

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

2020

4

April

特集

化粧がもたらす心身機能への効果

フェイシャルケア効果

アイメイク効果

視覚効果

ふきとり効果

化粧療法

QOL効果

最新研究

機能性に富むスキンケア大豆種子由来活性物質

温泉藻類 RG92 による QOL の向上

—ヒト滑膜線維芽細胞における抗炎症作用

高山 愛 宮田光義 御筆千絵 岩田俊祐 小林弘幸 加世田国与士

1. はじめに

1-1. 温泉と抗炎症作用

温泉は日々の疲れを心身ともに癒してくれるだけでなく、湯治や温泉療法で知られるように、治療の一環としても利用されている。痛みや痒みなど、炎症がかかわる様々な症状の緩和、改善が期待されているものの、有効成分や作用メカニズムについて十分な解明はされていない。温泉水や温泉泥にはミネラルや有機物のほかに、多種多様な微生物が存在する¹⁾。イタリア・アバノ市のファンゴと呼ばれる温泉泥からはある種のラン藻が単離されており、その成分はファンゴの薬理効果を担う可能性が示唆された²⁾。我々は別府温泉に着目し、健康と美容に有用な新種の藻類 *Mucidosphaerium* sp. RG92 を発見した³⁾⁴⁾。この温泉藻類の抽出物 (RG92 エキス) はヒト真皮線維芽細胞やヒト毛乳頭細胞において、IL-1 β 刺激によって誘導された炎症因子、痛みや痒みの因子を抑えることを見いだした。これらの抗炎症作用を活用し、この RG92 エキスをスキンケア素材として展開している。

1-2. 炎症と関節

炎症は皮膚や頭皮のトラブルだけでなく、筋肉痛や関節症にも関与している。私たちは RG92 に新たな価値を見いだすべく、QOL の維持・向上を目指してロコモ分野に焦点を当てることとした。ロコモティブシンドロームは運動器の障害によって要介護になる可能性が高い状態であり、QOL の低下と深く関係している。厚生労働省による平成 30 年国民生活基礎調査では、要支援となる原因の第 1 位が関節疾患であり、いかにロコモ対策が健康の維持に重要であるかが見て取れる。関節で生じる炎症はスポーツなどによる酷使

や加齢によっても引き起こされる。特に膝関節での炎症は痛みを留まらず、軟骨の破壊を促し⁵⁾、いわゆる変形性関節症を引き起こすことにも繋がる。すなわち、RG92 エキスがその根幹となる過度の炎症を抑制することは、QOL の維持・向上に貢献できると考えられる。本稿では、関節滑膜の線維芽細胞における RG92 エキスの効果、並びに RG92 の持つ可能性について解説する。

2. RG92 エキスの効果

2-1. 炎症因子・痛み因子の抑制

体内で誘導される炎症因子にはインターロイキン 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) や腫瘍壊死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) などがある⁵⁾⁶⁾。IL-1 β でヒト滑膜線維芽細胞を刺激すると IL-1 β , IL-6, TNF- α の mRNA レベルが増加するが、RG92 エキスはこれら炎症性サイトカインの mRNA 発現を有意に抑制した (図 1A)。タンパク質レベルにおいても同様に、炎症因子の顕著な抑制が確認された (図 1B)。

炎症が長引くとその炎症刺激によってシクロオキシゲナーゼ-2 (cyclooxygenase-2, COX-2) などの因子が誘発される。COX-2 は痛み増強因子の合成にかかわる酵素である⁷⁾。IL-1 β でヒト滑膜線維芽細胞を刺激すると COX-2 の mRNA レベルが上昇するが、RG92 エキスはそれを抑制した (data not shown)。また、RG92 エキスは濃度依存的に COX-2 の酵素活性も阻害することが確認され (IC₅₀ = 27.7 μ g/mL)、COX-2 に対して遺伝子発現の抑制と酵素活性の阻害の両側面に働きかけることが明らかとなった。

2-2. 軟骨分解因子の抑制

軟骨は軟骨細胞と II 型コラーゲンやプロテオグリカンなどの細胞外マトリックス成分から構成さ

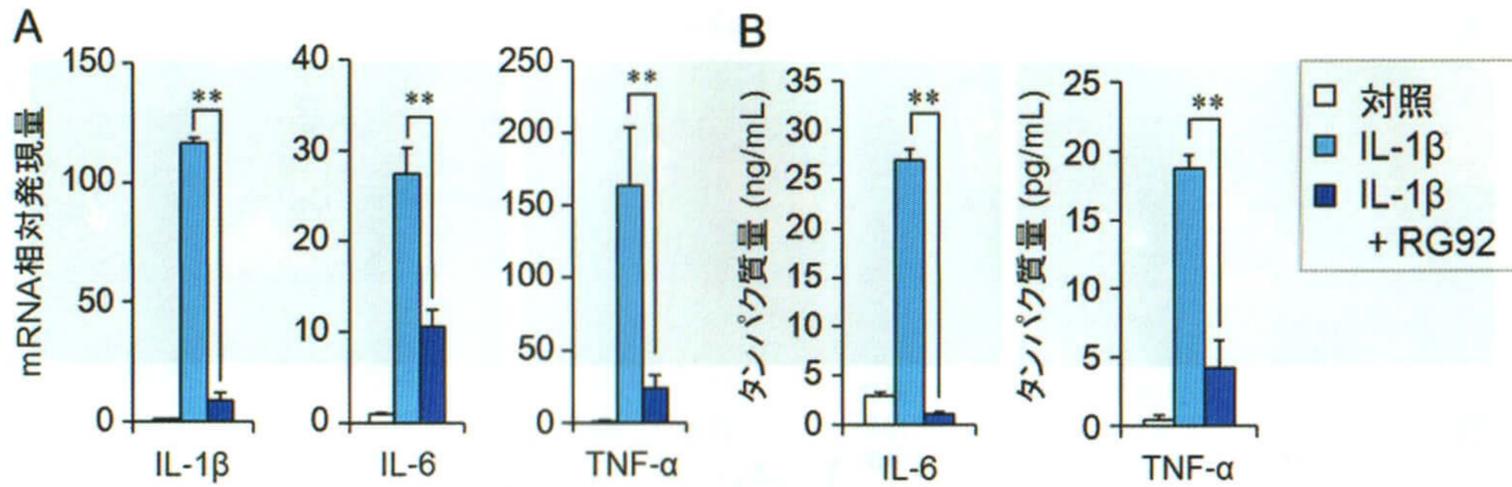


図1 抗炎症作用

A) RG92 エキスが炎症性サイトカインの遺伝子発現に与える影響
 B) 細胞から分泌された炎症性サイトカインのタンパク発現に対する RG92 エキスの影響
 値は平均値±標準偏差で示す (n=3)。**, p<0.005.

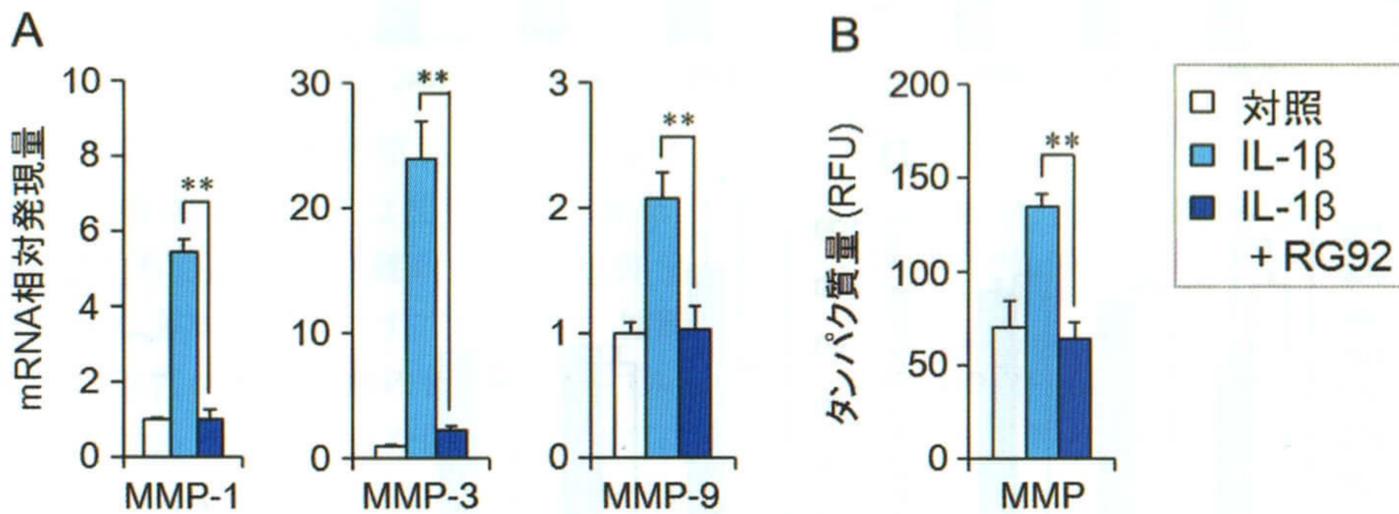


図2 軟骨分解因子の抑制作用

A) RG92 エキスが細胞外マトリックス分解酵素 (MMP) の遺伝子発現に与える影響
 B) 細胞から分泌された MMP のタンパク発現に対する RG92 エキスの影響
 値は平均値±標準偏差で示す (n=3)。**, p<0.005.

れている。軟骨は加齢とともに自然にすり減っていくが、運動による過度の負担はそれを加速する。すなわち、滑膜などに過剰な炎症が起こると細胞外マトリックスの分解酵素であるマトリックスメタロプロテアーゼ (MMPs) が誘導され³⁾⁸⁾、この酵素の働きによって軟骨が破壊される⁵⁾。結果として激しい痛みや関節症を引き起こす。

ヒト滑膜線維芽細胞において IL-1β 刺激は MMP-1, MMP-3, MMP-9 の mRNA レベルを増加させるが、RG92 エキスはこれらの分解酵素の mRNA 及びタンパク質発現をほぼ完全に抑えた (図 2A, 図 2B)。このことから、RG92 は炎症に伴う MMP の発現を抑えることで軟骨の細胞外マトリックスの分解を抑制し、軟骨消耗の予防に繋がると考えられる。

2-3. ミトコンドリアの調節

ミトコンドリアの主な機能は細胞のエネルギー源となるアデノシン三リン酸 (adenosine triphosphate, ATP) の産生である。炎症はミトコンドリアにも影響を与え、活性酸素種 (reactive oxygen species, ROS) を過剰に発生させることが知られている⁹⁾。近年、ミトコンドリアは細胞の機能や各種ストレスに応じて、融合・分裂して形態を変化させることがわかってきた¹⁰⁾。

私たちはヒト滑膜線維芽細胞において、IL-1β 刺激がミトコンドリアの形態変調と細胞内の ATP や ROS の産生異常を引き起こすことを見いだした^{11)~13)}。ヒト滑膜線維芽細胞には、細長い線維型のミトコンドリアを持つ細胞、折りたたまれて丸くなった丸型のミトコンドリアを持つ細胞、これらが混在する細胞が認められる (図 3A)。

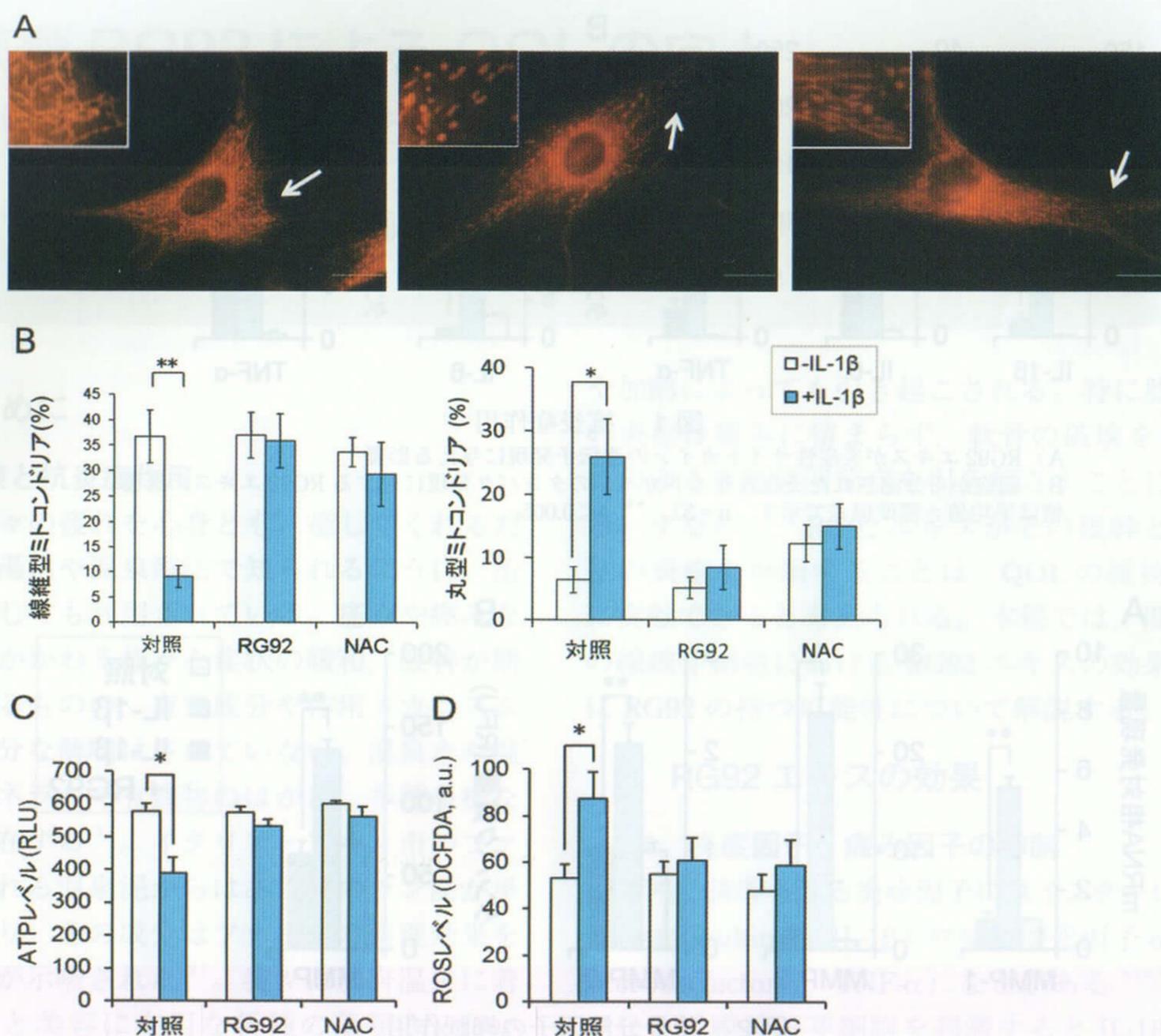


図3 ミトコンドリアの形態変化と機能の正常化

A) ミトコンドリアの蛍光染色像 左から線維型, 丸形, 混合型ミトコンドリアを示す。矢印部分の拡大画像を左上に示す。Bar=20 μm. B) ミトコンドリアの形態に与えるRG92エキスの影響 C) 細胞内ATP量に与えるRG92エキスの影響 D) 細胞内ROS量に与えるRG92エキスの影響 値は平均値±標準偏差で示す (n=3-6)。NAC, N-アセチルシステイン; *, p<0.05; **, p<0.001.

IL-1βは線維型ミトコンドリアを有する細胞の割合を減少させ、丸型ミトコンドリアの割合を増加させる。RG92エキスはこの炎症刺激によるミトコンドリア形態の変調をほぼ正常レベルまで戻した(図3B)。

また、IL-1β刺激は細胞内ATP量を減少、逆にROS量を増加させたが、RG92エキスはIL-1β刺激によるATP産生阻害及びROSの過剰産生を打ち消した(図3C, 図3D)。この結果はRG92が酸化抑制作用を持つ可能性を示唆している。実際に、抗酸化力の評価に用いられる酸素ラジカル吸収能(oxygen radical absorbance capacity, ORAC)の解析では、RG92のORAC値は178.3±0.9 μmol trolox equivalent/gであった。ROS除去作用を持つN-

アセチルシステイン(N-acetylcysteine, NAC)をそれぞれの試験に供したところ、ミトコンドリアの形態変化及び機能においてRG92エキスと同様の挙動を示した(図3B~図3D)。このことから、ヒト滑膜線維芽細胞においてROSがミトコンドリアの形態変化やATP産生に関与していること、そしてRG92が炎症刺激によって誘発される過剰なROS産生を打ち消すことで、ミトコンドリアの形態及び機能を正常化させることが示唆された。

3. おわりに

温泉治療で有名な別府温泉から発見した温泉藻類RG92は、ヒト真皮線維芽細胞やヒト毛乳頭細胞に加えて、ヒト滑膜線維芽細胞においても炎症

刺激に伴う様々な細胞ダメージを緩和した。さらに炎症に伴うミトコンドリアの形態変調や機能の低下を正常化する効果を持ち合わせていた。

炎症反応は体を回復させるために必要なシステムであるものの、適切なケアを怠り炎症が続くとさらなる炎症因子や ROS の産生が誘発され、慢性的な痛みや痒み、腫れなどが引き起こされることとなる。先述したように、関節では過剰な炎症が続くと炎症因子が痛みを増強させるだけでなく、軟骨の破壊を促す。関節の損傷は QOL を著しく低下させてしまうのみならず、健康寿命を縮めることにも繋がる。健康寿命の延伸、QOL の向上は今や国民的課題として様々な取り組みが掲げられている。健康寿命は平均寿命に比例して延びてはいるものの、ここしばらくその差はほとんど縮まっていない。平成 28 年簡易生命表によると、平均寿命と健康寿命の差は男性で約 8.8 年、女性では約 12.4 年であった。健康寿命を延伸するためには適度な運動が推奨されているが、加齢に伴う運動器の障害が健康寿命の延伸を阻んでいるのもまた事実であり、関節症や関節痛に適切に向き合い、早めの対処や予防を実施することが重要である。

本稿において RG92 エキスが肌だけでなく関節の炎症も抑え、美容と健康をともに増進できる機能性原料として幅広く活用できる可能性を示した。RG92 を日常ケアの一部に加えることで、1 日でも長く健康な生活を送る手助けとなることを期待している。別途、食品素材として RG92 粉末原料も開発し、細胞試験、動物試験、ヒト試験に

おいて、メタボリックシンドロームの予防・改善に有用であることが示された¹⁴⁾。今後も温泉藻類 RG92 のさらなる可能性を追求し、多方面から QOL の向上をサポートする研究開発を続けていきたい。

謝辞

本研究を実施するにあたり、RG92 の培養を行っていただいた当研究所の山下尚輝研究員、青龍若菜研究員に感謝致します。ヒト滑膜線維芽細胞を譲渡頂きました京都産業大学現代社会学部の石飛博之助教、広島大学病院未来医療センターの味八木 茂講師に感謝申し上げます。

参考文献

- 1) H. Hou et al., *PLoS ONE*, **8** (1), e53350 (2013)
- 2) V. Ulivi et al., *Arthritis. Res. Ther.*, **13** (3), R92 (2011)
- 3) M. Miyata et al., *Altern. Ther. Health Med.* (in press)
- 4) 宮田光義 他, 温泉科学, **68** (3), 204~215 (2018)
- 5) J.B. Driban et al., *J. Biomed. Biotechnol.*, **2011**, 691412 (2011)
- 6) M. Rojas-Ortega et al., *Pathol. Res. Pract.*, **211** (6), 435~443 (2015)
- 7) W.H. Su et al., *Mediators Inflamm.*, **2010**, 413238 (2010)
- 8) G. Pap et al., *Pathol. Res. Pract.*, **194** (1), 41 ~ 47 (1998)
- 9) M.V. Gurjar et al., *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, **281** (6), H2568~2574 (2001)
- 10) M. Picard et al., *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, **304** (6), R393~406 (2013)
- 11) C.K. Mifude et al., *Mol. Med. Curr. Aspects.*, **1** (1), 003 (2017)
- 12) 宮田光義 他, 温泉科学, **68** (3), 216~223 (2018)
- 13) 齋藤 愛 他, *Med. Sci. Digest.*, **44**(10), 42~43 (2018)
- 14) K. Kaseda et al., *Pharmacol. Res.*, **152** (2020)

Kimila CHEMICAL COMMUNICATIONS

化粧品・医薬部外品原料 お任せ下さい

木村産業株式会社

〒103-0023 東京都中央区日本橋本町4-9-2
Tel.(03)3663-3551 Fax.(03)3661-1168
<http://www.kimsco.co.jp>

Improvement of QOL by a hot spring-derived microalga RG92: Anti-inflammatory effects in fibroblast-like synoviocytes

Abstract : Hot spring baths are known to relieve various inflammation-related symptoms. However, scientific evidence of the benefits has not been established well. A wide variety of microorganisms inhabit hot springs, and their components have been suggested to play a pivotal role in the therapeutic effects of hot springs. We have previously discovered *Mucidosphaerium* sp. RG92, which shows remarkable anti-inflammatory effect in human primary skin cells, from a Beppu hot spring. The RG92 extract down-regulated the gene expression of pro-inflammatory cytokines and the related factors (TNF- α , IL-1 β , IL-6, MMP-1,3,9, and COX-2) in fibroblast-like synoviocytes pre exposed to IL-1 β . The protein level of the risk factors was concomitantly reduced. Additionally, the algal extract cancelled the effect of IL-1 β stimulation on mitochondrial morphology and functions in the cells. Furthermore, we found that the algal extract showed anti-oxidant effects. In conclusion, RG92 shall be useful for the prevention of joint inflammatory disorders, thereby improving health expectancy along with QOL.

Key words : RG92, Beppu hot spring, microalgae, anti-inflammatory effect, synoviocyte



Ai S. Takayama^{*1} Mitsuyoshi Miyata^{*2} Chie K. Mifude^{*3} Shunsuke Iwata^{*4} Hiroyuki Kobayashi^{*5} Kuniyoshi Kaseda^{*6}

^{*1-4,*6} SARABiO Onsen Probiotic Lab.co.Ltd.

株式会社 SARABiO 温泉微生物研究所
〒 874-0842 大分県別府市大字鶴見 1356-6

^{*5,*6} Department of Hospital Administration, Juntendo University School of Medicine

順天堂大学 医学研究科 病院管理学
〒 113-8421 東京都文京区本郷 2-1-1

^{*1} 2017年三重大学大学院 地域イノベーション学研究科 地域イノベーション学専攻 修了,
2018年(株) SARABiO 温泉微生物研究所 入社, 研究員。

^{*2} 2010年東京海洋大学大学院 海洋科学技術研究科 応用生命科学専攻 修了, 海洋科学博士。
2013年(株) SARABiO 温泉微生物研究所 入社, 首席研究員。

^{*3} 2008年長崎国際大学 健康管理学部 健康栄養学科 卒業,
2011年(株) SARABiO 温泉微生物研究所 入社。RG 培養管理センター 副センター長, 主任研究員。

^{*4} 2012年大分大学大学院 工学研究科 応用化学専攻 修了,
同年, (株) SARABiO 温泉微生物研究所 入社, RG 培養管理センター センター長, 主任研究員。

^{*5} 1987年順天堂大学 医学部卒業,
1992年同大学大学院 医学研究科 修了,
ロンドン大学付属英国王立小児病院外科, トリニティ大学付属医学研究センター, アイルランド国立小児病院外科での勤務を経て,
順天堂大学小児外科講師・助教授を歴任。現在, 順天堂大学 医学研究科 病院管理学 教授。

^{*6} 1999年九州工業大学大学院 情報工学研究科 情報科学専攻 修了, 情報工学博士。
産業技術総合研究所, マリーキュリー研究所 博士研究員を経て,
2010年(株) SARABiO 温泉微生物研究所 入社。現在, 同社 専務取締役, 所長, 順天堂大学 医学研究科 病院管理学 協力研究員。