

# メバロノラク톤の量産技術と皮膚老化防止効果

山下 治之

## メバロノラクトンの量産技術と皮膚老化防止効果

山下 治之

**Abstract** : Mevalonolactone, which converts easily mevalonic acid in water, has been recognized as a key substance in the biosynthesis of a wide range of isoprenoids, for example, steroids. We established to produce mevalonolactone by fermentation technology. *Saccharomycopsis fibuligera* ADK 8107, which is able to grow in the medium containing 0.2 mg/ml of ML-236B, produced 19.0 g/l of R(-)-mevalonic acid. Optically active R(-)-mevalonolactone, that is naturally active enantiomer, has been first provided in industrial grade. In the autumn of 1999, new cosmetic articles for skin containing mevalonolactone are introduced to market, whereas it is based on the investigation that mevalonic acid on aged skin enhanced its resistance against damage and the recovery rate of barrier function from acute barrier disruption.

**Key words** : mevalonolactone, mevalonic acid, commercial production, fermentation, anti-aging effect

### 1. はじめに

メバロノラクトンはメバロン酸が分子内エステル（ラクトン）化した物質（図1）であり、水溶液中では容易に加水分解してメバロン酸となる。ここでは特に指定する場合を除いてメバロノラクトンを含めて、メバロン酸という表現で話を進める。メバロン酸は発見以来イソプレノイド生成の重要な中間体として、基礎研究が精力的に行われ多くの知見が得られてきている。メバロン酸由来の重要な生体物質であるコレステロール代謝の研究では、全く新しいタイプのコレステロール低下剤が1987年以降実用化され、1985年にはM. S. Brown and J. L. Goldsteinによるノーベル生理学・医学賞といった研究も生まれている。

一方、物質としてのメバロン酸については動植物細胞中や血液中、醗酵食品中など生物界に広く存在することが確認<sup>1)</sup>されており、化学合成品が研究用試薬として試薬メーカー数社から市販されている。しかし、生理的に

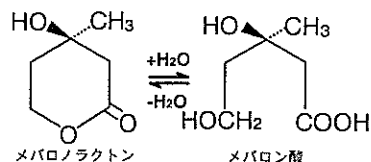


図1 メバロノラクトンおよびメバロン酸の構造

有用な天然型のメバロン酸を入手するためには微生物または動植物から精製する必要があったが、存在濃度（例えばヒトの血中濃度は2～10ng/mlとされている<sup>2)</sup>）が低いことから利用可能な量を入手することは事実上困難であった。

当社では1987年頃より微生物を利用した発酵法による天然型のメバロノラクトンの研究を開始し、量産化技術を確立した。メバロノラクトンの実用例としては、皮膚の老化防止作用が確認され<sup>3)</sup>、1999年秋に鐘紡(株)から、メバロノラクトンを配合した基礎化粧品の新ブランド「ルシオル」が新発売<sup>4)</sup>されるに至った。

### 2. メバロノラクトンの概要

#### 2-1. 構造

メバロン酸の構造上の特徴は分子内に不斉炭素を持つ光学活性物質である点である。このためメバロン酸は、

“Commercial production of mevalonolactone by fermentation and the application to skin cosmetics with anti-aging effect.”

Haruyuki Yamashita (Basic Research Laboratory, Asahi Denka Kogyo K.K., 旭電化工業株式会社基礎研究所-116-8553 東京都荒川区東尾久7-2-35)

2種類の異性体が存在するが天然に存在し生理的に利用可能な異性体はR(-)体である。通常の化学合成法で調製したメバロン酸はラセミ体となる。

## 2-2. 発見の経緯

メバロン酸は1956年に東京大学の田村学造先生により清酒の“火落ち”の原因物質(火落酸)として発見<sup>9)</sup>された。また、ほぼ同時期に米国メルク社のM. R. Skeggsらにより乳酸菌増殖における酢酸代替因子として発見<sup>6)</sup>され、メバロン酸を経由した一連の生合成経路の研究に発展していく。これについては関連総説<sup>7)</sup>を参照していただきたいが、生物による有機化合物の合成という観点からは以下のような見方が可能であろう。

生物の生産する複雑な有機化合物は主に2種類の生合成系に分類される。ひとつは炭素原子が直線的に連なった骨格を基本とするポリケチドと呼ばれるもので脂肪酸が代表物質であるが、マクロライド系抗生物質といった複雑な化合物も知られている。もうひとつはイソプレノ単位を基本骨格とするイソプレノイドである。両者はともに酢酸から生合成されてくるが、イソプレノイド骨格はアセト酢酸と酢酸からメバロン酸骨格が生合成され(図2)、さらに脱炭酸し複雑な生体物質が形成される。

## 3. メバロン酸醗酵

### 3-1. 従来技術<sup>8)</sup>

メバロン酸を微生物により生産する試みは、1968年の田村先生による報告<sup>9)</sup>が最初である。従来醗造分野では火落酸は麹菌(*Aspergillus oryzae*)により作られると考えられていたが、この研究により他のカビや酵母類も生産することが明らかとなった。しかし、その生産性は*Endomycopsis fibuliger* NRRL-Y7069株を用いた場合でも培養液1ℓ当たり0.939gであり、実用化にはさらに生産性を上げる必要があった。

### 3-2. 新しい醗酵技術

#### 3-2-1. 新生産菌のスクリーニング<sup>9)</sup>

東京農工大学の遠藤先生等は1986年よりメバロン

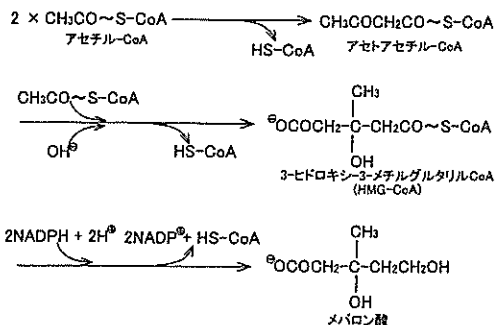


図2 メバロン酸の生合成

酸の醗酵生産の研究を行った。カビ(206株)や酵母(294株)についてメバロン酸の生産性を検討した結果、酵母の一種である*Saccharomycopsis fibuligera* IFO 0107株が培養液中に大量のメバロン酸を生産することを見いだした。この研究により、メバロン酸は培養液1ℓ当たり8.3g蓄積され、工業生産が可能な水準に達した。

#### 3-2-2. 高生産株の取得<sup>10)</sup>

当社ではさらに遠藤先生の指導を受けて高生産株の探索を行い、同じ*S. fibuligera*に分類されるが、IFO 0107株よりも高い生産性を示す菌株(ADK 8107およびADK 8108)を発見した。これらの菌株は、培養液中にML-236B(Compactin)が存在する場合の増殖能だけがIFO 0107株と異なっていた(表1)<sup>10)</sup>。なお、ML-236Bは1974年に遠藤先生等により発見された新規化合物で、コレステロール低下剤開発の最初の成果である<sup>11)</sup>。

#### 3-2-3. メバロン酸醗酵の一例<sup>10)</sup>

表2に示した組成の培地200mlを1ℓ容フラスコに入れ、*S. fibuligera* ADK 8107株<sup>10)</sup>を1白金時接種し28℃で24時間培養を行った(種培養)。次に表2の培地20ℓ(30ℓ容培養装置)に種培養液を接種し28℃、300rpm、通気量20ℓ/分で培養を行った。培養2日目、3日目および7日目にそれぞれグルコースを1kg、1kg、0.5kg流加し、約200時間培養を行った。醗酵の経過を図3に示すが、これにより培養液中のメバロン酸の生産性は培養液1ℓ当たり19.0gとなった。

#### 3-2-4. 培養液からの精製<sup>9)</sup>

培養液中に蓄積したメバロン酸は一般的に知られている精製方法、たとえばシリカゲル等のカラムクロマトグラフィー、極性溶媒による抽出、溶解度を利用した結晶化などにより精製可能である。メバロン酸は水溶液中では容易に開環し酸型または解離型となるが、無水系では脱水環化しメバロノラクトンとなる。

表1 *S. fibuligera* IFO 0107とADK 8107のML-236B耐性比較<sup>10)</sup>(一部改変)

菌株	ML-236B濃度 (mg/ml)			
	0	0.004	0.03	0.2
ADK 8107	100	98	95	86
IFO 0107	100	78	29	2
IFO 1745 (コントロール)	100	65	15	1

グルコース0.5%を含む炭素化合物同化培地(Bacto-yeast nitrogen base)5mlに25℃、7日間静置培養し660nmの吸光度を測定した。結果はML-236B無添加の場合の相対値で示す。

表2 メバロン酸醱酵培地組成<sup>10)</sup>

成分名	配合量 (%)	成分名	配合量 (%)
グルコース	10	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.05
ポリペプトン <sup>注1)</sup>	0.5	CaCO <sub>3</sub>	1.0
コーンステープ リカー <sup>注2)</sup>	1.0	アデカノールLG- 294(消泡剤) <sup>注3)</sup>	0.05
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.1		

注1) 日本製薬(株)製, 注2) 日本食品化工(株)製,  
注3) 旭電化工業(株)製

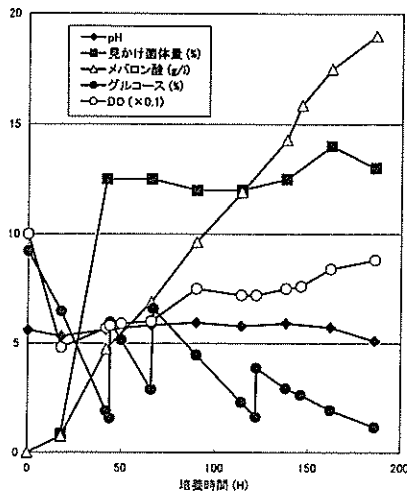


図3 メバロン酸醱酵経過

## 4. 皮膚の老化防止効果

### 4-1. 皮膚でのコレステロールの働き<sup>12)</sup>

コレステロールは細胞膜の物質代謝にとって重要な物質であり、生命維持に必須な物質である。高コレステロール血症は虚血性心疾患の原因として疫学的にも認められているが、適切な量のコレステロール摂取は一般に必要である。

皮膚ではセラミド、脂肪酸、コレステロールにより形成されるラメラ構造が皮膚のバリア機能に重要な役割をになっている<sup>13)</sup>。特にコレステロールは細胞間脂質がバリア機能を発揮する上で重要な役割を持っており、表皮でのコレステロール合成能が低下すると肌荒れからの回復力が低下すると考えられる。これが、皮膚においてコレステロールが重要な役割をもっている理由である。したがって、皮膚のコレステロール合成能を上げるのが課題であった。

### 4-2. 皮膚でのメバロノラク톤の作用

メバロン酸の皮膚への効果としては、従来皮膚に適度な湿潤感および柔軟性を付与できることが知られていた<sup>14)</sup>。しかし、メバロン酸はコレステロール生合成の前駆物質であることから、皮膚のコレステロール代謝を盛んにする効果が期待された。これについては、京都府立医大と鐘紡(株)の共同研究が報告されている<sup>3a)~3c)</sup>。今回、その実例を以下で紹介する<sup>3d)</sup>。

コレステロール合成能が低下した老齢皮膚にメバロノラク톤を塗布し、表皮透過バリア強度試験を行った結果を表3に示した。試料の塗布を1日1回、5日間行った。そして、最終塗布から72時間目に、TEWL(皮膚からの水分の不感蒸散量)が0.15mg/cm<sup>2</sup>/分になるまでアセトンを用いて皮膚表面を拭く処理回数を測定した。その結果、メバロノラク톤を配合した試料を老齢皮膚に塗布することにより、明らかな表皮透過バリアの強化効果が認められた。しかし、若齢皮膚ではなんら影響は認められなかった。また、老化皮膚にメバロノラク톤を塗布して皮膚のコレステロール合成能を測定したところ、図4に示したようにコレステロール合成能が活性化された。したがって、メバロノラク톤の作用は老化した皮膚において顕著に発揮された。さらに、副作用はまったく認められなかった、とのことである。

## 5. おわりに

これまで、メバロン酸はイソプレノイド合成の重要な生合成中間物質として知られていた。メバロン酸自身の利用は研究用試薬以外ではほとんど行われていなかった。この最大の理由は、天然型であるR(-)体のメバロン酸を必要十分な量として入手できなかったためと考えられるが、今回当社の醱酵法による量産化技術の研究によって初めて容易に利用可能となった。実用的には、皮膚の老化防止作用が認められ化粧品に配合されるようになったが、別の生理作用として乳酸菌やビフィダス菌の増殖促進作用<sup>15)</sup>も報告されている。メバロン酸の生理作用としては動植物の栄養補給効果も期待される。画期的なコレステロール低下剤であるスタチン類は分子内にメバロン酸のアナログ構造を持つことが知られているこ

表3 表皮通過バリアにおよぼすメバロノラク톤の効果(3cより一部改変)

群	処理回数(回)
老齢	
基剤	35 ± 3
メバロノラク톤	63 ± 3 (p < 0.05 vs 基剤)
若齢	57 ± 4

値は平均値 ± 標準誤差 (n = 5)

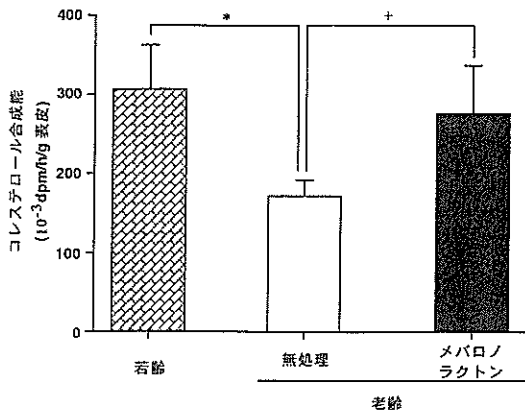


図4 コレステロール合成能におよぼすメバロラクトン塗布の影響 (3cより一部改変)  
 値は平均値±標準誤差  
 \* :  $p < 0.05$ , +  $p < 0.1$

とから、医薬品原料としての応用の可能性も考えられる。今後メバロン酸については、さまざまな分野で有効利用されることを期待したい。

今回は紙面の都合でメバロン酸の物性および安全性については触れることができなかった。これらについては別の機会に紹介したい。

本稿を終わるに際し、終始ご懇篤なご指導とご鞭撻を賜った恩師連藤章先生に謹んで深い感謝を捧げます。本研究は当社研究所をはじめ多くの関係者の方々の協力により行ったものです。この場を借りて深くお礼申し上げます。

#### 参 考 文 献

- 1) Popják G., Boehm G., Parker T.S., Edmond J., Edward P.A. and Fogelman A., *J. Lipid Res.*, **20**, 716~728 (1979)
- 2) SRL '98 総合検査案内解説1-074-021-01, URL <http://www.srl-inc.co.jp/testcoreweb/database/SRL257002.html>
- 3) a) 原武昭憲, 池永健治, 加藤則人, 打和秀世, 平野眞也, 安野洋一, 日本研究皮膚科学会 第24回 年次学術大会講演要旨 (1999), b) Haratake A., Ikenaga K., Katoh N., Uchiwa H., Hirano S. and Yasuno H., *The Society for Investigative Dermatology*, 60th Annual Meeting (1999), c) Haratake A., Ikenaga K., Katoh N., Uchiwa H., Hirano S. and Yasuno H., *J. Invest. Dermatol.*, **114**, in press (2000), d) 公開特許公報 特開平10-338626
- 4) 1999年9月17日付け日経産業新聞および化学工業日報
- 5) Tamura G., *J. Gen. Applied Microbiol.*, **2**, 431~434 (1956)
- 6) Skeggs M.R., Wright L.D., Cresson E.L., MacRae G.D.E., Hoffman C.H., Wolf D.E. and Folkers K., *J. Bact.*, **72**, 519~524 (1956)
- 7) a) 田村学造, 津田恭介, *化学の領域*, **12**(6), 412~420 (1958), b) Wagner A.F. and Folkers K., *Endeavour*, **1961**, 177~187 (1961), c) Popják G., *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, **54**, 647A~655A (1977), d) Brown M.S. and Goldstein J.L., *J. Lipid Res.*, **21**, 505~517 (1980)
- 8) a) Tamura G., Ando K., Kodama K. and Arima K., *Applied Microbiol.*, **16**, 965~972 (1968), b) USP 3,617,447
- 9) a) Koike S., Murakawa S. and Endo A., *J. Ferm. Bioeng.*, **86**, 58~59 (1989), b) 特許公報 第2015165号, 第2054799号, 第2054800号, 第2054801号
- 10) 特許公報 第2792600号
- 11) a) Endo A., Kuroda M. and Tsujita Y., *J. Antibiotics*, **29**(12), 1346~1348 (1976), b) 特許公報 第1072043号
- 12) 国際商業, **32**(379), 56~63 (1999)
- 13) 特許公報 第2925266号
- 14) 特許公報 第2876541号