

ヒト皮膚常在細菌のリパーゼ活性に対する培地成分の影響

Effect of medium components on lipase activity in human indigenous skin bacteria

○宮島敦也¹, 米山巧海¹, 原田華歩², 松下祥子³, 林亜紀³, 鈴木佑典³

*Atsuya Miyajima¹, Takumi Yoneyama¹, Kaho Harada², Shoko Matsushita³, Aki Hayashi³, Yusuke Suzuki³

Skin microbiota play pivotal roles in maintaining skin homeostasis. The composition of skin microbiota are changed by age, gender, lifestyle habits, area of residence, and diseases. Recently, specific skin bacteria such as *Malassezia* species and their lipid metabolites have been found in central nervous system in neurodegenerative disease patients^[1]. Acturally, seborrheic dermatitis is associated with the risk of parkinson's disease, lipid composition on skin would be correlated to phathological conditions in specific diseases. To identify the target skin bacteria which would be risk factors to neurodegenerative diseases, we analyzed lipase activity in skin microbiota from 20/40s healthy volunteers to ester structures of Tween 20/80 which including different structures of fatty acids. In this study, we also investigated the effect of medium components on lipase activity of skin bacteria.

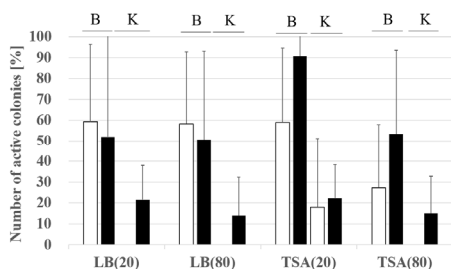


Figure 1. Lipase assay in skin bacteria under various media conditions. Open bar: 20s, Closed Bar: 40s, B: Becton Dickinson, K: Kyokuto Pharmaceutical.

皮膚常在細菌叢の組成は、年齢、性別、地域ごとの生活環境、疾患などによって変化することが明らかになってきている。近年、特定の皮膚常在細菌やその脂質代謝物が神経変性疾患患者の脳内に確認されているなど、様々な疾患の病態に皮膚常在細菌叢の組成が関与している可能性が示唆されている。先行研究において、神経変性疾患のリスク要因となり得る皮膚常在細菌を同定するため、異なる脂肪酸構造を含むリン酸ポリオキシエチレンソルビタン(Tween20, Tw20)あるいはオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタン(Tween80, Tw80)のエステル構造に対する皮膚常在細菌のリパーゼ活性評価を行った結果、20/40代

の健常男性由来の皮膚常在細菌においても、32°C、72時間培養後のコロニー径、活性を示したコロニー数の割合が異なることを明らかにしている。しかしながら、培地成分によって皮膚常在細菌のリパーゼ活性が大きく変化していたことから、本研究ではメーカーの異なるペプトンおよび酵母エキスを含む LB 培地およびトリプチソイ寒天培地(TSA)培地上の Tw20/80 に対する皮膚常在細菌のリパーゼ活性を比較することとした。また、臨床検体由来のリパーゼ活性評価を想定して、4°Cに一時保管後の皮膚常在細菌のリパーゼ活性評価を行うこととした。

ベクトン・ディッキンソン株式会社(B)または極東製薬工業株式会社(K)のペプトンおよび酵母エキス含有 LB 培地にて皮膚常在細菌を各線培養した後、各コロニー25個ずつをさらに B/K 社試薬含有 LB 培地または TSA 培地にてリパーゼ活性を解析した。その結果、データのばらつきが大きいものの、20代と比較して40代ではコロニー径が増大し(data not shown), また、リパーゼ活性を有した菌の割合も同様に増加することがわかった(最大で+32%)(Fig. 1)。また、20代のヒト由来皮膚常在細菌のリパーゼ活性を示す割合は、B社試薬含有培地では27.3-59.3%であったのに対して、K含有培地では0-18.0%と全体的に低かった(Fig 1)。さらに、一時低温度保管後の皮膚常在細菌で同様の実験を行った結果、低温度保管後ではコロニー径は変化せず、活性を示すコロニー数がわずかに増加した(data not shown)。以上の結果から、Tw20/80含有培地において、加齢に伴って皮膚常在細菌のリパーゼ活性や増殖速度が増加すること、K社製試薬を用いた場合、年齢依存的な結果が反映される可能性を明らかにした。また、皮膚常在細菌の一時低温保管が結果に与える影響はほとんどないことを明らかにした。

[1] X. Han, et al., 2023, *Front Aging Neurosci.*, 15, 1268751.

謝辞

環境微生物学研究室の西村克史先生および谷川実先生、永生病院の久保紳一郎先生に感謝申し上げます。

1: 日大理工・院(前)・応化, 2: 日大理工・学部・応化, 3: 日大理工・教員・応化