

〔研究ノート〕

ハーブティーの摂取がヘアレスマウスの皮膚機能に及ぼす影響

渡辺睦行・森 彩子

Effect of Herb Tea Intake on Skin Function of Hairless Mice

Nakamichi WATANABE and Ayako MORI

Ultraviolet (UV) rays are suggested to be one of the factors responsible for skin photoaging induced by active oxygen species. In recent years, it has been reported that the intake of some compounds such as carotenoids prevented UV-induced photoaging. This study aims to investigate the effect of herb tea intake on the skin function of hairless mice irradiated with UV rays. The mice were given the following types of herb tea: *Lavandula angustifolia*, *Malva sylvestris*, *Calluna vulgaris*, *Rosa laevigata*, and *Emblica officinalis*. The skin condition of the *Malva sylvestris*-given mice was the best among all the experimental mice groups. *Malva sylvestris* had the lowest antioxidant activity and total polyphenolic content. While we could not identify the underlying mechanism, we infer that the long-term intake of herb tea such as *Malva sylvestris* increases the barrier function of the corneum and the water content of the epidermis.

Key words: herb tea (ハーブティー), skin function (皮膚機能), TEWL (経皮水分蒸発量), UV (紫外線)

1 緒 言

太陽光線に含まれる紫外線は、その波長により UVA (320~400 nm), UVB (290~320 nm), UVC (190~290 nm) に分類されている⁽¹⁾。このうち、UVC はオゾン層で遮断され地上には届かないため、我々の皮膚への影響を考える上で重要なのは UVA と UVB である⁽²⁾。UVA と UVB には共に、表皮にて過酸化脂質をはじめとする活性酸素種を発生させ、細胞膜の損傷を引き起こすことが示されている⁽³⁾。活性酸素種は通常細胞内代謝活動によっても恒常的に産生されているが、スーパーオキシドディスムターゼ (SOD) をはじめとする生体内の抗酸化防御機構によって消去されている⁽³⁾。しかし、紫外線の照射により多量の活性酸素が発生し、生体の抗酸化防御の能力を超えた時、シミやシワなどを

伴う光老化だけでなく、日光角化症や皮膚癌などが引き起こされると言われている⁽⁴⁾。

一方、紫外線防御を目的とした様々な素材が開発されており、化粧品では日焼け止めと活性酸素消去能をあわせ持つ「サンスクリーン剤」が最も幅広く使用されている⁽⁵⁾。また米国では、古くから光老化皮膚の治療としてレチノイン酸の塗布が行われている⁽⁶⁾。レチノイン酸は、紫外線誘発酵素であり皮膚の光老化を促進するコラゲナーゼ (matrix metalloproteinase 1, MMP-1) やゼラチナーゼ (matrix metalloproteinase 2, MMP-2) の活性阻害剤であり、長期の塗布では真皮でのコラーゲン繊維の産生に伴う皮膚の再生が期待されている^(1, 6)。

最近になって、摂取することによって紫外線防御効果を発揮する食品成分も報告され始めている。例えば、経口摂取したβ-カロテンは、皮膚に移行し

蓄積することが知られている。 β -カロテンやリコペン等のカロテノイドは分子内に共役二重結合を持つことから、一重項酸素の消去能や活性酸素捕捉能を有し、紫外線の暴露によって引き起こされる皮膚の光老化を予防すると言われている^(3, 7)。

その他、光老化に対するハーブの有効性に関する報告も多くなされており、既にいくつかの化粧品にはハーブ抽出液が添加されている。また、ハーブティーには美肌・美白作用や色素沈着予防作用、肌の新陳代謝促進作用を有するもの等、肌に良い効果をもたらすと言われているものが多く存在している⁽⁸⁾。しかし、ハーブティーの摂取による皮膚機能の改善に関する報告は殆どなく、科学的根拠に乏しい。

そこで、本研究では「肌に良い」と言われ古くから広く利用されているハーブをとりあげ、ヘアレスマウスをモデル動物とした実験系において、ハーブティーの摂取が皮膚機能改善効果および紫外線防御効果を示すかどうかを検討した。

2 実験方法

2.1 使用動物および飼育条件

8週齢のHos: HR-1 雌性マウスを三協ラボサービス株式会社より購入し、市販の固形飼料MF（オリエンタル酵母株式会社）にて1週間の予備飼育を行った後、飲料水の違いにより6群（ $n=3$ ）に分け、40日間の本飼育を行った。本試験開始後も、同様に固形飼料を与え、飲料水としては、蒸留水、ハーブティー5種類のいずれかを与え、飼料・飲料水ともに自由摂取とした。試験期間中は毎日飲水量の測定を行った。試験開始後34日目～40日目まで7日間連続で紫外線の照射を行った。皮表角層水分量は40日目に、経皮水分蒸発量（TEWL）は3, 10, 18, 24, 34, 40日目に測定した。本試験最終日に断頭屠殺にて解剖を行い、背部皮膚を摘出し、10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。動物飼育室は、室温 $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度60%、明暗サイクル12時間（照明時間：8時～20時）に設定し、実験動物は、各群3匹ずつ、全てプラスチック製のケージにて飼育した。本研究は昭和女子大学実験動物委員会の承認を得た後、動物実験倫理規定に従い実施した。

2.2 ハーブティーの調製

市販のドライハーブ5種、ラベンダー（*Lavandula angustifolia*）、マローブルー（*Malva sylvestris*）、エリカ（*Calluna vulgaris*）、ローズヒップ（*Rosa laevigata*）、アムラフレーバー（*Emblica officinalis*）を購入し、乳鉢にて粉末状になるまですり潰した。粉末状にした各試料0.25gに沸騰した蒸留水100mLを加え、3分抽出後ろ過したものを試験用ハーブティーとした。調製したハーブティーは、 4°C にて遮光保存した。

2.3 紫外線照射

HR-1マウスを1匹ずつガラス製のビーカーに入れ、UVBランプ（FL20SE-30/DMR 東芝医療用品株式会社）にて、紫外線 0.3 mW/cm^2 を試験開始34日目から1日1回3分間、最終日のみ20分間照射した。

2.4 皮表角層水分量

皮表角層水分量の測定は、皮表角層水分量測定装置SKICON-200EX（アイ・ビー・エス株式会社）を用いて測定を行った。HR-1マウスの背部を3回測定し、その平均値を求めた。

2.5 経皮水分蒸発量（Transepidermal Water Loss, TEWL）

経皮水分蒸発量（TEWL）の測定は、携帯型水分蒸散量測定装置モバイルテヴァメーターMSC100/TM300（株式会社インテグラル）を用いて行った。

2.6 皮膚の組織観察と表皮の厚さの計測

皮膚をHE（Hematoxylin eosin）染色した後、CS-T15型生物顕微鏡（カートン光学株式会社）にて、角質細胞層+顆粒細胞層の厚さ、および表皮全体（角質細胞層+顆粒細胞層+有棘細胞層+基底細胞層）の厚さを各50箇所測定し、その平均値を求めた。

2.7 DPPHラジカル消去能の測定

ハーブティーの抗酸化性の測定をDPPHラジカル消去能により行った。すなわち、各ハーブティー

300 μ L に DPPH 80% メタノール溶液 (75 μ M/80%MeOH) を 2700 μ L 加え, 30 分間放置した後, 520 nm における吸光度を測定した。ポジティブコントロールには 0.2 mM Trolox を用いた。

2.8 総ポリフェノール濃度の測定

ハーブティーのポリフェノール濃度は Folin-Ciocalteu 法により定量した⁽⁹⁾。すなわち, 各ハーブティー 1 mL とフェノール試薬 1 mL を混合し, 3 分間放置後, 10%炭酸ナトリウム 1 mL を加え, 混和後室温で 1 時間放置した。これを 3000 rpm にて 15 分間遠心分離した後, 上清の吸光度を 770 nm にて測定した。クエルセチン溶液で求めた検量線により総ポリフェノール量を算定した。

2.9 統計処理

データは平均値±標準誤差で示し, ダンカンの多重比較にて群間の差を検定した。有意水準 5% 以下の場合を有意差ありとした。

3 結果

3.1 体重およびハーブティーの摂取量

試験期間中の体重の変化に有意差はみられなかった。1 日当たりのハーブティーの摂取量を図 1 に示した。各群間において有意差はみられなかった。

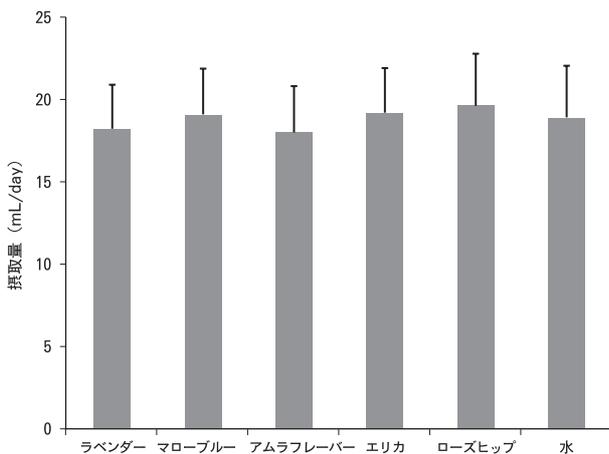


図 1 1 日当たりのハーブティー摂取量
データは平均値±標準誤差で示した。

3.2 皮表角層水分量

皮表角層水分量の結果を図 2 に示した。マローブルー, エリカ群の皮表角層水分量は, ローズヒップ, ラベンダー群と比べて有意に高かった。

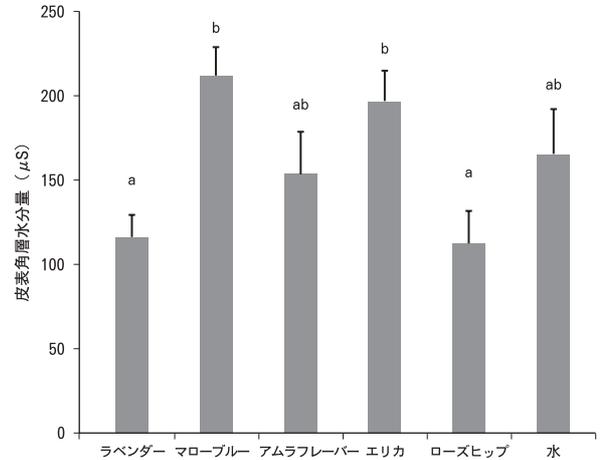


図 2 皮表角層水分量
データは平均値±標準誤差で示した。
a, b: 異なる記号は有意差 (P<0.05) を示す。

3.3 経皮水分蒸発量 (TEWL)

試験期間中の TEWL の変化を図 3 に示した。TEWL は, 紫外線照射前 (34 日目) からすでに差がみられ, ローズヒップ群は他群と比較して有意に高かった。また, 紫外線照射後 (40 日目) では, TEWL はマローブルー群以外で有意に上昇しており, マローブルー, アムラフレーバー群はローズヒップ, 水群と比較して有意に低かった。

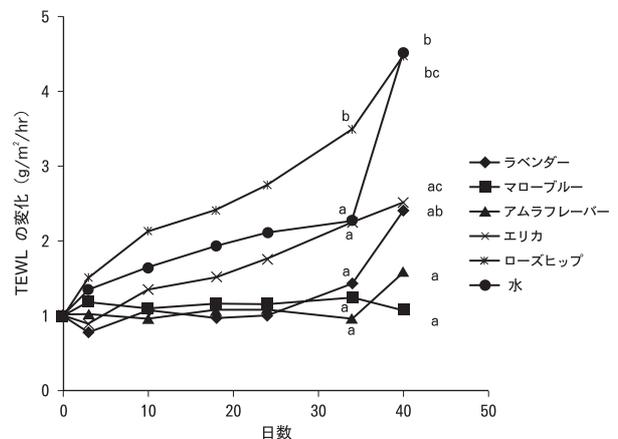


図 3 経皮水分蒸発量 (TEWL) の変化
データは平均値で示した。
a, b, c: 異なる記号は有意差 (P<0.05) を示す。

3.4 皮膚断面の観察

角質細胞層+顆粒細胞層の厚さを図4に示した。ラベンダー、マローブルー、ローズヒップ群は、アムラフレーバー、エリカ、水群と比較して角質細胞層+顆粒細胞層の厚さが有意に薄かった。表皮の厚さを図5に示した。表皮はラベンダー群で最も薄く、ラベンダー<マローブルー<ローズヒップ<エリカ<水<アムラフレーバーの順であった。

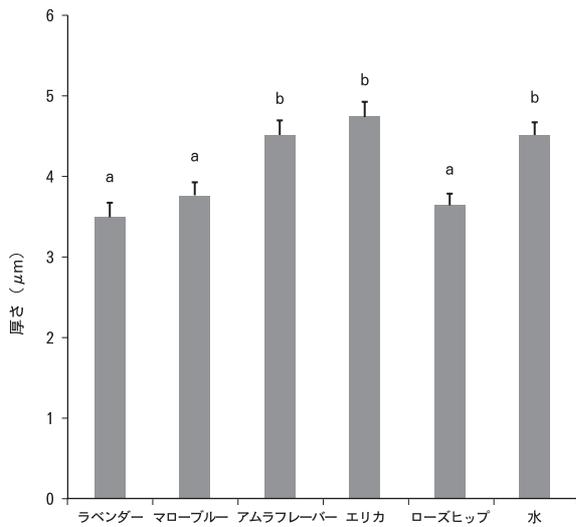


図4 角質細胞層+顆粒細胞層の厚さ
データは平均値±標準誤差で示した。
a, b: 異なる記号は有意差 (P<0.05) を示す。

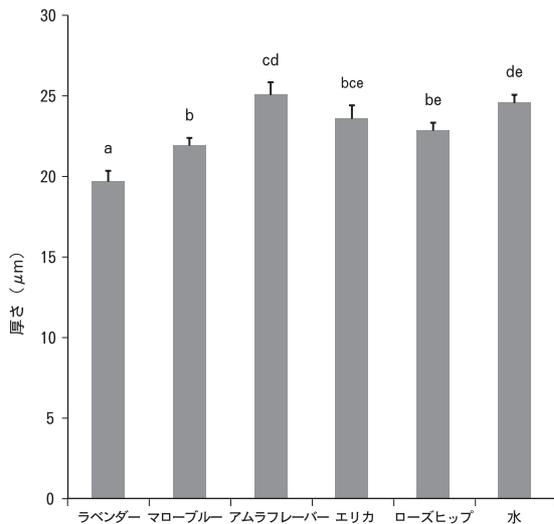


図5 表皮全体の厚さ
データは平均値±標準誤差で示した。
a, b, c, d, e: 異なる記号は有意差 (P<0.05) を示す。

3.5 DPPH ラジカル消去能の測定

DPPH ラジカル消去能の結果を図6に示した。本試験で用いた全てのハーブティーにDPPH ラジカル消去能がみられたが、マローブルーの消去能は、他のハーブと比較して有意に低かった。

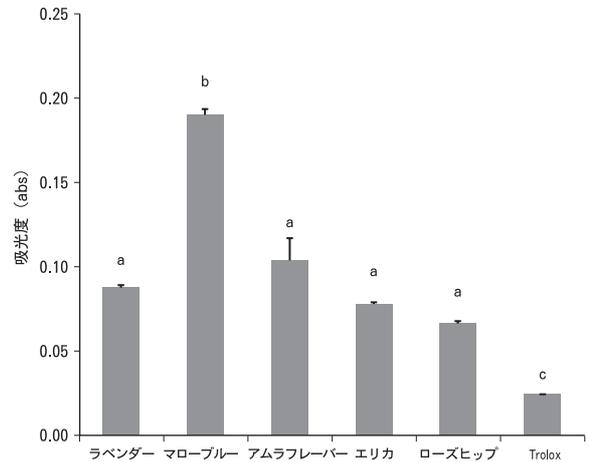


図6 DPPH ラジカル消去能
データは平均値±標準誤差で示した。
a, b, c: 異なる記号は有意差 (P<0.05) を示す。

3.6 総ポリフェノール濃度の測定

各ハーブティーの総ポリフェノール濃度を図7に示した。総ポリフェノール濃度は、ラベンダーで最も高く11.7 mg/100 mLで、ラベンダー>エリカ>ローズヒップ>マローブルー>アムラフレーバーの順であった。

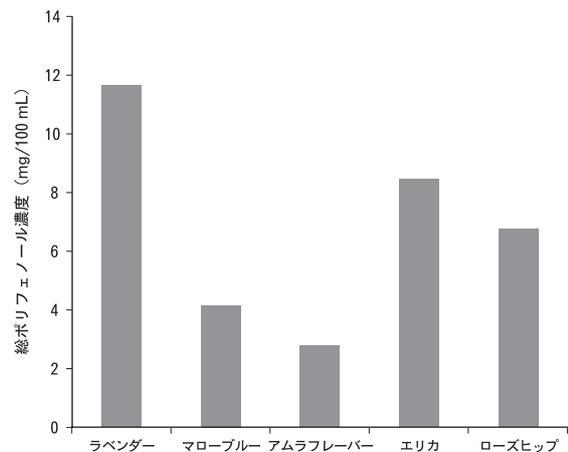


図7 総ポリフェノール濃度
データは平均値で示した。

4 考 察

本研究では、マローブルー群で高い皮表角層水分量と低い経皮水分蒸発量 (TEWL) を示し、光学顕微鏡を用いた組織観察でも紫外線照射による角質細胞層の損傷は少なく、表皮の肥厚も最も抑えられていた。よって、マローブルーの摂取は使用したハーブの中で最も皮膚に良い影響をもたらしていることが示された。

植物由来の保湿作用を有する成分としては多糖類やオリゴ糖、ペプチド等が報告されているが、マローブルーには多糖類が多く含まれている⁽¹⁰⁾。多糖類には保湿作用の他、かゆみの緩和作用、抗補体作用による免疫能強化や炎症抑制作用が見出されており、化粧品としても利用されている⁽¹¹⁾。また、マローブルーの花序の抽出物には、皮膚の老化防止を目的として用いられているレチンと同様に、真皮および表皮の代謝を調節する作用を有する成分が含まれていることが報告されている⁽¹²⁾。マローブルーの摂取によって、これらの成分がそのままの形で吸収され、皮膚にまで移行すれば、皮膚に対する良い作用が期待される。

食品成分を摂取することで皮膚の光老化を抑制する試みは多く、果物や野菜に多く存在する β -カロテンやリコペンなどのカロテノイドを摂取することにより、紫外線暴露に伴い皮膚に蓄積する活性酸素種による酸化障害が抑制されるという報告がなされている⁽³⁾。しかしながら本研究において使用したマローブルーは、他のハーブと比較して総ポリフェノール含量が少なく、抗酸化能も弱かった。ホタテガイ貝殻有機成分の塗布は、角化細胞増殖因子 (KGF) の産生、角化細胞からのインターロイキン 1 (IL-1) の合成・分泌を増加させ、角化細胞のターンオーバー速度を亢進することで、紫外線傷害を与えた皮膚の表皮の肥厚を抑制し、治癒速度を促進することが報告されており⁽¹³⁾、マローブルーによる表皮の肥厚抑性は、KGF や IL-1 の産生と関係がある可能性もあるが、今後の検討課題である。

一方、ローズヒップは、一般に肌の新陳代謝促進や老化防止など皮膚に良い効果をもたらすとされ広

く使用されているが、本研究の条件においては皮表角層水分量の低下および経皮水分蒸発量 (TEWL) の上昇が認められ、角質細胞層の肥厚も大きかった。ローズヒップはビタミン C を豊富に含み、リノール酸やリノレン酸を高濃度に含有しているため、化粧品や老化抑制化粧品に利用できるという報告⁽¹⁴⁾がある一方で、ローズヒップには DPPH ラジカル消去能がみられなかったとの報告もされている⁽¹⁵⁾。

光老化皮膚に対するハーブの効果や影響については未だ不明な点も多く、特にハーブティーを摂取した場合の報告は殆どみられない。しかし本研究においては、そのメカニズムは明らかではないものの、マローブルーなどのハーブティーを長期間摂取することによって、皮膚の保湿能やバリア機能が高まることが示唆された。

皮膚に良い効果をもたらすと期待されているハーブは本研究で用いたもの以外にも多数あり、またこれらハーブを単一で摂取するのではなく、複数のハーブをブレンドすることで各ハーブの相乗効果が期待されている。今後ハーブ中の有効成分の同定と、作用機序の解明が必要である。

5 要 約

市販のドライハーブ 5 種、ラベンダー、マローブルー、エリカ、ローズヒップ、アムラフレーバーを用いて、ハーブティーの摂取がヘアレスマウスの皮膚機能に及ぼす影響について検討した。マローブルーを摂取したマウスは、他群と比較して紫外線照射による角質細胞層の損傷が少なく、表皮の肥厚も最も抑えられていた。しかし、マローブルーは他のハーブと比較すると総ポリフェノール含量が少なく、DPPH ラジカル消去能も低かったため、マローブルーが皮膚に良い影響を与えるメカニズムを明らかにすることは出来なかった。

6 参考文献

- (1) 大林恵, 光老化に対するハーブの有効性, *Fragrance Journal*, Vol. 29 No. 5, 58-64, 2001.
- (2) Lenaers C., Boudier D., Barruche V., *Cross*

- B., 正常ヒトケラチノサイトにおける UV-B 誘発性光産物のモデリング評価, *Fragrance Journal*, Vol. 36 No. 2, 75-79, 2008.
- (3) 坂東紀子, 寺尾純二, カロテノイド摂取による皮膚の光酸化障害の抑制とそのメカニズム—食事由来のカロテノイドは皮膚の老化を抑えるか?—, *Bio Industry*, No. 8, 30-36, 2003.
- (4) 川田暁, 光老化皮膚のメカニズムとその予防, *日本皮膚科学会雑誌*, Vol. 114 No. 12, 1875-1880, 2004.
- (5) 関根知子, 特集「紫外線吸収剤」の企画と編集にあたって, *オレオサイエンス*, Vol. 7 No. 9 (2), 346, 2007.
- (6) 堀井和泉, しわ発生メカニズムとその改善, *日本化粧品科学会誌*, Vol. 25 No. 2, 91-95, 2001.
- (7) 水谷友紀, 坂田修, 星野拓, 本田佳子, 山下美香, 荒金久美, 鈴木正, カロテノイドの光老化予防効果と化粧品への応用, *日本化粧品学会誌*, Vol. 29 No. 1, 9-19, 2005.
- (8) 特定非営利活動法人日本メディカルハーブ協会検定委員会監修, *メディカルハーブ検定テキスト*, 池田書店, 68-70, 2007.
- (9) 竹山恵美子, カットマンゴの褐変抑制に関する基礎的研究, *昭和女子大学, 学苑*, 794, 56-59, 2006.
- (10) 大戸信明, 堤龍彦, 新しい保湿剤の特性と効果 植物エキスおよびその成分の保湿作用, *Fragrance Journal*, No. 17 (臨時増刊号), 116-122, 2000.
- (11) Eggensperger H., Bauer P., Wilker M., 可能性を秘めた植物抽出物, *Parfum Kosmet*, Vol. 80 No. 7/8, 10-12, 1999.
- (12) Jouandeaud-Le Guillou Maud, Bordes Sylvie, Soulie Catherine, Closs Brigitte, Andre Patrice, 真皮ならびに表皮の代謝の促進 老化防止への取り組み, *Cosmet Toiletries*, Vol. 120 No. 6, 97-98, 2005.
- (13) 部田茜, ホタテガイ貝殻に含まれる有機成分の皮膚組織に対する生理活性作用, *室蘭工科大学学位論文*, 2006.
- (14) 小野崎孝夫, ローズヒップ油の特性と応用, *Fragrance Journal*, Vol. 17 No. 12, 19-22, 1989.
- (15) 梶本五郎, 村上智嘉子, 各種市販茶の抗酸化性とそれらの成分, *日本栄養・食糧学会誌*, Vol. 52 No. 4, 209-218, 1999.

(わたなべ なかみち 健康デザイン学科)

(もり あやこ 平成 20 年度生活科学科卒業生)