
住所： 〒xxx-x30 東京都 xxxxxxxxxxxxxx

電話： xx-xxxxx-xxxxx

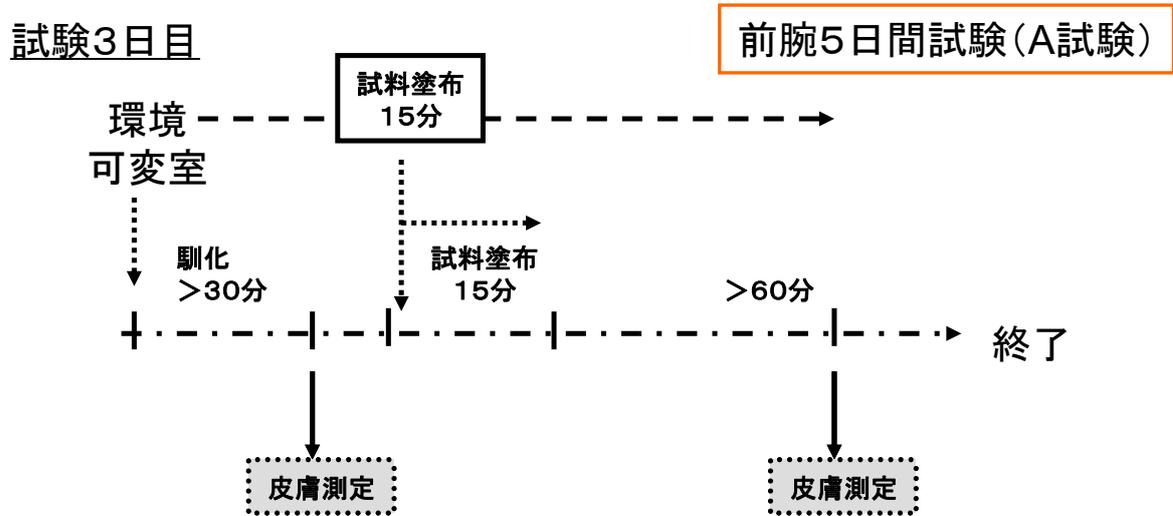
Fax： 03-xxxx5-xxxx04

E-mail： x x x x x x @ x x x x x x

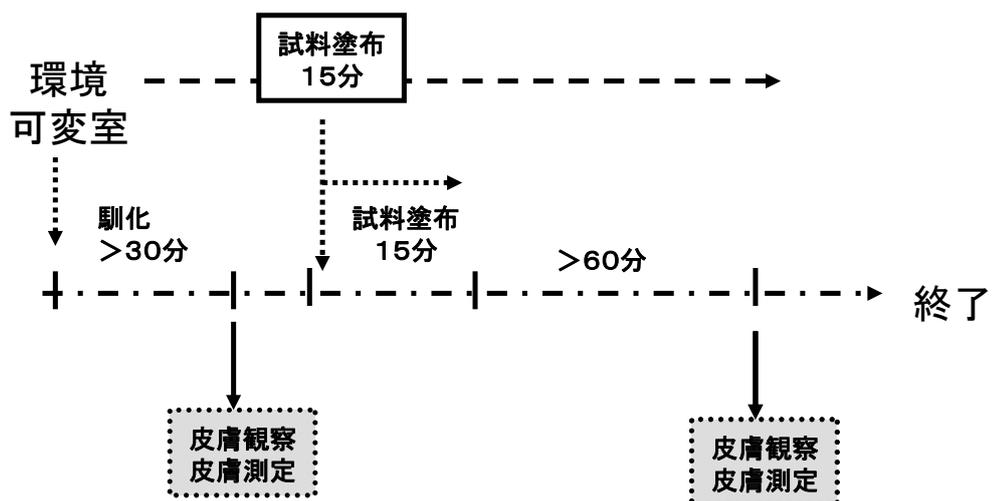
試験工程図一1



< 試験行程図—2 >



試験5日目(最終日)





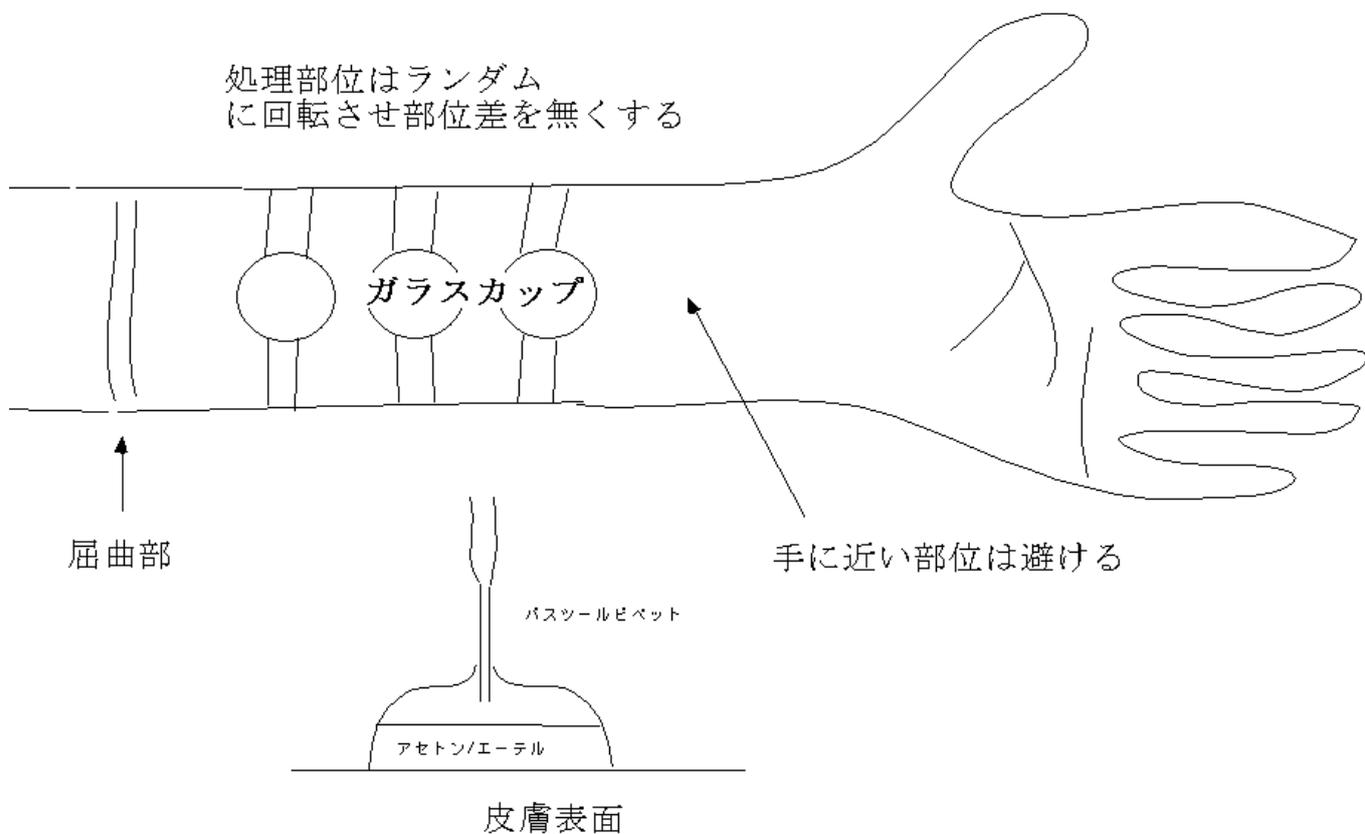
## 【乾燥皮膚誘導】

### a) アセトン/エーテル処理法

被験者の前腕内側に、特製のガラスカップ(直径3cm)を装着し(図-1参照)、そこにアセトン/エーテル(1/1)の溶液を、皮膚が十分に浸る量(約10 ml)を注入する。約30分わずかにガラスカップを揺らしながら放置し皮膚を処理する。この処理では皮膚角層から皮脂及び細胞間脂質を抽出除去し、4日間持続する乾燥落屑性変化が誘導される。

## 図-1

### アセトン/エーテル処理図



観察日			A/E 処理直前 ____月____日	1) 処理20分 後 塗布直前 ____月____日	2) 試料塗布 1時間後 ____月____日	3) 3日目塗布 直前 ____月____日	
皮膚状態の観察	皮膚所見 (前腕)	乾燥	右	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
			左	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
		落屑	右	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
			左	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
	改善度 全般的	右			++ + ± - ×	++ + ± - ×	
		左			++ + ± - ×	++ + ± - ×	
写真撮影			有 ・ 無	有 ・ 無	有 ・ 無	有 ・ 無	
コメント							

判定基準	皮膚所見	1 : なし 度 2 : 軽微 5 : 重度 3 : 軽度 4 : 中等 < 5 : 重度より悪化した場合は、数字を◎で囲む >
	全般的改善度	++ : 著しく改善 (乾燥、落屑スコアの合計が 3 ポイント以上改善)、 改善 (乾燥、落屑スコアの合計が 2 ポイント改善) 落屑スコアのいずれかが 1 ポイント改善)      + : ± : やや改善(乾燥、 - : 不変      × : 悪化 皮膚所見より、試験開始前からの変化について担当医師が総合的に判断する。

皮膚状態の観察	皮膚測定 (前腕)														
		TEWL	右												
			左												
		角層セラミド量	右												
			左												

改善効果の認められた	測定項目				
------------	------	--	--	--	--



観察日			4) 3日目塗布 1時間後				5) 5日目塗布 直前				6) 5日目塗布 1時間後												
			月		日		月		日		月		日		月		日						
皮膚状態の観察	(前腕) 皮膚所見	乾燥	右	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4				
			左	5				5				5				5							
		落屑	右	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4				
			左	5				5				5				5							
		改善度 全般的	右	++	+	±	-	×	++	+	±	-	×	++	+	±	-	×	++	+	±	-	×
			左	++	+	±	-	×	++	+	±	-	×	++	+	±	-	×	++	+	±	-	×
写真撮影			有 ・ 無				有 ・ 無				有 ・ 無				有 ・ 無								
コメント																							

皮膚状態の観察	皮膚測定(前腕)	TEWL	右																	
			左																	
		角層セラミド量	右																	
			左																	
		改善効果の認められた	測定項目																	

判定基準	皮膚所見	1 : なし 度 < 5 : 重度より悪化した場合は、数字を◎で囲む>	2 : 軽微 5 : 重度	3 : 軽度	4 : 中等
	全般的改善度	++ : 著しく改善 (乾燥、落屑スコアの合計が 3 ポイント以上改善)、 改善 (乾燥、落屑スコアの合計が 2 ポイント改善) 落屑スコアのいずれかが 1 ポイント改善)			
				+	± : やや改善(乾燥、 × : 悪化
			- : 不変		皮膚所見より、試験開始前からの変化について担当医師が総合的に判断する。

## 【B GROUP: CASE CARD-1】

観察日			A/E 処理直前 ____月 ____日	1) 処理20分 後 塗布直前 ____月 ____日	2) 試料塗布 1時間後 ____月 ____日	3) 3日目塗布 直前 ____月 ____日		
皮膚状態の観察	(前腕) 皮膚所見	乾燥	右	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	
			左	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	
		落屑	右	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
			左	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
		改善度 全般的	右			++ + ± - ×	++ + ± - ×	
			左			++ + ± - ×	++ + ± - ×	
写真撮影			有 ・ 無	有 ・ 無	有 ・ 無	有 ・ 無		
コメント								

皮膚状態の観察	皮膚測定(前腕)	1. 水分量	右											
			左											
		3. TEWL	右											
			左											
		4. 弾力性	右											
			左											
		角層セラミド量	右											
			左											
		改善効果の認められた	測定項目											
		判定基準	皮膚所見	1 : なし                      2 : 軽微                      3 : 軽度                      4 : 中等 度                      5 : 重度 < 5 : 重度より悪化した場合は、数字を◎で囲む >										
全般的改善度	++ : 著しく改善 (乾燥、落屑スコアの合計が 3 ポイント以上改善)、                      + : 改善 (乾燥、落屑スコアの合計が 2 ポイント改善)                      ± : やや改善(乾燥、 落屑スコアのいずれかが 1 ポイント改善)                      - : 不変                      × : 悪化 皮膚所見より、試験開始前からの変化について担当医師が総合的に判断する。													

**【 B GROUP : CASE CARD - 2 】**

観察日				4) 3日目塗布	5) 5日目塗布	6) 5日目塗布																	
				1時間後				直前				1時間後				月 日							
				月	日	月	日	月	日	月	日												
皮膚状態の観察	(前腕) 皮膚所見	乾燥	右	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4				
			左	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4				
		落屑	右	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4				
			左	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4				
		改善度 全般的	右	++	+	±	-	×	++	+	±	-	×	++	+	±	-	×	++	+	±	-	×
			左	++	+	±	-	×	++	+	±	-	×	++	+	±	-	×	++	+	±	-	×
					1) に対して				1) に対して				1) に対して										
	写真撮影				有 ・ 無				有 ・ 無				有 ・ 無										
	コメント																						

皮膚状態の観察	皮膚測定(前腕)	1. 水分量	右																
			左																
		3. TEWL	右																
			左																
		4. 弾力性	右																
			左																
		角	右																

		層セラミド量	左				
改善効果の認められた		測定項目					

判定基準	皮膚所見	1：なし 2：軽微 3：軽度 4：中等 5：重度 <5：重度より悪化した場合は、数字を◎で囲む>
	全般的改善度	++：著しく改善（乾燥、落屑スコアの合計が3ポイント以上改善）、 +：改善（乾燥、落屑スコアの合計が2ポイント改善） ±：やや改善（乾燥、落屑スコアのいずれかが1ポイント改善） -：不変 ×：悪化 皮膚所見より、試験開始前からの変化について担当医師が総合的に判断する。

判定基準	有害事象	程度	試験品との因果関係
		A：即座に中止し、症状が重い 重篤な皮膚炎（紅斑、浮腫、丘疹、水疱などを伴う）、ざ傷などが生じて使用を中止し、皮膚科で治療を行った、あるいは行う必要があった場合など。 B：中止はしたが、症状は軽度 軽度な皮膚炎（軽い紅斑、刺激感など）、ざ傷などが生じ、治療の必要はないが使用を中止した場合など。 C：中止はしたが、症状は軽微 軽微な発赤、乾燥、痒み、痛みなどにより使用を中止した場合など。 D：中止はしたが、症状は軽度または軽微で再使用可能 軽度あるいは軽微な皮膚症状が生じ一時使用を中止したが、再使用が可能であった場合。 E：中止はなく、症状は軽度または軽微で継続可能 軽度あるいは軽微な皮膚症状が生じたが、継続使用が可能であった場合。 F：中止はなく、感覚的症状であり継続可能 症状がなく、継続使用が可能であった場合。	1：明らかに関連あり 2：おそらく関連あり 3：関連を否定できない 4：関連なし

発現日	症状	程度	試験品と の 因果関係	担当医師コメント
____月____日		A D B E C F	1 2 3 4	
____月____日		A D B E C F	1 2 3 4	

<有害事象>

中止日	分類	理由
____月____日	1.中止 (担当医師の判断) 2.中止 (被験者の判断) 3.脱落 (被験者の判断)	1.試験品による有害事象 (副作用) 2.試験品以外が原因による皮膚異常 3.(1)合併症の悪化 (2)その他( ) 4.そ の ( ) 他

<中止・脱落>

<総合評価>

最終判定日		平成 年 月 日
使用期間		平成 年 月 日 ~ 平成 年 月 日
最終改善度	皮膚乾燥状態	右腕 ++ : 著しく改善    + : 改善    ± : やや改善    - : 不変    × : 悪化
		左腕 ++ : 著しく改善    + : 改善    ± : やや改善    - : 不変    × : 悪化
	左右の改善度の比較	右>>左、 右>左、 右=左、 右<左、 右<<左
皮膚所見と皮膚機器測定結果を含めた有用性	右	1 : きわめて有用    2 : 有用    3 : やや有用    4 : 無用    5 : 有害
	左	1 : きわめて有用    2 : 有用    3 : やや有用    4 : 無用    5 : 有害
	左右の有用性の比較	右>>左、 右>左、 右=左、 右<左、 右<<左
コメント		

【不完全実施例と改善度・安全性評価の有無】

分類	定義	理由	改善度・安全度
中止例	医師側の医学的判断による中止	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 試験品による有害事象（副作用）</li> <li>2. 試験品以外による皮膚異常                             <ol style="list-style-type: none"> <li>(1) 合併症の悪化</li> <li>(2) アトピー性皮膚炎の悪化</li> <li>(3) その他</li> </ol> </li> <li>3. その他</li> </ol>	中止時点で評価を行う
	被験者の判断による中止 (ただし、中止後連絡・確認がとれたもの)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 試験品による有害事象（副作用）</li> <li>2. 試験品以外による皮膚異常                             <ol style="list-style-type: none"> <li>(1) 合併症の悪化</li> <li>(2) アトピー性皮膚炎の悪化</li> <li>(3) その他</li> </ol> </li> <li>3. アトピー性皮膚炎の改善</li> <li>4. その他</li> </ol>	中止時点、または連絡時点で評価を行う
脱落例 (追跡不能)	被験者の判断による中止	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 来院せず（連絡とれず）</li> <li>2. その他</li> </ol>	評価対象外
除外例	試験計画の選択基準に対する不都合、除外基準の対する抵触 (本来不適格な例)、参加同意の撤回		評価対象外
逸脱例	医師側の試験計画違反および被験者側の試験計画違反		評価対象外

A 【原著欧文】 —

1. Imokawa G., Sumura K., Katsumi M.: Study on skin roughness caused by surfactants: I. A new method in vivo for evaluation of skin roughness. **J. Amer. Oil Chem. Soc.** **52**: 479-483, 1975.
2. Imokawa G., Sumura K., Katsumi M.: Study on skin roughness caused by surfactants: II. Correlation between protein denaturation and skin roughness. **J. Amer. Oil Chem. Soc.** **52**: 484-489, 1975.
3. Imokawa G., Tsutsumi H., Kurosaki T.: Surface activity and cutaneous effects of monoalkylphosphate surfactants. **J. Amer. Oil Chem. Soc.** **55**: 839-843, 1978.
4. Imokawa G.: Study on skin-irritating and biological properties of monoalkyl phosphate surfactants. **J. Amer. Oil Chem. Soc.** **56**: 604-609, 1979.
5. Imokawa G., Mishima Y.: Cumulative effect of surfactants on cutaneous horny layers: Lysosome labilizing action. **Contact Dermatitis** **5**: 151-162, 1979.
6. Imokawa G., Mishima Y.: Adsorption of surfactants onto human keratin layer in vivo. **Contact Dermatitis** **5**: 357-366, 1979.
7. Imokawa G.: Comparative study on the mechanism of irritation by sulfate and phosphate type of anionic surfactant. **J. Soc. Cosmet. Chem.** **31**: 45-66, 1980.
8. Imokawa G., Mishima Y.: Cumulative effect of surfactants on cutaneous horny layers: Lysosomal activity of human keratin layer in vivo. **Contact Dermatitis** **7**: 65-71, 1981.
9. Imokawa G., Shimizu H., Okamoto K.: Antimicrobial effect of zinc pyrithione. **J. Soc. Cosmet. Chem.** **33**: 27-37, 1982.
10. Imokawa G., Okamoto K.: The inhibitory effect of zinc pyrithione on the epidermal proliferation of animal skin. **Acta. Derm-Venereol.** **62**: 471-475, 1982.
11. Imokawa G., Okamoto K.: The effect of zinc pyrithione on human skin cells in vitro. **J. Soc. Cosmet. Chem.** **34**: 1-11, 1983.
12. Kawai M., Imokawa G.: The induction of skin tightness by surfactants. **J. Soc. Cosmet. Chem.** **35**: 147156, 1984.
13. Imokawa G., Hattori M.: A possible function of structural lipid in the water-holding properties of the stratum corneum. **J. Invest. Dermatol.** **84**: 282-284, 1985.
14. Imokawa G., Akasaki S., Hattori M., Yoshizuka N.: Selective recovery of deranged water-holding properties by stratum corneum lipids. **J. Invest. Dermatol.** **87**: 758-761, 1986.
15. Sunamoto J., Iwamoto K., Imokawa G., Tsuchiya S.: Possible eye irritant test using polysaccharide-coated liposomes as a corneal

- epithelium model. **Chem. Pharm. Bull.** 35: 2958-2965, 1987.
16. Imokawa G., Zama M., Minematsu Y., Akasaki S., Kawamata A., Yano Y., Takaishi N.: Selective recovery of deranged water -holding properties in the stratum corneum by synthesized pseudo-ceramide derivatives. **Pro. Jpn. Soc. Invest. Dermatol.** 12: 126-127, 1988.
  17. Imokawa G., Akasaki S., Minematsu Y., Kawai M. Importance of intercellular lipids in water-retention properties of the stratum corneum: Induction and recovery study of surfactant dry skin." **Arch. Dermatol. Res.** 281: 45-51, 1989
  18. Imokawa G., Akasaki S., Minematsu Y., Kuno O., Zama M., Kawai M., Hattori M., Yoshizuka N., Kawamata A., Yano Y., Takaishi N.: Function of lipids on human skin. **J. Disp. Sci. Tech.** 10: 617-641, 1989.
  19. Imokawa G., Akasaki S., Kawamata A., Yano S., Takaishi N.: Water-retaining function in the stratum corneum and its recovery properties by synthetic pseudo-ceramides. **J. Soc. Cosmet. Chem.** 40: 273-285, 1989.
  20. Imokawa G., Abe A., Jin K., Higaki Y., Kawashima M., Hidano A.: Decreased level of ceramides in stratum corneum of atopic dermatitis: An etiologic factor in atopic dry skin? **J. Invest. Dermatol.** 96: 523-526, 1991
  21. Imokawa G., Kuno H., Kawai M.: Stratum corneum lipids serve as a bound-water modulator. **J. Invest. Dermatol.** 96: 845-851, 1991.
  22. Matsuo N., Nomura T, Imokawa G.: A rapid and simple assay method for UDP-glucose:ceramide glucosyltransferase. **Biochim. Biophys. Acta** 1116: 97-103, 1992.
  23. Holleran WM., Takagi Y., Imokawa G., Jackson S., Lee JM., Elias PM.: Beta-glucocerebrosidase activity in murine epidermis: Characterization and localization in relation to differentiation. **J. Lipid Res.** 33: 1201-1209, 1992.
  24. Akimoto K., Yoshikawa N., Higaki Y., Kawashima M., Imokawa G.: Quantitative analysis of stratum corneum lipids in xerosis and asteatotic eczema. **J. Dermatol.(Tokyo)** 20: 1-6, 1993
  25. Yoshikawa N., Imokawa G., Akimoto K., Higaki Y., Jin K., Kawashima M.: Regional analysis of ceramides within the stratum corneum in relation to seasonal changes. **Dermatology** 188: 207-214, 1993.
  26. Imokawa G., Yada Y., Higuchi K., Okuda M., Ohashi Y., Kawamata A.: Pseudo-acylceramide with linoleic acid produces selective recovery of diminished cutaneous barrier function in essential fatty acid deficient rats and has an inhibitory effect on epidermal hyperplasia. **J. Clin. Invest.** 94: 89-96, 1994
  27. Jin K., Higaki Y., Takagi Y., Higuchi K., Yada Y., Kawashima M., Imokawa G.: Analysis of Beta-glucocerebrosidase and ceramidase activity in atopic and aged dry skin. **Acta. Derm-Venereol.** 74: 337-340, 1994.
  28. Yada Y., Higuchi K., Imokawa G.: Purification and biochemical

- characterization of membrane-bound epidermal ceramidase from guinea pig skin. **J. Biol. Chem.** **270**: 12677-12684, 1995.
29. Murata Y., Ogata J., Higaki Y., Kawashima M., Yada Y., Higuchi K., Tsuchiya T., Kawaminami S., Imokawa G.: Abnormal expression of sphingomyelin acylase in atopic dermatitis: An etiologic factor for ceramide deficiency? **J. Invest.Dermatol.** **106**: 1242-1249, 1996.
  30. Nishijima T., Tokura Y., Imokawa G., Seo N., Furukawa F., Takigawa M.: Altered permeability and disordered cutaneous immunoregulatory function in mice with acute barrier disruption. **J. Invest. Dermatol.****109**: 175-182, 1997.
  31. Umeda Y., Mizutani H., Imokawa G., Shimizu M.: Topical ceramide corrected epidermal cell hyperproliferation and stratum corneum dysmaturation in atopic eczema. **New Trends in Allergy** **4**: 237-239, 1997.
  32. Kondo H., Ichikawa Y., Imokawa G.: Percutaneous sensitization with mite antigens elicits Th2-dominant cytokine response in a cutaneous barrier-disrupted model. **Eur. J. Immunology** **28**: 769-779, 1998.
  33. Nomura T., Takizawa M., Aoki J., Arai H., Inoue K., Wakisaka E., Yoshizuka N., Imokawa G., Dohmae N., Takio K., Hattori M., Matsuo N.: Purification, cDNA cloning, and expression of UDP-Gal: glucosylceramide beta-1,4-galactosyltransferase from rat brain. **J. Biol. Chem.** **273**: 13570-13577, 1998.
  34. Imokawa G., Takagi Y., Higuichi K., Kondo H., Yada Y.: Sphingosylphosphorylcholine is a potent inducer of intercellular adhesion molecule-1 expression in human keratinocytes. **J. Invest. Dermatol.****112**: 91-96, 1999.
  35. Gorti S., Tone. H.,. Imokawa G. : Triangulation method for determining capillary blood flow and physical characteristics of the skin. **Applied Optics** **38**: 4914-4929, 1999.
  36. Takagi Y.,. Kriehuber E., Imokawa G., Elias P.M., Holleran W.M.: beta-glucocerebrosidase activity in mammalian stratum corneum. **J. Lipid Res.** **40**: 861-869, 1999.
  37. Nishijima T., Tokura Y., Imokawa G., Takigawa M.: Photohapten TCSA painting plus UVA irradiation of murine skin augments the expression of MHC class II molecules and CD86 on Langerhans cells. **J. Dermatol. Sci.** **19**: 202-207, 1999.
  38. Hara J., Higuchi K., Okamoto R., Kawashima M., Imokawa G.: High-expression of sphingomyelin deacylase is an important determinant of ceramide deficiency leading to barrier disruption in atopic dermatitis. **J Invest. Dermatol.** **115(3)**: 406-413, 2000
  39. Higuchi K., Hara J., Okamoto R., Kawashima M., Imokawa G.: The skin of atopic dermatitis patients contains a novel enzyme, glucosylceramide sphingomyelin deacylase, which cleaves the N-acyl linkage of sphingomyelin and glucosylceramide. **Biochem. J.** **350**: 747-756, 2000
  40. Higuchi K, Kawshima M, Takagi Y, Kondo H, Yada Y, Ichikawa Y,

Imokawa G.: Sphingosylphosphorylcholine is an activator of transglutaminase activity in human keratinocytes. **J Lipid Res** 42(10) 1562-1570, 2001

41. Tsukahara K, Takema Y, Moriwaki S, Fujimura T, Imokawa G: Dermal fluid translocation is an important determinant of the diurnal variation in human skin thickness. **Br J Dermatol** 145(4):590-596, 2001
42. Tsukahara K, Takema Y, Moriwaki S, Fujimura T, Imokawa G.: Diurnal variation affects age-related profile in skin thickness. **J Cosmet Sci** 52, 392-397, 2001
43. Sogabe Y, Akimoto S, Abe M, Ishikawa O, Takagi Y, Imokawa G. Functions of the stratum corneum in systemic sclerosis as distinct from hypertrophic scar and keloid functions. **J Dermatol Sci.** 2002 May;29(1):49-53.
44. Arikawa J, Ishibashi M, Kawashima M, Takagi Y, Ichikawa Y, Imokawa G: Decreased levels of sphingosine, a natural anti-microbial agent, may be associated with vulnerability of the stratum corneum from patients with atopic dermatitis to colonization by staphylococcus aureus. **J Invest. Dermatol** 119(2):433-439 2002
45. Hata M, Tokura Y, Takigawa M, Sato M, Shioya Y, Fujikura Y and Imokawa G: Assessment of epidermal barrier function by photoacoustic spectrometry in relation to its importance in the pathogenesis of atopic dermatitis. **Lab Invest** 82: 1451-1461, 2002
46. Okamoto R, Arikawa J, Ishibashi M, Kawashima M, Takagi Y, Imokawa G: Sphingosylphosphorylcholine levels are significantly increased in the stratum corneum of patients with atopic dermatitis: Physiological and functional relevance of sphingomyelin deacylase to the ceramide deficiency. **J Lipid Res** 44: 93-102, 2003
47. Ishibashi M, Arikawa J, Okamoto R, Kawashima M, Takagi Y, Oguchi K and Imokawa G: The abnormal expression of the novel epidermal enzyme, glucosylceramide deacylase and the accumulation of its enzymatic reaction product, glucosylsphingosine in the skin of patients with atopic dermatitis. **Lab Invest** 88(3): 397-408, 2003
48. Higuchi K, Kawashima M, Ichikawa Y, Imokawa G: Sphingocylphosphorylcholine is a melanogenic stimulator for human melanocytes. **Pigment Cell Res.** 16: 670-678., 2003
49. Takagi Y, Nakagawa H, Matsuo N, Nomura T, Takizawa M, Imokawa G: Biosynthesis of acylceramide in murine epidermis: Characterization by inhibition of glucosylation and deglycosylation, and by substrate specificity. **J Invest Dermatol** 122(3):722-729, 2004
50. Takagi Y, Nakagawa H, Kondo H, Takema Y, Imokawa G: Decreased levels of covalently bound ceramide are associated with UVB-induced perturbation of the skin barrier. **J Invest Dermatol**, 123(6): 1102-1109, 2004
51. Yutaka Takagi, Hidemi Nakagawa, Kazuhiko Higuchi, Genji Imokawa:

Characterization of surfactant-induced skin damage through barrier recovery induced by pseudoacylceramide. **Dermatology** 2005; 211(2): 128-34

52. Yutaka Takagi · Hidemi Nakagawa · Toshiaki Yaginuma · Yoshinori Takema · Genji Imokawa: An accumulation of glucosylceramide in the stratum corneum due to attenuated activity of beta-glucocerebrosidase is associated with the early phase of UVB-induced alteration in cutaneous barrier function. **Archive Dermatological Research** 297(1):18-25, 2005
53. Matsuki H, Kiyokane K, Matsuki T, Sato S, Imokawa G. Re-characterization of the non-lesional dry skin in atopic dermatitis through disrupted barrier function. **Exog Dermatol** 3: 282-292, 2006(2004)
54. Matsuki H, Kiyokane K, Matsuki T, Sato S, Imokawa G. Re-evaluation of the importance of barrier dysfunction in the non-lesional dry skin of atopic dermatitis through the use of two barrier creams. **Exog Dermatol** 3: 293-302, 2006(2004)
55. Hirofumi Takigawa, Hidemi Nakagawa, Michiya Kuzukawa, Hajime Mori, Genji Imokawa: Deficient production of hexadecenoic acid in the skin is associated in part with the vulnerability of atopic dermatitis patients to colonization by *Staphylococcus aureus*. **Dermatology** 211(3):240-8. 2005

## B (原著邦文) -

1. 芋川玄爾, 栖村景子, 葛見衛: 足底ケラチン粉末に対する界面活性剤の吸着と皮膚荒れとの相関性. **油化学** 23: 719-725, 1974
2. 芋川玄爾, 葛見衛: 代表的アニオン界面活性剤の各種タンパク質に対する変性作用. **油化学** 25: 24-30, 1976
3. 芋川玄爾, 三島豊: ヒト角質層への界面活性剤蓄積性障害—Circulation 法による研究—. **日本皮膚科学会誌** 86: 473-481, 1976
4. 出口勝彦, 有沢正俊, 石田篤郎, 岡本暉公彦, 芋川玄爾: アニオン性界面活性剤の評価、皮膚洗浄剤としてのモノアルキルフォスフェートの有用性. **日本化粧品技術者会誌** 15: 121-127, 1981
5. 吉塚直伸, 菅沼剛, 芋川玄爾, 今村哲也, 岡本暉公彦, 三角寿: 皮表脂質および角層水分測定のための簡便な方法. **西日本皮膚科会誌** 45: 595-601, 1983
6. 松永佳代子, 早川律子, 近藤三雄, 芋川玄爾: おむつ皮膚炎発生要因としてのおむつ内温度および湿度について. **日本小児皮膚科雑誌** 3:441-447, 1984
7. 高瀬みゆき, 上田宏, 芋川玄爾, 近藤三雄: 紙おむつの角層水分量に対する

- 影響. 日本小児皮膚科雑誌 3: 435-440, 1984
8. にながわよしみ、伊藤直子、美濃羽希史子、谷野宮裕子、早川律子、芋川玄爾: 化粧品の有用性の検討. 日本化粧品科学会誌 10: 147-155, 1986
  9. 赤碕秀一、峰松義博、吉塚直伸、芋川玄爾: 角層水分保持機能における角質細胞間脂質の役割. 日本皮膚科学会誌 98: 40-51, 1988
  10. 河合道雄、芋川玄爾、岡本暉公彦: 皮膚つっぱり感と界面活性剤. 皮膚科診療 11: 430-436, 1989
  11. 河合道雄、芋川玄爾、溝口昌子: 角質細胞診断法と角層ターンオーバー測定法による顔面皮膚性状解析. 日本皮膚科学会誌 99: 999-1006, 1989
  12. 河合道雄、小山内宰、芋川玄爾: 角質細胞の形態. 日本化粧品科学会誌 15: 231-237, 1991
  13. 吉村政哲、城倉洋二、花沢英行、野崎利雄、奥田峰広、芋川玄爾: アミノ酸誘導体型界面活性剤ラウロイルベーターアラニンの皮膚に及ぼす影響. 日本化粧品技術者会誌 27: 249-254, 1993
  14. 鈴木淳子、萬秀憲、芋川玄爾、高島巖: 分岐脂肪酸コレステリルエステル配合浴用剤の保湿効果. 西日本皮膚科会誌、56: 494-498, 1994
  15. 近藤知子、奥田峰広、芋川玄爾: 食器用洗剤の皮膚への影響と皮膚刺激緩和作用について. 日本皮膚科学会誌 105: 1217-1225, 1995
  16. 樋口和彦、村田恭子、川島真、芋川玄爾: 血液透析患者の乾燥皮膚に関して—角質細胞間脂質、セラミド量の解析—. 臨床透析 15: 129-132, 1999
  17. 水谷 仁、高橋眞智子、清水正之、刈屋 完、佐藤広隆、芋川玄爾. アトピー性皮膚炎患者に対する合成疑似セラミド含有クリーム の有用性の検討. 西日本皮膚科会誌 63巻4号 457-461, 2001
  18. 山中正義、石川 治、高橋昭彦、佐藤広隆、芋川玄爾. アトピー性皮膚炎患者に対する「キュレル<sup>®</sup>薬用クリーム」の有用性の検討. 皮膚 43巻4,5号 341-347, 2001
  19. 宍戸悦子、塚原和枝、藤村努、森脇繁、武馬吉則、川島眞、芋川玄爾、アミノ-L-プロリンの目尻の小じわに対する改善効果. 皮膚の科学 第1巻・第5号 355-362、2002
  20. 秦 まき、戸倉新樹、瀧川雅浩、田村辰仙、芋川玄爾. アトピー性皮膚炎に対する合成疑似セラミド含有クリーム の有用性の検討——尿素含有クリームとの比較——西日本皮膚科 第64巻第5号 606-611、2002
  21. 高島 巖、長谷部恵子、奥田峰広、芋川玄爾. アトピー性皮膚炎および乾燥性湿疹患者に対する均一分散合成疑似セラミド配合身体洗剤の有用性の検討.  
西日本皮膚科 第64巻第5号 612-620、2002
  22. 船坂陽子、尾藤利憲、山本麻由、錦織千佳子、市橋正光、中村正、石田耕一、佐藤広隆、芋川玄爾. 「キュレルUVミルク」および「キュレルUVクリーム」の低バリア機能皮膚に対する使用経験. 皮膚の科学 第3巻、第1号 62-72、2004

**B(学会発表)ー**

1. 熊谷和子、有川順子、石橋睦子、川島眞、市川義章、芋川玄爾： アトピー性皮膚炎 (AD) 患者皮膚角層における抗菌ペプチド $\alpha$ -defensin-2 の定量。第 29 回日本研究皮膚科学会、京都、 4 月 14-16 日、2004

**C (総説欧文) ー**

1. Imokawa G., Takeuchi T: **Surfactants and skin roughness.** Cosmetics & Toiletries 91: 32-46,1976.
2. Imokawa G. **Lipid abnormalities in atopic dermatitis.** J Am Acad Dermatol 45: S29-32, 2001
3. Imokawa G: **Surfactant-induced depletion of ceramides and other intercellular lipids: Implication for the mechanism leading to dehydration of the stratum corneum.** Exog Dermatol 2006(2004); 3: 81-98.

**D(総説邦文)ー**

- 
1. 芋川玄爾: 新規アニオン活性剤ーモノアルキルフォスフェイトの洗浄剤と皮膚科学的特徴. Fragrance J. 9: 57-65, 1981.
  2. 芋川玄爾: 表皮角層変化の評価法. 化粧品科学会誌 8:92-108, 1984.
  3. 芋川玄爾: 抗フケ測定法. Fragrance J. 5: 430-435, 1984.
  4. 芋川玄爾, 吉塚直伸: 皮脂膜と肌特性. Fragrance J. 12: 84-89, 1984
  5. 芋川玄爾: モノアルキルリン酸 (MAP) の機能と作用. Fragrance J. 12: 21-27, 1984
  6. 芋川玄爾: 洗顔と洗顔料についてー皮膚の生理と安全性ー. Fragrance J. 74: 38-47,1985.
  7. 黒崎富裕, 芋川玄爾, 石田篤郎: 低刺激性アニオン界面活性剤としてのモノアルキルフォスフェート(MAP)の皮膚刺激性、生化学特性、工業化法. 油化学 36: 629-637, 1987. 芋川玄爾: 角層保湿機能と細胞間脂質. Fragrance J. 15: 35-41, 1987
  8. 河合道雄, 芋川玄爾, 桐井範治: 紫外線の皮膚に対する影響とその対策. C & T, 3: 3-6, 1988.
  9. 芋川玄爾: 角質細胞間脂質の機能とその応用. Fragrance J. 4: 26-34, 1990.
  10. 芋川玄爾: 角層水分保持機構における角質細胞脂質の機能. 日皮協ジャーナル 13: 17-23, 1990.
  11. 芋川玄爾: 角層脂質の性状、機能とその測定. 臨床皮膚科 44: 583-588, 1990.
  12. 芋川玄爾: 角質細胞間脂質の機能とその応用. 皮膚と美容 23: 3806-3818, 1991.

13. 芋川玄爾： 角質細胞間脂質. 化粧品科学会誌 15: 250-253, 1991.
14. 河合道雄, 芋川玄爾： 脂性肌の再評価と今後の課題. Fragrance J 5: 29-39, 1991.
15. 河合道雄, 芋川玄爾： 紫外線の害とその防御法. 皮膚と美容 24: 7-17, 1992
16. 芋川玄爾： 角質細胞間脂質の機能と乾燥性皮膚疾患. 臨床皮膚科 35: 1147-1161, 1993
17. 芋川玄爾： 紫外線の皮膚に対する影響と対策. 名古屋テキスタイル研究会 12: 12-18, 1993.
18. 芋川玄爾： 紫外線による角質層の変化. 太陽紫外線防御委員会学術報告 4: 75-82, 1994.
19. 芋川玄爾： 角層水分保持作用と DRY SKIN の発生と治療薬. Dermatology Today 1: 8-11, 1994.
20. 芋川玄爾： アトピーおよび老人性乾燥皮膚に関与する酵素. 酵素工学 33: 5-10, 1995.
21. 芋川玄爾： 皮膚角質細胞間脂質の構造と機能. 油化学 44: 51-66, 1995.
22. 芋川玄爾： ドライスキンと角質細胞間脂質. やさいし眼科学 13: 111-119, 1996.
23. 芋川玄爾： アトピー性皮膚炎とスフィンゴ脂質代謝異常. The Lipid 7: 428-432, 1996.
24. 芋川玄爾, 川島真： アトピー性皮膚炎と角質細胞間脂質. Tokyo Tanabe Quarterly 42: 41-52, 1997.
25. 芋川玄爾： アトピー性皮膚炎、どうしてかさかさするの. 日本小児皮膚科 16: 87-99, 1997.
26. 芋川玄爾： 皮膚科領域で使用される保湿剤. 日本臨床皮膚科医学会雑誌 56: 87-96, 1998.
27. 芋川玄爾： **Sphingomyelin deacylase** とアトピー性皮膚炎, 皮膚疾患と酵素 up date, Monthly Book: Derma デルマ, 全日本病院出版会 1999:15-23
28. 芋川玄爾： 皮膚角層の保湿機能と角層成分の役割. Fragrance J. No 17: 27-39, 2000.
29. 芋川玄爾： 皮膚のバリア機能と皮膚での免疫応答. 臨床免疫 35: No.6, 746-753, 2001
30. 芋川玄爾： 洗浄剤と皮膚 [洗浄剤の皮膚に与える影響]、日皮協ジャーナル 3:43-48、2003
31. 芋川玄爾： 皮膚の乾燥メカニズムと洗浄・スキンケアのあり方. 皮膚と美容 36: 22-40、2004
32. 石田耕一、芋川玄爾；手に接触する洗浄剤について知っておくべきこと Monthly Book Derma デルマ (MB Derma)、全日本病院出版会 107: 45-53, 2005:
33. 芋川玄爾： アトピー性皮膚炎とバリア機能異常. 治療学、ライフサイエンス出版社 2005: 39: 22-31
34. 川島真、石田耕一、河合通雄、芋川玄爾、高島和典：アトピー性皮膚炎患者

でのメイクアップ化粧品の効用。日本化粧品学会誌 29 : 139-142、2005

#### E (著書欧文)-

1. Kawai M., Yoshizawa N., Imokawa G., Okamoto K., Toda K.: **Acrolein vapor fixation electron microscopy of the horny layer.** ed. by Seiji, M and Bernstein, I.A. In: Normal and Abnormal Epidermal Differentiation, . Univeristy of Tokyo Press, 1983: 207-214
2. Imokawa G.: **Water and the Stratum Corneum** (Volume 1). Chapter 3. **VITRO AND IN VIVO MODELS.** ed. By Elsner, P, Berardesca, E and Maibach, H.I. BIOENGINEERING OF SKIN, CRC Press, 1994: 23-47
3. Imokawa G.: Chapter Surfactant Mildness ed. by Rhein and Luger, **Surfactants in Cosmetic,** Marcel Dekker, Inc. 1995 : 123-145
4. Imokawa G.: **Skin Moisturizers: Development and Clinical Use Ceramides.** ed. By M. Loden, Dry Skin and Moisturizers, CRC Press, 1999: 269-299
5. Imokawa G: **Ceramides as natural moisturizing factors and their efficacy in dry skin.** ed. By Leyden JJ and Rawlings AV, Skin Moisturization, Marcel Dekker INC., 2002 pp267-302

#### F (著書邦文)―

1. 芋川玄爾, 手島亨. 紫外線による皮膚障害とサンスクリーン. 編者 沼田稔. 最近の製剤技術とその応用 IV, 医薬ジャーナル社, 1986: 902- 906
2. 芋川玄爾: 角質細胞間脂質. 現代皮膚科学大系, 中山書店, 1990: 43-53
3. 芋川玄爾, 溝口昌子: 皮膚と界面活性剤. I 基礎編: バイオサーファクタント. サイエンスフォーラム, 1990: 287-302
4. 芋川玄爾: 第3章 界面活性剤との相互作用 1.2. 皮膚. 機能性界面活性剤の開発と最新技術, シーエムシー社 1994: 120-147
5. 芋川玄爾: ドライスキンと保湿のメカニズム、乳液、クリーム、保湿剤、化粧品. 臨床医のためのスキンケア入門、先端医学社, 1997 : 114-138
6. 芋川玄爾: 皮膚 機能性界面活性剤の開発技術. 発行者: 島 健太郎, 発行所: 株式会社 シーエムシー 1998 pp 120-147
7. 芋川玄爾: セラミド. 皮膚疾患, KEY WORD 1999-2000 先端医学社, 1999: 86-87
8. 芋川玄爾: スキンケア剤ー保湿剤 (含むハンドケア). 美容皮膚科 プラクティス 南山堂, 1999: 176-190
9. 芋川玄爾: 表皮角層水分保持機能. 水と生命 - 熱力学から生理学へー 担当編集委員: 永山国昭 編者: 日本生物物理学会/シリーズ・ニューバイオフィジックス刊行委員会、発行者: 南條光章、発行所: 共立出版株式会社、2000: pp 152-164
10. 芋川玄爾: 角質細胞間脂質. 機能性化粧品の開発 監修: 高橋雅夫, 発行者: 島 健太郎, 発行所: 株式会社 シーエムシー 2000 pp 23

5-252

11. 芋川玄爾: セラミド. 新皮膚科学大系, 第7巻 「角化異常性疾患」中山書店, 2001: p 34-42
12. 芋川玄爾: ドライスキン 乾燥するカラダ 坪田一男 編著 53-65、2002
13. 芋川玄爾: セラミドとはなにか? Topics in Atopy vol 2 no. 3 49-61, 2003

○ (他文献) -

1. Judo, K., Renz, H., Abe, J., Gelfand, E. W., and Leung, D. Y., Decreased interferon gamma and increased interleukin-4 production in atopic dermatitis promotes IgE synthesis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1992. 90: 323-331.
2. Reinhold, U., Wehrmann, W., Kukel, S., and Kreysel, H. W., Evidence that defective interferon-gamma production in atopic dermatitis patients is due to intrinsic abnormalities. *Clin. Exp. Immunol.* 1990. 79: 374-379.
3. Leiferman, K. M., Ackerman, S. J., Sampson, H. A., Haugen, H. S., Venencie, P. Y., and Gleich, G. J., Dermal depositions of eosinophil-granule major basic protein in atopic dermatitis. *N. Engl. J. Med.* 1985. 313: 282-285.
4. Klubal, R., Osterhoff, B., Wang, B., Kinet, J.P., Maurer, D., Stingl, G.: The high-affinity receptor for IgE is the predominant IgE-binding structure in lesional skin of atopic dermatitis patients. *J. Invest. Dermatol.* 108: 336-342, 1997
5. Jurgens M, Wollenberg A, Hanau D, de la Salle H, Bieber T: Activation of human epidermal Langerhans cells by engagement of the high affinity receptor for IgE, Fc epsilon RI. *J Immunol* 155: 5184-5189, 1995
6. Shirakawa, T., Deichmann, K.A., Izuhara, K., Mao, X.-Q., Adra, C.N., Hopkin, J.M.: Asthma, atopy and genetic variants of IL-4 and IL-13 signaling. *Immunol. Today*, 21. 60-64, 2000
7. Mitsuyasu, H., Izuhara, K., Mao, X.-Q., Gao P-S., Arinobu, Y., Enomoto, T., Kawai, M., Sasaki, S., Dake, Y., Hamasaki, N., Shirakawa, T., Hopkin, J.M.: Ile50Val variant of IL4R upregulates IgE synthesis and associates with atopic asthma. *Nature Genetics* 19, 119-120, 1998
8. Shirakawa, T., Li, A., Dubowitz, M., Dekker, J. M., Shaw, A. E., Faux, J. A., Ra, C., Cookson, W. O., and Hopkin, J. M., Association between atopy and variants of the  $\beta$  subunit of the high-affinity immunoglobulin E receptor. *Nat. Genet.* 1994. 7: 125-129.
9. Ricci, G., Patrizi, A., Specchia, F., Menna, L., Bottau, P., D'Angelo, V., Masi, M.: Mite allergen(Der p 1) levels in houses of children with atopic dermatitis: the relationship with allergometric tests. *Br. J. Dermatol* 140: 651-655, 1999
10. Yamada, N., Wakugawa, M., Kuwata, S., Nakagawa, H., and Tamaki, K., Changes in eosinophil and leukocyte infiltration and expression of IL-6 and

- IL-7 messenger RNA in mite allergen patch test reactions in atopic dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1996. 98: S201-206.
11. Nelms, K., Keegan, A.S., Zamorano, J., Ryan, J.J., Oaul, W.E.: The interleukin-4 receptor: signal mechanisms and biologic functions. *Ann. Rev. Immunol.*, 16, 701-736, 1999
  12. Yamaguchi, Y., Suda, T., Suda, J., Eguchi, M., Miura, Y., Harada, N., Tominaga, A., Takatsu, K.: Purified interleukin 5 supports the terminal differentiation and proliferation of murine eosinophilic precursors. *J. Exp. Med.*, 167, 1737-1742, 1988
  13. 1. Wetz PW, Downing DT. Ceramides of pig epidermis: Structure determinations. ***J Lipid Res* 1983; 24: 759-63.**
  14. Freinkel RK, Traczyk T. Lipid composition and acid hydrolase content of lamellar granules of fetal rat epidermis. ***J Invest Dermatol* 1985; 85: 295-8.**
- 
15. Swartzendruber DC, Wertz PW, Kitko DJ, Madison KC & Downing DT. Molecular models of the intercellular lipid lamellae in mammalian stratum corneum. ***J Invest Dermatol* 1989; 92: 251-57.**
  16. Rougier A.: TEWL and transcutaneous absorption. *Bioengineering of the Skin: Water and the Stratum Corneum* ed. by Elsner, P., Berardesca, E., Maibach, H.I. CRC Press, Volume 1. Chapter 10. 103-13 (1993)
  17. Lampe MA, Whitney BJ, Williams ML, Brown BE, Roitman E, & Elias PM. Human stratum corneum lipids; Characterization and regional variation. ***J Lipid Res* 1983; 24: 120-30.**
  18. Grubauer G, Feingold KR, Harris RM, Elias PM. Lipid content and lipid type as determinants of the epidermal permeability barrier. ***J Lipid Res* 1989; 30: 89-96.**
  19. Wertz PW, Downing DT. Glycolipids in mammalian epidermis; Structure and function of the water barrier. ***Science* 1982; 21: 1261-2.**
  20. Wertz PW, Cho ES, Downing DT. Effect of essential fatty acid deficiency on the epidermal sphingolipids of the rat. ***Biochim Biophys Acta* 1983; 753: 350-5.**
  21. Swartzendruber DC, Wertz PW, Madison KC, Downing DT. Evidence that the corneocyte has a chemically bound lipid envelope. ***J Invest Dermatol* 1987; 88: 709-13.**
  22. Wertz PW, Swartzendruber DC, Kitko DJ, Madison KC, Downing DT. The role of the corneocyte lipid envelopes in cohesion of the stratum corneum. ***J Invest Dermatol* 1989; 93: 169-72**
  23. Behne M, Uchida Y, Seki T, de Montellano PO, Elias PM, Holleran WM. Omega-hydroxyceramides are required for corneocyte lipid envelop formation (CLE) and normal epidermal permeability barrier function. ***J Invest Dermatol* 2000; 114: 185-92.**
  24. Smith WP, Christensen MS, Nacht S, Gans EH. Effect of lipids on the aggregation and permeability of human stratum corneum. ***J Invest Dermatol* 1982; 78: 7-11.**

25. Uchida Y, Hara M, Nishio H, Sidransky E, Inoue S, Otsuka F, Suzuki A, Elias PM, Holleran WN, Hamanaka S. Epidermal sphingomyelinase are precursors for selected stratum corneum ceramides. **J Lipid Res** 2000; 41: 2071-82.
26. Schmuth M, Man MQ, Weber F, Gao W, Feingold KR, Fritsch P, Elias PM, Holleran WM. Permeability barrier disorder in Niemann-Pick disease: sphingomyelin-ceramide processing required for normal barrier homeostasis. **J Invest Dermatol.** 2000 ;115: 459-66
27. Holleran WM, Ginns EI, Menon GK, Grundmann JU, Fartasch M, McKinney CE, Elias PM, Sidransky E. Consequences of beta-glucocerebrosidase deficiency in epidermis. Ultrastructure and permeability barrier alterations in Gaucher disease. **J Clin Invest.** 1994 ; 93:1756-64.
28. Rougier A.: TEWL and transcutaneous absorption. Bioengineering of the Skin: Water and the Stratum Corneum ed. by Elsner, P., Berardesca, E., Maibach, H.I. CRC Press, Volume 1. Chapter 10. 103-113 (1993)
29. Wertz PW, Cho ES, Downing DT. Effect of essential fatty acid deficiency on the epidermal sphingolipids of the rat. *Biochim Biophys Acta* 753: 350-355, 1983
30. Chilcott RP, Dalton CH, Emmanuel AJ, Allen CE, Bradley ST. . Transepidermal water loss does not correlate with skin barrier function in vitro. *J Invest Dermatol.* 118(5): 871-5. 2002
31. Macheleidt O, Kaiser HW, Sandhoff K: Deficiency of epidermal protein-bound omega-hydroxyceramides in atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 119: 166-73, 2002
32. Bibel DJ, Raza A and Shinefield HR: Antimicrobial activity of sphingosines, *J Invest Dermatol*, 98: 269-268, 1992,
33. Bibel DJ, Aly R A, Shah S and Shinefield HR: Sphingosines: Antimicrobial barriers of the skin, *Acta Derm Venereol (Stockh)*, 73: 407-411, 1993
34. Ong PY, Ohtake T, Brandt C, Strickland I, Boguniewicz M, Ganz T, Gallo RL, Leung DY. Endogenous antimicrobial peptides and skin infections in atopic dermatitis. *N Engl J Med.* 347:1151-60, 2002
35. Judo, K., Renz, H., Abe, J., Gelfand, E. W., and Leung, D. Y., Decreased interferon gamma and increased interleukin-4 production in atopic dermatitis promotes IgE synthesis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 90: 323-331. 1992
36. Reinhold, U., Wehrmann, W., Kukel, S., and Kreysel, H. W., Evidence that defective interferon-gamma production in atopic dermatitis patients is due to intrinsic abnormalities. *Clin. Exp. Immunol.* 79: 374-379. 1990.
37. Leiferman, K. M., Ackerman, S. J., Sampson, H. A., Haugen, H. S., Venencie, P. Y., and Gleich, G. J., Dermal depositions of eosinophil-granule major basic protein in atopic dermatitis. *N. Engl. J. Med.* 1985. 313: 282-285

38. Klubal, R., Osterhoff, B., Wang, B., Kinet, J.P., Maurer, D., Stingl, G.: The high-affinity receptor for IgE is the predominant IgE-binding structure in lesional skin of atopic dermatitis patients. *J. Invest. Dermatol.* 108: 336-342, 1997
39. Jurgens M, Wollenberg A, Hanau D, de la Salle H, Bieber T: Activation of human epidermal Langerhans cells by engagement of the high affinity receptor for IgE, Fc epsilon RI. *J Immunol* 155: 5184-5189, 1995
40. Shirakawa, T., Deichmann, K.A., Izuhara, K., Mao, X.-Q., Adra, C.N., Hopkin, J.M.: Asthma, atopy and genetic variants of IL-4 and IL-13 signaling. *Immunol. Today*, 21. 60-64, 2000,
41. Mitsuyasu, H., Izuhara, K., Mao, X.-Q., Gao P-S., Arinobu, Y., Enomoto, T., Kawai, M., Sasaki, S., Dake, Y., Hamasaki, N., Shirakawa, T., Hopkin, J.M.: Ile50Val variant of IL4R upregulates IgE synthesis and associates with atopic asthma. *Nature Genetics* 19, 119-120, 1998,
42. Shirakawa, T., Li, A., Dubowitz, M., Dekker, J. M., Shaw, A. E., Faux, J. A., Ra, C., Cookson, W. O., and Hopkin, J. M., Association between atopy and variants of the  $\alpha$  subunit of the high-affinity immunoglobulin E receptor. *Nat. Genet.* 1994. 7: 125-129.
43. Rougier A.: TEWL and transcutaneous absorption. *Bioengineering of the Skin: Water and the Stratum Corneum* ed. by Elsner, P., Berardesca, E., Maibach, H.I. CRC Press, Volume
44. Lampe MA, Whitney BJ, Williams ML, Brown BE, Roitman E, & Elias PM. Human stratum corneum lipids; Characterization and regional variation. *J Lipid Res* 1983; 24: 120-30.
45. Grubauer G, Feingold KR, Harris RM, Elias PM. Lipid content and lipid type as determinants of the epidermal permeability barrier. *J Lipid Res* 1989; 30: 89-96.
46. Wertz PW, Downing DT. Glycolipids in mammalian epidermis; Structure and function of the water barrier. *Science* 1982; 21: 1261-1262.
47. Wertz PW, Cho ES, Downing DT. Effect of essential fatty acid deficiency on the epidermal sphingolipids of the rat. *Biochim Biophys Acta* 1983; 753: 350-355.
48. 塚本克彦他 : ユーカリエキス配合入浴剤のアトピー性皮膚炎患者に対する有用性の検討. *西日皮膚* 61 : 515-519, 1999.
49. Hanifin JM, Rajka G: Diagnostic features of atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1989; 92: 44-47
50. Chilcott RP, Dalton CH, Emmanuel AJ, Allen CE, Bradley ST. Transepidermal water loss does not correlate with skin barrier function in vitro. *J Invest Dermatol.* 118(5): 871-5. 2002
51. Ogawa H, Yoshiike T: A speculative view of atopic dermatitis: barrier dysfunction in pathogenesis. *J Dermatol Sci* 1993; 5: 197-204
52. Ohnishi Y, Okino N, Ito M and Imayama S: Ceramidase activity in bacterial skin flora as a possible cause of ceramide deficiency in atopic dermatitis, *Clin Diag Lab Immunol*, 1999; 6: 101-104
53. Jensen JM, Fölster-Holst R, Baranowsky A, Schunck M, Winoto-Morbach S, Neumann C, Schütze S, Proksch E: Impaired Sphingomyelinase Activity and Epidermal Differentiation in Atopic Dermatitis. *J Invest Dermatol* 2004; 122: 1423-1431
54. Loden M, Andersson AC, Lindberg M: Improvement in skin barrier function in patients with atopic dermatitis after treatment with a

- moisturizing cream (Canoderm). *Br J Dermatol.* 1999; 140: 264-267
55. Loden M, Andersson AC, Andersson C, Frodin T, Oman H, Lindberg M: Instrumental and dermatologist evaluation of the effect of glycerine and urea on dry skin in atopic dermatitis. *Res Technol.* 2001; 7: 209-213
  56. Loden M. Role of topical emollients and moisturizers in the treatment of dry skin barrier disorders. *Am J Clin Dermatol.* 2003; 4: 771-788
  57. Hachem JP, De Paepe K, Vanpee E, Kaufman L, Rogieers V, Roseeuw D: The effect of two moisturisers on skin barrier damage in allergic contact dermatitis. *Eur J Dermatol* 2002; 12: 136-138
  58. Chamlin SL, Kao J, Frieden IJ, Sheu MY, Fowler AJ, Fluhr JW, Williams ML, Elias PM: Ceramide-dominant barrier repair lipids alleviate childhood atopic dermatitis: changes in barrier function provide a sensitive indicator of disease activity. *J Am Acad Dermatol* 2002; 47: 198-208
  59. 奥田峰広、吉池高志、小川秀興:リボフラビンを用いた角層バリア機能評価法。日本皮膚科学会誌 109: 2103—2109、1999
  60. Kikuchi K, Kobayashi H, Hirao T, Ito A, Takahashi H, Tagami H. Improvement of mild inflammatory changes of the facial skin induced by winter environment with daily applications of a moisturizing cream. *Dermatology* 2003; 207: 269-275.

○ ‘ (他学会発表) —

1. 桐井 範治:化粧品で感覚刺激を感じやすい肌の皮膚生理的特徴について  
2004年 化粧品学会セミナー 発表