

in vitro でのケラチン発現増強と RCT での発毛促進が明らかとなったアンヌルカ (*Malus pumila* Miller cv Annurca) リンゴのニュートラシューティカル処方



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 (University of Naples Federico II [2])、Hospital Cardarelli、および Samnium Medica からなる研究グループが 2018 年の Journal of Medical Food 誌に発表した研究論文によると [3]、*in vitro* でもヒトへの局所適用でも、発毛促進において最も効果的で安全な天然化合物の一つとされているプロシアニジン (procyanidin) B2 が南イタリア原産のアンヌルカ* (Annurca [an' nurka] [4]) というリンゴの果実に豊富に含まれていることから、同研究グループはこのアンヌルカリンゴの果実 (apple fruits of cv Annurca : AFA) の抽出物に含まれるプロシアニジン B2 が i) *in vitro* でケラチン生合成に及ぼす影響を初めて示し、ii) さらに育毛栄養補助食品 (hair growing nutraceutical agent) としてヒトへの経口投与を初めて試みました。

同グループは、10 月のカンパニア州カゼルタ県のヴァッレ・ディ・マッダローニ [5] にて、収穫直後で果皮がまだ緑色のアンヌルカ (*M. pumila* Miller cv Annurca) リンゴの果実 (1 個約 100 g) の収集を実施しました。これら果実は、約 30 日間、典型的な処理 [6] に従って赤くなってから分析に供しました。

AFA のサプリメントについては、アンヌルカリンゴの果実全体、果皮および果肉を水で繰り返し抽出し、得られた溶液をろ過、遠心分離して濃縮したものをマルトデキストリンと混合し、噴霧乾燥後に微粉末を得て、次の二種類を調製しました。

- AFA ポリフェノールエキスをマルトデキストリンでマイクロカプセル化したもの (AppleMetS : AMS) (400 mg)
- AFA ポリフェノールエキスをマルトデキストリンでマイクロカプセル化したもの (400 mg) にビオチン (0.20 mg)、セレノメチオニン (80.0 µg)、および酢酸亜鉛 (21.0 mg) を加えてマイクロカプセル化したもの (AppleMetS Hair : AMSbzs)

*「mamma (マンマ)、donna (ドンナ) のように m や n がふたつ続くときは『ン』を入れて言います」(郡 2014、28) に従って Annurca をアンヌルカとしています。

これらのサプリメントはともに、フェデリコ 2 世ナポリ大学薬学部で製剤化されました。また、両サプリメントの大規模生産は MB-Med Company（イタリア、トリノ）で成し遂げられました。

in vitro で AMS 補給がヒト皮膚細胞のケラチン含量に及ぼす影響

臨床試験実施に先立ち、ケラチン発現の制御に及ぼす AMS の影響を調べるために、予備バイオスクリーンで決定した試験濃度（0.23 および 0.46 mg/mL）の抽出物存在下にて、標準成長培地で正常ヒトケラチン細胞（HaCaT 細胞）を 24 時間および 48 時間培養し、ケラチンの細胞内総量をウェスタンブロット分析により評価しました。

その結果、48 時間の *in vitro* 処理によりケラチンの発現が顕著に増加することが明らかとなりました。サイトケラチンの細胞内含量は、検討したすべての条件下で明らかに増加し、0.46 mg/mL の抽出物に 48 時間暴露した後、未処理のコントロール細胞に対して約 3 倍の顕著な最大増加に達しました。この効果は濃度および時間に依存しており、ハウスキーピング遺伝子 [7] として用いた GAPDH タンパク質の同時分析から示唆されるように、間違いなく AMS の存在によるものでした。

以上の結果から、*in vitro* での AMS 補給はヒト皮膚細胞におけるケラチン含量を強く増加させることが明らかとなりました。

単施設ランダム化二重盲検プラセボ対照試験

試験の参加者は、Samnium Medical Cooperative（イタリア、ベネヴェント）が募集し、2015 年 11 月に登録されました。登録は、年齢が 30 歳から 83 歳までで、脱毛症（pattern baldness）の証拠が認められれば可能としました。除外基準は以下の通りとしました。被験者はまた、試験期間中、各自の食週間を維持するよう求められました。

除外基準：喫煙、肥満（BMI： $>30 \text{ kg/m}^2$ ）、糖尿病、肝疾患、腎疾患、心疾患、慢性疾患の家族歴、育毛のための薬物療法またはサプリメント摂取、リングポリフェノールを含む薬物療法またはサプリメント摂取、激しい運動（ >10 時間/週）、妊婦、妊娠が疑われる女性もしくは妊娠を希望する女性、授乳中、カバノキ花粉アレルギー、試験開始 2 週間前のビタミン/ミネラルサプリメントの使用、試験開始前 3 か月未満の献血

研究グループは、250 人の患者（男性 116 人、女性 134 人）をランダムに 2 つのサブグループに 125 人（男性 58 人、女性 67 人）ずつ割り付け、4 週間のプラセボ期間、8 週間の介入期間、および 4 週間の追跡期間の合計 16 週間にわたり観察を続けることとしました。

プラセボ期間において被験者は、マルトデキストリンのみを含み、次の介入期間で摂取するカプセルと同じ外観のカプセルの摂取を受けました。

介入期間中、2 つのサブグループの参加者は、先に述べた AFA ポリフェノールエキスをマルトデキストリンでマイクロカプセル化した AMS、さらにビタミン・ミネラルを追加した AMSbzs いずれかのカプセルの摂取を 1 日 2 回（朝と夕方に 1 カプセルずつ）受けました。

試験で採用された AFA ポリフェノールエキスの 1 日摂取量は、良好な健康状態に適合する安全なポリフェノール 1 日量として欧州委員会規則（EC）第 258/1997 号の改訂版（2015 年 1 月）に示されている食品サプリメントや新規食品を介したポリフェノールエキスの 1 日最大摂取量（1,000 mg）に完全に準拠しています。また、ビオチン、セレン、亜鉛の量は、ビタミンとミネラルの 1 日最低必要量（栄養参照量、Nutrition

Reference Values : NRVs) に関する現行の欧州規制 (Reg. UE 1169/2011) によって報告されたものに従い、食品サプリメントで許容されているビタミンとミネラルの最大レベルに関してイタリア保健省 (DM 改訂 2016 年 6 月) によって確立された基準に基づいて計算されました。

16 週間の試験期間中、0 週目、4 週目、8 週目、12 週目、16 週目に来診と毛髪のスプリングも実施されました。毛髪のカウントは、二重盲検法にて、3 人の独立した治験責任医師がそれぞれ 3 回ずつ頭部の禿げた皮膚の所定の部位の面積 (cm²) ごとに行いました。

主要および副次的評価項目

プラセボ投与期間終了時、ベースライン値に対する毛髪の本数、重量、およびケラチン含有量の有意な変動は認められませんでした。続く介入期間では、表 1、図 1 に示すように、AMS および AMSbzs のサプリメントの投与により、すべての臨床パラメータが統計的に有意に変化したと断定されました。とりわけ、AMSbzs サプリメントは最も重要な効果を発揮し、試験期間終了時、毛髪数 (hair number) /cm² を 125.2% (95% CI: -2.54、P = 0.0095)、毛髪重量 (hair weight) を 42.1% (95% CI: -3.41、P = 0.0019)、ケラチン含有量 (keratin content) を 40.1% (95% CI: -1.22、P = 0.0042) 増加させました。注目すべきは、介入試験 1 か月後 (t 30) にすでに非常に有意な結果が得られたことです。

表 1. アンヌルカリンゴのサプリメントが臨床パラメータに及ぼす影響

	AMS	Δ (%)	AMSbzs	Δ (%)
毛髪数/cm ²				
t 0	16.4 ± 4.6		15.7 ± 4.8	
t 30	25.3 ± 4.8	+54.3	25.1 ± 4.4	+60.1
t 60	35.8 ± 5.1	+118.3	35.3 ± 5.7	+125.2
毛髪重量 (mg) ^a				
t 0	30.1 ± 8.1		29.6 ± 7.9	
t 30	36.1 ± 7.6	+20.1	37.2 ± 6.8	+25.7
t 60	41.3 ± 8.5	+37.3	42.1 ± 7.9	+42.1
ケラチン含有量 (mg) ^b				
t 0	27.4 ± 6.4		26.9 ± 5.9	
t 30	32.4 ± 7.0	+18.4	33.2 ± 7.1	+23.5
t 60	37.2 ± 6.9	+35.7	37.7 ± 6.7	+40.1

数値は平均値±SD (n = 5)。被験者は AMS または AMSbzs を 1 日 2 カプセル、2 か月間摂取した。結果は P = 0.001 の水準で有意差があった。

AMS、マルチデキストリンでマイクロカプセル化されたアンヌルカ種リンゴポリフェノールエキス (AppleMetS) ; AMSbzs、マルチデキストリンでマイクロカプセル化されたアンヌルカ種リンゴポリフェノールエキス、ビオチン、セレン、亜鉛を含む製剤 (AppleMetS Hair)。

^a 重量は、毛髪 100 本 (長さ 1 cm) の分量を示す。

^b ケラチン含有量は、毛髪 100 本 (長さ 1 cm) の分量を示す。

参考 URL[3]より引用・改変

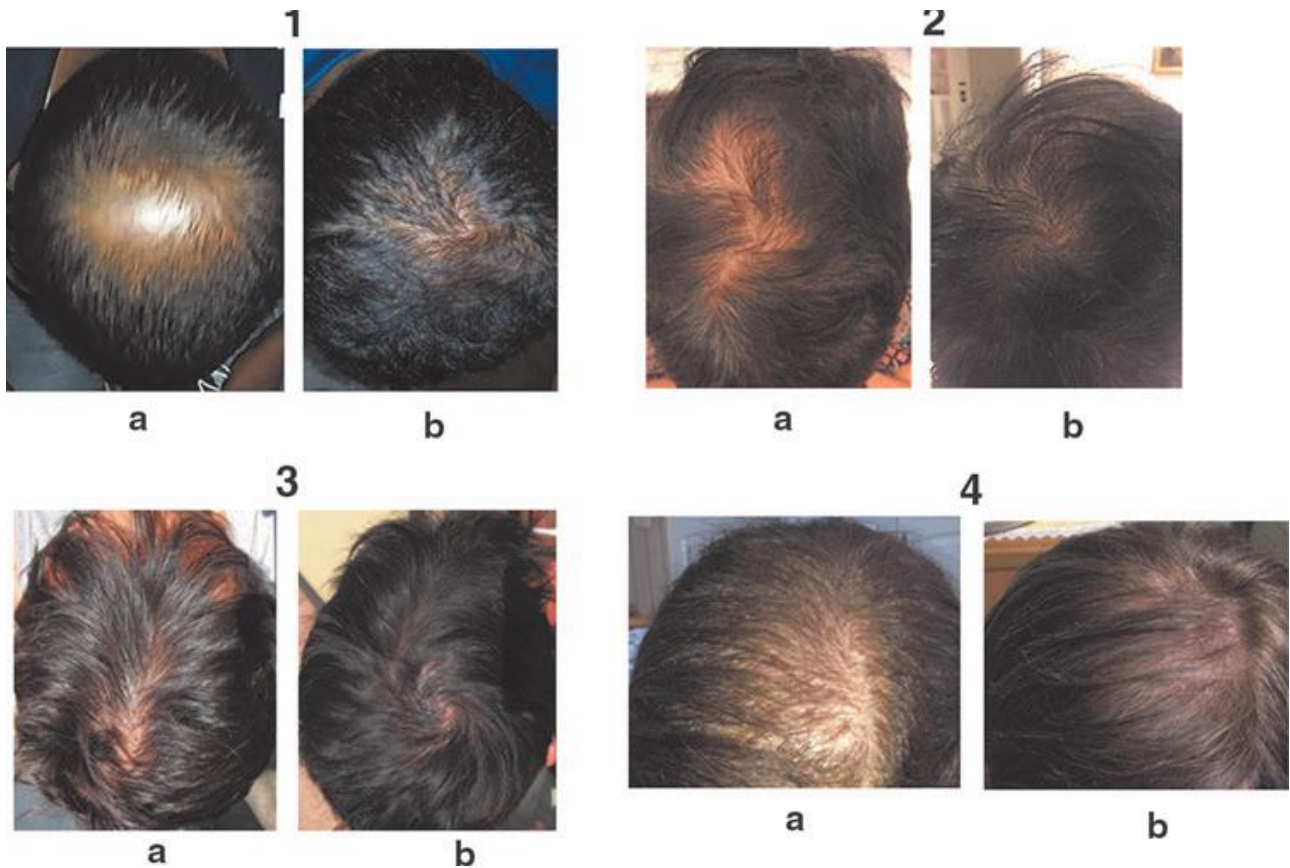


図 1. AMSbzs サプリメントを 1 日 2 カプセル、60 日間摂取した被験者（1,2,3：男性、4：女性）の例（a：t0、b：t60）。

参考 URL[3]より引用・改変

男性型および女性型脱毛症は、成人人口の約 50%に影響を及ぼす非常に一般的な症状であり、生活の質（quality of life）に重大な悪影響を及ぼす可能性があります。この臨床試験の結果は、細胞ケラチン含量の増加を示す *in vitro* での証拠と相まって、栄養補助食品として作用するプロシアニジン B2 含有 AFA 天然抽出物をベースとした栄養補助食品が毛髪密度、重量、ケラチン含量を増加させると同時に、発毛を効果的に促進し、皮膚の質を改善することを強く裏付けるものです。プロシアニジンによる皮膚レベルでの成長促進効果の分子基盤をより明確にするためにさらなる研究が進行中で、細胞のホメオスタシスの調節と栄養補助食品によって選択的に誘導されるケラチンが果たす機能的役割の両方に焦点を合わせていますと論文の著者は結論づけました。

抄 録

過去数十年にわたり、男性・女性の脱毛症や男性型脱毛症の治療薬として、いくつかの医薬品が処方されてきたが、その有効性に関するメタデータは比較的少ない。このような理由から、最近、製薬および医学の関心は、より安全な新しい治療薬の発見に集中している。とりわけ、毛髪上皮細胞の成長を促進し、アナゲン期を誘導するオリゴメリック・プロシアニジンの生理活性に大きな関心が寄せられている。具体的には、リンゴから抽出された二量体誘導体であるプロシアニジン B2 は、*in vitro* およびヒトへの局所適用において、毛髪の成長を促進する最も効果的で安全な天然化合物の一つであることが実証されている。様々なリンゴ品種のポリフェノール含有量を評価した結果、南イタリアの在来種である cv Annurca (AFA) の果実にオリゴメリック・プロシアニジンの中でも特にプロシアニジン B2 が最高濃度存在することを最近我々は見出した。そこで本研究では、AFA がヒト成人皮膚の実験モデルにおける細胞のケラチン発現に及ぼす影響に光を当てて、AppleMets (AMS) というニュートラシューティカル処方としての AFA ポリフェノール抽出物の生物活性を *in vitro* で探索した。続いて、AMS が健常被験者の発毛とトロピズム (tropism) に及ぼす影響を検査したところ、2 か月目ですでに発毛、毛髪密度およびケラチン含量の増加に関して有意な結果が認められた。本研究はリンゴ

のプロシアニジン B2 が *in vitro* でケラチンの生合成に及ぼす影響を初めて証明し、また栄養補助食品 (nutraceutical) として、そのヒトの発毛とトロピズムに及ぼす影響に光を当てている。

Keywords : Annurca apple; hair growth; keratin expression; keratinocytes; nutraceutical; polyphenols; randomized clinical trial

出典

Tenore GC, Caruso D, Buonomo G, D'Avino M, Santamaria R, Irace C, Piccolo M, Maisto M, Novellino E. Annurca Apple Nutraceutical Formulation Enhances Keratin Expression in a Human Model of Skin and Promotes Hair Growth and Tropism in a Randomized Clinical Trial. J Med Food. 2018 Jan;21(1):90-103. doi: 10.1089/jmf.2017.0016. Epub 2017 Sep 28. PMID: 28956697; PMCID: PMC5775114.

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6月17日最終閲覧]
3. <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/jmf.2017.0016> [2024年6月24日最終閲覧]
4. <https://en.wikipedia.org/wiki/Annurca> [2024年6月17日最終閲覧]
5. <https://www.comune.valledimaddaloni.ce.it/> [2024年6月19日最終閲覧]
6. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S030881460000306X> [2024年6月19日最終閲覧]
7. <https://www.yodosha.co.jp/jikkenigaku/keyword/279.html> [2024年6月19日最終閲覧]

引用文献

郡史郎、2014、「はじめてのイタリア語」、講談社現代新書。

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6月24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

