

化粧品科学研究開発専門誌 フレグランスジャーナル


FRAGRANCE JOURNAL

Research & Development for Cosmetics, Toiletries & Allied Industries

2019
10
October

特集

ストレスと肌ケアの研究



男性型脱毛症とストレスなど生活習慣との関連性
化粧による心理状態と生体因子の変化について
睡眠不足と肌のバリア機能との関係について
ラベンダーエキスによる肌のリラックス効果
肌質改善メカニズムとストレス防御効果
大気汚染ストレスに対抗する新たな戦略
精神ストレスの身体・皮膚への影響

最新研究

全成分中の“水”表記を不要とした新規プラセンタ
培養細胞を用いたエミュールオイルの抗炎症作用
シアロオリゴ糖のアンチエイジング効果



アナツバメの巣由来シアロオリゴ糖のアンチエイジング効果

谷久典*¹ 渡久山理恵*² 池本毅*³ 堀内泰司*⁴

1. はじめに

アナツバメ (穴燕, *Collocalini*) の巣は古来より、美容効果や感染症予防効果などが経験的に知られており、中華の高級食材としても食されている。アナツバメの巣はシアル酸の含有量が高いことが知られている。近年の研究でシアル酸は、IGF-1 (インスリン様成長因子) を誘導産生することで全身の機能性の恒常性維持に関与していることが明らかにされている。Saber ら¹⁾ は血清 IGF-1 と脳梗塞や心筋梗塞発症リスクには密接な関連があることを Framingham study で明らかにしている。脳梗塞や心筋梗塞発症を未然に防ぐには中高年齢域の血清 IGF-1 の低下を抑制することが必須であると考えられる。

松本ら²⁾ は、抗ウイルス活性を有するシアロペプチドの探索で、シアル酸含量と抗ウイルス活性がリンクしておらず、シアル酸の結合部位を中心とした糖鎖構造が有用であるとしている。金丸ら³⁾ も、同様にシアル酸の結合部位が重要であると報告している。

そこで、アナツバメの巣由来シアル酸を含む機能性関連成分もその構造が当然重要であろうと考え、製造方法を検討するとともに得られたシアロオリゴ糖 (SAO) についてのその機能性⁴⁾⁵⁾、とりわけ美容関係について検討を行った。

2. ツバメの巣由来 SAO の調製

ジャワアナツバメ (*Aerodramus fuciphagus germani*) の巣は、(株)雅嘉貿易より入手した。SAO はアルカリ処理によって抽出を行った。すなわち、10g のアナツバメ

の巣に 0.25% (w/w) 水酸化ナトリウム水溶液を 1,000 mL 加え、ミキサーにて粉碎し 80℃、40 分間抽出した。4℃に冷却後、遠心分離及びろ過により不溶物を除去した。その後、電気透析にて脱塩し、凍結乾燥した。10g のアナツバメの巣より 3.33g の乾燥産物を得た。対照として酸処理による抽出方法を行った。すなわち、10g のアナツバメの巣に 0.5 M 塩酸溶液を 1,000 mL 加え、ミキサーにて粉碎し、80℃、40 分間抽出した。4℃に冷却後、遠心分離及びろ過により不溶物を除去した。その後、電気透析にて脱塩し、凍結乾燥した。10g のアナツバメの巣より 0.81g の乾燥産物を得た。

アナツバメの巣から SAO を得るために、酸性条件下及びアルカリ性条件下での抽出を行い、SAO の抽出をゲルろ過にて確認した結果を図 1 に示した⁶⁾。図 1 (1) には酸性条件下抽出での、(2) はアルカリ条件下抽出でのシアル酸及び糖の値を示している。酸性条件下抽出の場合、シアル酸と糖のピークに相関が認められなかったが、アルカリ条件下抽出の場合、そのピークは一致していた。このことからツバメの巣をアルカリ条件下で抽出することで SAO が抽出されることが明らかとなった。この SAO の分子量は 1.7~2.3 kDa で、シアル酸/ヘキソースの質量比が 0.5~0.9 の画分に最も高い活性が認められたことから、以後この画分を用いた。

3. 細胞増殖に及ぼす効果

近年抗老化の研究からシアル酸が再度注目され始めた。Malicdan⁷⁾ や野口⁸⁾、岡嶋ら⁹⁾ は 2009 年にそれぞれ別々にシアル酸が IGF-1 の産生を誘導し、種々の生理的/薬理的機能を発現していることを明らかにしている。シアル酸が IGF-1 を産生することが明らかにされたことから SAO の機能測定として各種細胞増殖因子の測定を正常ヒト成人皮膚線維芽細胞 [製品名: 凍結 NHDF (AD), KF-4109, クラボウ製] を用いて検討を行い、図 2 に示した。SAO は、IGF-1 [図 2 (1)] 以外にも PDGF (血小板由来増殖因子) [図 2 (5)] を除く FGF (線維芽細胞増殖因子)-β [図 2 (2)], EGF (上皮

"The effect for anti-aging of the sialo-oligosaccharide (SAO) derived from nest of a collocalia swift"

*¹ Hisanori Tani, *² Rie Tokuyama, *³ Takeshi Ikemoto,

*⁴ Yasushi Horiuchi

*¹ HYDROX Inc., ハイドロックス株式会社

〒 357-0045 埼玉県飯能市笠縫 610-19

*² MASAYOSHI Ltd., 株式会社雅嘉貿易

〒 173-0016 東京都板橋区中板橋 11-7

*³*⁴ KYOWA Co., Ltd., 株式会社協和

〒 160-0023 東京都新宿区西新宿 1-22-2 新宿サンエービル 9F

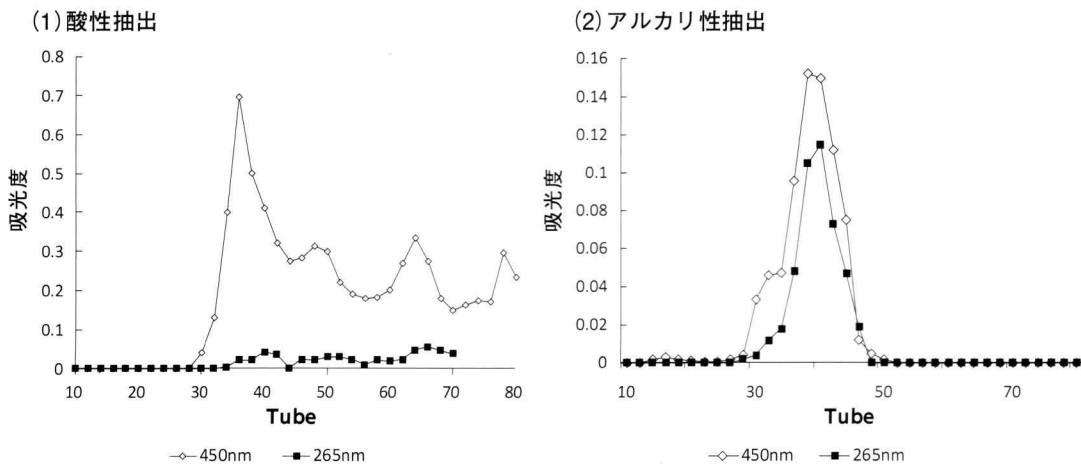


図1 ツバメの巣より抽出されたSAOの状態

カラム: Toyopearl HW40S (10 × 800mm), 溶出液: 50%エタノール溶液, 流速: 1mL/min, 分取: 200滴/本

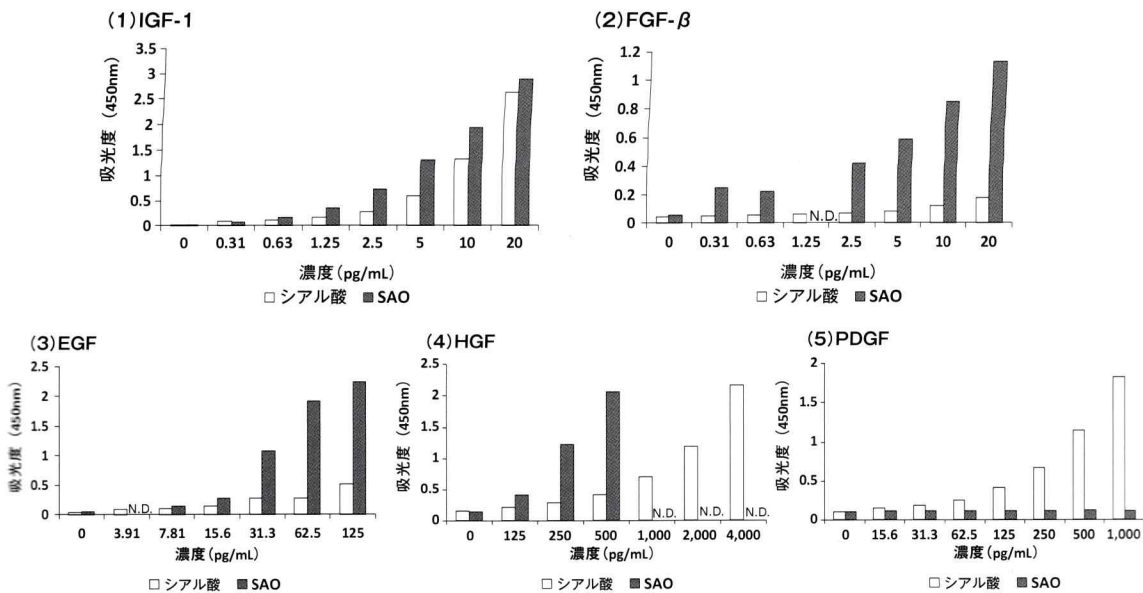


図2 SAOによる各種細胞増殖因子の産生に及ぼす作用

成長因子) [図2 (3)] 及び HGF (肝細胞増殖因子) [図2 (4)] の産生も増加させていた。その増加率は50%以上であった。PDGFは血小板由来増殖因子であることから培養系ではPDGF産生に影響が認められなかったが、生体系 (*in vivo*) では異なる結果が得られることが考えられた。SAOは標準品として用いたフリーのシアル酸 (FAS) に比して有意に細胞活性が高かった。

4. 正常細胞に及ぼす効果

SAOは各種成長因子産生能を向上させることがわかった。これらの成長因子は細胞の増殖作用に深くかか

わっている。そこでこのSAOが細胞増殖に影響を及ぼすことを正常ヒト成人皮膚線維芽細胞を用いて検討した。各濃度のSAOを正常ヒト成人皮膚線維芽細胞に加え、3日間培養を行い Cell Counting Kit-8を加えて反応後、450nmの値を測定した。

図3よりSAOを添加していない(0%)ときの吸光度は 0.177 ± 0.036 (平均値 \pm S.D.) であった。SAOの添加量の増加に伴い濃度依存的に吸光度も増加していた。SAOの添加量が最終濃度0.0312~0.125%でその上昇はプラトーに達していた。吸光度は0.394~0.401で

あった。SAO 0%の吸光度を100としたとき、SAOの添加量が最終濃度0.0312~0.125%でその割合が222~226と約2倍の増殖率であった。SAO無添加(0%)及び0.25%添加後、1日目及び3日目の細胞の様子を図4に示した。図4よりSAOを添加することで細胞の正常な増殖を促進させる効果があることが明らかとなった。

5. 創傷治癒に及ぼす効果

SAOは各種成長因子産生能を向上させ、細胞増殖作用があることを明らかにした。そこでこのSAOを用いた正常な細胞増殖作用の1つである創傷治癒にも効果を及ぼすことを正常ヒト成人皮膚線維芽細胞にて検討した。すなわち、無血清培地を用いて 1×10^6 個/mLの正常

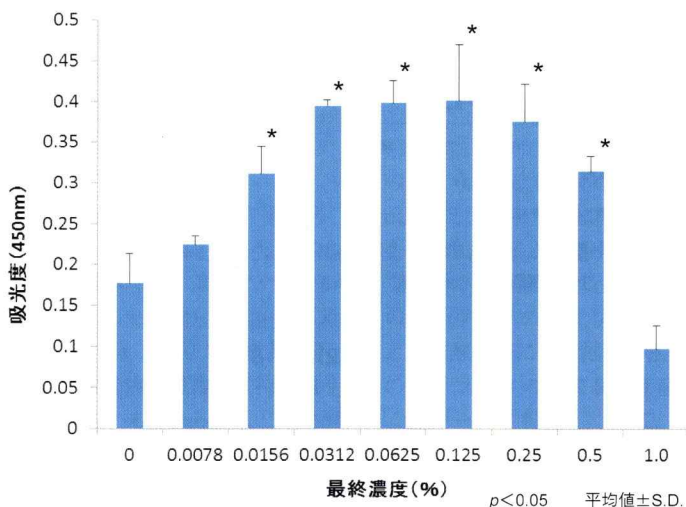
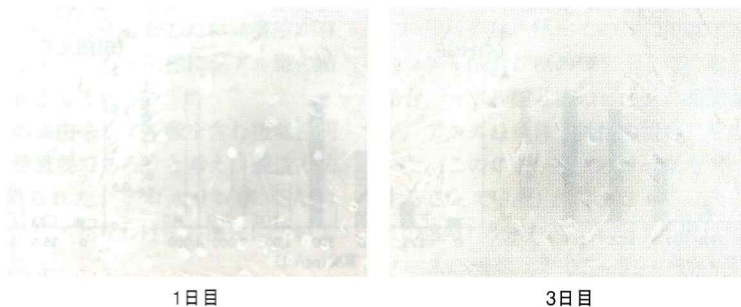
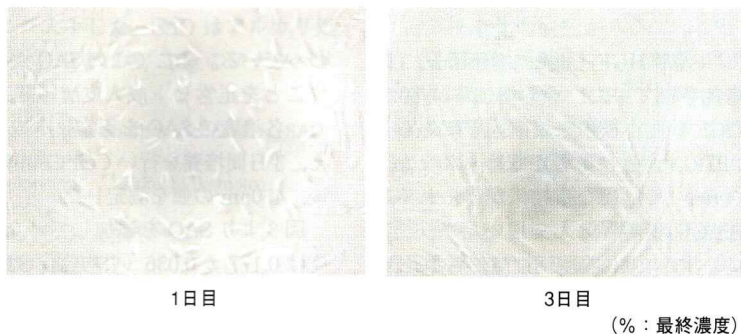


図3 SAOの細胞増殖能に及ぼす効果

(1) 無添加(0%)



(2) 0.25%添加



(%:最終濃度)

図4 SAO無添加(0%)及び0.25%添加後、1日目及び3日目の細胞増殖の様子

ヒト成人皮膚線維芽細胞懸濁液を調整し、CytoSelect 24-Well Wound Healing Assay kit (Cell Biolabs, Inc. 社製)を用いて測定した。

細胞増殖の結果よりSAOの添加量を最終濃度0.0612, 0.0625, 0.125, 0.25及び0.5%になるように加えた。試料添加後2日目の細胞にCytoSelect 24-Well Wound Healing Assay Kitのマニュアルに従って細胞を染色し、顕微鏡下で観察した。SAO無添加(0%)では細胞の増殖や浸潤がわずかに認められたが、依然としてスリット幅の間隙が認められた。SAOの添加量の増加に伴い濃度依存的に細胞増殖や浸潤が認められた。SAO無添加(0%)及び0.125%添加後、1日目及び3日目の細胞の様子を図5に示した。図5よりSAOを添加することで細胞の正常な増殖を促進させる効果があることが明らかとなった。

以上のことから、創傷治癒測定モデルキットを用いることで0.0625%以上のSAO添加でその効果が認められた。また、SAOには正常な細胞増殖作用を促進することも認められており、この創傷治癒作用促進は正常な細胞修復過程の促進を示していることが明らかとなった。

6. *In vivo* による効果の検証

SAOはヒト正常培養細胞を用いた細胞増殖能及び創傷治癒効果を示した。そこでこのSAOが生体での細胞

ターンオーバーに影響を及ぼすことをヒトボランティア試験にて検討した。SAO配合スキンローション適量を左上腕内側に1日1回塗布した。1週間後、5%ダンシルクロリドエタノール溶液を浸み込ませたパッチテスト用テープをあらかじめローションを塗布した左上腕内側及び右上腕内側に2カ所の合計3カ所に1分間貼り付けた。次に、左上腕内側(前塗布)及び右上腕内側(同時塗布)1カ所の計2カ所に引き続き1日1回SAO配合スキンローションを塗布した。また、右上腕内側のもう1カ所にSAOを配合していないローション(対照)を同様に塗布した。1週間毎にUVランプをあてダンシルクロリドの蛍光を観察した。4名の被験者(男性2名:60代及び50代, 女性2名:50代及び20代)で行ったところ、SAO配合スキンローションを塗布した部分の蛍光の消失が対照に比して早い傾向を示した。図6に50代男性及び20代女性のダンシルクロリドの蛍光の変化を示した。図6より50代男性では前塗布により蛍光強度の消失速度が同時塗布よりもさらに促進されることが認められた(図6)。この結果から、あらかじめ塗布することで皮膚の細胞代謝をより活発化させることができる傾向が認められた。また、20代では60代や50代の中高齢者に比して全体のダンシルクロリドの蛍光の消失が早かった。このことから若年者では新陳代謝が活発

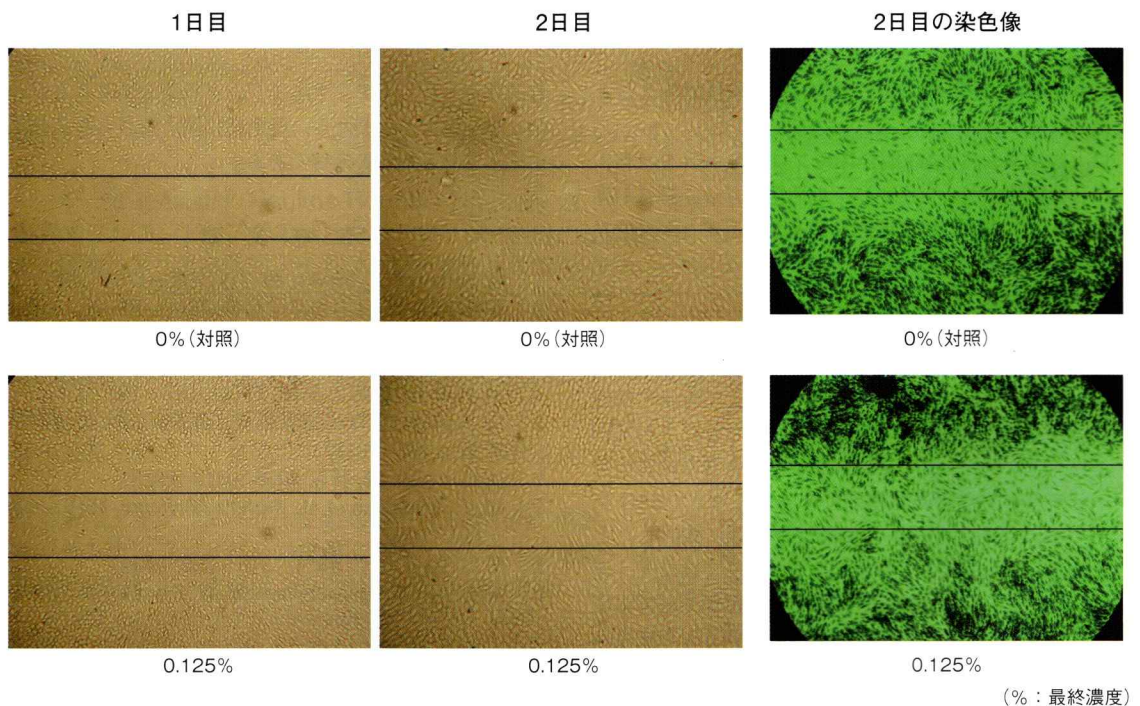


図5 SAO無添加(0%)及び0.25%添加後、1日目及び3日目の細胞の様子

(1) 50代男性



(2) 20代女性

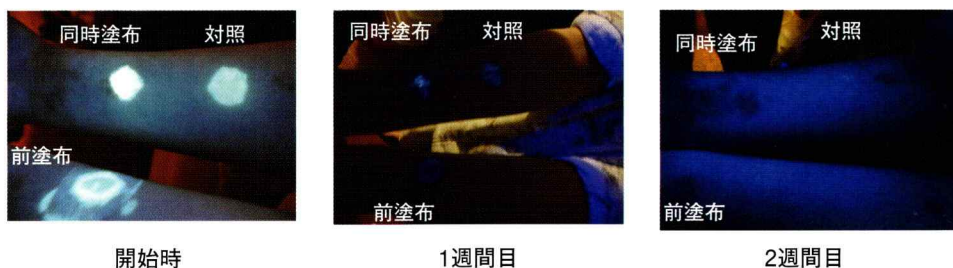


図6 SAO配合ローションの皮膚に及ぼす効果

でありSAOの効果が体感しづらい傾向が認められると考えられた。

以上の結果からSAO配合スキンローションを塗布することで細胞のターンオーバーを活性化させ、特に中高年者にとって皮膚の修復機能を促進させることが可能であることが明らかとなった。

7. おわりに

アナツバメの巣は、滋養強壮食材として古来より食されている。近年の研究からアナツバメの巣にはシアル酸の含有量が高くIGF-1を誘導産生することで全身の機能性の恒常性維持に関与していることが明らかにされている。我々はアナツバメの巣由来シアル酸を含む機能性関与成分もその構造が当然重要であろうと考え、SAOを開発するに至った。SAOの機能性を詳細に検討したところ、機能性食品として有用であるばかりではなく、速やかに経皮吸収され皮膚線維芽細胞の増殖能や創傷治癒効果さらにターンオーバーを活性化させることで皮膚の

若返り、すなわちアンチエイジング効果があることがわかった。以上のことから、肌老化に関するさらなる効果が見込まれる唯一の素材である。

参考文献

- 1) H. Saber et al., *Stroke*, **48**(7), 1760~1765 (2017)
- 2) 松本光晴 他, 日本畜産学会報, **73**(1), 49~56 (2002)
- 3) Y. Kanamaru et al., *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **63**(1), 246~249 (1999)
- 4) 谷久典 他, 臨床と薬理, **27**(4), 187~193 (2017)
- 5) 谷久典 他, 第72回日本栄養・食糧学会大会講演要旨集, p.207 (2018)
- 6) 大石一二三 他, 特開2018-30813 (2018)
- 7) M. C. Malicdan et al., *Nature Medicine*, **15**(6), 690~695 (2009)
- 8) 野口 悟, 生化学, **83**(4), 316~320 (2011)
- 9) 岡嶋研二, *Fragrance Journal*, **37**(10), 43~47 (2009)

天然素材成分で世界中の方が美しく健康に。
私たちはチャレンジし続けます。

今の感謝を、未来のチカラに。
60th
Anniversary

おかげさまで創立 60 周年を迎えました。
これまで支えていただいた皆様に心から感謝いたします。
今後とも変わらぬご厚誼のほど、何卒よろしくお願い申し上げます。



本社(岐阜)

i PHARCOS

一丸ファルコス株式会社 本社 058-320-1030 東京営業所 03-3663-4447 大阪営業所 06-4706-3885

定価 (本体2,667円+税)

雑誌 89547-10



4910895471099
02667