

アコヤ貝真珠層タンパク質を配合したスキンケア商品の開発

食品・環境科 専門研究員 晦 日 房 和
長崎大学水産学部 教 授 原 研 治
長崎大学水産学部 教 授 長 富 潔
長崎大学先導生命科学研究支援センター 教 授 松 田 尚 樹
広島大学薬学部 教 授 杉 山 政 則
株式会社 舞椿 代表取締役 中 山 幸 男

長崎県の真珠生産量は全国でもトップレベルである。しかしながら、養殖後のアコヤ貝貝殻が大量に排出され、その有効利用が望まれている。これまで貝殻真珠層のタンパク質の生理作用について調べてきたが、今回真珠層微粉末の DPPH ラジカルへの影響を調べたところ、ラジカル消去作用があることがわかった。さらに、真珠層微粉末を直接配合することを前提として、医薬部外品原料の規格試験、動物試験などで安全性を確認し、同粉末を配合したスキนครリームを試作した。当該クリームのアンケートを実施したところ、使用感が良いと好評であった。

1. 緒 言

長崎県の真珠生産量は9トン（H20年）と全国第1位で、年間約2000万個以上のアコヤ貝が養殖されている。その結果として500トン以上の貝殻が排出されるが、殆ど利用されていないのが現状である。

真珠及び貝殻真珠層は炭酸カルシウムを主成分としている。一部コンキオリンと呼ばれるタンパク質をはじめ多糖などの有機物質を含んでおり、それらはアコヤ貝外套膜からその成分が分泌される。構造的に貝殻は、外側の稜柱層が方解石 (calcite)、一方、内面の真珠層がアラレ石 (aragonite) という結晶構造をなしており後者は真珠と同様である。これらの結晶の形成はコンキオリンタンパク質によって制御されていると考えられている。

一方、コンキオリンのその他の作用として、その加水分解したアミノ酸は保湿性などの作用があることから化粧品原料として使用されている。また、ホタテ貝の貝殻タンパク質にはいくつかの生理活性があることが報告されている^[1]。このように、アコヤ貝貝殻真珠層を構成するタンパク質などの有機物質の中には多種の生理作用を示すものが存在している可能性が考えられる。

我々は、既に真珠層の不溶性タンパク質には抗酸化作用があることを報告した^[2]。そこで、今回真珠層粉末に同様な作用がないか調べた。

2. 方 法

2.1 研究材料

研究材料となるアコヤ貝貝殻は長崎県産で真珠養殖後のものを使用した。貝殻外側の稜柱層を研磨した真珠層を70%エチルアルコールで表面を殺菌・乾燥した。それを粉砕機で10ミクロン程度に粗粉碎した後、さらに平均1 μ mの微粉末とした。

2.2 DPPH ラジカルによる抗酸化作用の測定

真珠層微粉末の抗酸化作用の評価は、有色で簡易迅速な手法である DPPH(1,1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジル)ラジカルを用いて実施した。方法は、須田らの方法を一部改変して行った^[3]。400 μ M-DPPH (in EtOH)、0.2M MES buffer (pH 6.0) および EtOH の3試薬を各々250 μ l 混合した750 μ lに真珠層微粉末の水懸濁液(250 μ l)を加え、室温で20分間振とうさせ反応した。その後、反応液を14000 rpm、2 min. 遠心した上清を回収し520 nmで測定した。結果は、真珠層微粉末を含まないコントロールに対する DPPH ラジカルの消去活性を相対比として算出した。

2.3 パールパウダー（真珠層微粉末）の医薬部外品原料規格試験^[4]

- 1) 確認試験
- 2) 純度試験（重金属、ヒ素、フッ素）
- 3) 乾燥減量
- 4) 炭酸カルシウム含量

以上は医薬部外品原料規格に準じて行った。

2.4 ウサギを用いた真珠層微粉末の皮膚一次性刺激試験

検体の試験液について、OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 405(2002)に準拠し、ウサギによる皮膚一次性刺激性試験を行った。試料は検体とワセリンを混合したものを調製して用いた。また、対照としてワセリンのみも適用した。

日本白色種雄ウサギ3匹を使用し、背部被毛を試験の24時間前に剪毛した。試験動物1匹につき6カ所を設定し、そのうちの3カ所には18ゲージの注射針を用いて、真皮まで達しないように角質層にすり傷をつけ（有傷皮膚）、他の3カ所を無処理（無傷皮膚）とした。

約2 cm X 3 cm のガーゼパッチに試料又はワセリンを各々0.5 g 均一に載せ、それぞれにつき無傷及び有傷皮膚の各1カ所ずつに適応した後、マルチフィックス・ロール（スリーエムヘルスケア株式会社）で保持した。残りの無傷及び有傷皮膚は対照とした。適用時間は24時間とし、その後パッチを取り除き、1、24、48及び72時間に観察を行い刺激反応の採点を実施した。また、Federal Register(1972)に準拠して、適用物質ごとにパッチ除去後1、24及び48時間の採点値を合計して6で除し、更に各試験動物の平均を算出して一次刺激性インデックス(P. I. I.)とし、ISO 10993-10の基準に基づき、試料及びワセリン刺激性の評価を行った。

2.5 ウサギを用いた真珠層微粉末の眼刺激性試験

検体の試験液について、OECD Guidelines for the Testing of Chemicals 405(2002)に準拠し、ウサギによる眼刺激性試験を行った。日本白色種雄ウサギ3匹の片眼結膜嚢内に試験液0.1 ml点眼し、他眼は溶媒対象として注射用水を同様に点眼した。点眼後1、24、48及び72時間にスリットランプ(X10)を用いて角膜、虹彩、結膜などの観察を行い、Draize法の基準に従って眼刺激性の程度を採点した。得られた採点値を用いて、観察時間ごとに3匹の平均合計評点を求め、その最高値から眼刺激性の評価を行った。

なお、2.3～2.5の試験については、(財)日本食品分析センターで行った。

3. 結果および考察

活性酸素は生体内で疾病の原因の1つであることが

明らかになりつつあり、皮膚においてはメラニン生成やシワ形成の促進にも関与していると考えられている。そこで真珠層微粉末での抗酸化作用を調べるためにDPPHラジカルの消去能を指標に調べた。その結果、DPPHラジカルは、微粉末の濃度に依存的してその消去が認められることが判明した(図1)。

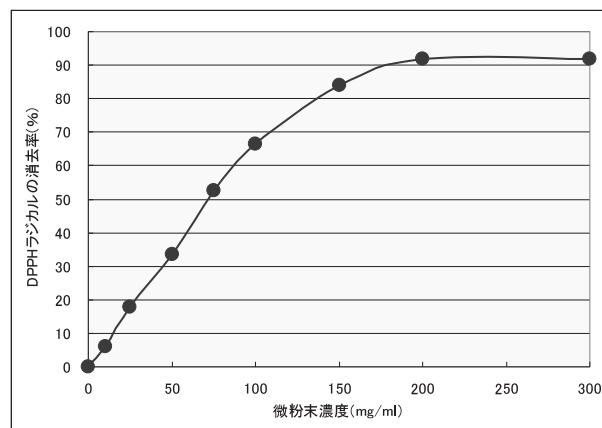


図1 真珠層微粉末によるDPPHラジカル消去作用

真珠層の微粉末は抗酸化作用があり、微粉末の使用は取り扱いやすく操作が容易であることから化粧品原料への利用を検討した。

まず、真珠層微粉末の化粧品原料として使用するため医薬部外品原料の規格試験を行った。その結果、重金属、ヒ素、フッ素の純度試験、乾燥減量、及び炭酸カルシウム含量においていずれも規格をクリアした。

次に、ウサギを用いて真珠層微粉末の皮膚一次性刺激性試験を行ったところ、配合予定濃度では刺激性がないことがわかった。さらに、眼刺激性試験においても、同濃度では刺激性がないことが判明し、安全性が確認できた。

そこで、真珠層の微粉末を配合したスキンクリームを試作した。モニターを対象に試作品のアンケートを実施したところ、使用感が良いと好評であった。

参考文献

- [1] Y. C. Liu, K. Uchiyama, N. Natsui and Y. Hasegawa ; Fisheries Science, vol. 68, 1330-1336(2002)
- [2] 晦日房和 ; H21長崎県工業技術センター研究報告 No.39, pp52-53 (2010)
- [3] 須田郁夫 ; 抗酸化機能①分光学的抗酸化機能評価、食品機能研究法 , pp218-223, 光琳
- [4] 医薬部外品原料規格 2006 (薬事日報社) pp. 1195-1196