

# ビタミンCを合成できない毛のないSMP30/GNL遺伝子破壊ヘアレスマウスを用いた皮膚におけるビタミンCの美白、抗しわ効果の科学的実証

東邦大学薬学部生化学

石神 昭人

Vitamin C is said that the skin aging is prevented, and there are wrinkle prevention and whitening effectiveness. However, scientific data that proves the effect is a little. The human cannot synthesize vitamin C in the body, however, the dog, the cat, and the mouse can synthesize vitamin C. We recently developed the SMP30/GNL gene destruction mouse without hair that was not able to synthesize vitamin C in the body. In the present study, we examined the time course of vitamin C distribution in the skin by using SMP30/GNL gene destruction mice. After oral vitamin C administration, vitamin C content in the skin peaked at 6 h and then decreased. Thus SMP30/GNL gene destruction mice without hair as a human-like is very useful whole-body animal model for investigating the movement and functions of vitamin C in the skin.

## 1. 緒言

ビタミンCは皮膚の老化を防ぎ、しわ予防、美白効果があるといわれている。しかし、その効果を実証する科学的データは少ない。ヒトは体内でビタミンCを合成できない。しかし、犬や猫、マウスは体内でビタミンCを合成できる。我々は、ビタミンCを体内で合成できないSMP30/GNL遺伝子破壊マウスを作製し、長期的なビタミンCの不足は寿命を短くすることを明らかにした<sup>1-4)</sup>。即ち、ビタミンCを体内で合成できないマウスに1日必要量の2.5%のビタミンCを毎日与え、マウスの生存率を調べた。その結果、ビタミンCが不足したマウスは普通のマウスに比べて早期に死亡し、その死因は臓器全体が萎縮するヒトの老衰症状そのものであった。ビタミンCは皮膚線維芽細胞で合成されるコラーゲンに含まれるアミノ酸、プロリンおよびリシンの水酸化反応を触媒する酵素の補因子として働き、コラーゲン分子の重合に重要な役割を果たす。そのため、ビタミンCが不足するとコラーゲン分子の重合がうまくいかず、キメの粗い肌になってしまう。我々は、最近、ビタミンCの皮膚での働きを詳しく調べるため、ビタミンCを合成できない毛のないヘアレスマウスの開発に成功した。このマウスは肌のシミを防ぐ美白試験や紫外線照射によるしわの形成阻害などの評価試験に用いることができる。

本研究では、ビタミンCを合成できない毛のないSMP30/GNL遺伝子破壊ヘアレスマウスを用いて、ビタミンCの経口1回摂取による皮膚へのビタミンCの移行速度、移行量を測定した。

## 2. 実験

### 2.1 皮膚でのビタミンC保持率の測定

野生型マウス (C57BL/6) およびビタミンCを合成できないSMP30/GNL遺伝子破壊ヘアレスマウスを生後3ヵ月齢までマウスが必要とする1日必要量の100% (7mg/日) のビタミンCを与えて飼育した。また、皮膚でのビタミンC保持率を求めめるため、生後2ヵ月齢から1ヵ月間、1日必要量の2.5% (0.175mg/日) のビタミンCを与えるSMP30/GNL遺伝子破壊ヘアレスマウス群も用意した。

### 2.2 ビタミンCの皮膚への移行速度、移行量の測定

SMP30/GNL遺伝子破壊ヘアレスマウスを生後2ヵ月齢までマウスが必要とする1日必要量の100% (7mg/日) のビタミンCを与えて飼育した。その後、生後2ヵ月齢から1ヵ月間、1日必要量の2.5% (0.175mg/日) のビタミンCを与えた。1ヵ月後、経口ゾンデを用いて1日必要量の50% (3.5mg/日) のビタミンCを投与した。経口投与後、経時的 (3, 6, 12, 24時間) に皮膚を採取し、ビタミンCの皮膚移行速度を測定した。

### 2.3 ビタミンCの定量

ビタミンCの定量はHPLC、電気化学検出器を用いて行った<sup>5)</sup>。ビタミンCの分離はAtlantis dC18 5 $\mu$ mカラム (4.6 $\times$ 150mm)、移動相は50mMリン酸バッファー (pH2.8)、54 $\mu$ M EDTA、2%メタノールを用いた。流速は1.3mL/分であった。電気化学検出器の電極にはグラッシーカーボン電極を用い、+0.6Vの電圧をかけて電気信号を記録した。データ解析はウォーターズEmpower 2を用いた。

## 3. 結果

### 3.1 皮膚でのビタミンC保持率

生後3ヵ月齢の野生型マウスの皮膚中ビタミンC量は $0.27 \pm 0.02 \mu\text{mol/皮膚g}$ であった (図1)。一方、SMP30/



Vitamin C beautification and whitening in the skin that used SMP30/GNL gene destruction mouse without hair that cannot synthesize vitamin C and scientific proof in effect of anti-wrinkle

Akihito Ishigami

Department of Biochemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Toho University

GNL 遺伝子破壊ヘアレスマウスに生後 3 ヶ月齢まで 1 日必要量の 100% (7 mg/日) および生後 2 ヶ月齢から 1 ヶ月間、1 日必要量の 2.5% (0.175 mg/日) のビタミン C を与えた群では、皮膚中のビタミン C 量はそれぞれ  $0.32 \pm 0.04 \mu\text{mol}/\text{皮膚 g}$  および  $0.03 \pm 0.01 \mu\text{mol}/\text{皮膚 g}$  であった。このように 1 ヶ月間、1 日必要量の 2.5% のビタミン C を与えた SMP30/GNL 遺伝子破壊ヘアレスマウスの皮膚でのビタミン C 保持率は、野生型マウスおよび 1 日必要量の 100% のビタミン C を与えた群の皮膚中ビタミン C 量を 100% とした場合、それぞれ 10.6% および 8.9% であった。

### 3.2 経口1回摂取による皮膚へのビタミン C の移行

経口投与後、皮膚へのビタミン C の移行速度を調べるため、SMP30/GNL 遺伝子破壊ヘアレスマウスに生後 2 ヶ月齢から 1 ヶ月間、1 日必要量の 2.5% (0.175 mg/日) のビタミン C を与えて、ビタミン C 不足状態にした。このマウスに 1 日必要量の 50% (3.5 mg/日) のビタミン C を 1 回、経口投与してビタミン C の皮膚移行量を経時的に測定した。経口投与後、皮膚中ビタミン C 量は経時的に増加し、6 時間で最大となった (図 2)。また、12 時間では減少し、それ以降 24 時間まで変化はなかった。

## 4. 考 察

ビタミン C を合成できない SMP30/GNL 遺伝子破壊ヘアレスマウスを用いてビタミン C の経口1回摂取による皮膚へのビタミン C の移行速度を調べた。経口投与後、ビタミン C は経時的に皮膚に移行し、6 時間で最大となることが分かった。ヒトでもビタミン C を経口摂取後、同様に皮膚中ビタミン C 量が 6 時間で最大となるかは明らかではない。本研究で用いたビタミン C を合成できない SMP30/GNL 遺伝子破壊ヘアレスマウスは皮膚でのビタミン C の解析にとっても有用であると考えられる。

## 謝 辞

本研究を実施するにあたりご支援頂いた財団法人コスメトロジー研究振興財団に深く感謝致します。

## (引用文献)

- 1) Ishigami, A. and Maruyama, N.: (REVIEW ARTICLE) Significance of SMP30 in Gerontology. *Geriatr. Gerontol. Int.*, 7, 316-325, 2007.
- 2) 石神昭人、佐藤安訓、丸山直記：機能解明！SMP30 はビタミン C 合成に重要な酵素。基礎老化研究, 30, 11-14, 2006.
- 3) 石神昭人：ビタミン C の不足が老化に及ぼす影響。ビタミン, 81, 303-308, 2007.
- 4) Kondo, Y., Inai, Y., Sato, Y. *et al.*: Senescence marker

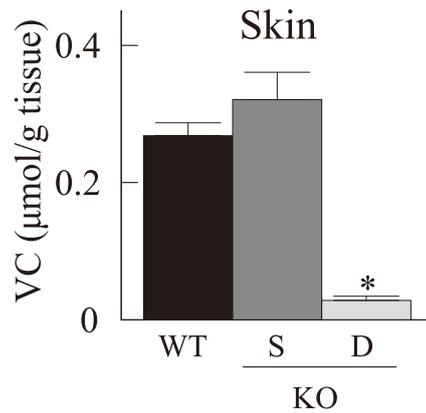


図1 生後 3 ヶ月齢の野生型マウス (WT) および SMP30/GNL 遺伝子破壊ヘアレスマウス (KO) の皮膚中ビタミン C 量 SMP30/GNL 遺伝子破壊ヘアレスマウスに 1 日必要量の 100% (S) および生後 2 ヶ月齢から 1 ヶ月間、1 日必要量の 2.5% (D) のビタミン C を与えた。\* $P < 0.05$

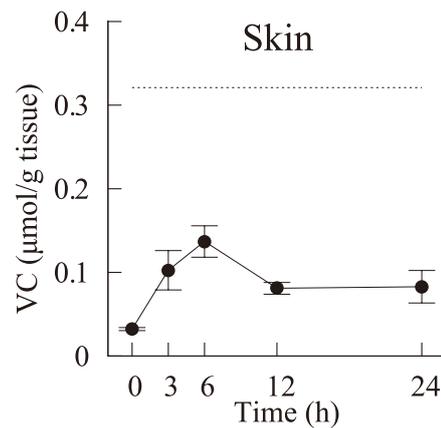


図2 経口1回摂取によるビタミン C の皮膚への移行速度 SMP30/GNL 遺伝子破壊ヘアレスマウスに生後 2 ヶ月齢から 1 ヶ月間、1 日必要量の 2.5% のビタミン C を与えて、ビタミン C 不足状態にした。このマウスに 1 日必要量の 50% のビタミン C を 1 回、経口投与した。投与後、経時的に皮膚中のビタミン C 量を測定した。点線は、SMP30/GNL 遺伝子破壊ヘアレスマウスに 1 日必要量の 100% のビタミン C を与えた場合の皮膚中ビタミン C 量を示す。

- protein 30 functions as gluconolactonase in L-ascorbic acid biosynthesis and its knockout mice are prone to scurvy. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 103, 5723-5728, 2006.
- 5) Sato, Y., Uchiki, T., Iwama, M. *et al.*: Determination of dehydroascorbic acid in mouse tissues and plasma by using tris(2-carboxyethyl)phosphine hydrochloride as reductant in metaphosphoric acid/ethylenediaminetetraacetic acid solution. *Biol. Pharm. Bull.*, 33, 364-369, 2010.