

N-6

皮膚常在細菌のリパーゼ活性に対する伝統発酵食品由来枯草菌の影響

Bacillus subtilis in traditional fermented food regulates lipase activity and growth in skin bacteria○上田翔太¹, 松下祥子², 鈴木佑典²Shota Ueda¹, *Shoko Matsushita², Yusuke Suzuki²

Bacillus subtilis natto (*B. subtilis*) is a spore-forming bacterium with strong viability under desiccation, temperature shifts, acidity, and nutrient stress. When attached to facial or perioral skin, *B. subtilis* persists throughout the day while remaining physiologically active. Therefore, *B. subtilis* is thought to regulate lipid metabolism and resident microbiota. Skin commensal bacteria gain energy mainly via lipase-driven hydrolysis of glycerol fatty acid esters in sebum. Ester compounds can provide as lipase substrates. In this study, skin bacteria were isolated from a healthy male volunteer in his forties. Four isolates were selected based on lipase activity toward *isopropyl myristate* (C14:0) and *isopropyl palmitate* (C16:0). The isolates were co-cultured with *B. subtilis* to assess its impact on lipase activity and bacterial growth.

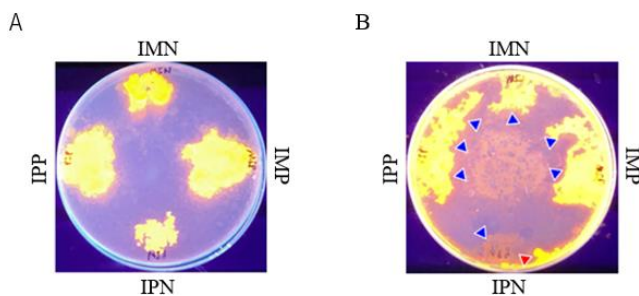


Figure 1. Lipase assay in *B. subtilis* and skin bacteria. Skin bacteria images on a rhodamine B containing LB agar media (A), and co-culture with *B. subtilis* (B). Red arrowhead indicated lipase activity at IPN, blue arrowheads indicated inhibition zone of skin bacteria.

納豆由来枯草菌は芽胞形成菌であり、乾燥、温度変化、酸性環境、および低栄養環境下でも強い繁殖力を維持することが可能である。それ故、口の周囲や顔に付着した枯草菌は生理活性を維持したまま終日生存していると考えられる。このことから、皮膚上の脂質分子の代謝や他の皮膚常在細菌叢の生育に影響を与えている可能性がある。皮膚常在細菌は皮脂に含まれるグリセロ脂肪酸エステル類を分解するリパーゼ活性より大部分のエネルギーを得ていることから、エステル基を有する化合物はリパーゼの基質対象となり得る可能

性が考えられる。実際に先行研究にて、化粧品含有成分であり、かつ脂肪酸鎖長の異なる IM および IP に対する皮膚常在細菌のリパーゼ活性の有無によってクローニングを行った。その後、納豆由来枯草菌をリパーゼ活性の異なる 40 代健康男性由来 IM/IP に対して活性を示す菌 (IMP) / (IPP)、示さない菌 (IMN) / (IPN) の 4 種の皮膚常在細菌と共培養すると、すべての皮膚常在細菌と枯草菌が避けあうように阻止円を形成し、IPN のみリパーゼ活性を著しく抑えたという結果を得ている。本研究では、先行研究にて用いた 4 種の皮膚常在細菌の同定、比色定量法を用いた枯草菌共在時の皮膚常在細菌のリパーゼ活性評価を行うこととした。

LB 培地に対して、MI または PI を添加した培地にて 40 代男性由来皮膚常在細菌を画線培養した後、IMP, IMN, IPP, IPN となる菌を選択した。その後、得た 4 種の皮膚常在細菌を 0.001% [wt/vol] ローダミン B・2.5% [wt/vol] オリーブオイル含有 LB 培地にて納豆由来枯草菌と共培養を行い、リパーゼ活性を解析した。その結果、すべての皮膚常在細菌と枯草菌が避けあうように阻止円を形成し、IPN のみリパーゼ活性が抑制された (Fig. 1)。また、4 種の皮膚常在細菌と枯草菌を LB 液体培地にて培養後、培養上清を比色活性評価に用いた結果、IMP, IPN において活性の低下がみられた。リパーゼ活性抑制率が小さかったことから、培養上清を限外ろ過フィルターを用いて (3 kDa cut off) 濃縮し、比色活性評価に用いた。その結果、IMP, IPP, IPN において、活性の増加が確認され、再現性が得られなかった。上述した 4 種の皮膚常在細菌に対して、16S rRNA シークエンス解析を行った結果、IMP および IPP は *Staphylococcus epidermidis* strain, IMN および IPN は *Staphylococcus capitis* subsp. *urealyticus* strain であると同定された (data not shown)。以上の結果から、納豆由来枯草菌が IPN の菌に対してリパーゼ活性抑制作用を示し、4 種の皮膚常在細菌への生育抑制作用をもつ可能性を明らかにした。また、基質として用いたパラニトロフェニルパルミテートに対する皮膚常在細菌由来のリパーゼ活性が極めて弱いことから、新たな評価系による解析を進めている。

1: 日大理工・院 (前)・応化, 2: 日大理工・教員・応化