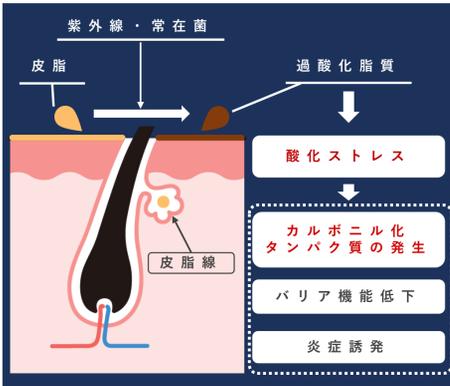


背景と目的



【背景】
脂質の役割は皮膚を保護するが、紫外線や常在菌の影響で酸化され、過酸化脂質になると様々な皮膚トラブルを引き起こす。

【目的】
カキドオシ由来のロスマリン酸がグルタチオン量を増加させることに着目し、細胞の抗酸化力を高め、過酸化脂質による刺激、カルボニル化タンパク質の生成を抑制する可能性を検証した。

カキドオシについて



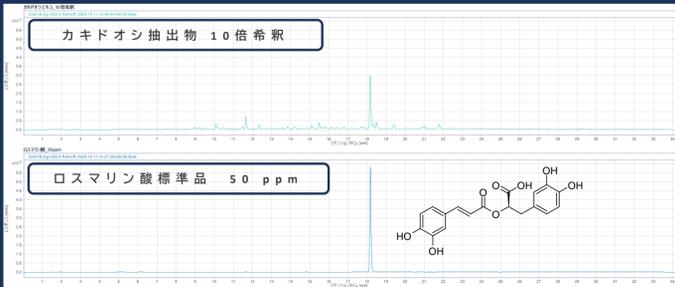
カキドオシ
(*Glechoma hederacea*)

- ・分類： シソ科の多年草
- ・分布： 日本や東アジアに広く分布
- ・特徴： 春から初夏に紫色の花を咲かせる
- ・生薬名： 連銭草 (れんせんそう)
- ・利用： 古くから漢方や民間薬として活用
- ・成分： ロスマリン酸、ウルソール酸、ポリフェノール類を含む
- ・作用： 抗酸化作用、抗菌作用、利尿作用、抗炎症作用、腎臓・肝臓の機能を助ける

1.カキドオシ抽出物調製方法

カキドオシ乾燥葉1部に対し、50%エタノール水溶液を10部加え、室温にて1週間静置し、抽出した。素材を除去し、0.2 μmのセルロースアセテートフィルターでろ過し、抽出物を得た。得られた抽出物を用いて各試験を行った。抽出物の固形分は、2.61%含まれていた。

2.カキドオシ抽出物の成分分析、ロスマリン酸の定量



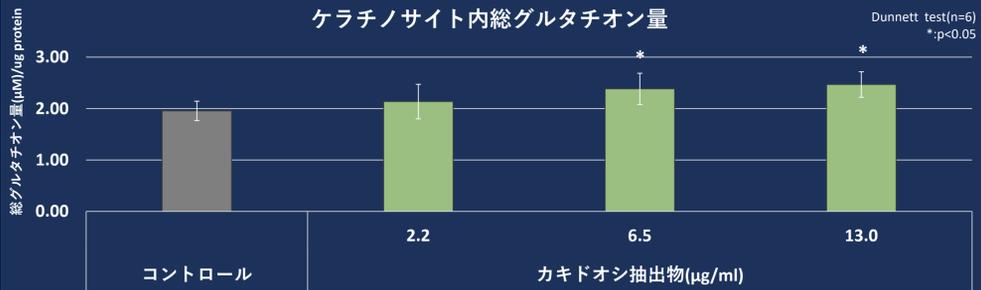
移動相 A : 0.1% 酢酸水溶液
移動相 B : アセトニトリル
溶出 : グラジエント
流速 : 0.5 ml/min
カラム : C18 3.0 × 150 mm
粒子径 2.7 μm
カラム温度 : 40 °C
注入量 : 2 μL
測定波長 : 320 nm

カキドオシ抽出物には主成分としてロスマリン酸が約250 ppm含まれていることが確認できた。

3.細胞操作

正常表皮ヒトケラチノサイト (NHEK) を10 cmシャーレにサブコンフルエントまで培養した。培養後、96ウェルプレートに2.0 × 10⁴ cell/wellで播種し、CO₂インキュベーター内で24時間培養した。抽出物を添加し、24時間後にそれぞれの試験を実施した。

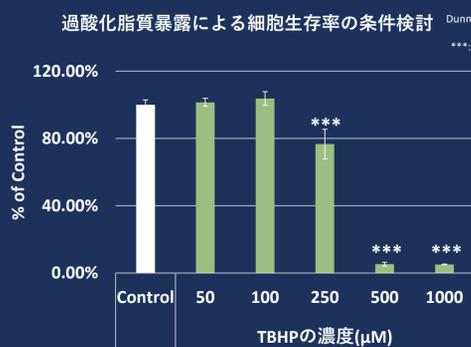
4.グルタチオン合成促進効果



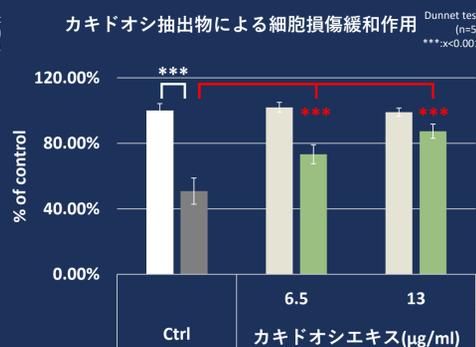
結果
カキドオシ抽出物は、表皮角化細胞内のグルタチオン量を上昇させた。

5.過酸化脂質暴露検討及び細胞損傷緩和作用

過酸化脂質のモデル化合物であるtert-ブチルヒドロキシペルオキシド (TBHP) を用いて、刺激を与える条件とカキドオシ抽出物がもたらす緩和作用について検証を行った。



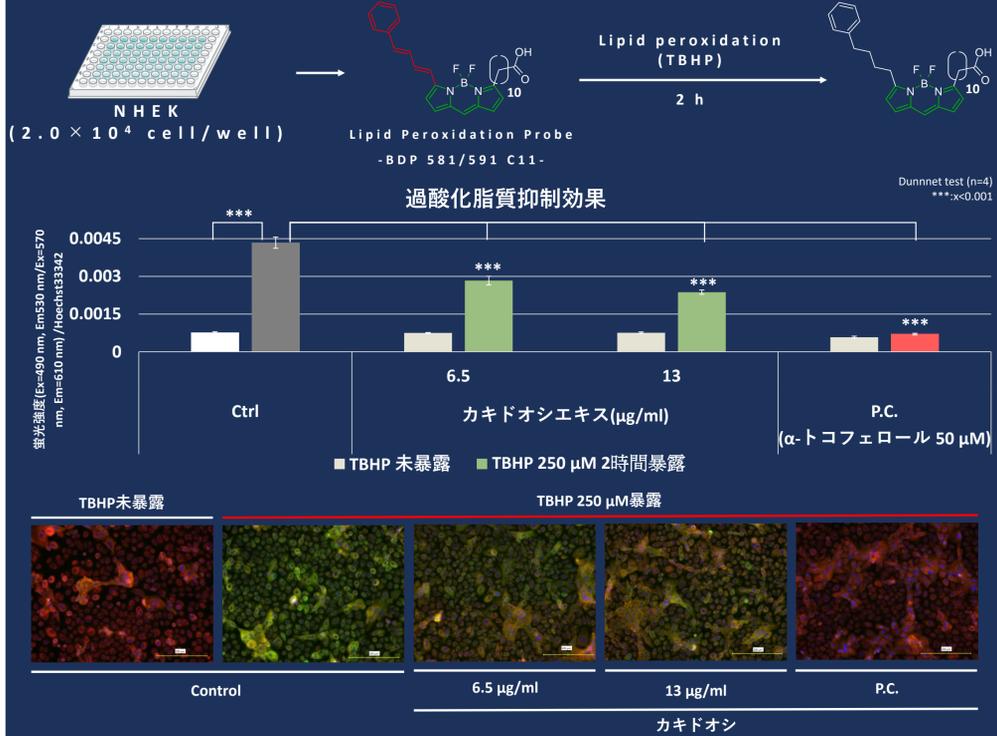
結果
暴露24時間後
NRアッセイで生存率を確認



結果
カキドオシ抽出物は過酸化脂質による細胞損傷を緩和した。

6.過酸化脂質抑制効果

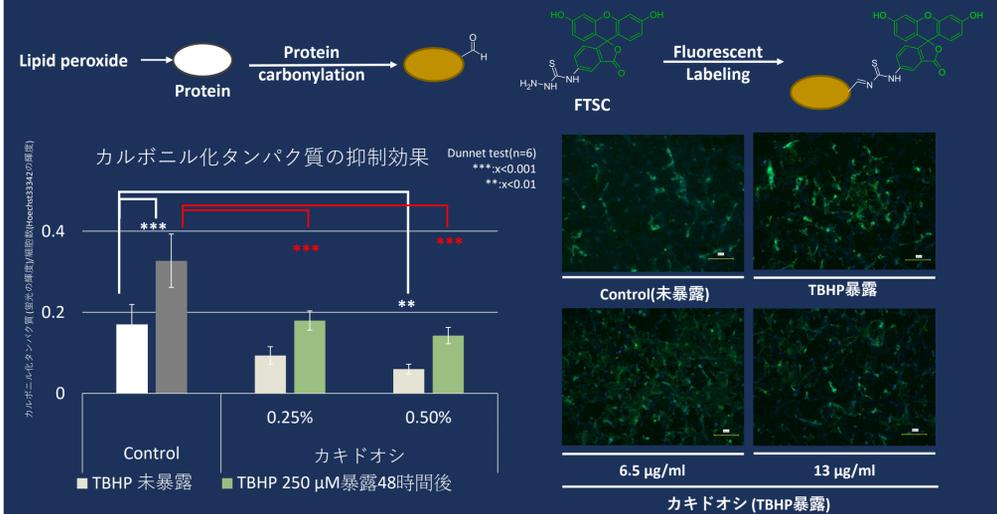
TBHPを暴露した細胞に、過酸化脂質の発生を蛍光色素で確認した。



結果
カキドオシ抽出物は、TBHP暴露による過酸化脂質の発生を有意に抑制した。

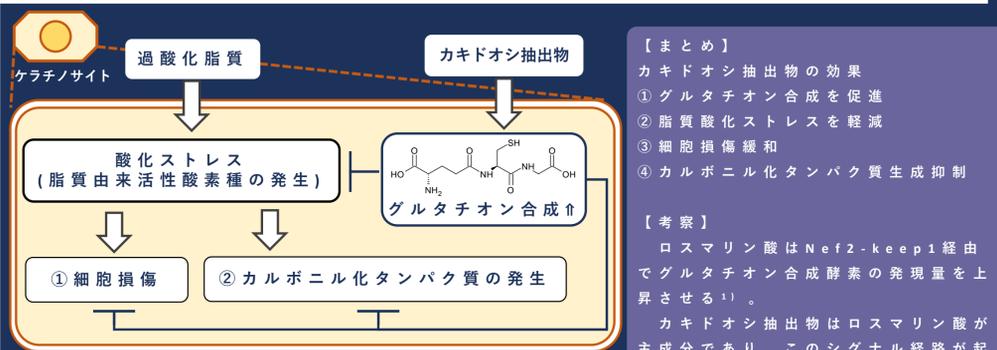
7.カルボニル化タンパク質生成抑制効果

細胞内で生じた過酸化脂質は、タンパク質と反応し、カルボニル化タンパク質を発生させる。TBHPを暴露し、fluorescein-5-thiosemicarbazide (FTSC)にてカルボニル化タンパク質を検出した。



結果
カキドオシ抽出物は、脂質酸化ストレスで生じるカルボニル化タンパク質の生成を抑えることが確認された。

8.考察・まとめ



【まとめ】
カキドオシ抽出物の効果
①グルタチオン合成を促進
②脂質酸化ストレスを軽減
③細胞損傷緩和
④カルボニル化タンパク質生成抑制

【考察】
ロスマリン酸はNrf2-keep1経路でグルタチオン合成酵素の発現量を上昇させる¹⁾。カキドオシ抽出物はロスマリン酸が主成分であり、このシグナル経路が起因していると考えられる。

引用文献
1) Biomolecules & Therapeutics 2024; 32(1): 84-93