

日本沿岸海藻由来の抗アクネ起因菌Propionibacterium acnes活性の探索および活性物質の分離

誌名	海と台地
ISSN	13415344
著者名	末吉,美幸 寺田,竜太 亀井,勇統
発行元	佐賀大学海浜台地生物生産研究センター
巻/号	15巻
掲載ページ	p. 43-52
発行年月	2002年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



日本沿岸海藻由来の抗アクネ起因菌 *Propionibacterium acnes* 活性の探索および活性物質の分離

末吉 美幸*¹・寺田 竜太*²・亀井 勇統*¹

*¹佐賀県唐津市松南町152-1 佐賀大学海浜台地生物生産研究センター

*²鹿児島市下荒田4-50-20 鹿児島大学水産学部

Screening for the anti-*Propionibacterium acnes* activity from marine algae collected in Japan coast

Miyuki SUEYOSHI*¹, Ryuta TERADA*² and Yuto KAMEI*¹

*¹ Marine and Highland Bioscience Center, Saga University, 152-1 Shonan-cho, Karatsu, Saga 847-0021, Japan

*² Faculty of Fisheries, Kagoshima University, 4-50-20 Shimoarata, Kagoshima 890-0056, Japan

要 約

アクネ（ニキビ）は様々な要因により引き起こされるが、*Propionibacterium acnes* はその主な要因の一つである。そこで我々は、海藻成分の中から皮膚に刺激を与えない天然素材を配合した新規のアクネ予防化粧品並びにアクネ治療剤の開発を目的として、日本沿岸から採取した海藻類341種を対象に抗*P. acnes* 活性のスクリーニングを行った。

その結果、日本沿岸海藻から調製したMeOH抽出液において計13種の海藻に強い抗*P. acnes* 活性が見られた。そこでこれら13種の海藻について最小阻止濃度並びに抗菌スペクトル試験を行ったところ、これまで抗菌性の知られていない褐藻ノコギリモクに比較的強い抗*P. acnes* 活性が観察された。このノコギリモクのMeOH抽出液について、各種クロマトグラフィーを用いて抗*P. acnes* 活性物質の分離を試みたところ、比較的高極性の抗菌物質を得ることができた。

Summary

Although acnes are caused by several factors, one of bacteria, *Propionibacterium acnes* is a major causative factor of this skin disease. The specific medicines to control this bacterium have not been available so far. So we attempted to screen the anti-*P. acnes* activity from the extracts of 341 species of marine algae collected from Japan coastline to develop new anti-acne cosmetics and agents. Screening by disk dilution method showed that the MeOH extracts from 13 species of marine algae exhibited highly anti-*P. acnes* activity with MIC ranging from 3.12 to 1000 µg/disk. Since *Sargassum macrocarpum* exhibited relatively potent anti-*P. acnes* activity, grows along Japan coastline, and easy to be collected in large quantity, we attempted to isolate and purify the anti-*P. acnes* substances from this marine alga by silica gel and cosmosil column chromatographies, and silica gel thin layer chromatography. The purified substance was obtained at R_f value of 0.12 when the TLC plate was developed with *n*-hexan : Me₂CO (8:2).

緒 言

近年、食生活の欧米化、ストレス、および睡眠不足など様々な要因により肌トラブルが引き起こされ、中でもニキビに悩む男女が増加している。また、不適切なアクネ治療により更に症状が悪化してしまうことも度々ある。アクネの多くは通常思春期に発症し、早い子供は11、12歳頃より見

られることがある。アクネは通常軽度であるために、軽んじられる傾向があるが、アクネは思春期の男女の顔面に生じることが多いため、患者に与えるストレスは大きい（松田，1999）。またアクネは放置すると癬痕治癒する。いったん痤瘡癬痕が形成されると、ケミカルピールや形成外科治療によっても完全な修復は困難であるため、生涯の

精神的なトラウマとなりうるので、「青春のシンボル」などと座視せず、日常のスキンケア並びにライフスタイルからアクネ予防への注意が必要である（宮地，1999）。アクネは思春期ごろから青年期にかけて出来やすく、この時期に特に見られるものは尋常性痤瘡といわれる。アクネの発生過程は、まず毛包に角栓物（角化物と皮脂の塊）が詰まって生じる非炎症性のコメドが生じ、これが進展すると丘疹や膿疱そして囊種など治療が困難な炎症性の皮疹になる。顔全体に時に前額部にこれらの皮疹が混在して、多様な皮疹状態を示す。

ところで、アクネの病態には内分泌因子、角化因子および細菌性因子の三つが特に重要であり、細菌性因子としてアクネに最も関与しているのが *P. acnes* である。*P. acnes* は、リパーゼ、ヒアルロニダーゼ、プロテアーゼなどの酵素および chemotactic factor の産生によるコメドの形成や炎症の惹起などに関与している（前田，1999）。しかしながら、この細菌性因子に直接的に殺菌作用を有する薬剤は限られており、さらに本邦においては使用可能な薬剤が少ないのが現状である。アクネ治療に対して安全かつ有効な殺菌、抗菌作用を有する外用剤の導入や開発は、アクネ治療における選択肢を増やす意味において非常に重要である（豊田・諸橋，2001）。

また日本沿岸は、南北に伸びる長い海岸線に囲まれ、しかも黒潮と親潮の二大海流に洗われるので、海の生物相は非常に豊かで約1500種に及ぶ多数の海藻が生育している（千原，1983）。また約1万年前の新石器時代の遺跡からアラメ等の化石が発見されるなど、海藻は古くから食用並びに生薬として人々に活用されており、近年においては、海藻に関する天然物化学の分野の研究も進み、海藻の用途が農業、畜産、水産養殖の分野で広がることが期待されている。また緑藻から進化した陸上の植物と異なり、海藻には褐藻や紅藻という光合成色素、光合成産物が根本的に異なる種類があるため、海藻にはまだまだ未知な物質が多く含まれていると考えられている（大野，1996）。

このような背景から、我々は、アクネ治療並びにアクネ予防に効果的な化粧品を開発を目的として、まず本研究室において北海道から沖縄県石垣島に至る日本沿岸にて採取、保存されている341

種の海藻を供し、抗 *P. acnes* 活性のスクリーニングを行うと共に、得られた陽性の海藻から抗 *P. acnes* 物質の分離を試みた。

材料および方法

【海藻抽出液】

採取した海藻サンプル（表1）は、これまでにすでに報告した方法（井田ら，2000）により処理し各海藻類から、PBS（20mM phosphate-buffered saline, pH7.0）抽出液およびMeOH抽出液を調製した。また1 mlのMeOH抽出液を、凍結乾燥後100 μ lのMeOHに再溶解させ、10倍濃縮MeOH抽出液とした。海藻抽出液は実験に使用するまで4°Cで保存した。

【供試菌株および培地】

本試験では、ヒト皮膚毛包内常在菌である *Propionibacterium acnes* (ATCC11827株)を用いて抗菌活性試験を行った。供試菌株の培養には、Reinforced clostridial 培地 (SIGMA) を用いた。また10倍濃縮MeOH抽出液の抗菌スペクトルを測る上で他の菌としてメチシリン感受性 *Staphylococcus aureus* (MSSA) (ATCC25923株)、メチシリン耐性 *S. aureus* (MRSA) (ATCC33951株)、*Bacillus subtilis* (IFO14419株)、*Escherichia serolicida* (NG68206株)、*Pseudomonas aeruginosa* (IFO13736株)の計6株の細菌を使用した。これらの菌株の培養にはTSA培地 (Tryptic soy agar, Difco Laboratory) を用いた。またこれらの試験菌株の液体培養には、それぞれの寒天培地から寒天成分を除いた培地を使用した。

【抗 *P. acnes* 活性のスクリーニング法】

保存供試菌株を一白金耳寒天培地上に接種し、37°Cで2日間嫌気状態にて培養し、菌数 5.0×10^6 cells/mlを含む二重寒天平板培地を作製した。滅菌ペーパーディスク（ ϕ 8 mm 東洋ろ紙, Advantec）に各海藻のPBS抽出液をディスク当たり50 μ lずつ浸み込ませ、試験培地上に並べ37°Cで2日間嫌気状態で培養した。またMeOH抽出液の場合は、同量浸み込ませたペーパーディスクを25°Cで1時間乾燥後使用した。培養後、ペーパーディスクの周囲に形成された阻止円の直径を測定し、阻止円の観察された検体を抗菌活性陽

表1 抗 *P. acnes* 活性の探索に用いた海藻類

褐藻類 103種			
和 名	学 名	和 名	学 名
—	<i>Sargassum ilioifolium</i>	サ ナ ダ グ サ	<i>Pachydictyon coriaceum</i>
—	<i>Sargassum oligocystum</i>	シ オ ミ ド ロ	<i>Ectocarpum siliculosus</i>
—	<i>Sargassum polypollum</i>	ジ ガ ミ グ サ	<i>Styopodium zonale</i>
ア イ ス ワ カ メ	<i>Alaria praelonga</i>	シ ダ モ ク	<i>Sargassum filicinum</i>
ア カ モ ク	<i>Sargassum horneri</i>	シ マ オ オ ギ	<i>Zonaria diesingiana</i>
ア キ ヨ レ モ ク	—	ジ ヨ ロ モ ク	<i>Myagropsis myagroides</i>
ア ツ バ モ ク	<i>Sargassum crassifolium</i>	シ ワ ヤ ハ ズ	<i>Dictyopteris undulata</i>
ア ナ メ	<i>Agarum cribrosum</i>	ス ギ モ ク	<i>Coccophora langsdorflui</i>
ア ミ ジ グ サ	<i>Dictyota dichotoma</i>	ス ジ メ	<i>Costaria costata</i>
アミジグサ属の一種	<i>Dictyota sp.</i>	セイヨウハバノリ	<i>Petalonia fascia</i>
ア ラ メ	<i>Eisenia bicyclis</i>	タ バ コ グ サ	<i>Desmarestia tabacoides</i>
ア ン ト ク メ	<i>Eckloniopsis radicata</i>	タ マ ナ シ モ ク	<i>Sargassum nipponicum</i>
イ シ ゲ	<i>Ishige okamurai</i>	チ ガ イ ソ	<i>Alaria crassifolia</i>
イ シ モ ズ ク	<i>Sphaerotrichia divaricata</i>	ツ ル モ	<i>Corda filum</i>
イ ソ モ ク	<i>Sargassum hemipyllum</i>	ト ゲ モ ク	<i>Sargassum micracanthum</i>
イ ト ア ミ ジ	<i>Dictyota linearis</i>	ト サ カ モ ク	<i>Sargassum cristaeifolium</i>
イ ロ ロ	<i>Isige sinicola</i>	ナ ガ コ ン プ	<i>Laminaria longissima</i>
イ ワ ヒ ゲ	<i>Myelophycus simplex</i>	ナ ガ マ ツ モ	<i>Chordaria flagelliformis</i>
ウ ガ ノ モ ク	<i>Cystoseria hakodatensis</i>	ニ セ ツ ル モ	<i>Pseudochorda nagaii</i>
ウスユキウチワ	<i>Padina minor</i>	ネ バ リ モ	<i>Leathesia difformis</i>
ウ ミ ウ チ ワ	<i>Padina arborescens</i>	ノ コ ギ リ モ ク	<i>Sargassum macrocarpum</i>
ウ ミ ト ラ ノ オ	<i>Sargassum thunbergii</i>	ハ イ オ ウ ギ	<i>Lobophora variegata</i>
ウ ラ ボ シ ア	—	ハ ハ キ モ ク	<i>Sargassum kjellmanianum</i>
ウ ラ ボ シ ヤ ハ ズ	<i>Dictyopteris membranacea</i>	ハ バ ノ リ	<i>Endarachne binghamiae</i>
ウ ル シ グ サ	<i>Desmarestia ligulata</i>	ハ バ モ ド キ	<i>Pumctaria latifolia</i>
エ ゴ イ シ ゲ	<i>Pelvetia wrightii</i>	ハ リ ア ミ ジ	<i>Dictyota spinulosa</i>
エ ゴ フ ク ロ	<i>Coilodesme japonica</i>	ヒ ジ キ	<i>Hizika fusiformis</i>
エ ゴ ネ ジ モ ク	—	ヒ バ マ タ	<i>Fucus distichus</i>
エ ゴ ヤ ハ ツ	<i>Dictyopteris divaricata</i>	フ ク リ ン ア ミ ジ	<i>Dilophus okamurae</i>
エツキシマオオギ	<i>Zonaria stipitata</i>	フ ク ロ ノ リ	<i>Colpomenia siuuiosa</i>
エ ン ド ウ モ ク	<i>Sargassum yendoii</i>	フ シ ス ジ モ ク	<i>Sargassum confusum</i>
オ オ バ モ ク	<i>Sargassum ringgoldianum</i>	フ タ エ オ オ ギ	<i>Distromium decumbens</i>
オ キ ナ ウ チ ワ	<i>Padina japonica</i>	フ タ エ モ ク	<i>Sargassum duplicatum</i>
オ キ ナ ワ モ ズ ク	<i>Cladosiphon okamuranus</i>	ヘ ラ ヤ ハ ズ	<i>Dictyopteris prolifera</i>
ガ ゴ メ	<i>Kjellmaniella crassifolia</i>	ホソバセイヨウハバノリ	<i>Petaronia zosterifolia</i>
カ ゴ メ ノ リ	<i>Hydroclathrus clathratus</i>	ホ ソ メ コ ン プ	<i>Laminaria religiosa</i>
カ ジ メ	<i>Ecklomia cava</i>	ホ ン ダ ワ ラ	<i>Sargassum fulvellum</i>
カ ヤ モ ノ リ	<i>Scytosiphon lomentaria</i>	ホ ン ダ ワ ラ 属	<i>Sargassum sp.</i>
カリメリア属の一種	—	ホ ン ダ ワ ラ 亜 属	<i>Sargassum fulvellum</i>
キ レ バ モ ク	<i>Sargassum alteronato-pinnatum</i>	マ コ ン プ	<i>Laminaria japonica</i>
ク ロ メ	<i>Ecklonia kurome</i>	マ ツ モ	<i>Analipus japonicus</i>
ケ ウ ル シ グ サ	<i>Desmarestia viridis</i>	マ メ タ ワ ラ	<i>Sargassum piluliferum</i>
コ ナ ウ ミ ウ チ ワ	<i>Padina crassa</i>	ミ ツ イ シ コ ン プ	<i>Laminaria angustata</i>
コ バ モ ク	<i>Sargassum polycystum</i>	ミ ヤ ベ モ ク	<i>Sargassum miyabei</i>
コ ブ ク ロ モ ク	<i>Sargassum crispifolium</i>	ム チ モ	<i>Cutleria cylindria</i>
コ モ ン ア ミ ジ	<i>Dictyota patens</i>	ム ラ チ ド リ	<i>Chnoospora implex</i>
コンブ属の一種	<i>Laminaria sp.</i>	モ ズ ク	<i>Nemacystis decipiens</i>
ヤ ツ マ タ モ ク	<i>Sargassum patens</i>	ラ ッ パ モ ク	<i>Tubinaria ornata</i>
ヤ ナ ギ モ ク	<i>Sargassum ringgoldianum</i>	リ シ リ コ ン プ	<i>Laminaria ochotensis</i>
ヤ ハ ズ グ サ	<i>Dictyopteris latiuscula</i>	ワ カ メ	<i>Undaria pinnatifida</i>
ヤ バ ネ モ ク	<i>Hormopysa tiwuetra</i>	ワ タ モ	<i>Colpomenia bullosa</i>
ヨ レ モ ク	<i>Sargassum siliquastrum</i>		

表1 つづき

褐藻類 174種			
和名	学名	和名	学名
—	<i>Gracilaria sailocomia</i>	オゴノリ属の一種	<i>Gracilaria sp.</i>
アカバ	<i>Neodilsea yendoana</i>	オバクサ	<i>Pterocladia capillacea</i>
アカバギンナンソウ	<i>Rhodoglossum japonicum</i>	カイノリ	<i>Gigartina intermedica</i>
アサクサノリ	<i>Porphyra tenera</i>	カイメンソウ	<i>Ceratodictyon spongiosum</i>
アマノリの一種	<i>Porphyra sp.</i>	カエリナミ	<i>Vidalia obtusiloba</i>
アミクサ	<i>Ceramium boydenii</i>	カギケノリ	<i>Asparagopsis taxiformis</i>
アヤニシキ	<i>Martensia denticulata</i>	カタオゴノリ	<i>Gracilaria edulis</i>
アリウジャンノコギリヒバ	<i>Odonthalia annae</i>	カタソゾ	<i>Laurencia cartilaginea</i>
イギス	<i>Ceramium kondoi</i>	カタノリ	<i>Grateloupia divaricata</i>
イギス属の一種	<i>Ceramium sp.</i>	カタメンキリンサイ	<i>Eucheuma gelatinae</i>
イシノハナ	<i>Mastophora rosea</i>	カタワベニヒバ	<i>Neoptilota asplenioides</i>
イソウメモドキ	<i>Hyalosiphonia caespitosa</i>	カニノテ	<i>Amphirosa dilatata</i>
イソキリ	<i>Bossiella cretacea</i>	カバノリ	<i>Gracilaria textorii</i>
イソダンツウ	<i>Caulacanthus okamurae</i>	ガラガラ	<i>Galaxaura fastigitata</i>
イソノハナ	<i>Halymenia floresia</i>	カレキグサ	<i>Tichocarpus crinitus</i>
イソハギ	<i>Heterosiphonia japonica</i>	キクトサカ	<i>Meristotheca coacta</i>
イソムラサキ	<i>Symphocladia latiuscula</i>	キクヒオドシ	<i>Amansia glomerata</i>
イトグサ属の一種	<i>Polysiphonia sp.</i>	キヌイトカザシグサ	<i>Griffithsia subcylindrica</i>
イトシノブ	<i>Plumariella yoshikawai</i>	ギブリイトグサ	<i>Polysiphonia japonica</i>
イトフジマツ	<i>Neorhodomela munita</i>	キョウノヒモ	<i>Grateloupia okamurae</i>
イバラノリ	<i>Hypnea charoides</i>	キリンサイ	<i>Eucheuma denticulatum</i>
イボツノマタ	<i>Chondrus verrucosa</i>	キントキ	<i>Pionitis angusta</i>
イボノリ	<i>Mastocarpus pacificus</i>	キントキ属の一種	<i>Carpopeltis sp.</i>
イワノカワの一種	<i>Peyssonelia sp.</i>	クシバニセカレキグサ	<i>Farlowia mollis</i>
ウスバガラガラ	<i>Galaxaura verprecula</i>	クシヘニヒバ	<i>Ptilota serrata</i>
ウスバワツナギソウ	<i>Champia expansa</i>	クロソゾ	<i>Laurencia intermedia</i>
ウップルイノリ	<i>Porphyra pseudolinearis</i>	クロノリ	<i>Porphyra okamurae</i>
ウミゾウメン	<i>Nemalion vermiculare</i>	クロハギンナンソウ	<i>Chondrus yendoi</i>
ウラソゾ	<i>Laurencia nipponica</i>	ケコナハダ	<i>Liagora fariosa</i>
エゴノリ	<i>Campylaephora hypnaeoides</i>	コスジフシツナギ	<i>Lomentaria hakodatensis</i>
エゴノリ属の一種	<i>Ceramium sp.</i>	コバノクシベニヒバ	<i>Ptilota phacelocarpoides</i>
エゾシコロ属の一種	<i>Corallina sp.</i>	コブソゾ	<i>Laurencia undulata</i>
エゾツノマタ	<i>Chondrus yendoi</i>	コメノリ	<i>Carpopeltis prolifera</i>
エツキイワノカワ	<i>Peyssonelia caulifera</i>	サイダイバラ	<i>Hypnea saidana</i>
エナシダジア	<i>Dasya sessilis</i>	サクラノリ	<i>Grateloupia imbricata</i>
オオオゴノリ	<i>Gracilaria gigas</i>	シマソゾ	<i>Laurencia yamadae</i>
オオノコギリヒバ	<i>Odonthalia macrocarpa</i>	シマダジア	<i>Heterosiphonia pulchra</i>
オオムカデノリ	<i>Halymenia acuminata</i>	シマテングサ	<i>Gelidiella acerosa</i>
オキツノリ	<i>Gymnogongrus flabelliformis</i>	ジュズガラガラ	<i>Galaxaura robusta</i>
オキツバラ	<i>Constantinea rosa-marina</i>	ジュズフサノリ	<i>Scinaia moniliformis</i>
オゴノリ	<i>Gracilaria verrucosa</i>	ショウジョウケノリ	<i>Polysiphonia sp.</i>
シラモ	<i>Gracilaria bursa-pastoris</i>	ヒラガラガラ	<i>Galaxaura falcata</i>
スサビノリ	<i>Porphyra yezoensis</i>	ヒラキントキ	<i>Prionitis patens</i>
スズシロノリ	<i>Neoholmesia japonica</i>	ヒラコトジ	<i>Chondrus pinnulatus</i>
ソゾ属の一種	<i>Laurencia sp.</i>	ヒラムカデ	<i>Grateloupia livida</i>
ソゾノハナ	<i>Laurencia brongniartii</i>	ピリヒバ	<i>Corallina pilulifera</i>
ソデガラミ	<i>Actinotrichia fragilis</i>	ヒロハタマイタダキ	<i>Ptilonia okadae</i>
タオヤギソウ	<i>Chrysmenia wrightii</i>	フィリタサ	<i>Porphyra variegata</i>
ダルス	<i>Palmaria palmata</i>	フクロフノリ	<i>Gloiopeltis furcata</i>
タンバノリ	<i>Pachymeniopsis elliptica</i>	フシツナギ	<i>Lomentaria catenata</i>
ツカサアミ	<i>Callymenia perforata</i>	フジマツモ	<i>Neorhodomela aculeata</i>
ツノマタ	<i>Chondrus ocellatus</i>	フダラク	<i>Pachymeniopsis lanceolata</i>

表1 つづき

和 名	学 名	和 名	学 名
ツルシラモ	<i>Gracilariopsis chorda</i>	フノリウシゲ	<i>Bangia gloiopeltidicola</i>
ツルツル	<i>Grateloupia turuturu</i>	フノリの一種	<i>Gloiopeltis</i> sp.
トゲイギス	<i>Centroceras clavulatum</i>	ベニスナゴ	<i>Schizymenia dubyi</i>
トゲカバノリ	<i>Gracilaria denticulata</i>	ヘリトリカニノテ	<i>Marginisporum crassissimum</i>
トゲキリンサイ	<i>Eucheuma serra</i>	ホソバナミノハナ	<i>Chondrococcus hornemannii</i>
トゲツノマタ	<i>Chondrus pinnulatus</i>	ホソバフジマツモ	<i>Rhodomela teres</i>
トゲナシマダラ	<i>Faucheia leptophylla</i>	ホソバミリン	<i>Solieria tenuis</i>
トゲノリ	<i>Acanthophora spinifera</i>	マオウカニノテ	<i>Amphiroa ephedraea</i>
トサカノリ	<i>Meristotheca papulosa</i>	マギレソゾ	<i>Laurencia saitoi</i>
トサカマツ	<i>Prionitis crispata</i>	マクサ	<i>Gelidium amansii</i>
トチャカ	<i>Chondrus crispus</i>	マクリ	<i>Digenea simplex</i>
ナガウブゲグサ	<i>Spyridia elongata</i>	マツノリ	<i>Carpopeltis affinis</i>
ナガコノハノリ	<i>Neohypophyllum midde ndorfii</i>	マフノリ	<i>Gloiopeltis tenax</i>
ナミイワタケ	<i>Tylopus lichenoides</i>	マルバアカバ	<i>Neodilsea tenuipes</i>
ナミノハナ	<i>Chondrococcus japonicus</i>	マルバツノマタ	<i>Chondrus nipponicus</i>
ニクムカデ	<i>Grateloupia carnosa</i>	ミゾオゴノリ	<i>Gracilaria incurvata</i>
ニセカレキグサ	<i>Farlowia irregularis</i>	ミツデソゾ	<i>Laurencia okamurae</i>
ニセフサノリ	<i>Pseudogloiophloea okamurae</i>	ミリン	<i>Solieria robusta</i>
ヌメハノリ	<i>Delesseria serrulata</i>	ムカデノリ	<i>Grateloupia filicina</i>
ヌルハダ	<i>Trichogloeopsis mucosissima</i>	ムカデノリ属の一種	<i>Grateloupia</i> sp.
ネツキイタニグサ	<i>Ahnfeltia fastigiata</i>	モカサ	<i>Pneophyllum zostericola</i>
ハイウスバノリ	<i>Acrosorium yendoii</i>	モサガラガラ	<i>Galaxaura subfruticulosa</i>
ハイコナハダ	<i>Yamadaella caenomice</i>	モロイトグサ	<i>Polysiphonia morrowii</i>
ハイテングサ	<i>Gelidium pusillum</i>	ヤツデガタモドキ	<i>Callophyllis palmata</i>
ハケサキノコギリヒバ	<i>Osonthalia corymbifera</i>	ヤナギノリ	<i>Chondria dasyphylla</i>
ハネイギス	<i>Ceramium japonicum</i>	ヤハズシコロ	<i>Calliarthron modestum</i>
ハネソゾ	<i>Laurencia pinnata</i>	ヤレウスバノリ	<i>Acrosorium flabellatum</i>
パピラソゾ	<i>Laurencia papillosa</i>	ユカリ	<i>Plocamium telfairiae</i>
ハブタエノリ	<i>Marionella schmitziana</i>	ユナ	<i>Chondria crassicaulis</i>
ハリガネ	<i>Ahnfeltia paradoxa</i>	ユミガタオゴノリ	<i>Gracilaria arcuata</i>
ヒカゲノイト	<i>Nemastoma nakamurae</i>	ヨゴレコナハダ	<i>Liagora japonica</i>
ヒジリメン	<i>Grateloupia sparsa</i>	ランゲリア	<i>Wrangelia tayloriana</i>
ヒビロウド	<i>Dudresnaya japonica</i>	無節サンゴ藻の一種	<i>Corallinaceae</i>
ヒメモサズキ	<i>Jania adharens</i>	有節サンゴ藻の一種	—

表1 つづき

緑藻類 56種			
和名	学名	和名	学名
アオモグサ	<i>Boodlea coacta</i>	ナガミル	<i>Codium cylindricum</i>
アサミドリシオグサ	<i>Cladophosa sakaii</i>	ネザシミル	<i>Codium coarctatum</i>
アナアオサ	<i>Ulva pertusa</i>	ハイミル	<i>Codium adhaerens</i>
イソスギナ	<i>Halicoryne wrightii</i>	ハゴロモ	<i>Udotea orientalis</i>
イトミル	<i>Codium tenue</i>	ハネモ	<i>Beyopsis plumosa</i>
ウスバアオノリ	<i>Enteromorpha linza</i>	ヒトエグサ	<i>Monostroma nitidum</i>
ウチワサボテングサ	<i>Halimeda discoidea</i>	ヒビミドロ	<i>Ulothrix flacca</i>
オオバロニア	<i>Ventricaria ventricosa</i>	シオグサ属の一種	<i>Cladophora sp.</i>
カサノリ	<i>Acetabularia ryukyuensis</i>	ビヤクシンヅタ	<i>Caulerpa cupressides</i>
カタシオグサ	<i>Cladophora ohkuboana</i>	ヒラアオノリ	<i>Enteromorpha compressa</i>
キッコウグサ	<i>Dictyosphaeria cavernosa</i>	ヒロハサボテングサ	<i>Halimeda macroloba</i>
キツネノオ	<i>Cladophoropsis vaucheriaeformis</i>	フサシオグサ	<i>Cladophora fascicularis</i>
クロミル	<i>Codium divaricatum</i>	ヘライワツタ	<i>Caulerpa brachypus</i>
コケイワツタ	<i>Caulerpa webbiana</i>	ボウアオノリ	<i>Enteromorpha intestinalis</i>
サボテングサ	<i>Halimeda opuntia</i>	ホソジュズモ	<i>Chaetomorpha crassa</i>
サボテングサの一種	<i>Halimeda sp.</i>	ボタンアオサ	<i>Ulva conglobata</i>
スジアオノリ	<i>Enteromorpha prolifera</i>	マユハキモ	<i>Chlorodesmis fastigiata</i>
スズカケヅタ	<i>Caulerpa peltata nummularia</i>	ミツデサボテングサ	<i>Halimeda incrassata</i>
スリコギヅタ	<i>Caulerpa racemosa</i>	ミドリゲ	<i>Cladophoropsis zollingeri</i>
センナリヅタ	<i>Caulerpa racemosa</i>	ミル	<i>Codium fragile</i>
タカノハヅタ	<i>Caulerpa sertularioides</i>	ムクキッコウグサ	<i>Dictyosphaeria versluisii</i>
タノモグサ	<i>Microdictyon okamurae</i>	モツキヒトエ	<i>Kornmannia zostericola</i>
タマゴバロニア	<i>Valonia macrophysa</i>	モツレミル	<i>Codium intricatum</i>
タマジュズモ	<i>Chaetomorpha moniligera</i>	ヨゴレヅタ	—
タマバロニア	<i>Valonia aegagropila</i>	ヨレヅタ	<i>Caulerpa serrulata</i>
タルガタジュズモ	<i>Chaetomorpha aerea</i>	リボンアオサ	<i>Ulva fasciata</i>
ツヤナシシオグサ	<i>Cladophora opaca</i>	ワタシオグサ	<i>Cladophora albida</i>
ナガミズタマ	<i>Bornetella nitida</i>		

その他の海産種子植物 8種			
和名	学名	和名	学名
アマモ	<i>Zostera marina</i>	スガモ	<i>Phyllospadix iwatensis</i>
イシクラゲ	<i>Nostoc commune</i>	ランソウ	<i>Cyanophyceae</i>
ウミヒルモ	<i>Halophila ovalis</i>	ランソウの一種	<i>Cyanophyceae sp.</i>
コアマモ	<i>Zostera japonica</i>	リュウキュウスガモ	<i>Rhodoglossum japonicum</i>

性とした。

【MeOH抽出液の抗*P. acnes* 活性の最小阻止濃度】

本試験に供試した抽出液は10倍濃縮MeOH抽出液のスクリーニングにおいて活性を示したソゾノハナ (*Laurencia brongniartii*), ハケサキノコギリヒバ (*Osonthalia corymbifera*), ホソバフジマツモ (*Rhodomela teres*), ミツデソゾ (*Laurencia okamurae*) の紅藻類4種, イシゲ (*Isbiga okamurai*), エゾネジモク (-), エゾヤハズ (*Dictyopteris divaricata*), クロメ (*Padina crassa*), シマオオギ

(*Zonaria diesingiana*), シワヤハズ (*Dictyopteris undulata*), ノコギリモク (*Sargassum macrocarpum*), ホンダワラ (*Sargassum fulvellum*), ヨレモク (*Sargassum siliquastrum*) の褐藻類9種の計13種のMeOH抽出液を二段階希釈して用いた。本試験も上記と同様ペーパーディスク拡散法を用いて行った。

【10倍濃縮MeOH抽出液の抗菌スペクトル】

本試験に供試した抽出液は上記と同様の抽出液を用い, 各10倍濃縮MeOH抽出液についてペー

パーディスク拡散法を用いて行った。供試菌は*P. acnes* (ATCC11827株), MSSA (ATCC25923株), MRSA (ATCC33951株), *B. subtilis* (IFO14419株), *E. serolicida* (NG68206株), *P. aeruginosa* (IFO13736株)の計7株を用いた。

【抗*P. acnes* 活性物質の分離】

まず前述した方法により、ノコギリモクのMeOH抽出液を調製し、クロロホルム(C):アセトン(Me₂CO)で溶媒分配を行った。活性の見られたC層をロータリーエバポレーターにより濃縮後、Hx:Me₂CO=6:1, 5:1, 4:1, MeOH=100%を展開溶媒としてシリカゲルカラムクロマトグラフィー(φ3.3×40.0cm, Merck)に供した。活性の見られた画分に対して、次いでHx:EAc=12:1, 10:1, 6:1, 3:1, MeOH=100%を展開溶媒としてシリカゲルカラムクロマトグラフィー(φ2.0×21.0cm, Merck)に供し、さらに活性の見られた画分についてMeOH:0.1%Trifluoroacetic acid (TFA)=6:4, 7:3, 8:2, MeOH=100%を展開溶媒としてコスモシル75C₁₈-OPN逆相シリカゲルカラム(φ2.0×21.0cm, Nacalaitesque)に供した。最後に上記活性の見られた画分についてHx:Me₂CO=8:2を展開溶媒としてシリカゲル薄層クロマトグラフィー(silica gel 60, Merck)に供して、抗*P. acnes* 活性物質を分離した。

結 果

【抗*P. acnes* 活性のスクリーニング】

本実験において、日本沿岸海藻341種を対象にしてそれらのPBS抽出液およびMeOH抽出液を調製し、抗*P. acnes* 活性のスクリーニングを行った。その結果、PBS抽出液には抗*P. acnes* 活性は見られず、MeOH抽出液ではソゾノハナ、ハケサキノコギリヒバ、ホソバフジマツモ、ミツデソゾの紅藻類4種およびエゾネジモク、エゾヤハズ、クロメ、シワヤハズ、ノコギリモク、ホンダワラ、ヨレモクの褐藻類7種に、更に10倍濃縮MeOH抽出液においては、上記海藻にイシゲ、シマオオギの褐藻類2種を加えた13種類の海藻に抗*P. acnes* 活性が見られた。

表2. 抗*P. acnes* 活性を示した海藻類

海 藻	抗 <i>P. acnes</i> 活性(unit)*	
	MeOH抽出液	
	× 1	× 10
紅藻類		
ソゾノハナ	++	+++
ハケサキノコギリヒバ	++	+++
ホソバフジマツモ	+	++
ミツデソゾ	+++	+++
褐藻類		
イシゲ	-	++
エゾネジモク	+	++
エゾヤハズ	+	++
クロメ	+	+++
シマオオギ	-	+
シワヤハズ	+	++
ノコギリモク	++	++
ホンダワラ	++	++
ヨレモク	+	++

*: ++, 11 unit < 直径; ++, 4 unit < 直径 < 10 unit; +, 直径 < 3 unit; -, 活性なし

【MeOH抽出液の抗*P. acnes* 活性の最小阻止濃度】

10倍濃縮MeOH抽出液において活性の見られた上記海藻13種のMeOH抽出液について抗*P. acnes* 活性の最小阻止濃度(MIC)を測定した。その結果ミツデソゾ、シワヤハズおよびホンダワラはMICが62.5μg/diskと上記海藻の中で強い活性を示し、続いてソゾノハナ、ハケサキノコギリヒバ、エゾヤハズ、ノコギリモク並びにヨレモクのMICが125μg/diskと比較的強い活性を示した。

表3. 抗*P. acnes* 活性海藻MeOH抽出液の抗*P. acnes* 活性の最小阻止濃度

海 藻	MIC (μg /disk)
紅藻類	
ソゾノハナ	125
ハケサキノコギリヒバ	125
ホソバフジマツモ	1,000
ミツデソゾ	62.5
褐藻類	
イシゲ	250
エゾネジモク	250
エゾヤハズ	125
クロメ	250
シマオオギ	500
シワヤハズ	62.5
ノコギリモク	125
ホンダワラ	62.5
ヨレモク	125

【10倍濃縮MeOH抽出液の抗菌スペクトル】

また、上記海藻の10倍濃縮MeOH抽出液について *P. acnes* (ATCC11827株), MSSA (ATCC25923株), MRSA (ATCC33951株), *B. subtilis* (IFO14419株), *E. serolicida* (NG68206株), *P. aeruginosa* (IFO

13736株)の計7株についての抗菌スペクトル試験を行ったところ、ハケサキノコギリヒバにグラム陽性菌だけでなく唯一のグラム陰性菌である *P. aeruginosa* にも抗菌活性が見られた。

表4. 抗 *P. acnes* 活性を示した海藻MeOH抽出液の抗菌スペクトル

海藻	抗菌活性 (unit)					
	供試菌					
	<i>P. acnes</i> ATCC 11827	MSSA ATCC 25923	MRSA ATCC 33951	<i>B. subtilis</i> IFO 14419	<i>E. serolicida</i> NG 68206	<i>P. aeruginosa</i> IFO 13736
紅藻類						
ソゾノハナ	8.0	3.0	3.5	3.5	2.5	—
ハケサキノコギリヒバ	21.0	8.0	10.0	6.0	6.0	4.5
ホソバフジマツモ	7.5	2.0	4.0	2.0	—	—
ミツデソゾ	28.0	7.4	6.0	10.0	6.0	—
褐藻類						
イシゲ	6.0	—	0.5	—	7.0	—
エゾネジモク	6.0	—	—	2.0	—	—
エゾヤハズ	7.0	1.0	1.5	2.0	1.0	—
クロメ	13.0	3.7	4.5	2.0	—	—
シマオオギ	2.0	—	—	—	—	—
シワヤハズ	17.0	3.0	3.5	4.0	4.0	—
ノコギリモク	7.0	2.0	3.0	3.5	3.0	—
ホンダワラ	6.5	2.0	2.0	3.0	2.5	—
ヨレモク	4.0	—	0.5	1.5	—	—

【抗 *P. acnes* 活性物質の分離】

ノコギリモク100 gより調製した400 mlのMeOH抽出液について、*P. acnes* (ATCC11827株)に対する抗菌活性試験を指標に、溶媒分配、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (図1, 図2)、逆相カラムクロマトグラフィー (図3)、並

びにシリカゲル薄層クロマトグラフィー (図4) に供し抗 *P. acnes* 活性物質の分離を試みた。その結果、活性物質は展開溶媒Hx / Me₂CO=8 / 2 のTLCにおいてRF値が0.12を示す比較的高極性の物質であった。

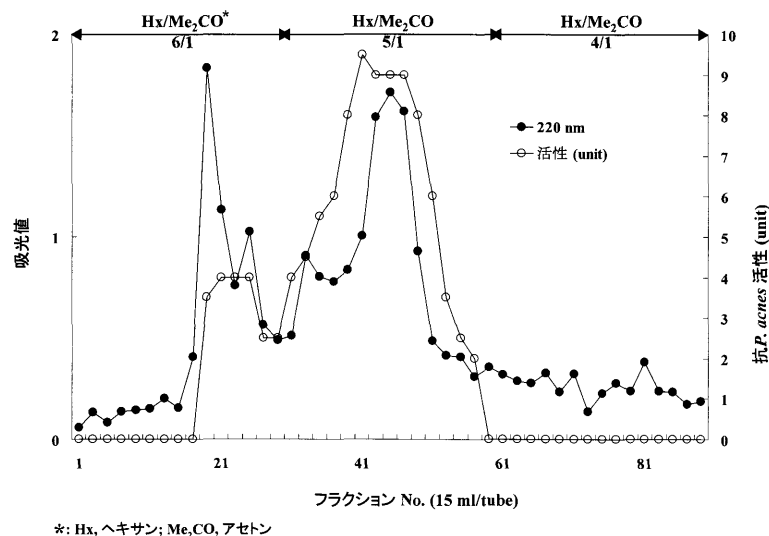


図1. ノコギリモクMeOH抽出物の抗菌物質のシリカゲルカラムクロマトグラフィー

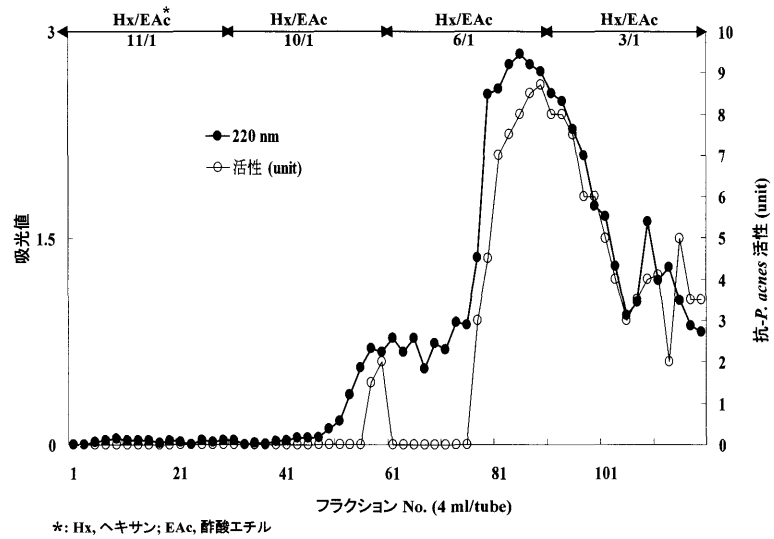


図2. ノコギリモクMeOH抽出物の2回目 シリカゲルカラムクロマトグラフィー

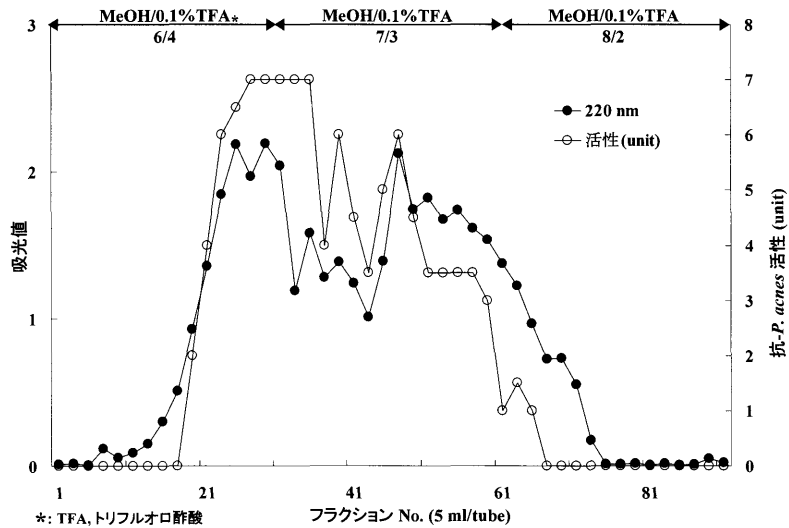


図3. シリカゲルクロマトグラフィー後のノコギリモク由来活性画分の逆相カラムクロマトグラフィー

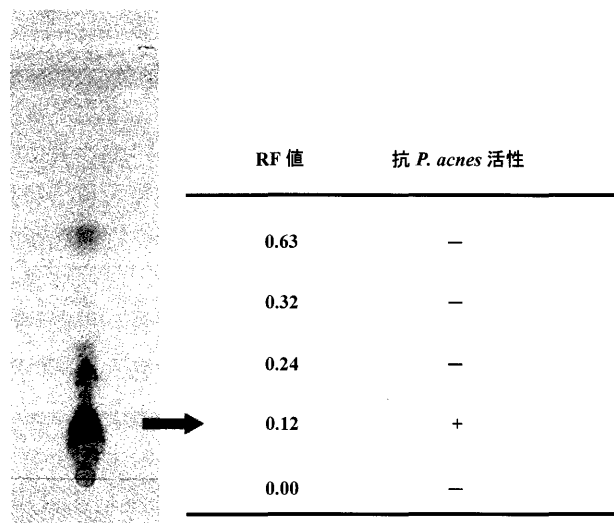


図4. 逆相カラムクロマトグラフィー後の活性画分のシリカゲルTLC

考 察

現在、本邦でアクネ治療に用いることが可能な薬剤は限られており、アクネ治療剤や抗生物質等を用いる従来の治療法を用いた場合の患者の満足度は、アンケート調査により医療機関を受診した場合でも70%と低い値である(林, 2002)。また、アクネは様々な要因が絡み合って発症し、軽度のアクネならスキンケアや日常生活習慣の改善によって軽快しやすい。これらのことから、日常よりアクネの発生並びに悪化を予防することが非常に重要である。この様な中、海藻は、抗菌活性、抗ウイルス活性などの様々な生理活性物質がこれまでに報告されている。近年、海藻類が有する多糖類などの保湿効果を利用して、化粧品やヘアケア商品などに海藻類のエキスを配合しているものが多く発売されている(亀井, 2001)。

そこで本研究では、日本沿岸から採取した海藻類341種を対象に、皮膚に刺激を与えない天然素材を配合した新規アクネ予防化粧品並びにアクネ治療剤としての開発を目的として抗*P. acnes* 活性のスクリーニングを行った。

その結果、試験した海藻類のPBS抽出液については抗*P. acnes* 活性は見られず、MeOH抽出液についてはソゾノハナ、ハケサキノコギリヒバ、ホソバフジマツモおよびミツテソゾの紅藻類4種並びにエゾネジモク、エゾヤハズ、クロメ、シワヤハズ、ノコギリモク、ホンダワラおよびヨレモクの褐藻類7種に、更に10倍濃縮MeOH抽出液においては、上記海藻にイシゲとシマオオギの褐藻類2種を加えた13種類の海藻にのみ抗*P. acnes* 活性が見られた。

それら海藻のMeOH抽出液についてのMIC並びに10倍濃縮MeOH抽出液について、上記計7株における抗菌スペクトルを測定した。これらの結果を基に、比較的強い抗*P. acnes* 活性を示し、また日本沿岸にて大量に採取出来る褐藻ノコギリモクについて抗*P. acnes* 活性物質の分離を行った。各種クロマトグラフィーを用いて抗*P. acnes* 活性物質の部分精製を行った結果、比較的高極性の活性物質を得ることができた。当研究室ですでに単離された4種の抗菌物質MC5~MC8は紅藻ソゾノハナ由来であり本研究で使用した褐藻ノコギリモクと二次代謝産物が異なると考えられるため、部分精製した抗*P. acnes* 活性物質はこれまでに報告の

ない物質であることが示唆された。

今後は更にHPLCを用いた抗*P. acnes* 活性物質の精製を行い、本活性物質の詳細な化学構造を決定するとともに、*P. acnes* に対する作用機序の検討していく考えである。

参考文献

1. 松田 真弓 (1999) : 受診前に患者が行っている治療, ニキビQ & A, 38-39
2. 宮地 良樹 (1999) : ニキビとは?, ニキビQ & A, 12-13
3. 前田 哲夫・本好 捷宏: にきびの成因と予防, フレグランスジャーナル, 27(8), 11-16 (1999)
4. 豊田 雅彦・諸橋 正昭: にきび治療における外用剤の殺菌効果, 「化粧品・外用剤における微生物汚染防止と防腐設計技術」, 技術情報協会, p88-97 (2001)
5. 千原 光雄 (1983) : 海藻, 学研研究社.
6. 大野 正夫 (1996) : まえがき. piii-iv, 21世紀の海藻資源, 緑書房.
7. Horikawa M., Noro T., & Kamei Y.: *In vitro* anti-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* activity found in extract of marine algae indigenous to the coastline of Japan. *J. Antibiotics*, 52, 186-189 (1999)
8. 林 伸和 (2002) : アクネ治療の現状と将来へのストラテジー, アクネケア最前線, 日本化粧品科学会, 第27回教育セミナー, p8.
9. 亀井 勇統: 海洋天然物における化粧品の抗菌効果, 「化粧品・外用剤における微生物汚染防止と防腐設計技術」, 技術情報協会, p102-116 (2001)
10. 井田 達也, 寺田 竜太, 野呂 忠秀, 亀井 勇統 (2000) : 日本沿岸海藻類からの *in vitro* におけるヒト外毛根鞘細胞増殖促進活性のスクリーニング. 海と台地. 12. 37-44.