

身近な果物を用いたスキントリートメントの効能

玉井美沙季*・石原健吾*・大口健司*

Dermatological Study of Skin Treatment Uses of Familiar Fruits

Misaki TAMAI, Kengo ISHIHARA and Kenji OHGUCHI

要 旨

身近な果物のスキントリートメント効果を検証するため、まず始めに8種類の果物由来の果汁についてプロテアーゼ活性を評価した。その結果、パイナップル、キウイフルーツ、イチジクに強いプロテアーゼ活性が認められた。次いでヒト使用試験においてこの3種の果汁についてパック処理を行った部位の角層水分量の変化を調べるとともに、皮膚の潤いについて被験者自身によるスコア化を行った。角層水分含有量についてはキウイフルーツとパイナップルのパック処理を行った部位はコントロール（水処理）部位と比較して高い値を示した。特にパイナップルが優れた値を示した。皮膚の潤いに関する自覚的評価においても果汁処理をした部位は水処理した部位よりも潤っていることが実感でき、肌触りも良好であった。経皮水分蒸散量の測定ではいずれの果汁パック処理を行っても影響はみられず、皮膚バリア機能は正常に保たれていた。また、テープストリッピング法により角質細胞の状態を観察したところ、パイナップルとキウイのパック処理を行った部位は古くなった余分な角質が除去されていることが確認できた。

本研究により、パイナップルをはじめとする身近な果物を用いることにより手軽にスキンケアの効果が実感できることが明らかとなった。

1. 緒 言

皮膚は表皮、真皮、皮下組織の3層構造により構成されている。表皮は皮膚表面側から角質層、顆粒層、有棘層、基底層に分類される。基底層で細胞分裂した表皮角化細胞（ケラチノサイト）が、有棘層、顆粒層、角質層への移行とともに分化（角化）を進行させ、最終的には垢となって皮膚表面から剥がれ落ちる。この角化のプロセスはターンオーバー

* 生活科学部 管理栄養学科

と呼ばれ、健全な皮膚では約28日の決められた周期で繰り返されている。

角質細胞同士の接着はデスモソームを中心としたリンカータンパク質により制御されている。表皮の角化に伴いプロテアーゼ活性が高くなり、接着に関与しているリンカータンパク質が分解され、最終的には角質細胞が自然剥離する仕組みになっている。しかし、老化や紫外線、生活習慣の乱れなどの要因によりプロテアーゼの活性が低下することが知られている。プロテアーゼ活性が低下するとターンオーバーが乱れ、不要な角質が剥がれ落ちずに蓄積する。その結果、角質層が重層化し、肌トラブルの原因となる。

一方、果物や野菜などの植物には様々な酵素が含まれている。その中にはタンパク質分解酵素であるプロテアーゼも含まれている。それらは自身を害虫から守るための防御手段として持っていると考えられる。調理においては肉や魚などを軟化させるために使用される場合がある。ヒトの皮膚に作用させた場合、角質層を柔軟化させ、古い角質の除去や角層水分量の増加に繋がることが期待される。本研究では、身近な果物からプロテアーゼ活性が高いものを選出し、それらの果汁でパック処理することによりスキントリートメントの効果が得られるか否かについて検証をした。

2. 実験方法

2-1 果汁の調製

本研究では、市販の8種類の果物（バナナ、ナシ、キウイフルーツ、リンゴ、パイナップル、イチジク、カキ、グレープフルーツ）を評価した。これらの果物は名古屋市内の百貨店で購入した。それぞれの果肉をすり潰し、4重にしたガーゼで濾した後、遠心分離（4℃、3000rpm、10分間）し、得られた上清を果汁として実験に供した。

2-2 *in vitro* における果汁中のプロテアーゼ活性の解析

各果物の果汁および水0.5mLを37℃に設定した恒温槽で5分間加温した後、あらかじめ37℃に加温した基質溶液（1%アルブミンと3%スキムミルクの混合溶液）2mLと混和し、30分間反応させた。反応溶液2mLを取り、30%水酸化ナトリウム0.2mLに加えて反応を停止させた後、50 μ Lを取り等量の2 \times SDS（ドデシル硫酸ナトリウム）サンプルバッファーと混和し、95℃で5分間加熱した。本溶液3 μ Lについて、12.5%ポリアクリルアミドゲル（アトー）を用いて電気泳動（21.0mA、30分間）により分離した。泳動装置はコンパクトPAGE AE-7350（アトー）を用いた。泳動後のゲルは固定液（50% v/v メタノール、7.5% v/v 酢酸）で処理した後、Quick-CBB PLUS（和光純薬工業）にて染色し、基質タンパク質のバンドを検出した。

2-3 ヒト使用試験

ヒト使用試験は、椙山女学園大学生生活科学部管理栄養学科に所属する女子大生及び教員5名を対象として実施した。被験者の平均年齢は23.8 \pm 2.5歳であった。測定に際しては27.5 \pm 0.5℃、湿度61.5 \pm 2.5%に保った静謐な環境で実施した。被験部位は両手前腕内側とし果汁または水（コントロール）を5mLずつ浸み込ませたガーゼを被験部位に貼り付けることによるパック処理を行った。果汁パック処理を30分間行った後、ガーゼをはが

し被験部位を軽く水洗いした。なお、本研究の実施にあたっては、被験者の個人情報保護や倫理的配慮を盛り込んだ実験計画書を作成し、相山女学園大学倫理委員会の承認を受けた。また、被験者全員にインフォームドコンセントを実施し、書面による同意を得た。

2-4 角層水分量および経皮水分蒸散量 (TEWL) の測定

被験部位を水道水で軽く5回まで洗いした後、キムタオルを軽く当て水分を取り除いた。室内で安静にしてもらった後(30分間)皮膚水分量(コンダクタンス)をCorneometer (Courage+Khazaka社)にて測定し、処理前値とした。その後、果汁パック処理を行い、30分後に軽く水洗いした。再度30分間の安静を行い、パック処理後の角層水分量を経時的に測定した。また、経皮水分蒸散量をTewameter (Courage+Khazaka社)を用いて測定し、皮膚バリア機能への影響を調べた。

2-5 皮膚の潤いに関する自覚的評価(潤いスコア)

アンケート方式で皮膚の潤いの状態を被験者自身に5段階で評価してもらった。

2-6 テープストリッピング法による角質細胞の観察

角質細胞の採取には、角質チェッカー(アサヒバイオメッド)を使用した。角質採取部位に角質チェッカーをのせ、粘着面全体を平均的に押し付けた後に緩やかに剥がし、角質細胞を剥離した。角質細胞の染色にはMiliQ水(1L)にゲンチアナバイオレットB(10g)およびブリリアントグリーン(5g)を溶解させた混合染色液を使用した。角質細胞を採取した角層チェッカーを水道水で洗浄した後、混合染色液を入れたトレー中に移し、15分間浸漬し染色した。染色後、水道水で軽く洗浄し、乾燥(38°C, 10分間)させ、プレパラートに貼りつけ観察標本とした。標本は光学顕微鏡を用いて観察した。

3. 実験結果

3-1 各果汁中のプロテアーゼ活性

図1に各果汁中のプロテアーゼ活性を示した。アルブミン(66.4kDa)はキウイ果汁の共存下でわずかに減少した。その他の果汁においては変化が認められなかった。一方、スキムミルク中のタンパク質(29.0kDa, 20.1kDa)はパイナップル、キウイフルーツ及びイチジクの各果汁共存下において明らかに減少したが、その他の果汁では変化が認められなかった。以上の結果から、ヒト使用試験に供する果物として、プロテアーゼ活性が強かったパイナップル、キウイフルーツ、イチジクの3種類を選定した。

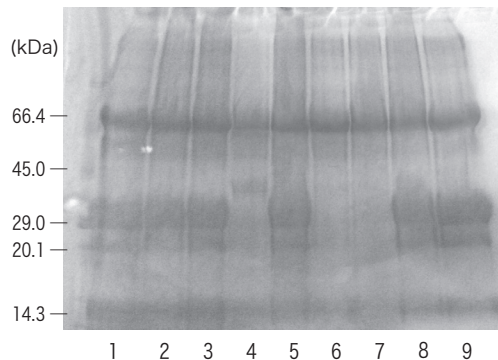


図1 各果汁中のプロテアーゼ活性

1) 水, 2) バナナ, 3) ナシ, 4) キウイフルーツ, 5) リンゴ, 6) パイナップル, 7) イチジク, 8) カキ, 9) グレープフルーツ

3-2 ヒト使用試験

果汁パック処理後の角層水分量の経時的变化を図2に示した。各果汁ともにパック処理30分後では処理前値よりも角層水分量が上昇した。特にパイナップルとキウイフルーツでパック処理した部位はコントロールと比較して有意に高値を示した。パック処理150分後ではコントロールとイチジクでパック処理した部位は処理前値まで低下した。一方、パイナップルとキウイフルーツでパック処理した部位は処理前値よりも高い水分量を維持しており、コントロールと比較しても有意な差が認められた。処理270分後ではコントロールとの有意差は認められなかったものの、角層水分量が高値を示した。

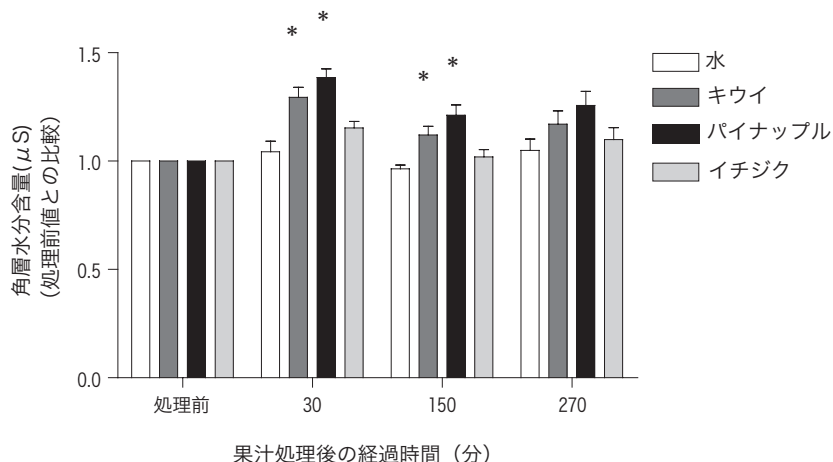


図2 果汁パック処理後の角層水分含有量の経時的变化
 処理前値を1とする
 値は平均値±SD (n=5), * P < 0,05vs 水処理

角層は皮膚バリア機能にとって重要な働きを担っている。そのため、角層が必要以上(特に下層部分)に除去されてしまうと、肌のバリア機能が低下する。そこで、肌のバリア機能の指標である経皮水分蒸散量の測定により、果汁パック処理が肌のバリア機能に影響を及ぼすか否かを調べた。経皮水分蒸散量の結果を図3に示した。コントロール、パイナップル処理、キウイフルーツ処理、イチジク処理された部位間に差は認められなかった。

次に、テープストリッピング法による角質細胞の状態を図4に示した。テープストリッピングにより採取された角質の標本では、水、イチジクで処理されたものは多くの角質が確認された。一方、キウイフルーツ処理された標本では角質が水やイチジクよりも少なく、パイナップルで処理された標本では最も少なかった。

皮膚の潤いに関する自覚的評価(潤いスコア)の結果を図5に示した。キウイフルーツとパイナップルのパック処理においてスコアが高値となり、被験者自身が実際に肌の潤いを自覚できた。

身近な果物を用いたスキントリートメントの効能

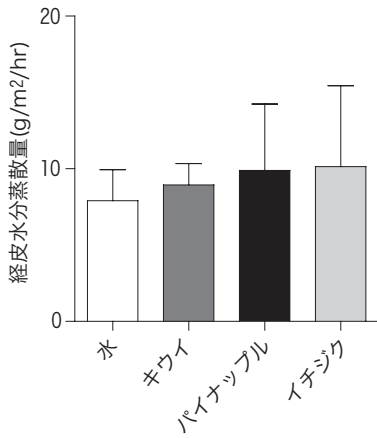


図3 果汁パック処理270分後の経皮水分蒸散量
値は平均値±SD (n=5)

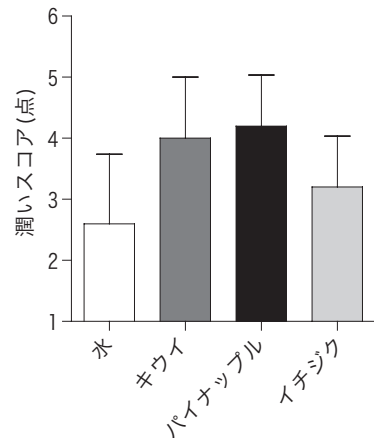
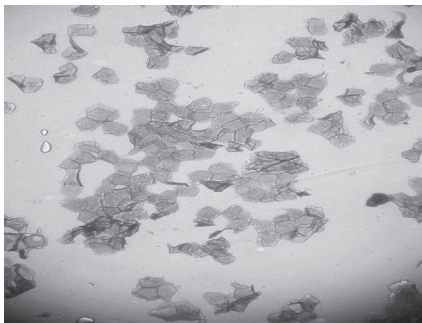
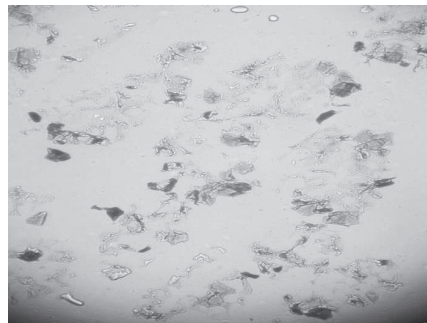


図5 果汁パック処理270分後の皮膚の潤いに関する自覚的スコア
値は平均値±SD (n=5)



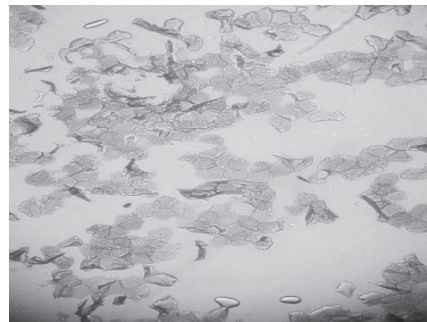
1



2



3



4

図4 果汁パック処理270分後のテープストリッピング法による角質細胞の状態
1) 水パック処理, 2) キウイフルーツパック処理, 3) パイナップルパック処理, 4) イチジクパック処理
光学顕微鏡にて観察

4. 考 察

角層はターンオーバーによって絶えず生まれ変わり、最外層の角質細胞は自然剥離していく。剥離するまでの角質細胞はデスモソームと呼ばれるリンカータンパク質からなる接着装置を介して、お互いに接着している。角層の下層部分はデスモソームにより細胞間の接着が強く、その細胞間は細胞間脂質で満たされており、保湿機能やバリア機能を持つ。上層部分は接着装置であるデスモソームがプロテアーゼにより分解され角質が剥がれ落ちていくが、ターンオーバーの乱れによりスムーズに剥がれ落ちない場合がある。このような状況は老化皮膚で見られ、老化皮膚はプロテアーゼ活性が低下していることが知られている。角層が重層化することによりくすんで見えたり、角層の水分量不足や柔軟性に欠けた状態となり、乾燥肌や肌荒れにつながる。このような皮膚状態がプロテアーゼ活性を持つ果物を用いたスキントリートメントにより改善されるのかを検討するため、まずはプロテアーゼ活性の高い果物を選定した。

電気泳動法を用いた *in vitro* での検討では、試料として用いた果物の中ではアルブミンに対するプロテアーゼ活性はキウイフルーツのみが認められ、スキムミルクに対するプロテアーゼ活性はパイナップル、キウイフルーツ、イチジクの各果汁が強かった。これらは既知の報告でもプロテアーゼ活性を持つ果物として知られており、今回の実験結果はそれらの報告と一致した。パイナップルにはブロメライン、キウイフルーツにはアクチニジン、イチジクにはフィシンと呼ばれる固有のプロテアーゼが含まれている¹⁾²⁾。

本研究の結果から、パイナップルとキウイフルーツの果汁パック処理の効果が実証された。果汁パック処理後の角層水分含有量の変化において、コントロールとして水処理を行った部位では処理後30分の測定時に角層水分量の増加は認められなかった。一方、果汁パック処理を行った部位では、パック処理30分後の測定時に最も高い値となり、その後の測定時では若干の減少はあるものの、コントロール部位よりも高い値を保った。特にパイナップルで高い値を示し、角層水分含量の上昇および保持に優れていると考えられる。角層水分量は、角層の下層部から上層部にかけての水分勾配が存在しており、下層部に近づくにつれて水分量が上昇する。つまり、余分な角質が除去されることによって水分含有量が上昇する。よって、果汁パック処理によって古くなった余分な角質が除去された可能性が考えられる。

一方、被験者自身に判定してもらった皮膚の潤いに関する評価では、キウイフルーツ及び、パイナップル果汁のパック処理を行った部位が、果汁処理270分後においても皮膚がしっかりと潤っている実感が得られた。本判定においても、パイナップル処理を行った部位において高い実感が得られた。これは、角層水分量の経時的変化における数値と一致した。同時に、皮膚の軟化も感じられ、果汁パック処理をすることによって古い角質細胞が除去され角層が軟化したと考えられる。

一方、経皮水分蒸散量とは、無意識のうちに角層を通じて蒸散する体内の水分量のことである。経皮水分蒸散量が多いと皮膚の必要な角質が失われており、バリア機能が低下していると考えられる。測定の結果、コントロール、パイナップル処理、キウイフルーツ処理、イチジク処理された部位間に差は認められなかった。すなわち、角層水分量の上昇がみられたキウイフルーツ及びパイナップルのパック処理では不要な角質のみが除去され、

身近な果物を用いたスキントリートメントの効能

バリア機能として必要な角質層は残っていると考えられる。また、テープストリッピングによる角質細胞の観察結果からも、パイナップルやキウイフルーツの処理では上層部の不要な角質層が除去されたことが示唆された。

in vitro 系においてプロテアーゼ活性が最も高いと判定されたのはキウイフルーツ果汁であった。しかし、果汁パック処理後の角層水分量や皮膚の潤いに関する自覚的スコアにおいて、水分含有量がより優れていると判断されたのはパイナップル果汁のパック処理であった。その理由の一つとして、プロテアーゼの種類による基質特異性の違いが関係していると考えられる。プロテアーゼ活性の測定に用いた基質はアルブミンとスキムミルクであるが、角質細胞間の接着に関与しているのはデスモソームと呼ばれるタンパク質複合体である。それぞれの果汁に含まれるプロテアーゼであるアクチニジン、プロメライン、フィシンが生体タンパク質であるデスモソームに対し分解作用を示すか否かについて検討の余地がある。

一方、パイナップルにはアルファヒドロキシ酸 (AHA) の一つであるグリコール酸が含まれていることが知られている。AHA は皮膚表面の古い角質を剥離させ、皮膚の細胞再生を促す効果がある。実際にケミカルピーリング材として用いられており、化粧品には保湿成分や角質柔軟成分として配合されている³⁾。そのため、パイナップルの果汁パックの作用として AHA が関与している可能性も十分に考えられる。

本研究により、身近な果物を用いることにより手軽にスキンケアの効果を実感できることが明らかとなった。

謝辞

本研究を遂行するに当たり、ご協力してくださった被験者のみなさんに心より感謝いたします。

参考文献

- 1) 吉川春寿, 芦田淳編: 総合栄養学事典第四版, 同文書院 (2002)
- 2) Arcus, A. C.: Proteolytic Enzyme of *Actinidia Chinensis*, *Biochim. Biophys. Acta*, 33, 242-244 (1959)
- 3) 鈴木一成, 朝田康夫: コスメティック Q&A 辞典, 全面改訂最新版, 266 (2011)