

# 長寿遺伝子サーチュイン活性化能を持つ化粧品素材の開発

多葉田 誉 [北海道三井化学株式会社／取締役・ライフサイエンスセンター長]

堀尾 嘉幸 [札幌医科大学医学部薬理学講座／教授]

久野 篤史 [札幌医科大学医学部薬理学講座／助教]

臼庭 雄介 [北海道三井化学株式会社ライフサイエンスセンター／研究員]

## 背景・目的

レスベラトロール (RSV) には、SIRT1 活性化及び細胞内 MnSOD 量増加による酸化ストレスの低減、細胞保護と細胞死抑制、抗炎症作用等が知られている。

多葉田グループはヤマブドウ培養細胞を用いた RSV 高生産法を開発し、紫外線等による DNA ダメージ修復や抗炎症作用を有するアンチエイジング化粧品素材の製品化に取り組んでいる。

本検討では、RSV 含有粉体 (H-RSV) の効率的生産方法を確立し、H-RSV の抗酸化活性等の機能性について明らかにすると共に安全性データを取得し、製品化に向けた機能性、安全性の確認を目的とした。

## 内容・方法

ヤマブドウ培養細胞を 120L スケールでタンク培養し、RSV 生産性の小試データとの比較を行い、得られた RSV 含有培養液を 0.2µm フィルターでろ過した後に粉末化し、H-RSV を得た。この際、粉末化条件の違いによる色調の変化および回収率について検討し、最適処理条件を確立した。得られた H-RSV は、1) 酸化ストレスに対する H-RSV の細胞保護効果 (ヘキスト染色による細胞死抑制効果、Muse Count & Viability Assay、ATP content assay)、2) UV に対する細胞保護効果、3) 抗酸化作用の可視化の各機能性評価を行い、精製 RSV と作用の比較検討を行った。また、安全性試験 (単回経口毒性試験 (限度試験)、復帰突然変異試験、皮膚刺激試験、眼刺激試験、光毒性試験) に供することにより、水溶性素材 H-RSV の安全性について確認した。

## 結果・成果

ヤマブドウ培養細胞を 120L スケールでタンク培養 (2 Lot) し、予め検討決定した条件で粉末化して H-RSV を得た。H-RSV の粉体あたりの RSV 含量は Lot1 ; 2.7 %、Lot2 ; 4.5% であり、色調は 2Lot とともに白色～極薄い褐色を呈し、水への溶解に際しては特別な色調を示さないことが明らかとなった (図1)。H-RSV からの EtOAc 抽出物クロマトグラムでは、310nm において検出されるピークは RSV のみであり、β-ビニフェリンなど同じく 310nm に吸収を有する RSV 重合体が殆ど含まれていなかった。また、検出波長 520nm ではピークが全く認め

られず、市販の RSV 含有製品のようなアントシアニン色素が含まれないことを改めて示す結果となった (図2)



図1 H-RSV の色調

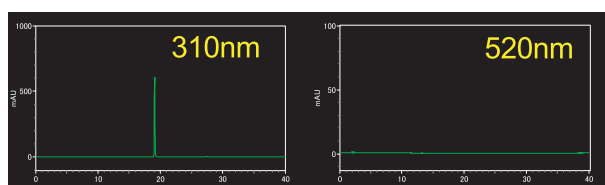


図2 H-RSV の EtOAc 抽出物の HPLC 分析

次に、得られた H-RSV を用いて細胞保護効果等の機能性評価を行った。ヘキスト染色による細胞死抑制効果検討、Muse Count & Viability Assay、ATP content assay の結果はいずれも、H-RSV は精製された RSV と同等以上に酸化ストレスによる細胞死を有意に抑制し、細胞生存促進作用を示して代謝状態が保たれることが明らかとなった (図3-5)。また、UV 照射による細胞死を有意に抑制する作用があること (図6)、細胞の ROS 低下作用があることを確認した (図7)。H-RSV の化粧品素材としての有用性がこれら機能性データから明らかとなった。

更に H-RSV について5項目の安全性試験を行い、単回経口毒性試験 (限度試験) : マウスにおける致死量 2000 mg/kg 以上、復帰突然変異試験 : 陰性、皮膚刺激試験 :

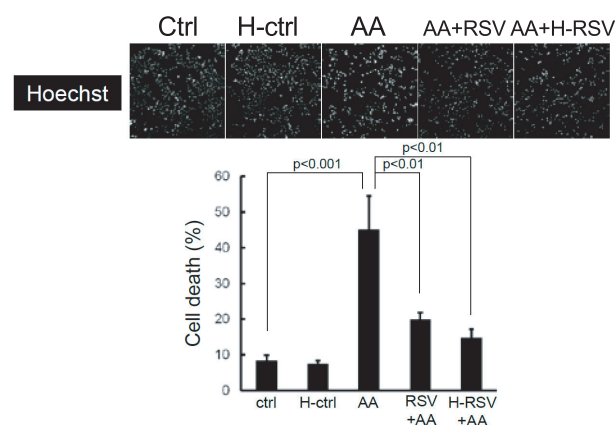


図3 Hoechst 染色を用いた H-RSV の細胞死抑制作用

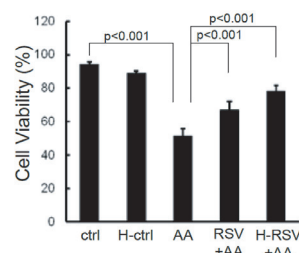


図4 Muse Count & Viability Assay (細胞生存促進作用)

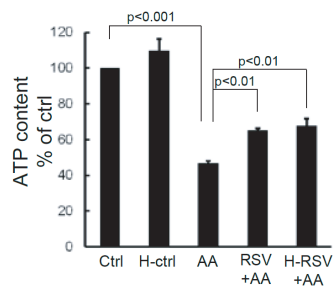


図5 ATP content Assay による H-RSV の細胞生存作用

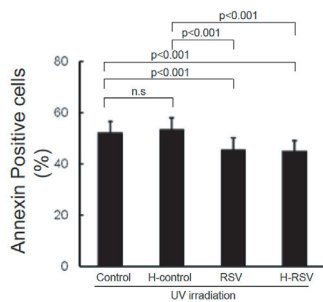


図6 H-RSV による UV からの細胞保護作用

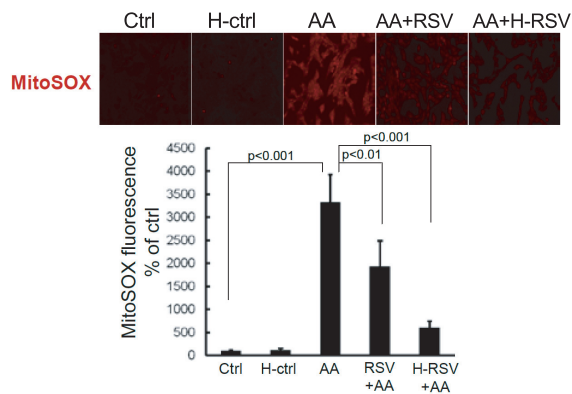


図7 H-RSV の細胞 ROS 低下作用

無刺激性、眼刺激試験：無刺激性、光毒性試験：陰性の結果が得られ、問題となる安全性上の所見は認められなかった。

### 今後の展望

今後、ヒトパッチ試験、感作性試験等の不足する安全性試験データを取得するとともに、更なる機能性データの充実を図ることによって、特有の色調を呈しない顧客満足度の高い機能性化粧品原料とし、これまで色調や澱の発生から使用が不可能であったローションへの配合も視野に入れた優れた化粧品原料としての販売を計画している。更には、H-RSV を元に新たな機能性素材への変換を図り、素材のラインナップ充実にも取り組みたい。