

グルコシルセラミド含有パイナップル抽出物の 美容効果に関する検討

竹田 竜 嗣¹⁾ 野 嶋 潤²⁾ 桑 原 浩 誠²⁾
清 水 隆 磨³⁾ 松 山 明 正⁴⁾

要 旨

セラミドはスフィンゴ脂質の1つであり、多くの生物種の細胞膜に多量に存在する重要な成分である。また、ヒトにおいては、体内での合成だけでなく、食物からの摂取量も多い。近年、セラミドの機能性に関する研究が進むにつれて、皮膚科学的機能性を有することが明らかになってきており、皮膚バリアの改善による保湿効果が報告されている。本試験では、グルコシルセラミド含有パイナップル抽出物を用いて、メラニン生成3次元皮膚モデルによるメラニン生成抑制効果および、4週間のヒト摂取試験を行い、皮膚科学的機能性の探索を行った。その結果、メラニン生成3次元皮膚モデルでは濃度依存的にメラニン生成を抑制していた。また、4週間のヒト摂取試験においても、プラセボ群と比較してメラニン量の増加抑制が有意に認められ、試験品群では皮膚の明るさを示すL*値の改善も認められた。本結果から、グルコシルセラミド含有パイナップル抽出物は、シミなどの抑制やメラニン生成の抑制効果を持つことが示唆され、美容素材として有用であることが示された。

キーワード：グルコシルセラミド、皮膚バリア機能、メラニン、スフィンゴ脂質

1. はじめに

セラミドはスフィンゴ脂質に分類され、多くの生物種の細胞膜に多量に存在する成分として知られている。また、セラミドは角層の細胞間にも存在している。

スフィンゴ脂質に関する研究は、色々な角度から多くの研究者によってされてきた。スフィンゴ脂質の生理機能としては情報伝達物質であることが有名であるが、この他にも、細胞膜間での構成成分として多様な生理機能を有すると考えられる。また、生合成経路については、セリンパルミトイル転移酵素(SPT)が関与し、セリンとPalmitoyl CoAの縮合

反応からはじまり、いくつかの中間物質を経てセラミドへと変化する。さらに、セラミドは、ホスホリンがエステル結合によりリン脂質になったスフィンゴミエリンに変化する経路や、糖鎖がついたグルコシルセラミドへ変化する経路をたどる。スフィンゴミエリンは、哺乳動物ではリン脂質全体の5～10%を占めるとされる^{1)~3)}。

スフィンゴ脂質の種類と組成は、その由来となる生物種によって異なる。多くの生物種に多量に含まれる成分であるため、ヒトにおいても、生合成だけでなく食事からも摂取することができる。動物起源の食品素材では、畜肉で25～40 mg/100 g、卵で80～170 mg/100 gの程度のスフィンゴミエリンが存在するとされる⁴⁾。

スフィンゴ脂質に関するヒトでの機能性について、これまではあまり多くの研究がなされていなかった。しかし、代謝経路や吸収過程が明らかにな

1) 近畿大学大学院農学研究科応用生命化学専攻

2) 丸善製薬株式会社

3) 株式会社 TES ホールディングス

4) 医療法人社団穆心会白金エグゼクティブクリニック

るにつれ、スフィンゴ脂質の中でもセラミドに関する機能が多くの研究されるようになってきた。セラミドは皮膚の角層の細胞間脂質として存在しており、皮膚の保湿性との関連が示唆されてきた。Duanらは、グルコシルセラミドなどのスフィンゴ脂質の経口摂取が、皮膚のバリア機能の改善を有意に示すことを報告している⁵⁾。また、ヒトに関する機能性については、内山らがこんにゃく由来グルコシルセラミドを含む飲料がプラセボ飲料と比較して、経皮水分蒸散量を有意に減少させ、皮膚のバリア機能の改善を示したことを報告している⁶⁾。

以上のように、スフィンゴ脂質の皮膚に関する機能が明らかになってきているが、バリア機能以外の機能性については、未知の部分が多い。そこで、われわれは、グルコシルセラミド含有パイナップル果実抽出物を用いて皮膚科学的調査を行ったので、以下に報告する。

2. 方 法

2. 1 メラニン生成3次元皮膚モデルを用いた美白作用

メラニン生成3次元皮膚モデルであるMelanoDerm MEL-300-A (クラボウ製)を用いて、美白作用について検討を行った。

2. 1. 1 方法

MEL-300-Aの到着後、6ウェルプレートにて、長期維持培地 (EPI-100LLMM, クラボウ製)を用いて37°C, 5% CO₂下で、前培養を1時間行った。前培養終了後、グルコシルセラミド含有パイナップル果実抽出物 (丸善製薬製)を長期維持培地にて500 µg/mLおよび1000 µg/mLに調製し、角層側に100 µL添加した。また、基底膜側には長期維持培地を5 mL添加し、37°C, 5% CO₂下で培養を続けた。2日もしくは3日に1回、培地および被験物質の交換を行い、16日間培養を続けた。培養終了後、皮膚組織をPBS (-)にて洗浄し、メラニン量の測定を行った。

メラニン量は、皮膚モデルを450 µLの1.0% SDS溶液 (10 mM Tris-HCl, 0.05 mM EDTA, pH 6.8含有)中で超音波破碎を行った後、20 µLの5 mg/mLアクチナーゼE (科研製薬製)を加え、45°Cで一晩加温し、翌日50 µLの500 mM Na₂CO₃および10 µLの30%過酸化水素水を加え、さらに

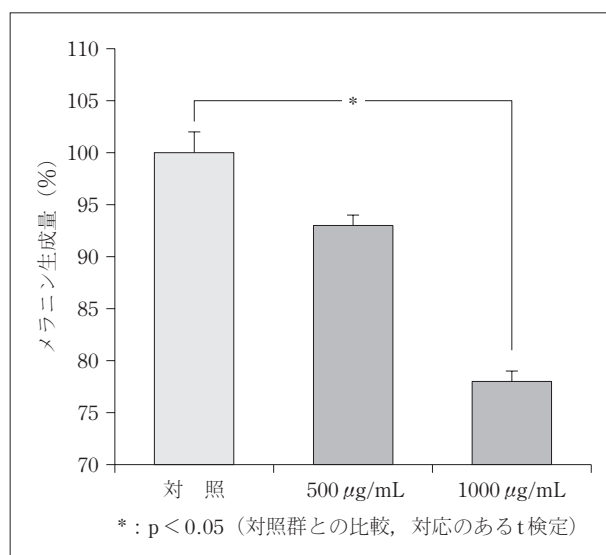


図1 メラニン生成3次元皮膚モデルを用いたメラニン生成量

80°Cで30分間反応させた。冷却後、100 µLのクロロホルム:メタノール (2:1)混液を加え攪拌し、10,000×gにて10分間遠心を行い、上清の100 µLについて405 nmにおける吸光度を測定した。

なお、合成メラニン (Sigma-Aldrich製)を標品として上記の抽出操作を同様に行い、検量線から皮膚組織あたりのメラニン量を算出した。

統計処理については、対照群との差を対応のあるt検定により確認した。

2. 2 ヒト4週間摂取試験

肌状態が悪いと自覚する35歳以上55歳未満の健常な日本人女性を対象として、試験品 (グルコシルセラミド含有パイナップル果実抽出物含有ソフトカプセル) またはプラセボ品を4週間摂取した後の肌状態の改善効果を、プラセボ対照ダブルブラインド試験並行群間比較によって検討した。試験は、医療法人社団穆心会白金エグゼクティブ試験審査委員会の承認の後、ヘルシンキ宣言に基づいて各被験者に試験の目的・方法などの同意説明を行い、試験志願者より試験参加の同意を得てから実施した。

測定項目は、頬・腕部の皮膚水分量、経皮水分蒸散量、メラニン量、紅斑、色彩色差測定、アンケート調査および被験者日誌であった。

統計処理については、結果は平均値±標準偏差で示し、群間の比較は対応のないt検定、摂取前後の群内の比較は対応のあるt検定により行った。いずれの検定においても有意水準は両側検定で5%未

表1 機器計測による肌状態の推移

項目	部位	群	n	摂取前	摂取4週後	変化量
皮膚水分量	頬	試験品群	11	57.9 ± 10.5	62.9 ± 8.8*	4.9 ± 8.8
		プラセボ群	11	56.0 ± 10.1	60.3 ± 9.1	4.3 ± 10.3
	腕	試験品群	11	32.4 ± 8.1	32.8 ± 7.8	0.4 ± 5.2
		プラセボ群	11	36.7 ± 9.3	35.9 ± 7.0	-0.75 ± 4.5
経皮水分蒸散量	頬	試験品群	11	10.6 ± 3.4	10.5 ± 4.4	-0.1 ± 2.4
		プラセボ群	11	11.0 ± 3.8	9.6 ± 3.3	-1.4 ± 4.5
	腕	試験品群	10	5.0 ± 0.7	4.8 ± 1.6	-0.2 ± 1.1
		プラセボ群	11	4.7 ± 1.8	4.5 ± 0.6	-0.1 ± 1.8
メラニン量	頬	試験品群	11	127.7 ± 27.5	132.9 ± 19.9	5.2 ± 21.9
		プラセボ群	11	137.7 ± 35.1	149.9 ± 47.9*	12.2 ± 17.2
	腕	試験品群	11	142.5 ± 29.8	148.1 ± 20.6	5.6 ± 11.3
		プラセボ群	11	136.3 ± 15.7	151.5 ± 17.4	15.2 ± 9.8
紅斑	頬	試験品群	11	314.1 ± 65.5	287.9 ± 67.9	-26.2 ± 66.0
		プラセボ群	11	326.2 ± 64.2	309.7 ± 40.0	-16.5 ± 31.8
	腕	試験品群	11	205.4 ± 50.0	189.0 ± 38.3	-16.4 ± 30.2
		プラセボ群	11	219.1 ± 36.0	215.7 ± 25.6	-3.3 ± 34.2
L*値	頬	試験品群	11	61.1 ± 2.7	62.1 ± 2.9*	1.0 ± 1.4
		プラセボ群	11	60.4 ± 2.9	60.6 ± 2.0	0.1 ± 1.5
	腕	試験品群	11	66.2 ± 2.5	65.7 ± 2.5 [†]	-0.4 ± 1.0
		プラセボ群	11	66.1 ± 1.4	65.5 ± 1.4	-0.6 ± 1.0
a値	頬	試験品群	11	12.6 ± 2.9	10.8 ± 3.3 [†]	-1.8 ± 2.7
		プラセボ群	11	12.4 ± 2.6	12.3 ± 2.1	-0.1 ± 2.2
	腕	試験品群	11	5.1 ± 1.3	5.1 ± 1.2	-0.1 ± 0.9
		プラセボ群	11	5.3 ± 1.4	5.8 ± 1.2	0.4 ± 0.9
b値	頬	試験品群	11	14.8 ± 2.2	15.3 ± 2.0	0.5 ± 1.1
		プラセボ群	11	15.0 ± 1.6	14.8 ± 1.3	-0.3 ± 1.5
	腕	試験品群	11	16.0 ± 2.1	16.5 ± 1.8	0.5 ± 1.2
		プラセボ群	11	15.2 ± 2.0	15.7 ± 1.8*	0.6 ± 0.6

平均値 ± 標準偏差

* : p < 0.05, [†] : p < 0.1 (摂取前との比較, 対応のある t 検定)

: p < 0.05, § : p < 0.1 (プラセボ群との比較, 対応のない t 検定)

満とし, 10%未満を傾向ありとした。

3. 試験結果

3.1 メラニン生成3次元皮膚モデルを用いた美白作用の結果

図1にメラニン生成3次元皮膚モデルを用いたメラニン生成量を示した。パイナップル果実抽出物は, 対照群と比較して濃度依存的にメラニンの生成を抑制しており, 1000 μg/mL では, 有意にメラニン生成を抑制していた。

3.2 ヒト4週間摂取試験の結果

試験参加者は, 各群11名であり, 平均年齢は試験品群が46.2 ± 4.7歳, プラセボ群が45.7 ± 5.7歳であった。表1に機器計測の結果を示した。また, 図2に試験品ごとのメラニン変化量の比較, 図3にL*値の測定値の変化を示した。

まず, 皮膚水分量, 経皮水分蒸散量については, 頬部および腕部ともにプラセボ群と試験品群との間に有意な差は認められなかったが, 試験品群は, 摂取4週後に摂取前と比較して有意に皮膚水分量が上昇した。メラニン量, 紅斑, 色彩色差については,

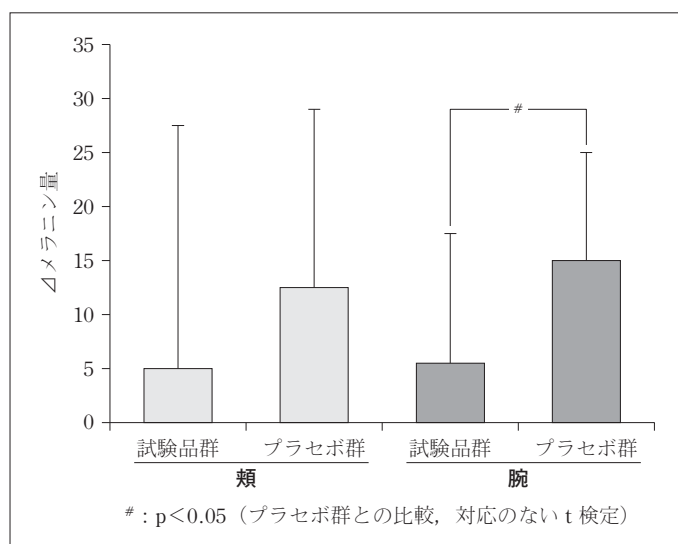


図2 試験品ごとのメラニン変化量の比較

摂取4週後に腕部のメラニン量が測定値および変化量のいずれにおいてもプラセボ群と試験品群で有意な差を示した。これは、季節変化などの要因でメラニン生成の増加する時期に、試験品群がメラニンの増加を抑制したことを示唆している。また、色彩色差計の計測結果では、L* 値, a 値, b 値ともに、試験品群とプラセボ群の間で有意な差は認められなかったが、皮膚の明るさを示す L* 値については、頬部の試験品群が有意に増加を示しており、皮膚色が明るくなったことを示唆している。

4. 考察およびまとめ

本試験では、グルコシルセラミド含有パイナップル抽出物の皮膚科学的機能性を調査するために、メラニン生成3次元皮膚モデルおよびヒトによる4週間の摂取試験を行い、皮膚測定を実施した。その結果、メラニン生成3次元皮膚モデルでは、度依存的にメラニン生成が抑制され、またヒトによる4週間の摂取試験では、プラセボ群と比較して有意にメラニン生成を抑制していた。皮膚の明るさを示す L* 値についても、頬部で摂取前と比較して増加、すなわち明るくなっていたことから、クスマやシミの改善なども示唆された。

また、水分量は群間で有意な差は認められなかったが、頬部においては、摂取前と比較して有意な増加が認められ、他のグルコシルセラミドが有する皮膚バリアの改善や保湿効果も確認された。

一般にメラニン生成抑制効果の作用機序について

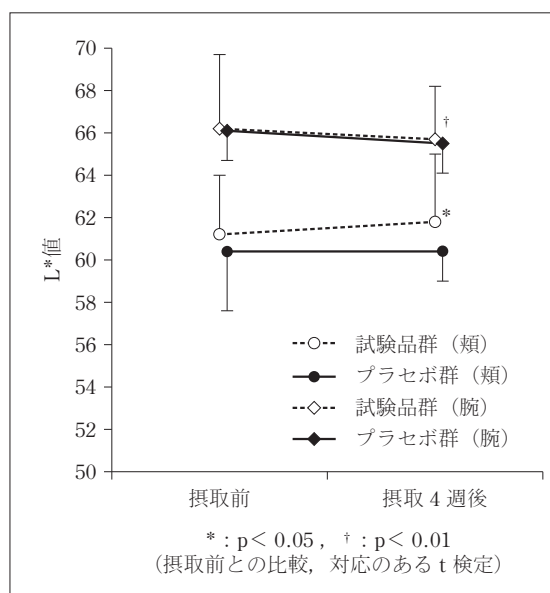


図3 L*値の測定値の推移

は、メラニン生成に関わるチロシナーゼ酵素の阻害が考えられる。しかし、Jeongら⁷⁾の研究では、セラミドではチロシナーゼ活性の阻害には影響せず、色素細胞の分化増殖制御因子(MITF)やチロシナーゼ酵素の減少などが示唆されているが、まだ不明な点も多い。本試験では、メラニン生成抑制だけでなく、L*値の上昇が認められたことから、すでにできているシミなどの改善効果も有することを示唆しており、メラニンの排出促進など他の角度からの作用機序解明が必要であると考えられる。

また、ヒト摂取試験における試験品を起因とする有害事象も認められなかったことから、グルコシルセラミド含有パイナップル抽出物は、美容訴求素材として有用であることが示された。

参考文献

- 1) Dickson RC: Thematic review series: sphingolipids. New insights into sphingolipid metabolism and function in budding yeast. *J Lipid Res* 2008; **49**: 909-921.
- 2) Sperling P, Heinz E: Plant sphingolipids: structural diversity, biosynthesis, first genes and functions. *Biochim Biophys Acta* 2003; **1632** (1-3) : 1-15.
- 3) Berkey R, Bendigeri D, Xiao S: Sphingolipids and plant defense/disease: the "death" connection and beyond. *Front Plant Sci* 2012; **3**: 68.
- 4) 国立感染症研究所 II スフィンゴ脂質について <http://www.nih.go.jp/niid/ja/from-biochem/3258-2013-02-25-06-40-14.html> (2014年3月27日閲覧).

- 5) Duan J, Sugawara T, Hirose M, et al: Dietary sphingolipids improve skin barrier functions via the upregulation of ceramide synthases in the epidermis. *Exp Dermatol* 2012; **21**: 448-452.
- 6) 内山太郎, 桑鶴祥子, 上田 修, 他: こんにゃくエキスを配合飲料の全身の皮膚バリア機能に対する改善効果. *薬理と治療* 2011; **39**: 437-445.
- 7) Jeong HS, Choi HR, Yun HY, et al: Ceramide PC102 inhibits melanin synthesis via proteasomal degradation of microphthalmia-associated transcription factor and tyrosinase. *Mol Cell Biochem* 2013; **375** (1-2) : 81-87.
-