

医学と薬学
54巻3号・2005年9月
54(3):329-337, 2005

オリーブ葉エキスの紫外線B波照射による
マウス皮膚硬化および色素沈着に及ぼす影響

木村 善行・住吉 真帆

医学と薬学 別刷 Vol. 54 No. 3 2005

Japanese Journal of Medicine and Pharmaceutical Science (Jpn J Med Pharm Sci)

自然科学社
Tel 03-3234-4121

オリーブ葉エキスの紫外線B波照射による マウス皮膚硬化および色素沈着に及ぼす影響

木村 善行¹⁾・住吉 真帆²⁾

序 言

地球の温暖化に伴って、季節を問わず、紫外線による日焼け、しみ・そばかすなどの色素沈着などの皮膚障害が増加し、皮膚の老化が進行している。また、欧米では紫外線による皮膚がんの多発が報告され、紫外線カットの外用剤を塗布し、予防している。紫外線によるしみ・そばかすなどの色素沈着の防止剤として、アルブチン配合の外用剤やビタミンC・システィン含有の内服剤が販売、使用されている。紫外線によって皮膚老化すなわち、皮膚のしわの増加、肥厚および弾力性の低下が引き起こされることはよく知られている事実である。皮膚のしわの増加、肥厚および弾力性の低下は、年齢と相関関係にあり、その原因是皮膚の真皮層のコラーゲン量の低下によるものであるといわれている。したがって、コラーゲンを摂取することは肌のたるみ、しわを防止し、肌の弾力性を保持するといわれ、美肌効果を有する健康食品として、多種多様な製品が販売され、使用されている。

本研究は、紫外線による皮膚老化および色素沈着などの皮膚障害予防のための新たな素材を求めて、オリーブ葉エキスについて検討したので報告する。

I. 実験材料および方法

1. 実験材料

オリーブ葉エキスは、日本粉末薬品(株)から供給されたものを用いた。本実験では、マウスへのオリーブ葉エキスの投薬量が1,000 mg/kgとなるように、蒸留水に懸濁して調整した。マウス体重10 gあたり0.1 mLを胃ゾンデを用いて強制的に1日2回、2週間経口投与した。

2. 動 物

C3H/He雄性マウス(5週齢)を日本SLC(株)から購入し、1週間予備飼育した後、健康なマウスを実験に用いた。実験期間中は、飼料および水は自由に摂取させた。正常群(UVB非照射)、コントロール群(UVB照射)、0.5%コラーゲン含有飼料摂取群(UVB照射)、0.5%コラーゲン含有飼料摂取+オリーブ葉エキス投与群(UVB照射)の4群構成で、1群各7匹で実験を行った。

1) 愛媛大学医学部 分子細胞生命科学講座生化学分野

Effects of the extracts of olive leaves on skin callosity and pigmentation induced by UVB in mice

Yoshiyuki Kimura¹⁾, and Maho Sumiyoshi²⁾ Division of Biochemistry, Department of Molecular and Cellular Biology¹⁾, and Division of Functional Histology, Department of Integrated Basic Medical Science²⁾, School of Medicine, Ehime University

Key words :オリーブ葉エキス、紫外線B波、皮膚老化、マウス

2) 同 統合生命科学講座機能組織学分野

表1 UVB 照射マウスにおける体重変化に及ぼすオリーブ葉エキスの影響

		初 体 重 (g)	最終体重 (g)
		平均値±標準誤差	
正 常 群	(UVB 非照射)	22.2±0.28	23.6±0.38
コントロール群	(UVB 照射)	22.8±0.35	24.4±0.85
0.5%コラーゲン含有飼料摂取群	(UVB 照射)	22.6±0.43	24.8±0.36
0.5%コラーゲン含有飼料摂取+オリーブ葉エキス (1,000 mg/kg×2/日) 投与群	(UVB 照射)	22.3±0.70	23.8±1.02

各値は各群7匹の平均値±標準誤差で表示した。

た。

3. UVB 照射による皮膚の硬化および色素形成の測定

C3H/He 雄性マウスの背部を常法に従って脱毛処理後、翌日から、所定濃度に懸濁したオリーブ葉エキスを日に2回、2日間前投与し、3日目からUVBランプ(15 Wタイプ、UV波長312 nm, UV強度1,000 μW/cm², T-15 M, 家田貿易㈱, 東京)をマウスから50 cmの距離を置いて、1日20分間、14日間連続照射した。UVBによる皮膚硬化度すなわち、皮膚の伸び、皮膚の厚さはマウスの背側中央部を摘み上げ、マイクロメーターを用いて測定した。皮膚の色素沈着は、検体を15日間投与後、エーテル麻酔下で採血、屠殺し、皮膚を剥離し、10%ホルマリン緩衝液で固定後、皮下表面中の色素沈着を撮影し、面積を測定した。

4. UVB 照射による体重推移、肝臓、脾臓および胸腺重量の測定

UVB照射下における検体投与群および非投与群のマウスの体重は2日ごとに測定し、最終屠殺後、肝臓、脾臓および胸腺を速やかに摘出し、各重量を測定した。

5. 統計処理

Super ANOVAソフトを用いて、Fisher's Protected LSD testによる多重群間検定を行い、p<0.05を有意とした。

II. 実験結果および考察

1. UVB 照射下におけるコラーゲン摂取下でのオリーブ葉エキス投与後の体重推移に対する影響

体重変化は正常群(UVB非照射)、コントロール群(UVB照射)、0.5%コラーゲン含有飼料摂取群(UVB照射)および0.5%コラーゲン含有飼料摂取+オリーブ葉エキス投与群(UVB照射)間では有意な差異は認められなかった(表1)。

2. UVB 照射下におけるオリーブ葉エキス投与後の肝臓、脾臓および胸腺重量に及ぼす影響

正常群(UVB非照射)、コントロール群(UVB照射)、0.5%コラーゲン含有飼料摂取群(UVB照射)および0.5%コラーゲン含有飼料摂取+オリーブ葉エキス投与群(UVB照射)間において、肝臓、脾臓および胸腺重量には何ら有意な差異は認められなかった(表2)。

3. UVB 照射下におけるオリーブ葉エキス投与後の皮膚硬化に及ぼす影響

UVB照射によって、皮膚の伸び(弾力性)は低下し、皮膚は肥厚して、皮膚の硬化すなわち、皮膚の老化が顕著に認められた。0.5%コラーゲン含有飼料摂取群においても、UVB照射によって皮膚の弾力性の低下および皮膚の肥厚が認められた。

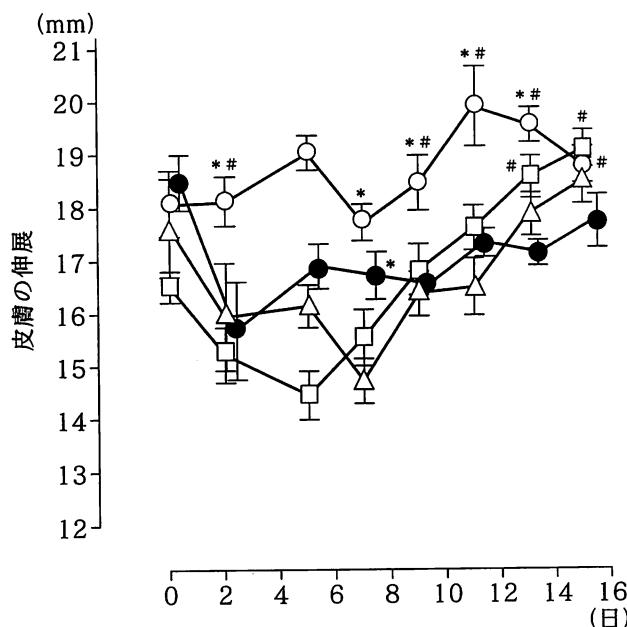
0.5%コラーゲン含有飼料摂取+オリーブ葉エキス(1,000 mg/kg)投与群(UVB照射)は

表2 UVB照射マウスにおける肝臓、脾臓および胸腺重量に及ぼすオリーブ葉エキスの影響

	(UVB非照射)	肝臓 (mg)	脾臓 (mg)	胸腺 (mg)
		平均値±標準誤差		
正常群	(UVB非照射)	1,307.8±29.3	76.5±4.37	27.3±2.33
コントロール群	(UVB照射)	1,380.3±84.1	74.0±6.09	28.0±1.88
0.5%コラーゲン含有飼料摂取群	(UVB照射)	1,390.2±29.9	83.2±2.63	32.5±2.17
0.5%コラーゲン含有飼料摂取+オリーブ葉エキス (1,000 mg/kg×2/日) 投与群	(UVB照射)	1,454.5±80.2	79.0±6.08	28.7±2.86

各値は各群7匹の平均値±標準誤差で表示した。

—○— 正常群 (UVB非照射)
—●— コントロール群 (UVB照射)
—△— 0.5%コラーゲン含有飼料摂取群 (UVB照射)
—□— 0.5%コラーゲン含有飼料摂取+オリーブ葉エキス
(1,000 mg/kg) 投与群 (UVB照射)



* は、0.5%コラーゲン含有飼料摂取群 (UVB 照射) との有意差 ($p < 0.05$) を示した。

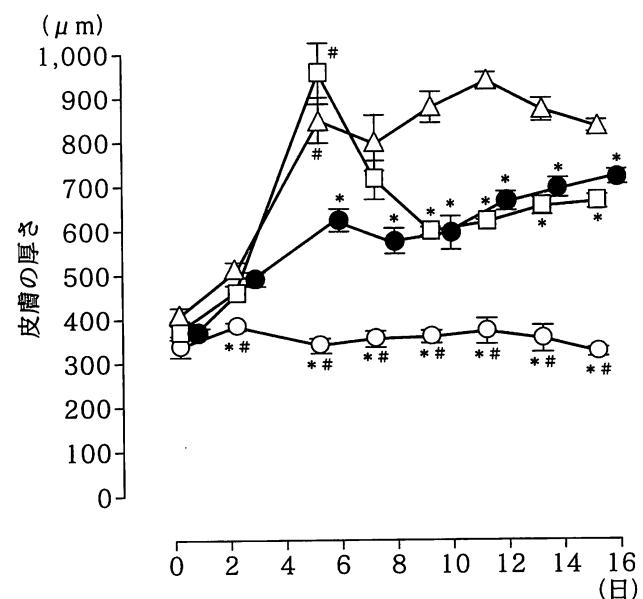
は、コントロール群 (UVB 照射) との有意差 ($p < 0.05$) を示した。

図1 UVB照射マウスにおける皮膚伸展に及ぼすオリーブ葉エキスの影響

コントロール群 (UVB 照射) と比較すると 13 日目および 15 日目に有意に皮膚の弾力性の低下を阻止した (図1)。

皮膚の肥厚はコントロール群 (UVB 照射) および 0.5%コラーゲン含有飼料摂取群 (UVB 照

—○— 正常群 (UVB非照射)
—●— コントロール群 (UVB照射)
—△— 0.5%コラーゲン含有飼料摂取群 (UVB照射)
—□— 0.5%コラーゲン含有飼料摂取+オリーブ葉エキス
(1,000 mg/kg) 投与群 (UVB照射)



* は、0.5%コラーゲン含有飼料摂取群 (UVB 照射) との有意差 ($p < 0.05$) を示した。

は、コントロール群 (UVB 照射) との有意差 ($p < 0.05$) を示した。

図2 UVB照射マウスにおける皮膚肥厚に及ぼすオリーブ葉エキスの影響

射)において顕著に認められ、特に、0.5%コラーゲン含有飼料摂取群 (UVB 照射) の皮膚の肥厚は、5 日目以降において、コントロール群 (UVB 照射) よりも増大した。0.5%コラーゲン含有飼料摂取+オリーブ葉エキス (1,000 mg/kg) 投与

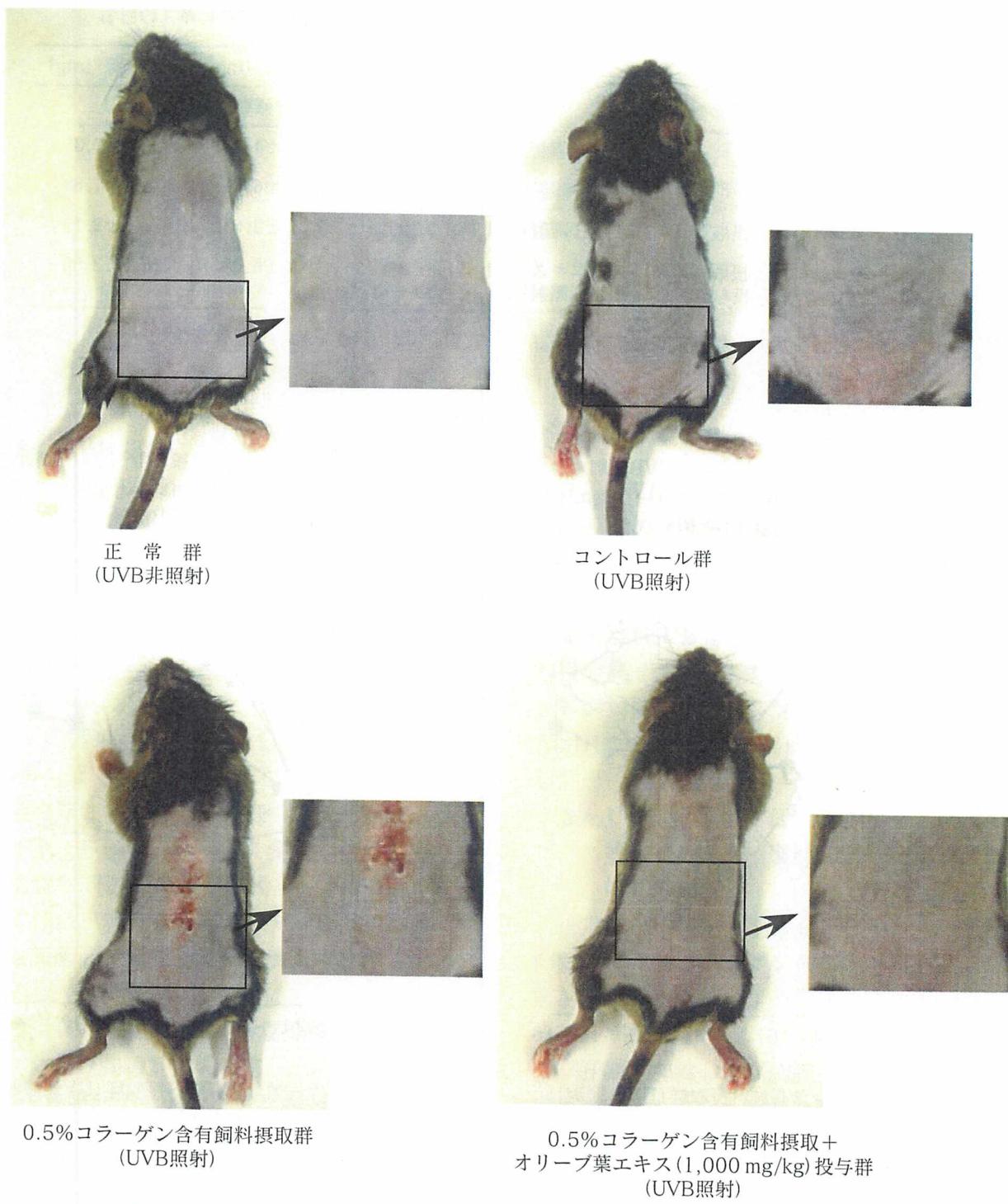


図 3 UVB 照射 6 日目の皮膚のしわ、および発赤に及ぼすオリーブ葉エキスの影響

群 (UVB 照射) もまた、9 日目以降において、0.5% コラーゲン含有飼料摂取群 (UVB 照射) と比較して、有意に UVB 照射による皮膚の肥厚を抑制した (図 2)。

図 3 に示すように、0.5% コラーゲン含有飼料摂取 + オリーブ葉エキス (1,000 mg/kg) 投与群

(UVB 照射) のほうが、コントロール群 (UVB 照射) や 0.5% コラーゲン含有飼料摂取群 (UVB 照射) に比較して皮膚のしわや発赤が抑制されていた。

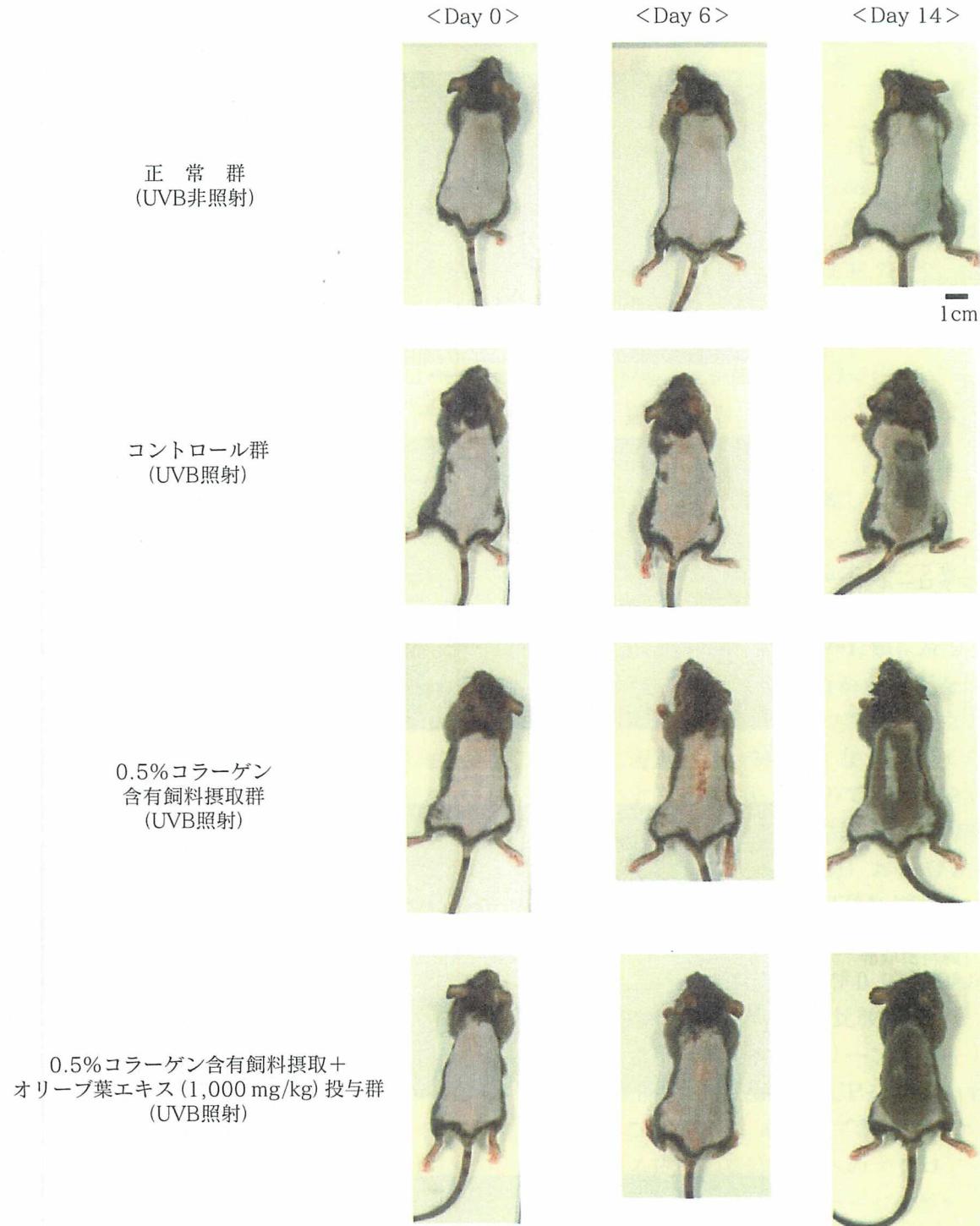


図 4 UVB 照射による皮膚色素沈着に及ぼすオリーブ葉エキスの影響

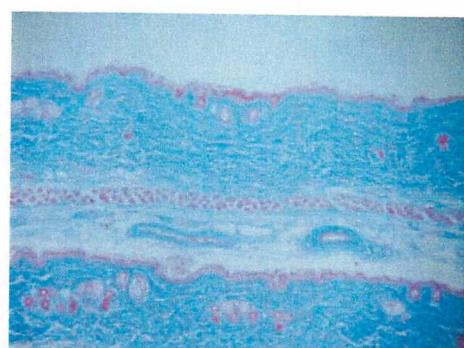
4. UVB 照射下におけるオリーブ葉エキス投与後の色素沈着に及ぼす影響

UVB 照射後、8 日目に発赤を伴う皮膚炎症が引き起こされ、その後、皮膚炎症部位の硬化とともに色素沈着が形成されることが判明した。

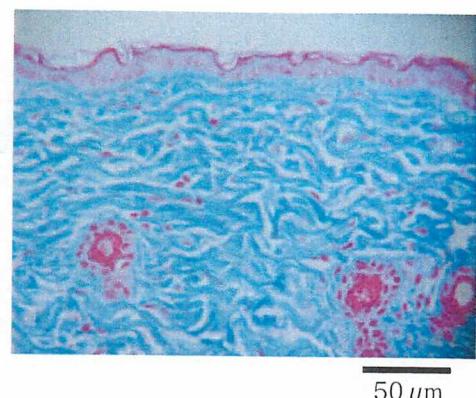
UVB による皮膚への色素沈着は 0.5% コラーゲン含有飼料摂取群 (UVB 照射) でも增加了。0.5% コラーゲン含有飼料摂取 + オリーブ葉エキス投与群 (UVB 照射) は UVB による色素沈着に対して何ら影響を与えなかった (図 4)。

<アザン染色>

×40

正常群
(UVB非照射)

×200



250 μm

50 μm

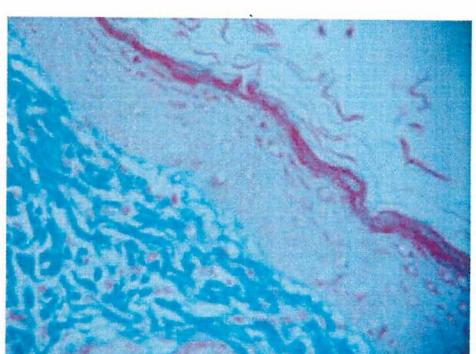
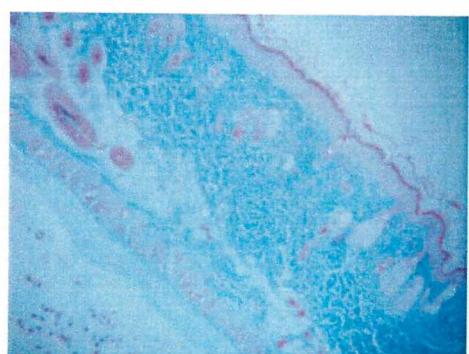
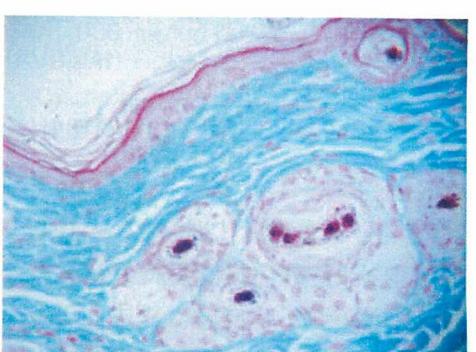
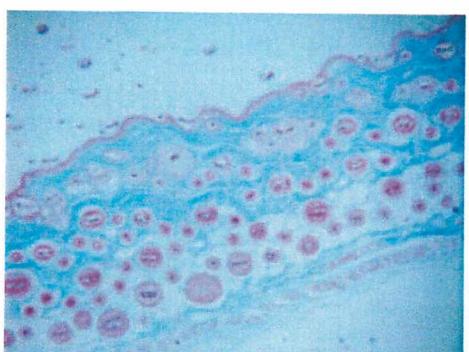
コントロール群
(UVB照射)0.5%コラーゲン
含有飼料摂取群
(UVB照射)0.5%コラーゲン
含有飼料摂取 +
オリーブ葉エキス
(1,000 mg/kg) 投与群
(UVB照射)

図 5 UVB 照射による皮膚の上皮層および真皮層の肥厚に及ぼすオリーブ葉エキスの影響

表3 UVB 照射マウスによる皮膚上皮層および真皮層の肥厚に及ぼすオリーブ葉エキスの影響

	(UVB 非照射)	上皮層(μm)	真皮層(μm)
		平均値±標準誤差	
正常群	(UVB 非照射)	23.20±2.75* #	245.71±15.05* #
コントロール群	(UVB 照射)	48.94±7.53	458.80±66.56
0.5%コラーゲン含有飼料摂取群	(UVB 照射)	60.71±6.97	450.76±39.63
0.5%コラーゲン含有飼料摂取+オリーブ葉エキス (1,000 mg/kg×2/日) 投与群	(UVB 照射)	26.27±2.62* #	380.73±38.77

各値は各群7匹の平均値±標準誤差で表示した。

* は、0.5%コラーゲン含有飼料摂取群(UVB照射)との有意差($p<0.05$)を示した。

は、コントロール群(UVB照射)との有意差($p<0.05$)を示した。

5. UVB 照射下におけるオリーブ葉エキス投与後の皮膚病理所見による上皮、真皮層およびメラニン沈着に及ぼす影響

UVB 照射によって、皮膚の上皮層および真皮層は肥厚し、皮膚の硬化を引き起こしている。また、上皮層と真皮層の間にメラニン顆粒が点在するのが病理学所見において認められた。0.5%コラーゲン含有飼料摂取群(UVB照射)とコントロール群(UVB照射)間での上皮層および真皮層の肥厚には差異は認められなかつた。0.5%コラーゲン含有飼料摂取+オリーブ葉エキス(1,000 mg/kg)投与群(UVB照射)は皮膚の上皮層の肥厚を抑制した(図5および表3)。0.5%コラーゲン含有飼料摂取+オリーブ葉エキス(1,000 mg/kg)投与群(UVB照射)の真皮層の肥厚は、コントロール群(UVB照射)および0.5%コラーゲン含有飼料摂取群(UVB照射)と比較して、有意に抑制しなかつた。

上皮層および真皮層間のメラニン顆粒数は、コントロール群(UVB照射)、0.5%コラーゲン含有飼料摂取群(UVB照射)および0.5%コラーゲン含有飼料摂取+オリーブ葉エキス投与群(UVB照射)において差異は認められなかつたが、0.5%コラーゲン含有飼料摂取+オリーブ葉エキス投与群(UVB照射)のメラニン顆粒は上皮層の角化に伴って、角化組織とともに放出され、上皮組織の再生能がコントロール群(UVB照射)および0.5%コラーゲン含有飼

料摂取群(UVB照射)に比較して促進されていることが認められた(図6)。

6. UVB 照射下におけるオリーブ葉エキス投与後の血漿中 monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1) 値に及ぼす影響

UVB 照射によって3日目から発赤を伴う炎症が認められたので、マクロファージなどが炎症部位に遊走され、MCP-1などのケモカイン類を放出すると考えられたので、血漿中 MCP-1 を測定した。その結果、正常群(UVB非照射)、コントロール群(UVB照射)および0.5%コラーゲン含有飼料摂取群(UVB照射)において血漿中 MCP-1 量には変化は認められなかつた(表4)。しかし、正常群および0.5%コラーゲン含有飼料摂取群(UVB照射)に比較して、0.5%コラーゲン含有飼料摂取+オリーブ葉エキス投与群(UVB照射)は血漿中 MCP-1 量が有意に増加した。この事実は、オリーブ葉エキスが UVB 照射による皮膚の炎症部位へのマクロファージ遊走をもたらし、マクロファージの活性化を通して皮膚損傷の修復に作用している可能性を示している。

一般に、コラーゲンを補給すると、皮膚のしわが取れ、弾力性を維持し、皮膚老化を防止する報告されている。今回の実験において、コラーゲンを補給して、UVB を照射すると、皮膚の肥厚が増していることが判明したが、皮膚の病理学的検討から、コントロール群(UVB 照

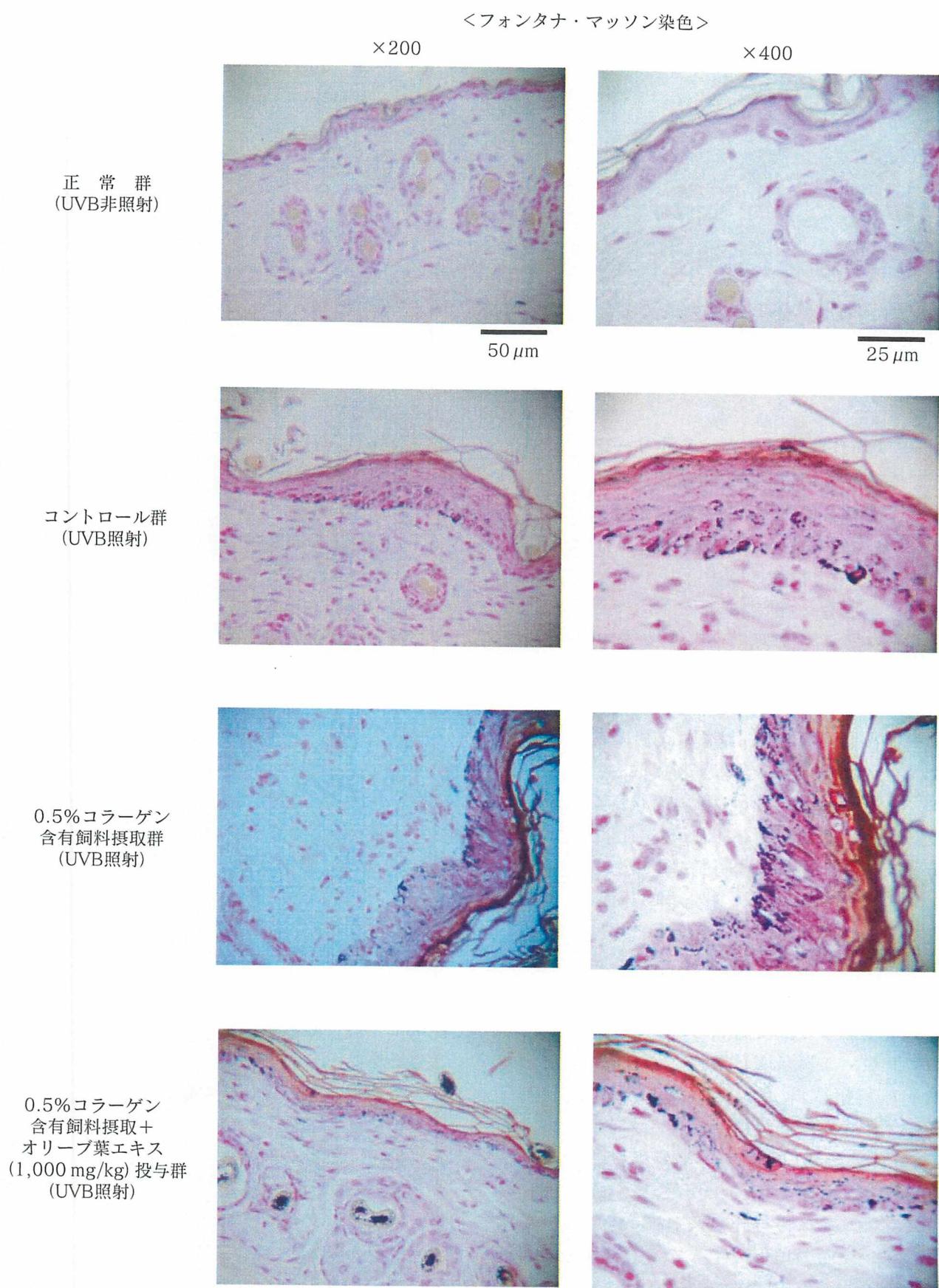


図 6 UVB 照射による皮膚上皮層のメラニン顆粒生成に及ぼすオリーブ葉エキスの影響

表4 UVB 照射マウスにおける血漿中 MCP-1 値に及ぼすオリーブ葉エキスの影響

	(UVB 非照射)	血漿中 MCP-1 (pg/mL)
		平均値±標準誤差
正常群	(UVB 非照射)	45.15±6.37
コントロール群	(UVB 照射)	54.92±8.45
0.5%コラーゲン含有飼料摂取群	(UVB 照射)	39.73±1.32
0.5%コラーゲン含有飼料摂取+オリーブ葉エキス (1,000 mg/kg×2/日) 投与群	(UVB 照射)	73.92±17.95*

各値は各群7匹の平均値±標準誤差で表示した。

* は、0.5%コラーゲン含有飼料摂取群(UVB 照射)との有意差($p<0.05$)を示した。

射)と0.5%コラーゲン飼料摂取群(UVB 照射)の真皮層を比較すると、コントロール群(UVB 照射)の皮膚真皮層の線維組織は粗く、0.5%コラーゲン飼料摂取群(UVB 照射)の真皮層の線維組織は密に規則性をもって形成されていることが明らかになった。この事実は、UVB 照射による皮膚真皮層の線維組織障害の修復にコラーゲンが関与していることを示している。オリーブ葉エキスの経口投与は、UVB 照射による皮膚真皮層の線維組織障害の修復にコラーゲンとの協同作用によって皮膚の弾力性を維持しつつ、かつ上皮層の代謝を促進し、上皮層の肥厚を防止していることが明らかになった。

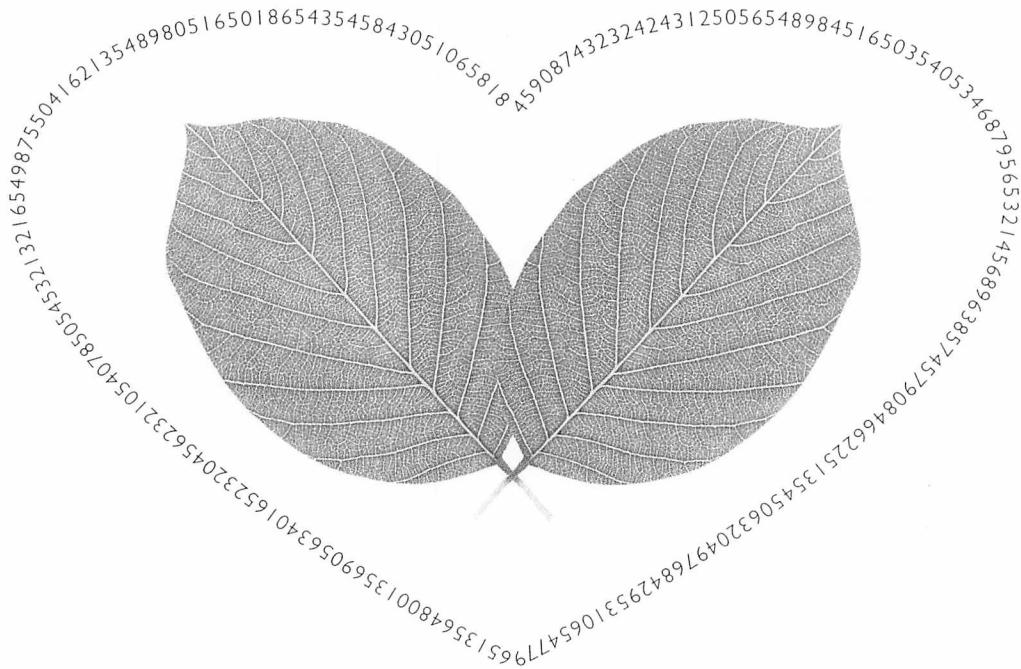
結論

オリーブ葉エキスの経口投与がUVB 照射による皮膚の老化(皮膚の肥厚、しわの増加および弾力性の低下)を阻止することを明らかにした。その一方、オリーブ葉エキスはUVB 照射による発赤などの炎症も抑制し、皮膚損傷を抑制していることを明らかにした。臨床的な評価は今後の検討課題である。

謝辞 オリーブ葉エキスを提供していただきました日本粉末薬品(株)に深謝いたします。

* * *

私たちは、自然の力を機能で考えます。



自然のはたらきを機能化することで、健康な生活に貢献。

生活習慣病、ストレス、肥満…現代人の抱えるさまざまな

健康に対する悩み。自然の力は今さまざまな形で

私たちの生活に取り入れられています。

日本粉末薬品株式会社は、自然の力(ハーブ、生薬)を常に研究し、

健康な生活に活かされる様、

数多くの素材を提供してまいります。

取扱原料

機能性食品原料、医薬品原料、
医薬部外品原料、化粧品原料

取扱商品

オリーブ、エゾウコギ、朝鮮人参、
田七人参、デビルズクローなど
ハーブ各種、和漢薬原料600種

剤形種類

殺菌粉末、抽出液、ソフトエキス、
エキスパウダー、各種受託加工も
致します。



天然物素材の品質向上と安定供給を目指すバイオニア

日本粉末薬品株式会社

ホームページ <http://www.nfy.co.jp/>