

## EGF特集

# EGFの皮膚細胞新生作用

～Gregory L.Brown氏の臨床試験より～

クリームを含む局所的なタンパク質成長因子が皮膚の老化に及ぼす効果を判定するために、12名のボランティア被験者が調査に参加した。クリーム状担体の局所的なEGFを、外傷を受けていない皮膚に局所的に塗布した場合、老化細胞周期を逆行させることは以前から明らかにされている。

これらのボランティア被験者に対して、4種類の異なるクリーム製剤を使用して局所的な治療が行われた。試験部位は、左右の各前腕の肘前窩より2cm末端側の部分、及び左右の各前腕の肘前窩より2cm中央寄りの部分の4か所に分けられた。各試験部位は被験者間で無作為抽出され、それに応じて以下の治療が行われた。

- A—クリームのみ
- B—クリームと0.1mcg/mlの表皮成長因子(EGF)
- C—クリームと0.1mcg/mlのEGFと0.1mcg/mlのTGF- $\alpha$
- D—クリームと0.1mcg/mlのTGF- $\alpha$

各試験部位に対して、1日2回の治療が60日間行われた。投与期間中、各クリームが1mlずつ各試験部位に塗布された。60日間の期間が終了後、被験者ごとに各試験部位の写真をそれぞれ撮影し、さらに各試験部位から2mm分のパンチ生検標本を採取した。真皮から表皮を分離するために、これらの生検標本をトリプシン溶液内で12時間培養した。いったん分離した真皮を、合成期におけるケラチノサイトの割合を判定するためにフローサイトメトリー分析にかけた。この試験結果を下表1に記載する。

表1 のデータによって、EGFのみ、及びTGF- $\alpha$ のみでは、細胞分裂速度が対照より有意に増加することが示された( $P = 0.05$ )。EGFのみでもたらされた増加とTGF- $\alpha$ のみでもたらされた増加を互いに比較した場合、その違いはほとんど見られず、統計上有意味のあるものではなかった。EGFの方が、わずかに顕著な効果が現れた。この2種類の成長因子を同時に使用した場合、細胞分裂の促進結果は表皮の老化細胞周期の逆行において各成長因子を単独で使用する場合とほとんど同じである点について、付加的な効果がもたらされているように思われる。

■表1 S期の細胞の割合

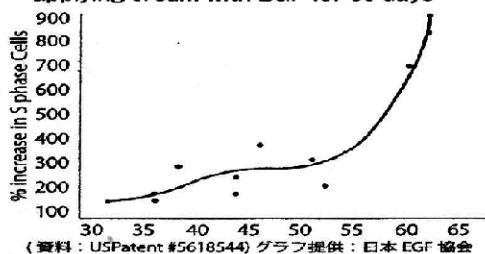
	A	B	C	D	平均
被験者1	2.5	9.8	12.2	11.1	48
被験者2	1.9	14.3	18.0	12.7	64
被験者3	4.0	7.2	9.4	7.6	41
被験者4	3.3	10.9	14.4	9.7	50
被験者5	4.8	6.4	8.9	5.7	39
被験者6	1.3	11.1	13.4	8.7	69
被験者7	3.3	6.5	10.1	5.2	34
被験者8	2.2	7.8	12.2	4.3	55
被験者9	3.7	8.8	11.1	8.0	44
被験者10	5.3	9.2	10.0	7.5	33
被験者11	2.2	12.4	16.9	11.8	68
被験者12	5.1	9.6	14.8	8.2	38
平均	3.3	9.5	12.6	8.37	48.5

(資料:US Patent # 5618544)

◇ ◇ ◇

線維芽細胞成長因子(塩基性)は、中胚葉構造に対して強力な細胞分裂促進効果を与えることが知られている。この調査の目的は、EGFを外胚葉分裂促進因子(EFG)を外胚葉分裂促進因子

■New Cell increase Relative to Control after applying cream with EGF for 60 days



(資料: US Patent #5618544) グラフ提供: 日本EGF協会

に加えた場合に、真皮に効果を与えるだけではなく表皮の老化を逆行させる結果となるかどうかを判定することであった。

外傷を受けていない皮膚に対してEGF及びFGFがもたらす量的効果と質的効果を判定するために、12名の被験者が調査に参加した。各被験者に対し、4種類の異なるクリームを使用して局所的な治療を行った。試験部位は、左右の各前腕の肘前窩より2cm末端側の部分、及び左右の各前腕の肘前窩より2cm中央寄りの部分の4か所に分けられた。各試験部位は被験者ごとに局所的に無作為抽出され、以下の組み合わせのクリームが使用された。

クリーム1 担体のみ  
クリーム2 担体内に0.1mcg/mlのEGF  
クリーム3 担体内に0.1mcg/mlのFGF  
クリーム4 担体内に0.1mcg/mlのEGFと0.1mcg/mlのFGF

どちらの成長因子も、0.1mcg/mlの濃度に処方された。各クリームは、それぞれの試験部位に対して1日2回、60日間塗布された。60日の期間が終了後、各試験部位から2mm分のパンチ生検標本を採取した。

真皮から表皮を分離させるために、これらの生検標本を30°Cの0.25%トリプシン溶液内で一晩培養し、翌日、真皮から表皮を機械的に分離させた。この表皮を栄養培養液中に置き、S期におけるケラチノサイトの割合を明らかにするためにフローサイトメトリー分析にかけた。また、真皮を分析し、ヒドロキシプロリン量を測定した。この試験結果を右表2に記載する。

表2のデータによって、以前の調査で明らかになっているように、EGFで治療した対象部位の皮膚に対して、細胞分裂が統計的に有意に増加した( $P = 0.05$ )ことが示された。また、FGFのみによる治療では、表皮の分裂速度に有意な変化はもたらされ

ない。EGFを含む事業者は、EGFの機能として紹介されている平均八倍の高い「細胞成長効果」なるの試験データは、一九九七年にアメリカ・ケンタッキー州ルイビルのブラン氏(Gregory L.Brown)が「皮膚老化を抑止する方法」(METHOD OF DECCELERATING CUTANEOUS SENESCENCE)にて取得した特許(出願人は、タッキー州ルイズビルのBayes-Brown Dermatologics Inc.)の中で紹介してある。

この臨床試験は以下のとおりである。  
○日間、擦傷や外傷を受けない皮膚に希釈した場合、細胞分裂速度が対照より有意に増加することなどが明らかにしたことであった。

外傷を受けていない皮膚に対してEGF及びFGFがもたらす量的効果と質的効果を判定するために、12名の被験者が調査に参加した。各被験者に対し、4種類の異なるクリームを使用して局所的な治療を行った。試験部位は、左右の各前腕の肘前窩より2cm末端側の部分、及び左右の各前腕の肘前窩より2cm中央寄りの部分の4か所に分けられた。各試験部位は被験者ごとに局所的に無作為抽出され、以下の組み合わせのクリームが使用された。

クリーム1 担体のみ  
クリーム2 担体内に0.1mcg/mlのEGF  
クリーム3 担体内に0.1mcg/mlのFGF  
クリーム4 担体内に0.1mcg/mlのEGFと0.1mcg/mlのFGF

どちらの成長因子も、0.1mcg/mlの濃度に処方された。各クリームは、それぞれの試験部位に対して1日2回、60日間塗布された。60日の期間が終了後、各試験部位から2mm分のパンチ生検標本を採取した。

真皮から表皮を分離させるために、これらの生検標本を30°Cの0.25%トリプシン溶液内で一晩培養し、翌日、真皮から表皮を機械的に分離させた。この表皮を栄養培養液中に置き、S期におけるケラチノサイトの割合を明らかにするためにフローサイトメトリー分析にかけた。また、真皮を分析し、ヒドロキシプロリン量を測定した。この試験結果を右表2に記載する。

表2のデータによって、以前の調査で明らかになっているように、EGFで治療した対象部位の皮膚に対して、細胞分裂が統計的に有意に増加した( $P = 0.05$ )ことが示された。また、FGFのみによる治療では、表皮の分裂速度に有意な変化はもたらされ

ない。

（以上、US Patent #5618544 より引用）

■表2 S期の細胞の割合

	1	2	3	4	年齢
被験者1	1.2	9.9	1.4	8.8	62
被験者2	4.0	10.2	3.5	11.1	44
被験者3	3.4	12.6	2.9	13.1	51
被験者4	5.0	8.7	4.4	8.1	36
被験者5	1.8	15.7	1.9	14.0	62
被験者6	3.4	8.6	4.1	7.75	52
被験者7	6.1	11.8	5.0	10.0	44
被験者8	7.1	10.9	5.9	9.3	32
被験者9	5.0	13.9	3.9	11.7	39
被験者10	1.4	9.8	2.3	8.8	60
被験者11	3.7	14.9	6.2	12.5	46
被験者12	7.8	15.0	6.4	17.2	36
平均	4.15	11.8	3.99	11.1	47

(資料:US Patent # 5618544)

## EGFの機能性を証明