

皮膚のアンチエイジング成分として期待されるアンヌルカ (*Malus pumila* Miller cv. Annurca) リンゴオレオライト： 南イタリアで実施された *in vitro* アッセイと RCT の結果から



画像[1]はイメージです

南イタリアのフェデリコ 2 世ナポリ大学薬学部 (Department of Pharmacy, University of Naples Federico II [2,3]) の研究グループが 2024 年 1 月の International Journal of Molecular Sciences 誌に発表した研究論文によると [4]、抗酸化作用を有し、ニキビの抑制、肌荒れの予防、表皮透過性の調整など、さまざまな用途の局所用製剤の機能性成分として広く使用されているウルソール酸 (ursolic acid : UA) の重要な食物源がリンゴ果実であり、その多くの品種の中でもアンヌルカリンゴ (Annurca apple : AA) は最も UA 豊富な供給源の一つであることが明らかにされているとのこと。

AA のポリフェノール部分の栄養補助食品 (nutraceutical) としての可能性は、これまで、血漿コレステロール値への有益な効果、毛髪向性 (hair tropism)、抗糖尿病効果などから広く説明されており、加えて、毒性作用がないことも明らかにされているのに対し、AA トリテルペン画分の栄養補助食品および機能性化粧品 (cosmeceutical、以降「コスメシューティカル」) としての可能性についてはまだあまり知られていないのが現状です。

そこで同研究グループは、まず AA オレオライト (AA oleolite : AAO) のそのような可能性を探るため、検証済みの酵素分光光度法 *in vitro* アッセイにより、エラスターゼ酵素に対する活性を調べました。エラスターゼはエラスチンを分解する酵素で、重度の弾力線維症 (elastosis)、脱水 (dehydration)、しわ (wrinkling) などを引き起こすとされています。

次に、AAO が示す抗エラスターゼ活性による皮膚耐容性の確認後、弾力 (elasticity)、ハリ (firmness)、粗さ (roughness) など、さまざまな皮膚老化関連パラメータを有する 40 人の被験者を対象として、AAO をベースとした局所製剤の有効性を評価するために二重盲検臨床試験 (cosmetic double-blind clinical trial) を実施することとしました。

エラスターゼ阻害試験

既述の通り、エラスターゼは皮膚の老化プロセスにおいて極めて重要な役割を果たしているため、この酵素を阻害することは皮膚の弾力性低下とそれに関連するしわを管理するための予防的アプローチの可能性を示しています。コスメシューティカル処方における潜在的なアンチエイジング機能成分としての AAO の能力を評価するために、AAO のエラスターゼに対する *in vitro* 阻害活性を調べたところ、AAO は濃度依存的にエラスターゼ活性を阻害する顕著な能力を示し、その 50%抑制濃度 (IC₅₀) は 212.76 µg/mL でした。さらに、UA がエラスターゼ阻害の主要分子であるという仮説を裏付けるために純粋な UA を測定したところ、IC₅₀ は 135.24 µg/mL となり、AAO の約 2 倍の活性を示しました。また、ポジティブ・コントロールとして、エラスターゼ酵素の活性部位で銅に対する強力なキレート特性を持つケルセチンについて調べたところ、予想通り、その IC₅₀ は 72.49 µg/mL で、今回の研究で最も低い計算値でした。

皮膚粘弾性評価

in vitro アッセイで明らかとなったエラスターゼの酵素活性に関する有望な結果を確認するべく、被験者の皮膚の粘弾性特性を高めるために処方された AAO の能力について、空気減圧システムと光学的変位測定により皮膚の柔軟性 (pliability) / 硬さ (firmness) と総弾性率 (gross elasticity) をモニターしました。この *in vivo* アッセイを通じて、*in vitro* で実証された AAO のエラスターゼ阻害作用は、皮膚バイオメカニクスの全体的な改善に直接関連づけることができるとされています。

表 1 に示すように、AAO は、2.5%_{w/w} の局所濃度で使用した場合、時間依存的に顕著な皮膚の弾力性 (elasticizing) と引き締め (firming) 活性を示しました。総弾性率 (R₂) は、治療開始から 14 日目 (D₁₄) と 28 日目 (D₂₈) でそれぞれ 14.0%、28.0% 上昇し、同様に張り (tonicity) については、治療開始から 14 日目と 28 日目でそれぞれ -9.0%、-13.0% の平均変動率を記録し、AAO の局所適用による改善が認められました。一方、プラセボ処方では、皮膚バイオメカニクスの改善において同様の効果は認められませんでした。

表 1. 2.5%_{w/w} AAO またはプラセボによる治療前後の皮膚バイオメカニクス特性 (R₀ および R₂ 平均値 ± SD)

	来院日 パラメータ	ベースライン (D ₀) 平均値 ± SD	Day 14 (D ₁₄) 平均値 ± SD	Δ% vs. D ₀	Day 28 (D ₂₈) 平均値 ± SD	Δ% vs. D ₀
2.5% _{w/w} AAO	皮膚の柔軟性/硬さ (R ₀)	0.355 ± 0.024 mm	0.322 ± 0.014 mm	-9.0% *** \$\$\$	0.308 ± 0.028 mm	-13.0% *** \$\$\$
	総弾性率 (R ₂)	0.602 ± 0.066%	0.676 ± 0.052%	14.0% *** \$	0.759 ± 0.071%	28.0% *** \$\$\$
プラセボ	皮膚の柔軟性/硬さ (R ₀)	0.308 ± 0.047 mm	0.342 ± 0.037 mm	8.0%	0.342 ± 0.037 mm	12.0%
	総弾性率 (R ₂)	0.507 ± 0.044%	0.521 ± 0.041%	3.0%	0.526 ± 0.038%	4.0%

t-test vs. D₀ *** p < 0.001; ANOVA vs. Placebo \$ p < 0.05, \$\$\$ p < 0.001

参考 URL 4 より引用・改変

皮膚の水分補給と皮膜修復作用

AAO の局所処方が皮膚の水分補給状態を改善する能力を調査するために、登録被験者の皮膚コンダクタンス——水の誘電率が他の多くの物質よりも高いことから、その電気的特性を評価することにより、皮膚の水分補給を非侵襲的に測定する方法——と経表皮水分喪失 (trans epidermal water loss : TEWL) を異なる時点で測定しました。

表 2 に示すように、皮膚コンダクタンスの結果から、AAO の初回塗布時から角質層の水分含量が高いことが明らかとなりました（1 時間後：17.8%、24 時間後：17.2%）。この短期試験で得られた結果は、長期試験終了時にさらに確認されました（14 日目：20.0%、28 日目：25.0%）。同様に、TEWL 測定では、短期投与（1 時間後：-13.2%、24 時間後：-13.4%）および長期投与（14 日目：-17.0%、28 日目：-23.0%）の両方で、対になっていない皮膚バリアに対する回復作用が示唆されました。AAO は、これらの皮膚状態に有意な効果を示さなかったプラセボ（vehicle formulation）と統計的に有意な差をもって、皮膚のバリア状態を改善し、保湿を促進することが明らかとなりました。

表 2. 2.5%_{w/w} の AAO またはプラセボを 1 回塗布する前後（短期試験）および 28 日間の治療期間中（長期試験）の皮膚の水分補給および皮膜修復活性（コルネオメトリーおよび TEWL の平均値±SD）

短期試験

	検査 パラメータ	ベースライン 平均値 ± SD	1 時間後 (1 h) 平均値 ± SD	Δ% vs. ベースライン	24 時間後 (24 h) 平均値 ± SD	Δ% vs. ベースライン
	2.5% _{w/w} AAO	皮膚コンダクタンス (コルネオメトリー)	29.6 ± 1.8 A.U.	34.8 ± 5.9 A.U.	17.8% *** \$	34.6 ± 3.8 A.U.
経皮水分喪失 (TEWL)		9.0 ± 0.5 g/hm ²	7.8 ± 1.1 g/hm ²	-13.2% *** \$\$	7.8 ± 1.1 g/hm ²	-13.4% *** \$\$
プラセボ	皮膚コンダクタンス (コルネオメトリー)	32.0 ± 9.7 A.U.	33.3 ± 10.2 A.U.	4.8% NS	32.0 ± 9.6 A.U.	1.3% NS
	経皮水分喪失 (TEWL)	7.7 ± 1.4 g/hm ²	7.8 ± 1.3 g/hm ²	3.5% NS	7.9 ± 2.4 g/hm ²	4.1% NS

長期試験

	来院日 パラメータ	Day 0 (D ₀) 平均値 ± SD	Day 14 (D ₁₄) 平均値 ± SD	Δ% vs. D ₀	Day 28 (D ₂₈) 平均値 ± SD	Δ% vs. D ₀
	2.5% _{w/w} AAO	皮膚コンダクタンス (コルネオメトリー)	29.6 ± 1.8 A.U.	35.6 ± 3.7 A.U.	20.0% *** \$\$\$	37.0 ± 3.2 A.U.
経皮水分喪失 (TEWL)		9.0 ± 0.5 g/hm ²	7.5 ± 0.8 g/hm ²	-17.0% *** \$\$\$	6.9 ± 0.7 g/hm ²	-23.0% *** \$\$\$
プラセボ	皮膚コンダクタンス (コルネオメトリー)	31.0 ± 4.4 A.U.	31.9 ± 4.4 A.U.	3.1% NS	32.3 ± 4.9 A.U.	4.3% NS
	経皮水分喪失 (TEWL)	7.7 ± 1.4 g/hm ²	7.9 ± 1.1 g/hm ²	5.0% NS	8.2 ± 1.3 g/hm ²	8.0% NS

t-test vs. D₀ *** $p < 0.001$; ANOVA vs. Placebo \$ $p < 0.05$, \$\$ $p < 0.01$, \$\$\$ $p < 0.001$, NS $p > 0.05$, A.U. arbitrary units

参考 URL 4 より引用・改変

さらに、先に述べた皮膚の弾力性と水分補給の関係を確認するために、異なる時点（D₀、D₁₄、D₂₈）で得られた実験的な皮膚の水分補給と弾力性との相関について調査したところ、AAO による治療が基底状態を攪乱（disrupt）し、より高い保湿度と弾力値を持つ集団をもたらすことが示されました。具体的には、AAO 治療が皮膚の自然な状態に摂動（perturbation）を引き起こし、水和値と弾力値を増加させることがわかりました。また、AAO 治療中、集団は摂動を受けた結果、水分補給と弾力性の間に直線的な傾向が認められ、オレオライトが両方の面で皮膚を刺激することによって作用することが示されました。これは、分布プロファイルに乱れが生じなかったプラセボ群とは対照的でした。したがって、このことは皮膚の保湿と弾力性の改善を目的としたスキンケア製品における化粧品成分としての AAO の使用の可能性を示唆しているものと考えられます。

しわと小じわ (Wrinkles and Fine Lines)

加齢のプロセスは、主に真皮のコラーゲンと弾性線維の変化を通して、皮膚の構造と機械的特性の両方を変化させ、その結果、皮膚にはしわが増えるとされています。顕微鏡的には、皮膚表面の細かい網目が減り、それぞれのしわは目立つようになり、その幅と高さは加齢とともに増加します。

今回の研究では、VISIA 7th (Canfield Scientific Inc.、米国ニュージャージー州パーシッパニー [5]) により検出された額の皺と眉間のしわが、AAO 群では、ベースラインと比較して 14 日目 (D₁₄) と 28 日目 (D₂₈) でそれぞれ、-6.1%と-7.2%の統計的に有意な減少が経時的に認められました (図 1)。同様に、鼻唇溝 (nasolabial folds) は、プラセボ投与群とは対照的に、AAO 外用による 14 日、28 日間の治療期間中に-3.0%、-5.0%それぞれ減少しました (図 2)。これらの結果から、最も典型的な皮膚老化障害の治療における AAO の有効性が実証されました。

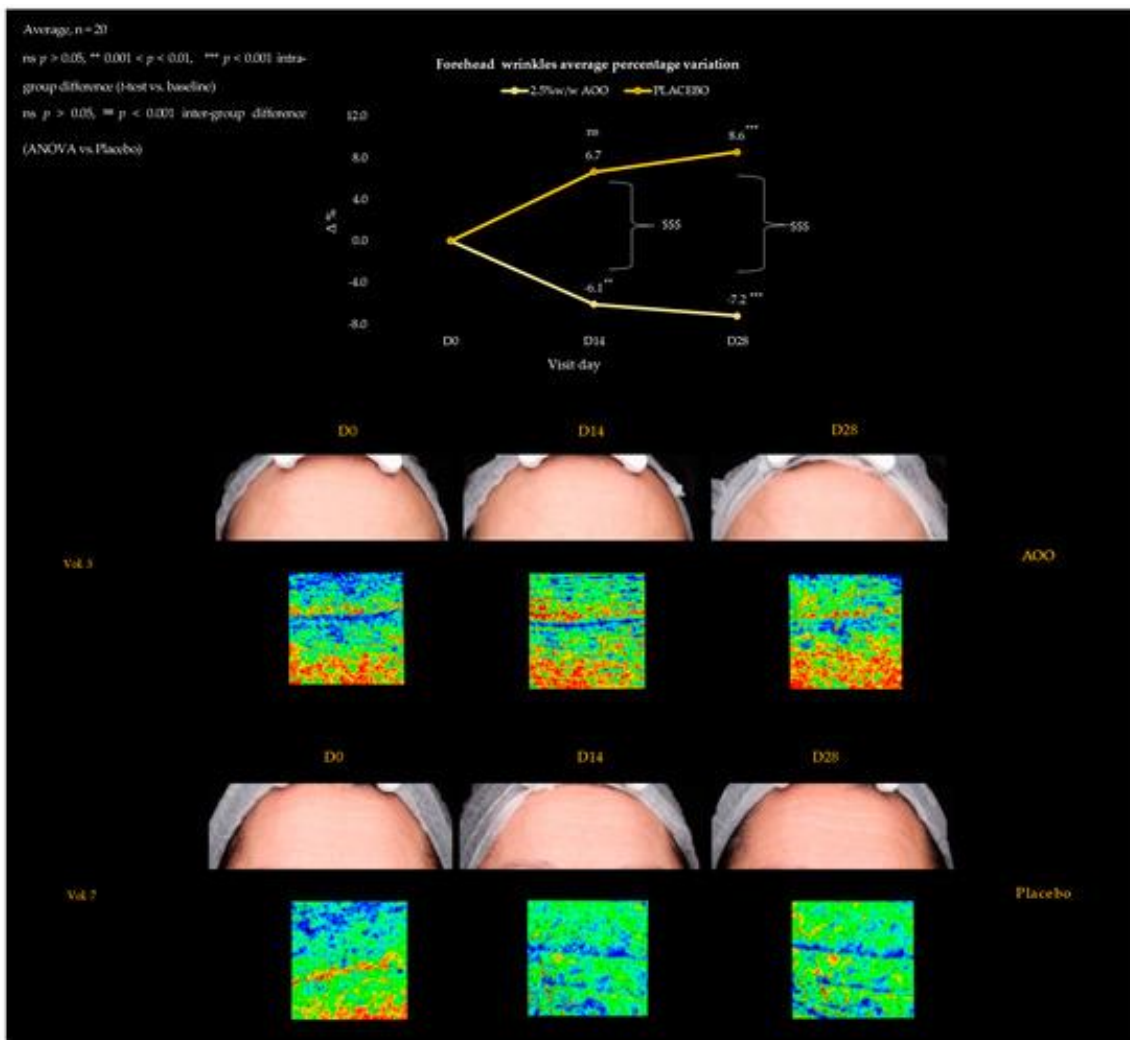


図 1. 2.5%_{w/w} の AAO とプラセボを 28 日間投与した場合の 2 次元および 3 次元の額のしわ。三次元のレプリカは青色で皮膚の溝、赤色でくぼみを示した。AAO 投与群では青いレプリカの面積が減少し、オレオライトの表情ジワ治療における平滑化能力が示された。

拡大するには画像をクリックしてください

参考 URL 4 より引用・改変

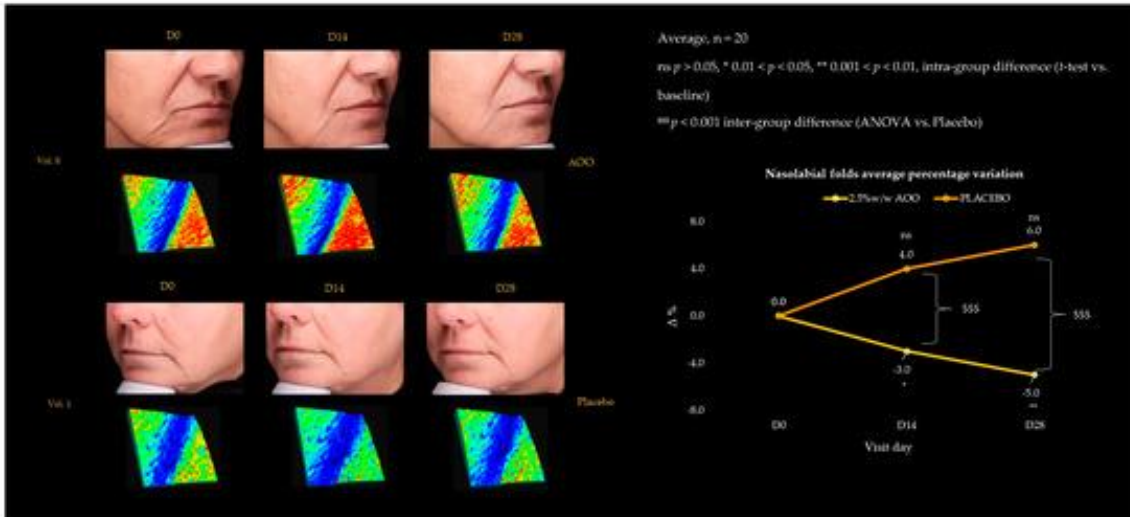


図 2. 2.5%_{w/w} の AAO とプラセボの 28 日間投与による鼻唇溝の 2 次元と 3 次元の比較。三次元のレプリカは、青色で皮膚の溝、赤色でくぼみを示した。AAO 群では青いレプリカの面積が減少し、オレオライトの重力線治療における平滑化能力が示された。

拡大するには画像をクリックしてください

参考 URL 4 より引用・改変

まとめ

ここで述べた結果は、アンヌルカ (*Malus pumila* Miller cv. Annurca) リンゴオレオライト (AAO) が、加齢に関連する皮膚障害の管理に有益な天然生物活性化合物、とりわけウルソール酸の貴重な供給源であることを示しています (784.40 ± 7.579 μg/mL 含有)。AAO には 212.76 mg/mL の推定 IC₅₀ でエラスターゼを阻害する能力のあることが *in vitro* で明らかとなりました。このエビデンスは、20 人の健常被験者に AAO ベースの局所製剤 (2.5%_{w/w} の AAO) を投与して得られた臨床結果——鼻唇溝と額のしわの顕著な減少、粘弾性パラメータの改善、皮膚の保湿状態の顕著な改善——によって裏付けられました。従って、配合された AAO は、皮膚のアンチエイジング活性を有するコスメシューティカル製剤のための潜在的な機能性成分であると考えられそうです。登録された臨床エビデンスの原因となる潜在的な分子作用メカニズムを明らかにするためにさらなる研究が必要であることは疑いの余地がありませんと論文の著者は結論づけました。

抄録

皮膚の老化プロセスを管理するための自然療法を特定することは、ますます大きくなっている問題である。その中で、主にアンヌルカ・リンゴ (AA) の果実に含まれるユビキタス分子であるウルソール酸 (UA) は、貴重な化粧品としての可能性を示している。この目的のため、本研究では、AA オレオライト (AAO、784.40 ± 7.579 μg/mL の UA を含むヒマワリ油抽出物) について、有効な分光光度法を用いてブタのエラスターゼ酵素反応の阻害効果を評価した。AAO は、ポジティブ・コントロールとして用いた純粋な UA 分子 (IC₅₀ 135.24 μg/mL) およびケルセチン (IC₅₀ 72.47 μg/mL) と比較して、212.76 mg/mL の IC₅₀ を算出し、エラスターゼ酵素を阻害する貴重な能力を示した。このような背景から、また、AAO の有用な抗酸化能の観点から、2.5% (w/w) の AAO を含む局所製剤について 40 人のボランティアを対象としたプラセボ対照二重盲検二群間臨床試験で検査した。その結果、治療 28 日後、粘弾性皮膚パラメータの有益な改善と併せて記録された鼻唇溝 (ベースライン T0 に対して -7.2, $p < 0.001$) と額のしわ (ベースライン T0 に対して -5.3, $p < 0.001$) の有意な減少、および皮膚の柔軟性/硬さ (R₀) と総弾性 (R₂) の有意な改善 (R₀: ベースライン T0 に対して -13%, $p < 0.001$; R₂: ベースライン T0 に対して +12%, $p < 0.001$) が認められた。最後に、皮膚の弾力性と水分補給の間に正の相関があることを考慮し、経表皮水分喪失 (TEWL) と皮膚コンダクタンスの推定を通じて皮膚の水分量を評価した。

Keywords : Annurca apple; ursolic acid; oleolite; antiaging; wrinkles; cosmeceuticals; topical formulation; elastase inhibition

出典

Di Lorenzo R, Maisto M, Ricci L, Piccolo V, Marzocchi A, Greco G, Tenore GC, Laneri S. Annurca Apple Oleolite as Functional Ingredient for the Formulation of Cosmetics with Skin-Antiaging Activity. Int J Mol Sci. 2024 Jan 30;25(3):1677. doi: 10.3390/ijms25031677. PMID: 38338954; PMCID: PMC10855134.

参考 URLs

1. https://commons.m.wikimedia.org/wiki/File:Melaio_Valle_di_Maddaloni.jpg [2024年6月17日最終閲覧]
2. <https://www.international.unina.it/> [2024年7月11日最終閲覧]
3. <https://www.farmacia.unina.it/> [2024年7月11日最終閲覧]
4. <https://www.mdpi.com/1422-0067/25/3/1677> [2024年7月17日最終閲覧]
5. <https://www.canfieldsci.com/imaging-systems/visia-complexion-analysis/> [2024年7月16日最終閲覧]

免責事項

ここに記載した情報はできるだけ正確であるよう務めておりますが、内容について一切の責任を負うものではありません。確認および解釈のために、原文を参照されることをおすすめいたします。

2024年7月17日 作成

株式会社 光洋商会 www.koyojapan.jp/

〈東京本社〉〒104-0061 東京都中央区銀座1-19-7 JRE銀座一丁目イーストビル3F Tel: 03-3563-7531 Fax: 03-3563-7538

〈大阪支店〉〒530-0002 大阪府大阪市北区曽根崎新地2-6-23 MF桜橋ビル10F Tel: 06-6341-3119 Fax: 06-6348-1732

