

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 16 日現在

機関番号：37303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26350171

研究課題名(和文)豆乳の乳酸菌発酵ろ液の活用による薄毛症状の改善に関する研究

研究課題名(英文)Effect of PS-B1 (a fermented product cultured from soybean milk using lactic acid bacteria) on hair growth in vivo

研究代表者

榊原 隆三 (SAKAKIBARA, Ryuzo)

長崎国際大学・薬学部・教授

研究者番号：30127229

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：豆乳の乳酸菌発酵ろ液PS-B1の発毛促進効果について調べるため、背毛を除去した4週齢のC57BL/6雄性マウス(n=10)に対して、PS-B1(5%、15%、30%)、PBS(30%)、豆乳(30%)をそれぞれ含む20% EtOH溶液を塗布液として調製し、50 $\mu$ Lを背部に1日1回全てのマウスの発毛が完了するまでの長期(8か月間)に渡り塗布を行った。塗布部の画像解析の結果、PS-B1は発毛個体出現及び発毛面積の増加に至る期間の短縮化において顕著な効果を示すことが明らかになった。さらに、PS-B1刺激した培養毛乳頭細胞のPCR分析の結果、毛髪関連遺伝子FGF-2及びKGFの発現増加が見出された。

研究成果の概要(英文)：The effect of PS-B1 (a fermented product cultured from soybean milk using lactic acid bacteria) on hair growth in vivo was examined by topical application of PS-B1 on the shaved dorsal skin of 4-week-old male C57BL/6 mice. The 20% ethanol solutions which included PS-B1 (5%, 15% and 30%), PBS (30%) and soybean milk (30%), respectively, were prepared as application liquids and 50  $\mu$ L of each liquid was applied to the back of mice (n=10) once a day until hair growth of all mice was completed (8 months). From the picture analysis of dorsal skin, application of PS-B1 induced earlier telogen to anagen conversion as compared to those observed the vehicle treatments. Furthermore, the increase of expression of growth factors implicated in the regulation of hair growth (FGF-2 and KGF) were found as a result of the PCR analysis of the cultivation human follicle dermal papilla cells which stimulated by PS-B1. These results suggested that PS-B1 contains hair growth promoting substances.

研究分野：薬学

キーワード：乳酸菌 発酵 バイオジェニクス 毛髪 発毛

### 1. 研究開始当初の背景

近年では、かつて年齢を重ねた男性に多く見られていた薄毛症状や抜け毛の悩みが、女性にも多く見られるようになり、さらに若年層でも薄毛に悩む人が見られるようになってきている。これまでは加齢による影響が大きいものと考えられていた薄毛症状も、ストレス、睡眠、栄養、運動、喫煙、飲酒などの生活習慣の乱れによる様々な生体内代謝の乱れ等を介して引き起こされる可能性が示されてきた。各種意識調査からの推計によると、薄毛・抜け毛を気にして悩んでいる人口はわが国では1200万人を超えるとされており、このような時代背景のもと、薄毛症状の改善をテーマとして研究を行うことは意義深いものと考えられる。

我々は、16種のヒト常在乳酸菌を用いた独自の複合培養法を開発し、この手法によって調製した「豆乳の新規乳酸菌発酵液 PS-B1」の有用性について研究を進めていたところであった。この PS-B1 には、複合培養過程で生成された数多くの化学物質が混在し、それらの中には、がん細胞増殖抑制因子、肝機能改善効果因子など多彩な有用成分が含まれていることを示唆するデータを得ていた。さらに、この PS-B1 に関する一連の研究の中で、「PS-B1 が薄毛症状の改善に対して有効に機能する」ことを示す大変ユニークな予備実験データを得るに至った。このような背景の下、本研究を開始した。

### 2. 研究の目的

我々は Lactobacillus 属を中心とした16種のヒト常在乳酸菌を用いた独自の複合培養法を開発し、この手法によって調製した「豆乳の新規乳酸菌発酵液 PS-B1」が示す多様な有用作用を解析している。この PS-B1 に関する一連の研究の中で、最近、「PS-B1 が薄毛症状の改善に対して有効に機能する」ことを示す大変ユニークな予備実験データを得るに至った。一般に、薄毛症状に対する乳酸菌発酵物の摂取や塗布の影響については未だ深く研究されておらず、世界的にも他に類を見ない。

そこで本研究では、PS-B1 が示す薄毛症状改善作用の特性を検証し、その作用機序の解明を図ることを主たる目的とした。最終的には、PS-B1 に含まれる薄毛改善作用を示す生理活性物質の単離・同定を目指すとともに、PS-B1 の塗布や食生活への導入を活用した、これまでに無い新しいタイプの毛髪ケア法の提唱を図る。

### 3. 研究の方法

#### (1) PS-B1 の発毛促進作用の検証

##### 予備試験

##### PS-B1 摂取の影響

通常飼料を用いて1週間の予備飼育をした C57BL/6 雄性マウス(4週齢)を実験動物と

して用いた。専用のバリカンで一様に背毛を除去したこれらのマウスを( )5%豆乳、( )3%PS-B1、( )5%PS-B1、の各試料混合飼料摂取群に分け(n=5)、各群に決められた食餌を5週間与えて飼育した。背毛の状態を毎日画像として記録し、各群の発毛状態を( )通常飼料摂取群(対照群)と比較し、PS-B1 の摂取が発毛に及ぼす影響を検討した。

##### PS-B1 塗布による影響

同様の手順で背毛を処理したマウスを( )5%豆乳、( )3%PS-B1、( )5%PS-B1、の各試料塗布群に分け、通常飼料摂取条件下で5週間飼育した。飼育期間中は、20%EtOHに溶解した各試料(100µL)を背部に毎日1回塗布した。各群の発毛状態を( )20%EtOH(対照群)と比較し、PS-B1 の塗布が発毛に及ぼす影響を検討した。

##### 長期塗布試験

長期塗布試験を行うため、5%、15%及び30% PS-B1 及び30%豆乳をそれぞれ含有する20%EtOH 塗布溶液を調製し、剃毛したマウス背部右側に1日1回50µLを塗布した(各群n=10)。背部左側には、対照として30%PBSを含む20%EtOH溶液を同量塗布した。全てのマウスの発毛が完全に終了するまでの長期(8か月間)に渡り、画像解析をもとに発毛に及ぼす影響について調べた。

#### (2) ヒト毛乳頭細胞(DP細胞)に対するPS-B1の作用

各種濃度のPS-B1を添加したDMEM培地中で48時間培養したヒト毛包組織由来株化毛乳頭細胞(DP細胞、 $5 \times 10^4$  cells/ml)から抽出したRNAを用いてRT-PCRを行い、各種成長因子の発現量をPS-B1無添加の場合と比較して調べた。

### 4. 研究成果

#### (1) PS-B1 の発毛促進作用の検証

##### 予備試験の結果

図1に示すように、PS-B1(5%)の摂取及び塗布により、マウス背部の発毛面積増加に要する日数は、対照群(20%EtOH塗布群)に比べ短縮されることが分かり、PS-B1は、塗布の方がより有効であったが、被験マウスに対して摂食及び塗布両投与方法において、発毛促進効果を有することが示唆された。

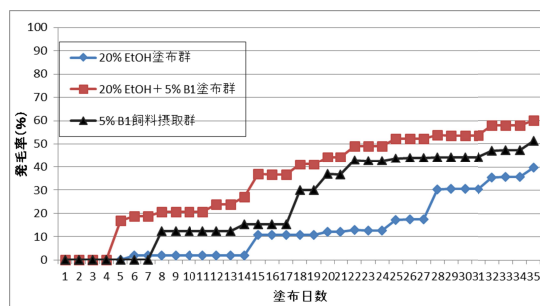


図 1 背毛除去したマウスの発毛面積増加に対する 5% PS-B1 塗布及び摂取による影響

長期塗布試験

予備試験の結果から、より効果が認められた PS-B1 の直接的効果(塗布)を詳細に評価するため、n 数を増やし (n=10)、5%、15%及び 30% PS-B1 及び 30%豆乳をそれぞれ含有する 20%EtOH 塗布溶液を調製し、剃毛したマウス背部右側に 1 日 1 回 50  $\mu$ L 塗布した。背部左側には、対照として 30% PBS を含む 20%EtOH 溶液を同量塗布した。全てのマウスの発毛が完全に終了するまでの長期(8 か月間)に渡り、右側及び左側の画像の解析比較をもとに発毛に及ぼす影響について調べた。

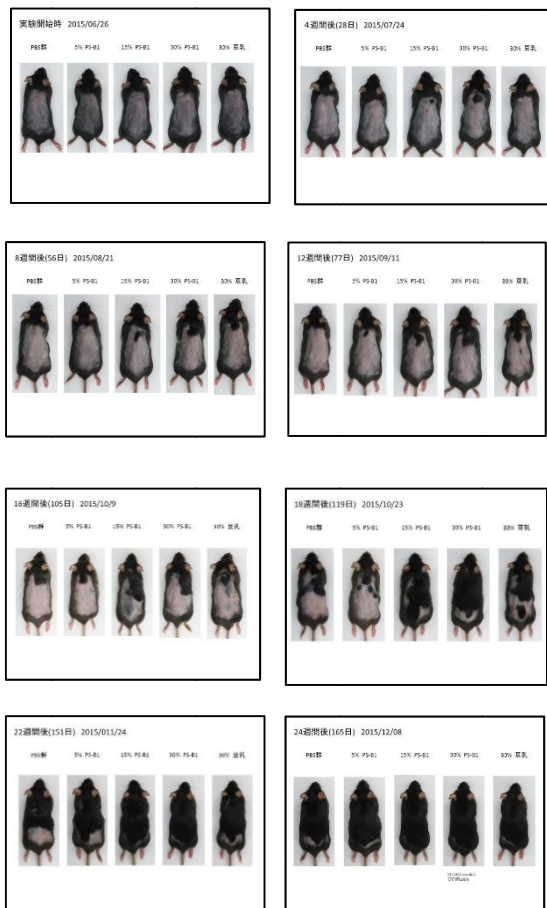


図 2 背毛除去マウスに対する各種濃度の PS-B1 含有 20%EtOH 溶液塗布による発毛に対する影響(画像:開始時~24 週後)

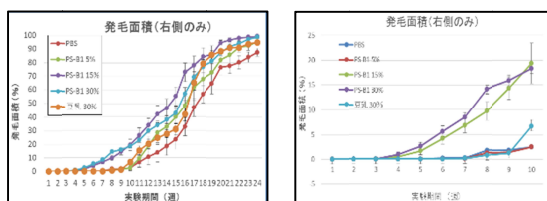


図 3 背毛除去マウスに対する各種濃度の PS-B1 含有 20%EtOH 溶液塗布の発毛面積増加に対する影響(左図:開始時~24 週、

右図:初期の発毛面積増加割合の変化)

図 2、図 3 に示すように、PS-B1 含有 20% EtOH を塗布したマウスの発毛面積増加速度は、PS-B1 を含有しない PBS あるいは豆乳含有塗布液の場合に比べ濃度依存的に顕著に早いことが明らかになった。

(2) ヒト DP 細胞に対する PS-B1 の作用

各種濃度の PS-B1 を添加した DMEM 培地中で 48 時間培養したヒト DP 細胞 (5x10<sup>4</sup> cells/ml) から抽出した RNA を用いて RT-PCR を行い、各種成長因子の発現量を PS-B1 無添加の場合と比較して調べた。その結果、PS-B1 は、DP 細胞に作用し、発毛促進に関わるとされている FGF-2 および KGF の mRNA を増加させることが明らかになった。

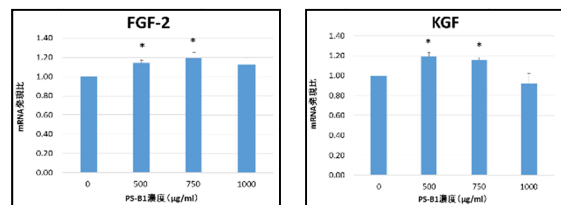


図 4 DP 細胞の mRNA 発現に対する PS-B1 の影響

本研究で得られた成果から、PS-B1 には毛髪成長促進因子が存在することが示唆された。今後、これら因子の本体を明らかにするとともに発毛促進効果機構を明らかにし、PS-B1 を薄毛予防あるいは発毛促進剤として実用化を図りたい。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 件)

〔学会発表〕(計 件)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

榊原 隆三 (SAKAKIBARA, Ryuzo)  
長崎国際大学・薬学部・教授  
研究者番号：30127229

### (2) 研究分担者

深澤 昌史 (FUKASAWA, Masashi)  
長崎国際大学・薬学部・教授  
研究者番号：20238439

野嶽 勇一 (NODAKE, Yuichi)  
長崎国際大学・薬学部・准教授  
研究者番号：30332282

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

### (4) 研究協力者

( )