

関係人口
と協働する
【産業振興】

2021
地域産業
資源発掘
プロジェクト

原種のカレンデュラ（金盞花：キンセンカ）の新規な特性発見と利用法の開発



図1 2021年度 南房総市の金盞花と他の環境資源調査の様子



図2 カレンデュラの生育環境こそが重要な価値

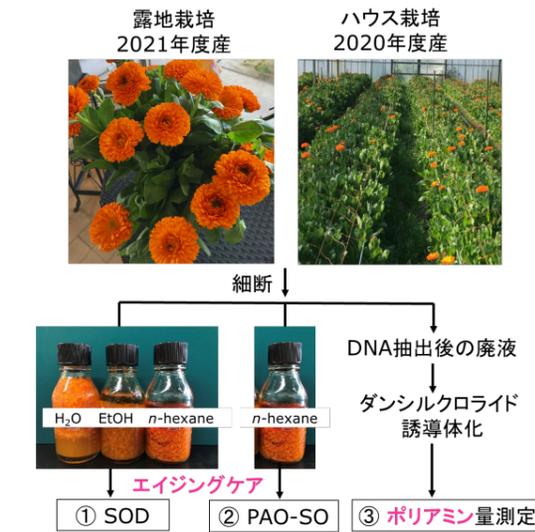


図3 南房総市白浜地区 カレンデュラを用いた実験方法概要図

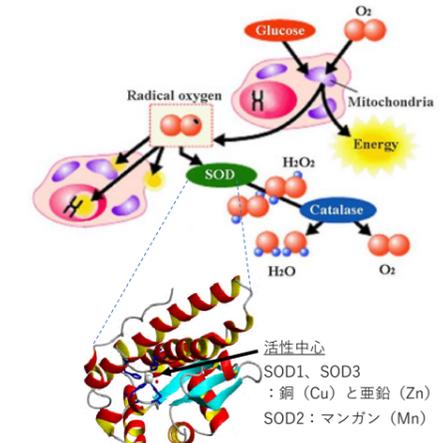


図4 体内の抗酸化作用システム例

域学協働の工夫！

- ★コロナ下でわずかな時間ではあったが、実際の生産現場に伺い、畑での作業を実施した。
- ★カレンデュラのプロジェクトを実施しているが、訪問時には幅広い南房総市の環境資源の発掘を試み、市役所ご担当の皆様がご協力くださり多種類の資源見学ができた。
- ★研究現場と市役所ご担当、生産者間のインタビューを繰り返し、誠実なご対応をいただいた。そのため、より柔軟な実験計画と実施が可能になった。

ルククロライドで誘導体化した後にポリアミンの定量に供し、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）で測定した。

【研究成果】

(1) 抗酸化能評価試験結果

ヒトを含む動物生体を老化させる原因の一つに活性酸素がある。動物は、呼吸により酸素を取り入れてエネルギーをつくり出す過程で、酸素の一部が酸化力の強い活性酸素に変化する。活性酸素が増え過ぎると、血管や細胞を傷つけ、体の内外を酸化（サビる）させ、皮膚の微小炎症や動脈硬化などの老化や生活習慣病に至る。生体は、活性酸素を抑えるための抗酸化酵素を持つが加齢により減少するため、抗酸化作用のある食品やサプリメント、化粧品などの活用でアンチエイジングを補助する作用が期待される。

スーパーオキシドディスムターゼ⁴⁾ (SOD) は、生体の細胞内に発生した活性酸素スーパーオキシドラジカル (Superoxide radical: $\cdot O_2^-$) を過酸化水素 (H_2O_2) と酸素 (O_2) に分解する酵素である (図4)。おもに3種のSODが存在し、SOD1は細胞質、SOD2はミトコンドリア、SOD3は細胞外空間に存在し、SOD1とSOD3は銅と亜鉛を含むのに対し、SOD2はマンガンを含む活性中

心に持つ。SOD様阻害活性測定法は、生体内のこのような酵素に類似した作用を持つ抗酸化物質の作用を測定する手法である。カレンデュラから抽出した成分のSOD様阻害活性作用評価の結果を図5に示す。図5の縦軸は、ある薬物が特定の生物学的プロセスを50%阻害することができる濃度 (IC50) を示す試料の添加濃度である。IC50は薬学研究などに広く用いられ、より低い値を示す化合物は阻害剤としての活性が高いと言える。本研究では、標準物質としてバイカリンを使用した。バイカリンは、漢方薬として利用されるオウゴン (黄芩) 中に含まれる有効成分であり、アトピー性皮膚炎、喘息などに有効な作用が認められている。本実験でもSOD様活性の最も高い活性を示すIC50値は、バイカリンが最小値を示した。

カレンデュラから抽出されたすべての分画でも、SOD様阻害活性作用を示す結果が示された。露地栽培とハウス栽培の花弁から抽出した成分のSOD様作用は、ハウス栽培、露地栽培共にEtOH分画で高い活性を示し、EtOHとn-hexane抽出物は、ハウス栽培でより高いSOD様活性が確認された。露地栽培とハウス栽培のH₂O抽出物には、SOD活性に差が認められなかった。

実施者

- ＜教員＞ 千葉工業大学 大学院先進工学研究科 生命科学専攻、先進工学部 教育センター 南澤 優優寛
- ＜メンバー＞ 千葉工業大学 南澤研究室で活動する
生命科学専攻遺伝子制御学研究室 (黒崎直子教授) 大学院1年 関 峻大、学部4年 泉屋 将宏
RNA工学研究室 (坂本 泰一 教授) 大学院2年 佐藤 佑真、大学院1年 笠原 希、学部4年生 2名、3年生 2名
- ＜協働パートナー＞
【行政】 南房総市 市民生活部 市民課 市民協働グループ

1. 背景・目的

南澤研究室では、2019年より南房総市との地域創生活動連携プロジェクトに参画し、わが国で最も古い種の南房総産カレンデュラ（金盞花：キンセンカ）の新たな価値と機能性を多角的に見出す研究に着手している (図1)。南房総市は、黒潮の流れがもたらす温暖な気候と潮風のもと、カレンデュラの生産量日本一を誇る。ヨーロッパでは、抗炎症・創傷治癒作用¹⁾、抗酸化作用²⁾、術後照射を受けている癌患者の急性皮膚炎の予防³⁾ 例が報告されているが、多くは伝承の民間薬として利用されている。日本では、カレンデュラをおもに仏花として利用し、詳細な薬理作用も明らかにされていない。

我々は、海岸と岩塩地層に生息する顕花植物 (けんかしよくぶつ) のカレンデュラに、有用な代謝産物の多産生を期待した。顕花植物とは、植物界で最も高度な進化を遂げた花を咲かせる植物である。近年著名な化粧品の研究では、スイスのエーデルワイスやフランスのグランヴィルローズなど、海岸と岩塩地層に生息する顕花植物からの抽出成分を多く扱っている。このような植物はより天然の環境下で栽培することで生理活性の高い多種類の複合成分を生成すると考えられる。カレンデュラは、ヨーロッパの岩塩地帯に位置するキリギス共和国が原産地である。花弁にはステロイドやテルペノイド、フラボノイド、ポリアミンなどの生理活性成分が多く含まれると予想され、新規の化粧品成分が見出せる可能性を持つために、2021年度は、花弁に含まれる成分の機能性評価を行った (図2)。

2. 活動内容

近年、化粧品の分野では、肌の若々しさを細胞レベルで維持する研究が重要な課題となっている。

2021年度の千葉工業大学 南澤研究室では、カレンデュラの花びらから抽出した成分でエイジングケアと呼ばれる微小炎症の抑制、肌の深部のうらおいに関わるポリアミン作用を解明するための研究を実施した。

【実験方法】 (図3)

今年度の実験は、南房総市白浜地区で栽培された2021年度産の露地栽培と2020年度産のハウス栽培のカレンデュラを用いて実施した。カレンデュラをエイジングケアの材料として用いる可能性を評価する試験には、抗酸化能評価試験を選び、① SOD様活性作用と脂溶性成分の評価項目である② PAO-SO評価試験を実施した。

初めにカレンデュラの花弁を細断し、超純水 (純粋なH₂O)、エタノール (Ethanol: EtOH)、n-ヘキサン (n-hexane) の3種類の物質で溶媒浸漬させ、花弁中の成分抽出を行った。概ね一週間室温で放置後に、抽出に使用したEtOHとn-hexaneは減圧濃縮、H₂Oは凍結乾燥という方法で花弁中の成分と分離させた。H₂O、EtOH、n-hexaneでの抽出成分をSOD様評価試験に使用し、n-hexane抽出物でCu²⁺ → Cu⁺の還元反応を利用したPAO-SO評価試験を実施した。

次に細断した花弁から、QIAGEN社の植物DNA抽出キットを使用してDNAを抽出した。DNA抽出後の廃液を回収してダンシ

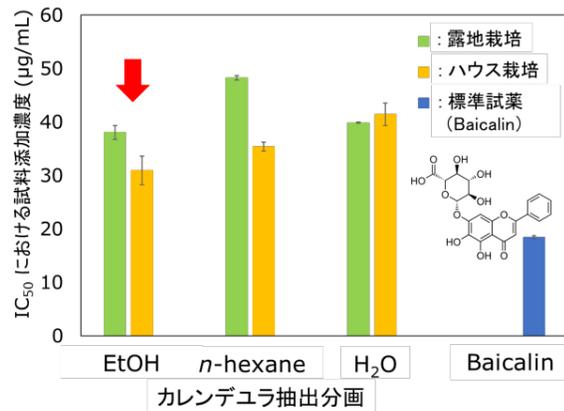


図5 SOD 様阻害活性作用評価

表1には、カレンデュラからn-hexaneで抽出した脂溶性成分を含む各種天然物のエッセンシャルオイルの抗酸化能を比較した結果を示す。表中の左の値はPAO-SO kitで測定した結果である⁵⁾。右の標準品の値は、文献値⁶⁾から抜粋した数値である。

ハウス栽培と露地栽培のカレンデュラ脂溶性成分は、yuzu seed, tea tree, grape seedに比べ抗酸化能が高く、現在世界中で抗酸化オイルとして高価な取引が行われているオリーブ、グレイプフルーツシードと同等の値を示した。カレンデュラの代表的な脂溶性成分の一つにβ-カロテンがある。市販品の抗酸化力が非常に高いことから、カレンデュラ花卉中の含有量測定を今後実施したい。

(2) アンチエイジングとポリアミン

老化や生活習慣病は、体内で生じる酸化ストレスが遺伝子や細胞ひいては組織への障害をおこし進行すると考えられていることから、酸化ストレスを消去する作用のある抗酸化物質はアンチエイジングの効果を示すと注目されてきた。しかし抗酸化物質の投与だけでは、動物の寿命は延長できない。

我々は、2021年に治療法のない確実に死に至る中枢神経変性疾患のヒトサンドホフ病のモデルマウスにポリアミンを摂取させ、寿命を延長させることに成功している⁷⁾。この研究では、柑橘類の種子から抽出した生理活性物質とポリアミンを併用することで、より効果的な結果を示した。

ポリアミンは、ほとんど全ての生物の細胞に存在する物質で、細胞の増殖や分化、さらに生体内での抗炎症作用に必要不可欠である。そのため、ポリアミン欠乏状態は細胞の機能や生存に重大な問題を生じさせるが、加齢と共に活性は減少する。代表的なポリアミンは、プトレスシン (Putrescine)、スペルミジン (Spermidine)、スペルミン (Spermine)である(図6)。細胞内では、アルギニンやグルタミンから、オルニチン、プトレスシン、スペルミジン、スペルミンの順に合成される。特に、プトレスシンとスペルミジンは、植物中の水分を調節するアクアポリンの維持に関係することが報告されている⁸⁾。我々は、この作用に注目した。

表1 各種天然物の抗酸化能比較

PAO-SO ⁵⁾		文献値 ⁶⁾	
Essential oil	Antioxidant capacity (µmol / L)	Commercial	Antioxidant capacity (µmol / L)
ハウス Calendula	3055	L-ascorbic acid	37587
露地 Calendula	2498	Catechin	31930
Yuzu seed	4651	Capsanthin	15574
Tea tree	4070	β-carotene	13975
Grape seed	3876	Quercetin	7827
Olive	3295	Chlorogenic acid	6720
Grapefruit seed	2326	Caffeine	1555

人の肌の表皮細胞の細胞膜には、細胞への水の通り道であるアクアポリンと呼ばれるたんぱく質が存在する(図7)。アクアポリンは加齢に伴い減少することがわかっているが、維持する方法は見出されていない。

植物は、高塩や高温などの環境ストレスに反応してポリアミンを代謝生成する酵素が逆変換経路を触媒し、スペルミンからスペルミジン、プトレスシンをより多く分解生成する性質があるからである。カレンデュラは、塩の影響を好んで成長する植物である。そのためプトレスシンとスペルミジンを多く含有すると期待した。化粧品として肌の弾力に影響するアクアポリンの維持への応用を検討するためである。

カレンデュラの花弁中のポリアミン含有量を測定すると、予想通りスペルミジンとプトレスシンが多く含有されていることがわかった(図8)。図中には、化粧品原料として使用されている米ぬか⁹⁾や乾燥大豆中^{10, 11)}のポリアミン量も示した。横軸はサンプル1gあたりのポリアミン含有量を表している。カレンデュラは、日本の米ぬかや乾燥大豆と比較して、スペルミンの含有量が非常に少ない。スペルミジンの含有量は、ハウス栽培のカレンデュラでは露地栽培に比べ、約8.5倍、米ぬかの約3倍、国産の大豆と比べ、少ないものの、ドイツ産の大豆とはほぼ同等値を示し、プトレスシンはハウスカレンデュラが比較した中で最も高い含有量であった。ハウス栽培と露地栽培での含有量の違いは、2019年の台風の影響に起因するものと思われるが詳細な考察が出来なかった。

海岸に咲く南房総市のカレンデュラは、産生する成分が抗酸化活性を示し、ポリアミンのようなエイジングケアに関与する機能性成分を優先的に作り出す能力を秘めていることがわかった。今後アクアポリンとの相互作用を研究することで、特に肌の恒常性維持にかかわるパーソナルな化粧品成分になることが期待される(図9)。

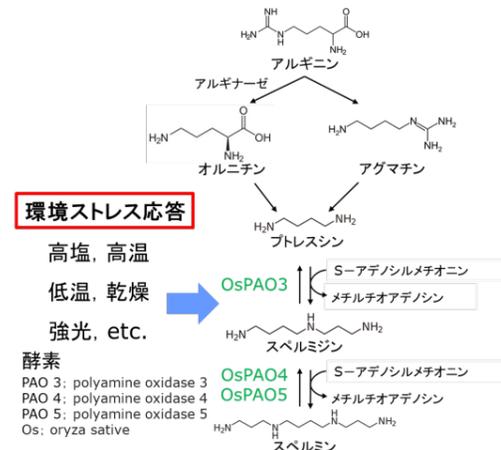


図6 ポリアミンの代謝経路⁸⁾

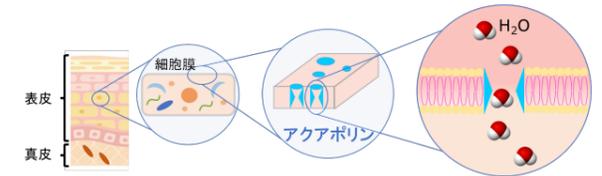


図7 細胞膜に存在する細孔を持ったタンパク質 アクアポリン、水分子のみを選択的に通過させる。

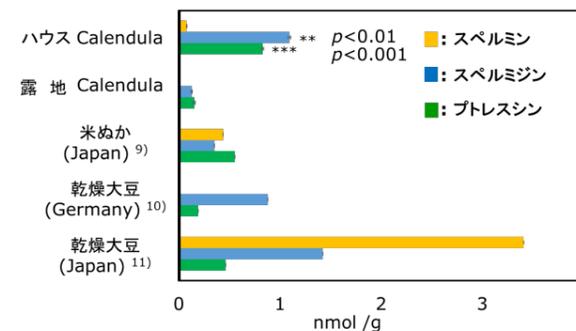


図8 ポリアミン含有量の比較

Calendula 2021



1. エイジングケア
2. 肌の深部のうるおいとポリアミンの作用

図9 Calendula 2021

3. 成果と課題

(1) 地域貢献面

南房総市の地形と自然環境を生かした資源の特異性を見出し、ご紹介することが出来た。

(2) 教育・研究面

研究内容に記載。

*引用論文

- 1) Zitterl-Eglseer et al., 1997, 10.1016/s0378-8741(97)00061-5.
- 2) V. Katalinic et al., 2006, 10.1016/j.foodchem.2004.12.004.
- 3) P. Pommier, et al., 2004, 10.1200/JCO.2004.07.063.
- 4) J.M. McCord, et al., J. Biol. Chem., 1969; 244, 6049-55.
- 5) M. Minamisawa, et al., 2014, 10.1039/c3f-o60440c.
- 6) 近藤知巳, et al., 2017, 10.3136/nskkk.64.457.
- 7) M. Minamisawa, et al., 2021, 10.3390/medsci9010017.
- 8) 草野友延, ポリアミン, 2014;1:42-46.
- 9) K. Nishimura, et al., 2006, 10.1093/jb/ mvj003.
- 10) W. Ziegler, et al., Deutsche-Lebensmittel-Rundschau. 1994; 90.
- 11) A. Okamoto, et al., 1997, 10.1271/bbb.61.1582.

*表彰・マスコミ掲載など

・学会発表：原種のカレンデュラにおける新規利用法の検討、○関 峻大、黒崎 直子、南澤 磨優寛、千葉工大・大学院先進工学研究科、日本ポリアミン学会 第12回年会、2021年12月18日、東京理科大学薬学部にてオンライン発表