

抗酸化作用、抗シワ・ハリ改善効果、保湿・バリア機能、  
抗炎症、紫外線防御機能を有する  
油性アンチエイジング原料

### オリーブ果実油酵母発酵オイル

## 発酵プロビタミンオイルPRD™ はっこうプロビタミンオイルピーアールディー

ブナの木から発見されたパフィア酵母と、  
小豆島産エクストラバージンオリーブオイルを組み合わせて発酵、スクワランで抽出した独自の油性原料です。

抗シワ・ハリ改善や保湿・バリア機能の向上、  
抗炎症作用、紫外線に対する保護作用などの様々な美容効果が期待できます。



## 発酵プロビタミンオイルPRD™の特徴

### ～生命力を呼び起す、トータルビューティーオイル～

- 京都に自生するブナの木から発見されたパフィア酵母(*Phaffia rhodozyma*)と小豆島産エクストラバージンオリーブオイルを組み合わせて発酵させて、スクワランで抽出した油性原料です。
- プロビタミンの一つであるβ-カロテンをはじめ、カロテノイド類を含む155種類の美容成分を含有しています。
- 『抗酸化作用』  
DPPHラジカル、一重項酸素、過酸化脂質に対する抗酸化作用に加え、活性酸素による肌細胞ダメージを抑制することが確認されました。
- 『エイジングケア』  
抗シワ・ハリ改善効果として、コラゲナーゼ、ヒアルロニダーゼ、エラスター阻害作用が確認されました。
- 『保湿・バリア機能』  
表皮角化細胞の増殖や、クローディン-1・オクルデイン(タイトジャンクション構成タンパク質)、ヒアルロン酸合成酵素(HAS3)、セラミド合成関連酵素、フィラグリン(天然保湿因子の前駆体)の遺伝子発現量を促進する効果が確認されました。
- 『抗炎症』  
炎症時におけるIL-8産生の抑制効果が確認されました。
- 『紫外線防御』  
紫外線照射によって引き起こされる肌細胞のダメージ、およびコラーゲンやヒアルロン酸の分解を抑制することが確認されました。
- 『美白・透明感』  
チロシナーゼ阻害、カルボニル化タンパク質生成抑制、抗糖化作用が確認されました。
- ヒト連用塗布試験において、頬部の角層水分量、経皮水分蒸散量、弾力、コラーゲン密度、肌トーンの改善効果が確認されました。

表示名称	スクワラン	キサントフィロミセス／オリーブ果実油発酵溶解質工キス液*	β-カロチン
INCI名	Squalane	Xanthophyllomyces/Olive Fruit Oil Ferment Lysate Extract Filtrate	Beta-Carotene

\* )現在、全成分表示名称作成申請中キサントフィロミセスはパフィア酵母のこと

## イントロダクション

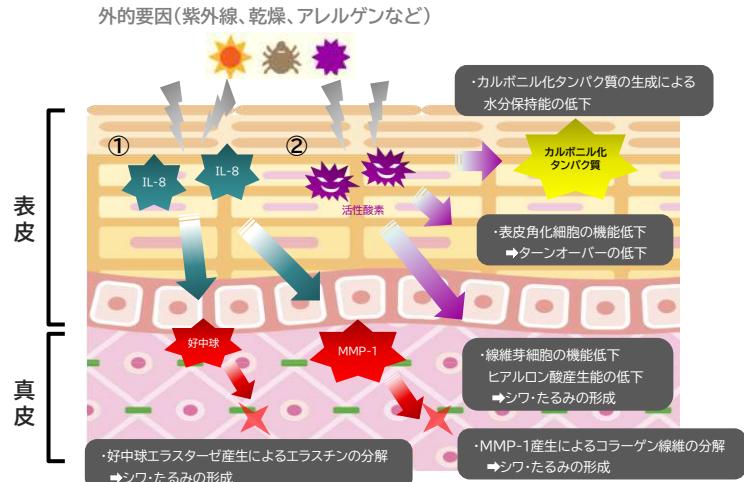
### エイジングケア

皮膚は紫外線・乾燥・アレルギン等の外的要因によって様々なダメージを受けて老化が進みます。以下はその流れの一部です。

① 炎症: 外的刺激でIL-8等の炎症性サイトカインが増え、好中球が真皮に浸潤してエラスターを分泌します。エラスターはエラスチンを分解し、さらにデコリソを壊してMMP-1によるコラーゲン分解を促進するため、ハリ・弾力が低下しシワを生じます。

② 酸化ストレス: 活性酸素は表皮角化細胞や線維芽細胞のDNAを傷つけ、ターンオーバー低下やコラーゲン・ヒアルロン酸産生の低下を招きます。また皮脂の酸化で生じる過酸化脂質由来のアルデヒドがタンパク質をカルボニル化し、保湿低下や黄ぐすみ、透明感の喪失をもたらします。

発酵プロビタミンオイルはIL-8生成抑制などの抗炎症作用、表皮角化細胞での活性酸素生成抑制や細胞保護などの抗酸化作用、さらに細胞外マトリックス分解酵素に対する阻害活性が確認されており、シワ・たるみの抑制を通じて肌老化を防ぐことが期待されます。



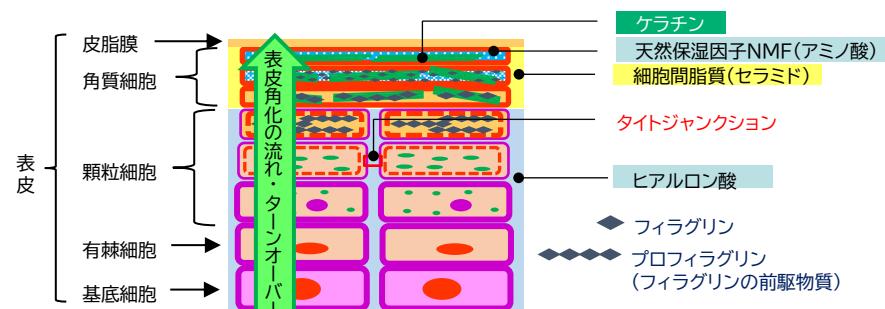
## イントロダクション

## 発酵プロビタミンオイルPRD™

## イントロダクション 続き

## 保湿・バリア機能改善効果

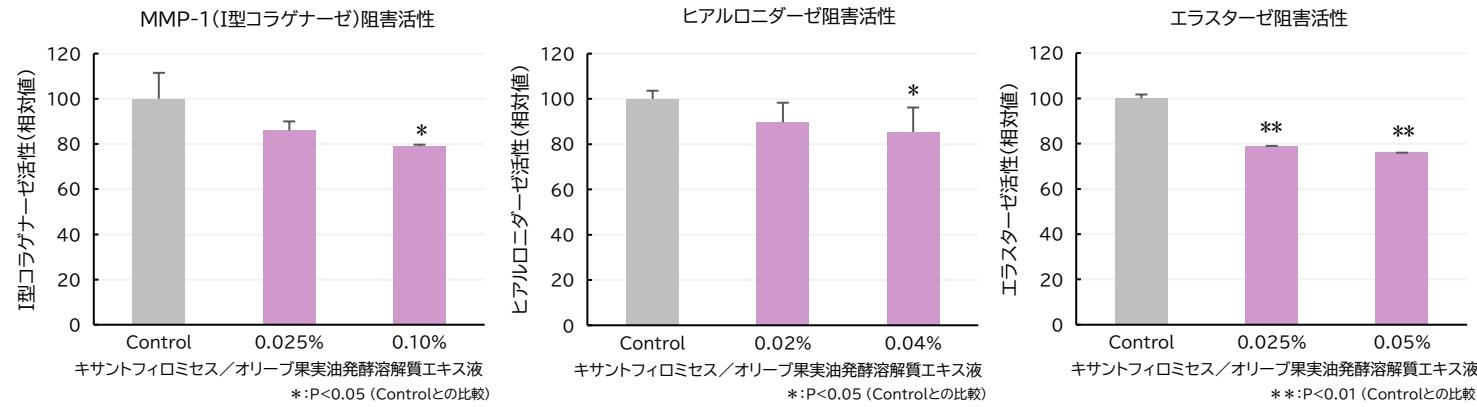
皮膚のバリア機能は表皮角層内の水分蒸散防止と外的異物の侵入防御を担います。表皮は基底層→有棘層→顆粒層→角層と分化して上方へ移動し、顆粒細胞でセラミドやアミノ酸などの保湿成分を蓄え、成熟とともにこれらを放出して細胞間脂質が多層ラメラ構造を形成します。角質細胞、ラメラ構造、そして顆粒層のタイトジャンクション(TJ)が主要なバリア機能を果たします。細胞内ではケラチン線維が強度を支え、フィラグリン由来のNMFが水分を保持します。発酵プロビタミンオイルは表皮角化細胞の増殖を促し、セラミド・ヒアルロン酸合成酵素、フィラグリン、TJ構成成分(クローディン-1、オクルデイン)の遺伝子発現を高めることで、保湿とバリア機能を向上させ、肌老化の予防が期待されます。



## (1) 抗シワ作用

## 1. 細胞外マトリックス分解酵素に対する阻害作用

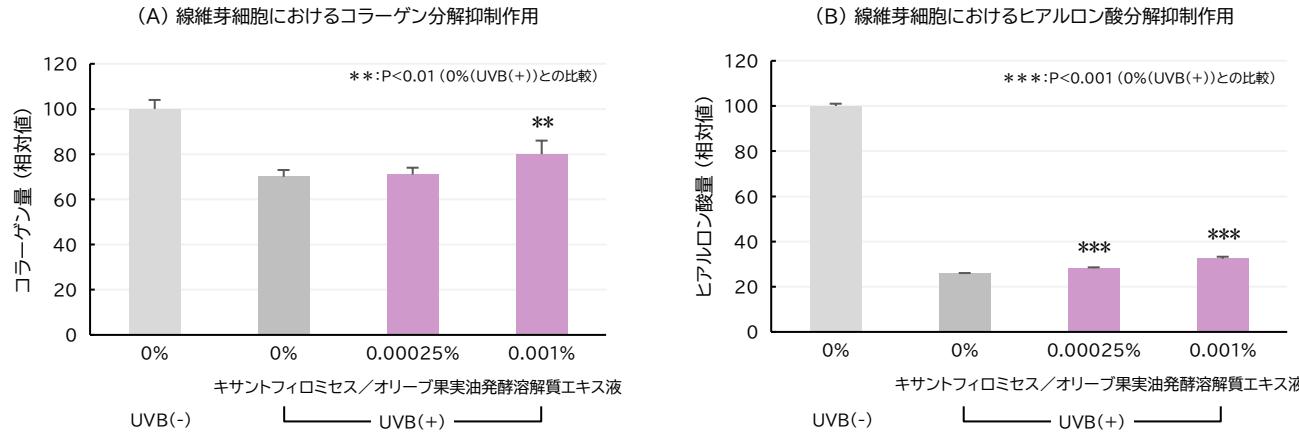
真皮には、I型コラーゲン、エラスチン、ヒアルロン酸などの細胞外マトリックスとよばれる成分が存在し、これら成分により肌のハリや弾力、みずみずしさが保たれ、シワができるにくい肌状態が維持されている。細胞外マトリックス成分は線維芽細胞によって合成される一方、線維芽細胞が産生する酵素によって分解もされる。こうした細胞外マトリックスの各成分の合成と分解のバランスが崩れて、分解酵素の活性化が、皮膚のシワやたるみの原因の一つとして考えられている。本試験では、キサントフィロミセス／オリーブ果実油発酵溶解質エキス液が、細胞外マトリックスの分解を抑制することで、肌のハリや弾力、みずみずしさの維持に寄与し、その結果としてシワの形成を抑制しうる可能性が示唆された。



## 2. 紫外線照射に対する細胞外マトリックス保護作用

皮膚が紫外線に曝されると、表皮においてIL-8や活性酸素の産生を促進する。IL-8は線維芽細胞におけるI型コラーゲン分解酵素MMP-1の産生を促進し、その結果コラーゲンの分解が進行する。一方、活性酸素は線維芽細胞の機能を低下させ、コラーゲンやヒアルロン酸産生能も低下させる。これが紫外線によるシワ形成のメカニズムの一つと考えられている。

本試験では、キサントフィロミセス／オリーブ果実油発酵溶解質エキス液が、紫外線による線維芽細胞中のコラーゲンおよびヒアルロン酸へのダメージに及ぼす影響を明らかにすることを目的として、線維芽細胞におけるUVB照射による(A)コラーゲンの分解抑制作用、(B)ヒアルロン酸の分解抑制作用について評価した。その結果、キサントフィロミセス／オリーブ果実油発酵溶解質エキス液は、紫外線によるコラーゲンおよびヒアルロン酸の分解を抑制する効果が示された。これらの結果から、本エキス液は、紫外線照射により促進される線維芽細胞中のコラーゲンおよびヒアルロン酸の分解を抑制することで、紫外線から受ける肌ダメージの一つであるシワ形成を防止する効果が期待できる。



## 試験データ

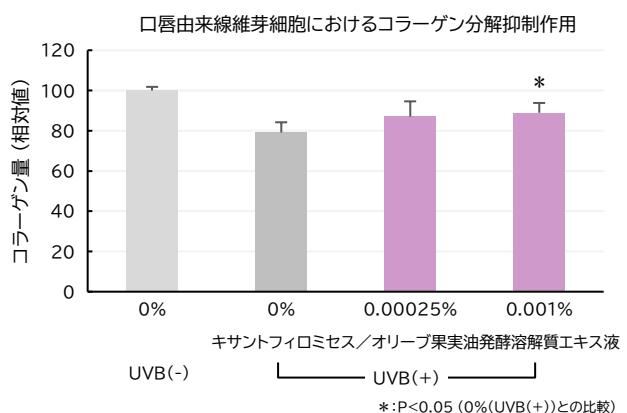
## (1) 抗シワ作用 続き

## 3. 紫外線照射に対する唇における細胞外マトリックス保護作用

唇は皮膚に比べて角層が薄い。また、皮脂腺や汗腺を持たないため皮脂膜が形成されず、保湿機能およびバリア機能が低い部位である。その結果、紫外線などの外部刺激の影響を受けやすいことが知られている。本試験では、キサントフィロミセス／オリーブ果実油発酵溶解質エキス液の、口唇由来線維芽細胞におけるUVB照射によるコラーゲン分解抑制作用について評価した。

その結果、本発酵液はUVB照射によって誘導されるコラーゲン分解を有意に抑制した。以上のことから、本発酵液は紫外線曝露により進行する口唇のコラーゲン減少を抑え、シワ形成を防止する効果が期待できると考えられる。

## 発酵プロビタミンオイルPRD™

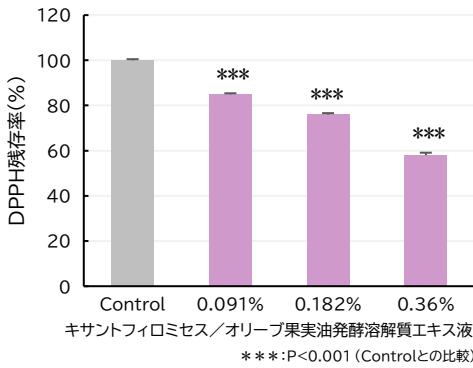


## (2) 抗酸化作用

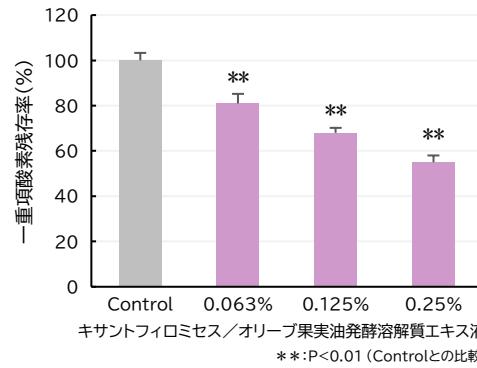
## 1. DPPHラジカル消去能、一重項酸素消去活性、脂質過酸化抑制作用

外的要因により皮膚細胞内に活性酸素が生じ、酸化ストレスが亢進することで、皮膚細胞の機能低下がもたらされる。キサントフィロミセス／オリーブ果実油発酵溶解質エキス液の抗酸化能を評価するため、DPPHラジカル消去能、一重項酸素消去活性および脂質過酸化抑制作用について検討した。一重項酸素消去活性は、エンドペルオキシドから発生させた一重項酸素を化学発光プローブにより検出することで評価した。脂質過酸化抑制作用は、ロダン鉄法を用い、リノール酸の過酸化度を評価した。その結果、いずれの評価系においても、キサントフィロミセス／オリーブ果実油発酵溶解質エキス液は明らかな抗酸化能が認められた。以上より、本エキス液は、活性酸素に起因する肌ダメージを抑制することが期待される。

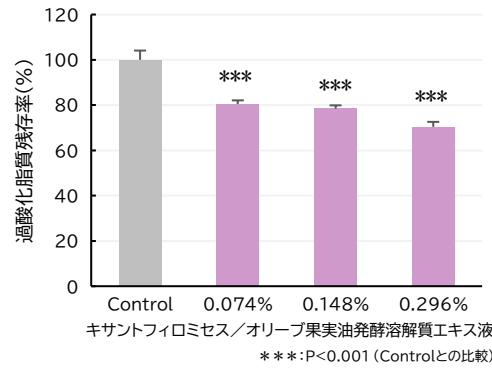
DPPHラジカル消去活性



一重項酸素消去活性



脂質過酸化抑制作用(ロダン鉄法)

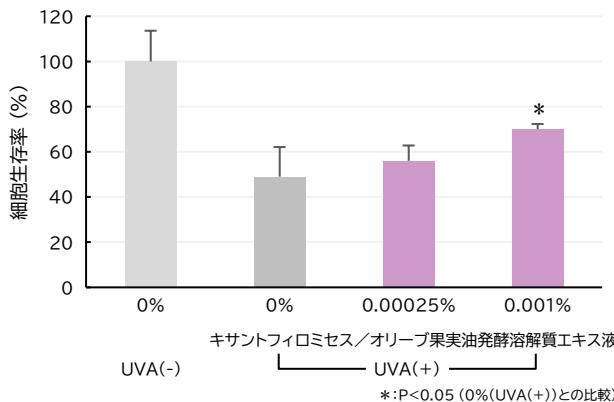


## 2. 活性酸素(酸化ストレス)に対する保護効果

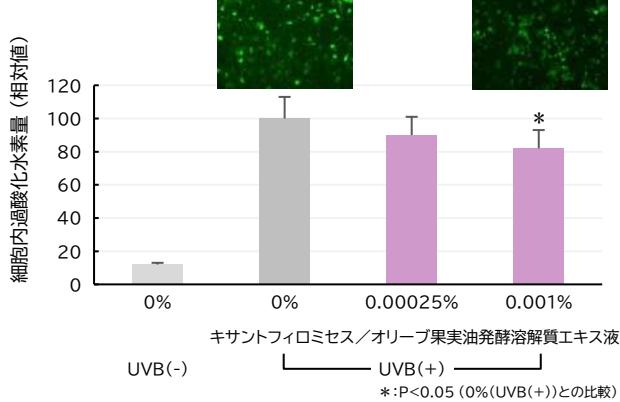
紫外線は皮膚細胞内の活性酸素産生を誘導し、酸化ストレスを亢進させることで細胞傷害を引き起こす。本試験では、表皮角化細胞を用いて、酸化ストレスに対するキサントフィロミセス／オリーブ果実油発酵溶解質エキス液の抗酸化能を評価した。評価方法として、まず光増感剤であるヘマトポルフィリン共存下でUVAを表皮角化細胞に照射し、生じた一重項酸素による細胞傷害を評価した(A)。次に、UVB照射により表皮角化細胞内に生じる活性酸素の一種である過酸化水素について、その生成抑制作用を評価した(B)。過酸化水素は、表皮角化細胞に活性酸素検出用蛍光試薬を取り込み、その蛍光強度を測定することで評価した。

その結果、キサントフィロミセス／オリーブ果実油発酵溶解質エキス液は、一重項酸素による酸化傷害に対する保護効果と、細胞内過酸化水素の生成抑制作用を示した。これらより、本エキス液は皮膚細胞内の活性酸素の発生を抑えることで、肌ダメージを軽減することが期待される。

(A) 一重項酸素の酸化傷害に対する細胞保護作用



(B) 表皮角化細胞内の過酸化水素抑制作用



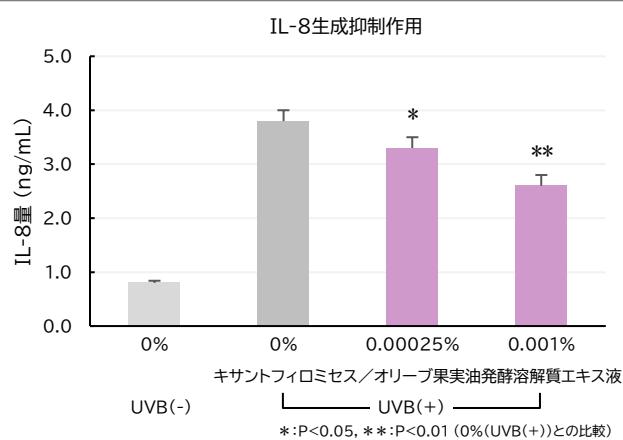
## 試験データ

## 発酵プロビタミンオイルPRD™

## (3)抗炎症作用

## IL-8生成抑制作用

IL-8は、紫外線など外的要因によって分泌が亢進され、真皮中のコラーゲンやエラスチンの分解を促進するだけでなく、表皮幹細胞にもダメージを与える炎症性サイトカインの一つである。本試験では、キサントフィロミセス／オリーブ果実油発酵溶解質エキス液の存在下において、UVB照射により生成が促進されるIL-8の生成抑制作用を評価した。その結果、UVB照射により表皮角化細胞中のIL-8は増加することが確認され、キサントフィロミセス／オリーブ果実油発酵溶解質エキス液を添加することで、その生成が抑制されることが明らかとなった。この結果から、本エキス液には抗炎症作用が期待できる。

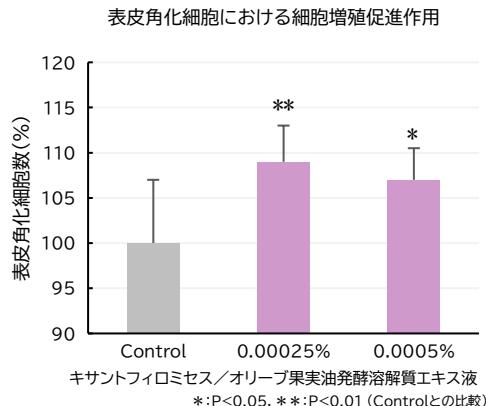


## (4)保湿・バリア機能改善作用

## 1. 表皮角化細胞における細胞増殖促進作用

基底層で分裂した表皮角化細胞は、分化・成熟を経て上層へと移行し、最終的に角層に達した後、脱落することでターンオーバーを繰り返し、表皮を形成している。加齢により表皮角化細胞の新陳代謝が低下すると小ジワや色素沈着、角層における天然保湿因子の発現の低下などが生じる。

表皮角化細胞を用いた細胞増殖試験の結果、キサントフィロミセス／オリーブ果実油発酵溶解質エキス液は、細胞賦活作用があることが認められた。このことから、本エキス液は、皮膚の新陳代謝機能を回復させることで、小ジワや色素沈着、角層の天然保湿因子の発現の低下などの皮膚の老化症状を改善することが期待できる。

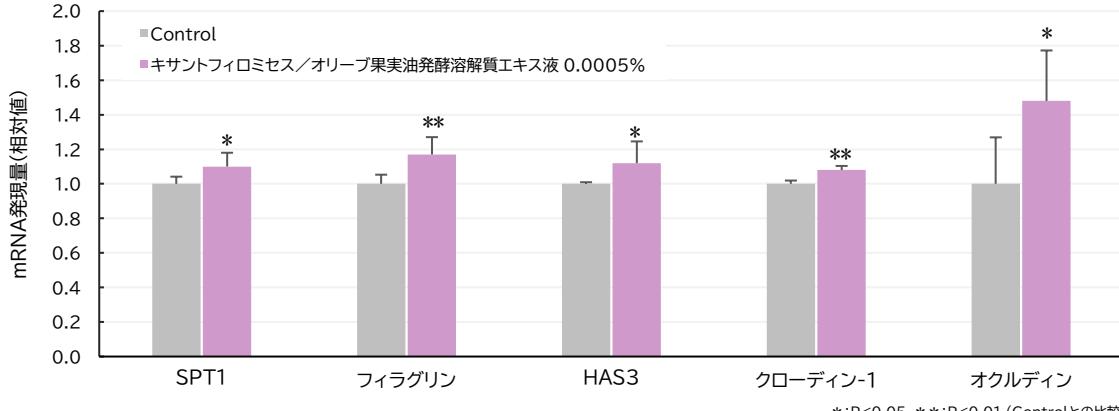


## 2. 保湿・バリア機能に関する遺伝子発現促進作用

表皮は、水分蒸発を防ぎ、外界からの異物(アレルゲン・細菌など)の侵入を防ぐ役割を担っている。その内、角層ではセラミドなどの細胞間脂質が多層状のラメラ構造を形成し、この角質細胞とラメラ構造をなす細胞間脂質、さらに顆粒層に存在するタイトジャンクション(TJ)が主なバリア機能として働いている。また、角質細胞内の天然保湿因子(NMF)や、表皮細胞間に存在するヒアルロン酸が水分を保持することで、表皮のうるおいが保たれている。

本試験では、キサントフィロミセス／オリーブ果実油発酵溶解質エキス液の存在下で、表皮角化細胞における、セラミド生合成関連酵素であるセリンパルミトイアルトランスフェラーゼ(SPT1)、NMFの前駆体であるフィラグリン、ヒアルロン酸合成酵素(HAS3)、およびTJ構成タンパク質であるクローディン-1とオクルデインの遺伝子発現評価を行った。その結果、これら遺伝子の発現が促進されることが認められた。以上より、本エキス液は肌のバリア機能および水分保持力を向上させる効果が期待される。

表皮角化細胞における保湿・バリア機能関連遺伝子発現促進作用



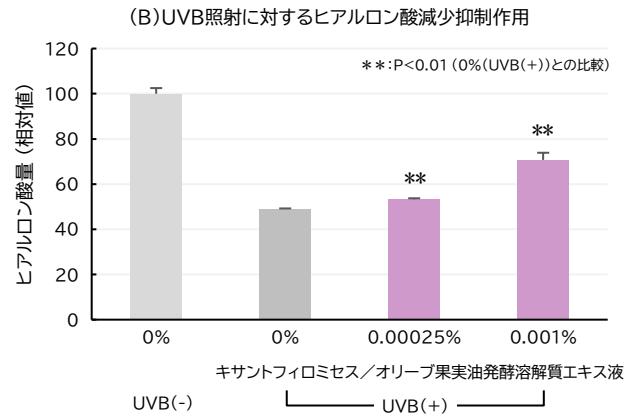
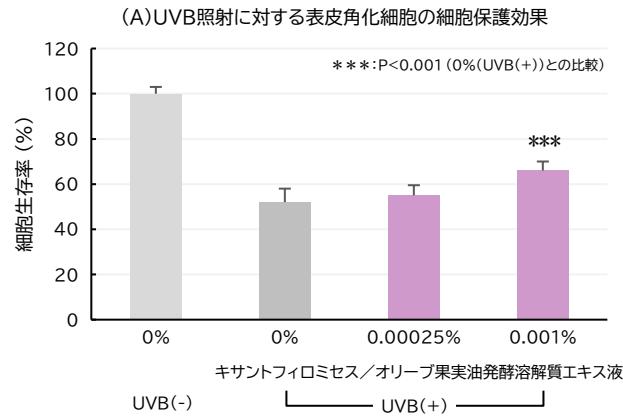
## 試験データ

## 発酵プロビタミンオイルPRD™

## (4)保湿・バリア機能改善作用 続き

## 3. 紫外線に対する保護効果

皮膚が紫外線に曝されると、角層において活性酸素の産生が亢進する。活性酸素は表皮角化細胞の機能を低下させ、ターンオーバーや細胞のヒアルロン酸産生能の低下をもたらす。本試験では、キサントフィロミセス／オリーブ果実油発酵溶解質エキス液が、紫外線による表皮角化細胞の細胞増殖能およびヒアルロン酸産生に与えるダメージへ及ぼす影響を調べることを目的とし、表皮角化細胞におけるUVB照射に対する(A)細胞保護効果、(B)ヒアルロン酸の減少抑制作用について評価した。その結果、キサントフィロミセス／オリーブ果実油発酵溶解質エキス液には、紫外線による表皮角化細胞への細胞保護効果およびヒアルロン酸産生低下抑制効果が認められた。これらの結果から、本エキス液は、紫外線照射によって生じる表皮角化細胞へのダメージを低減し、細胞を保護する効果が期待される。



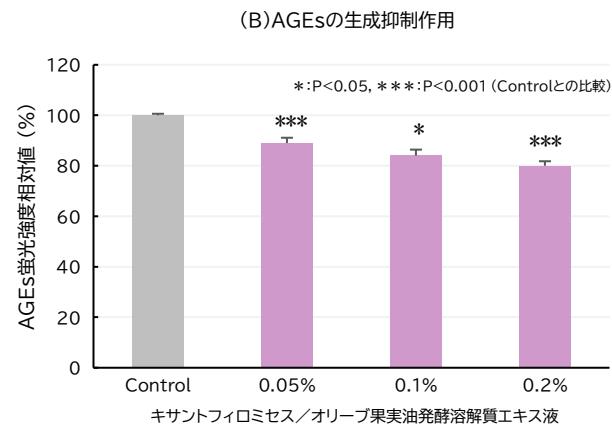
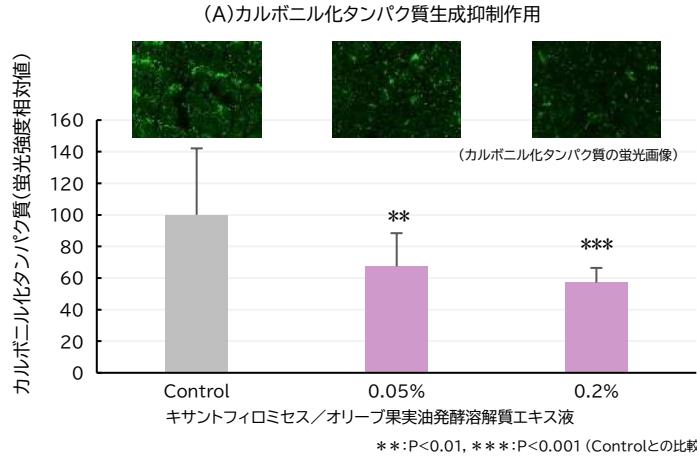
## (5)くすみ改善・美白作用

## 1. くすみ改善

くすみ改善効果としてカルボニル化タンパク質生成抑制作用と抗糖化作用を評価した。

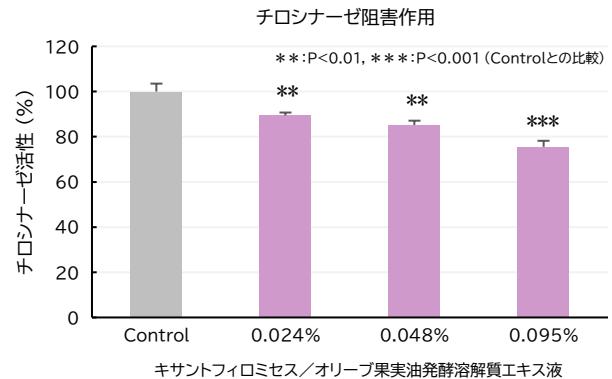
(A) カルボニル化タンパク質は過酸化脂質由来アルデヒドによるタンパク質の酸化修飾で、肌の機能低下や透明感喪失を引き起こす。本試験ではテープストリッピングで採取した角層にキサントフィロミセス／オリーブ果実油発酵溶解質エキス液存在下でUVAを照射し、生成したカルボニル化タンパク質を5-FTSCと反応させた。その蛍光画像解析によってカルボニル化タンパク質の生成抑制作用を評価した。本エキス液は、UVAによるカルボニル化タンパク質の生成を抑制し、乾燥や透明感低下を防ぐ効果が期待される。

(B) 糖化はコラーゲン等のタンパク質と糖の結合が進みAGEs(終末糖化産物)を生じ、肌の弾力や透明感が損なわれる。本試験ではアルブミン-グルコース混合液にキサントフィロミセス／オリーブ果実油発酵溶解質エキス液を添加し、蛍光性AGEsの蛍光強度で糖化抑制を評価した。結果は濃度依存的にAGEs生成が抑えられ、本エキス液には抗糖化によるアンチエイジング・くすみ防止効果が期待される。



## 2. 美白作用

美白作用を評価するためにマッシュルーム由来チロシナーゼを用いてチロシナーゼ阻害作用について調べた。ドーパを基質としてチロシナーゼを作用させ、生成するメラニンの中間体であるドーバクロムの赤色を475nmにて吸光度を測定した。その結果、キサントフィロミセス／オリーブ果実油発酵溶解質エキス液は濃度依存的にチロシナーゼを阻害することが確認されたことから、シミ予防効果が期待される。



## 試験データ

## 発酵プロビタミンオイルPRD™

## (6)発酵プロビタミンオイル配合化粧品でのヒト試験結果～配合化粧品運用試験～

## &lt;試験方法&gt;

参加同意を得た健常な成人女性17名(平均年齢:44.2±8.4歳)を対象に試験を実施した。試験品は、発酵プロビタミンオイルを0.02%配合した美容液、2%配合した乳液およびクリームとし、被験者にはこれらを朝晩2回、全顔へ塗布させた。また、16名については追加試験として、発酵プロビタミンオイル3%配合アイクリームを朝晩2回、目元周りに塗布させた。試験期間は10月末から11月末までの4週間とした。測定当日は、指定のクレンジングおよび洗顔料で洗顔後、温度20±2°C・湿度40~60%に管理した専用測定室で20分間安静にし、環境に順化させた。評価項目は、VISIA(顔画像解析)、マイクロスコープ(肌状態観察)、超音波真皮画像装置(コラーゲン密度計測)、およびマルチ皮膚計測機器(角層水分量、肌弾力、経皮水分蒸散量)とした。

## 1. 肌バリア機能の改善

肌バリア機能の指標として、Tewameter®TM300を用いて経皮水分蒸散量(TEWL)の評価を行った。各試験品の塗布前および塗布4週間後に、左頬部で測定を実施した。その結果、4週間後のTEWLは塗布前と比較して低下傾向を示した。これらの結果より、発酵プロビタミンオイルを配合した化粧品により、肌バリア機能の向上が期待される。

## 2. 角層水分量の改善

角層水分量の評価には、Corneometer®CM825を使用した。各試験品の塗布前および塗布4週間後に、左頬部で測定を実施した。また、アイクリームを使用した被験者については、追加で左目尻部の測定も行った。その結果、角層水分量は塗布前と比較して、いずれの測定部位においても有意に増加した。これらの結果より、発酵プロビタミンオイルを配合した化粧品は、肌の保湿力を向上させる効果があることが確認された。

## 3. 肌弾力の改善

肌弾力の評価には、Cutometer®MPA580を使用した。各試験品の塗布前および塗布4週間後に、左頬部で測定を実施した。その結果、弾力性の指標であるR0は有意に低下し、R5は有意に増加した。R0の低下は皮膚の「ハリの向上」を示し、R5の増加は「即時弾力性の向上」を示す。これらの結果より、発酵プロビタミンオイル配合化粧品は、肌のたるみ改善、引き締め効果、ハリ・弾力の向上に寄与することが期待される。

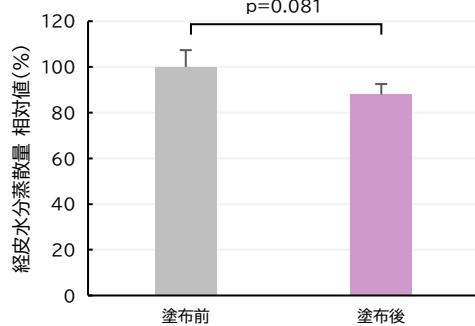
※R0:Uf(肌の伸び率) R5:Ur/Ue(正味弾力)

## 4. VISIA画像解析

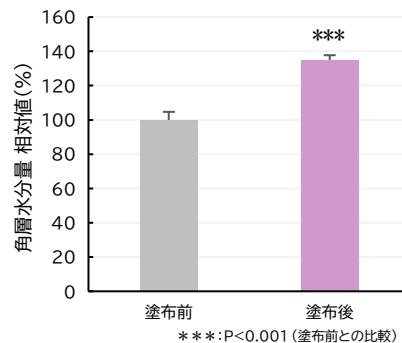
塗布前と塗布4週間後の顔画像解析にはVISIAを使用し、肌状態の詳細な観察にはドライスキンマイクロスコープMC-50Tを用いた。さらに、肌の明度および黄ぐすみについては、VISIAで取得した顔画像をもとに付属のLab\*解析ソフトを用いて評価した。解析の結果、塗布前と比較してシワおよびキメの項目で有意な低下が認められた。キメの改善については、マイクロスコープによる肌表面観察でも同様の傾向が確認された。また、肌の明度(L\*値)は有意に上昇し、肌の黄ぐすみ(b\*値)は有意に低下した。これらの結果より、発酵プロビタミンオイルを配合した化粧品は、シワ・キメを改善して滑らかな肌へ導くとともに、カルボニル化タンパク質の抑制により肌の明るさや透明感を向上させる効果が期待される。

経皮水分蒸散量(TEWL)

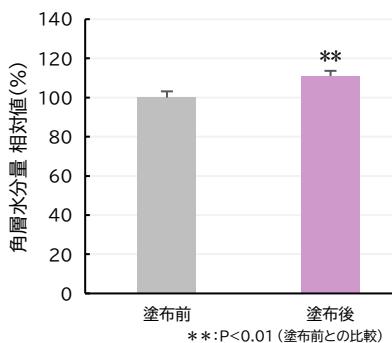
p=0.081



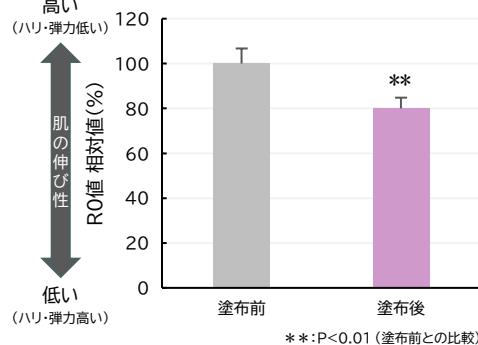
角層水分量(頬部)



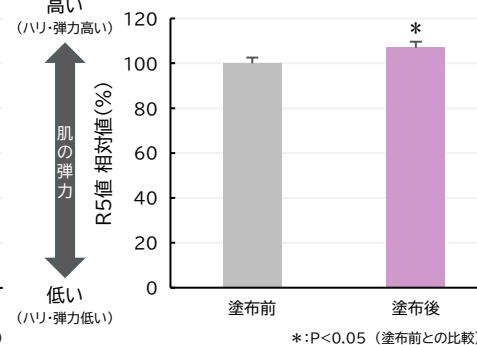
角層水分量(目尻)



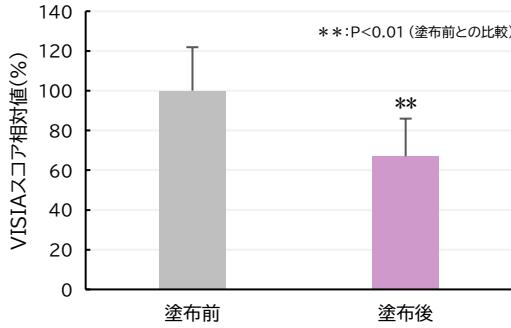
R0(肌の伸び率)



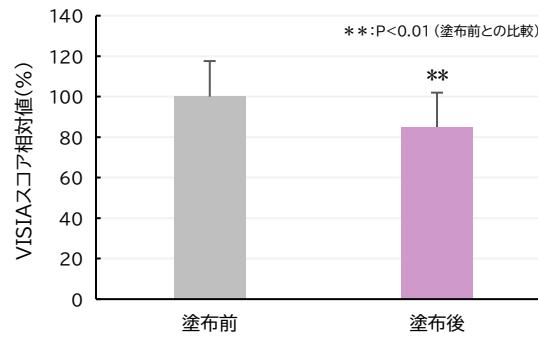
R5(正味弾力)



シワ



キメ(粗さ)

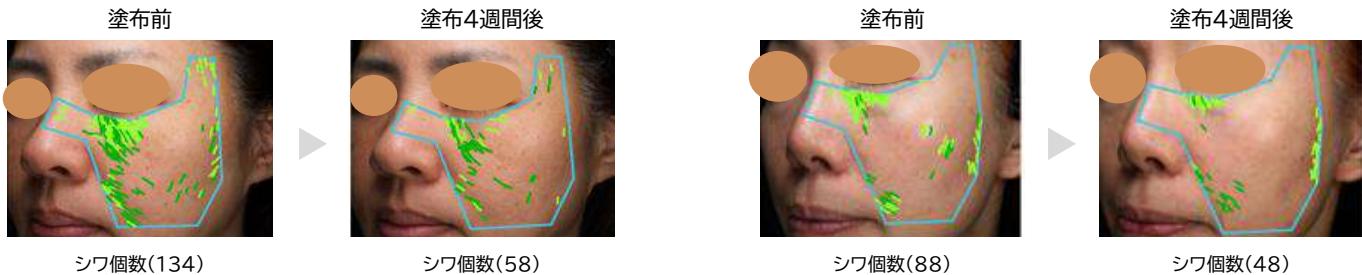


## 試験データ

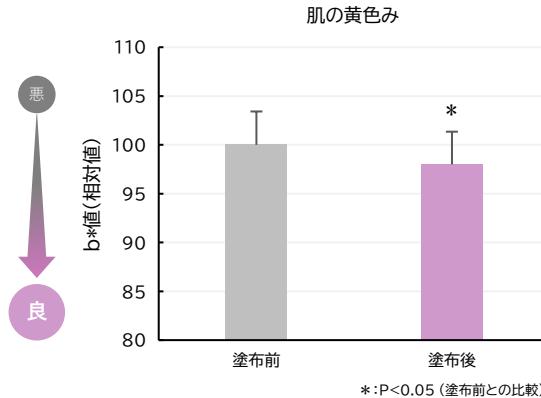
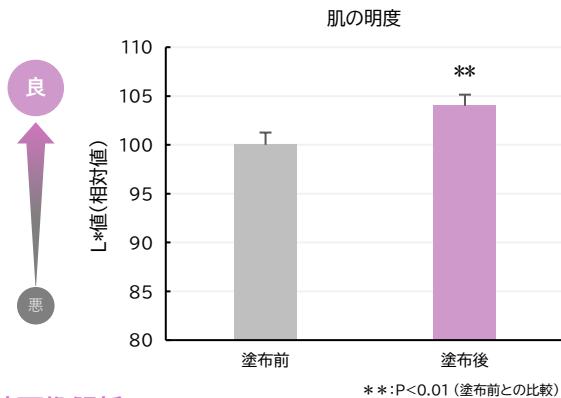
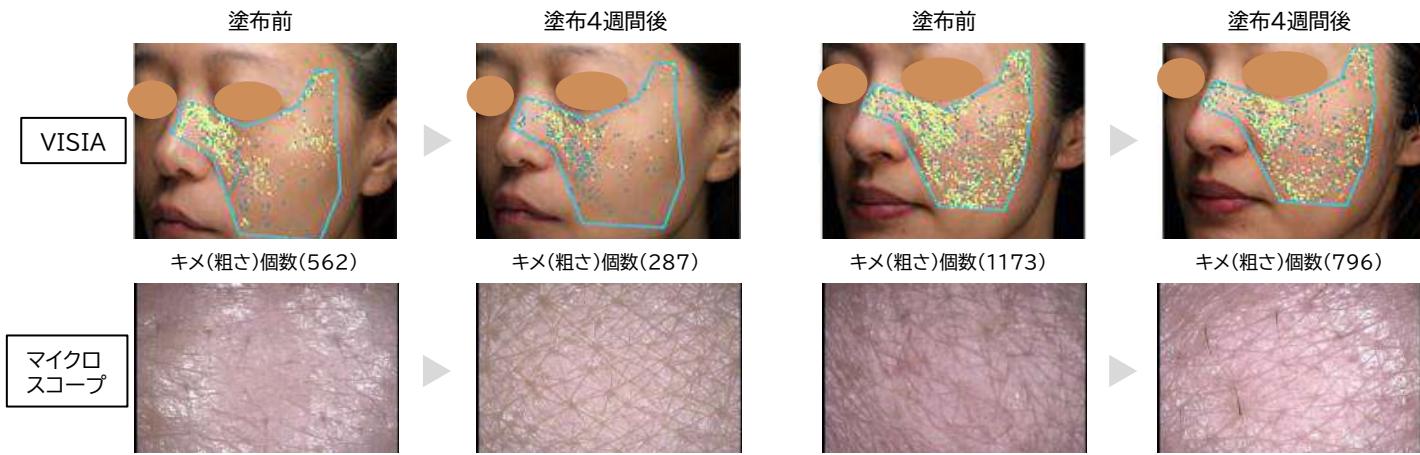
## 発酵プロビタミンオイルPRD™

## (6) 発酵プロビタミンオイル配合化粧品でのヒト試験結果～配合化粧品連用試験～ 続き

## ■ VISIAによる皮膚状態の解析(シワ改善例)



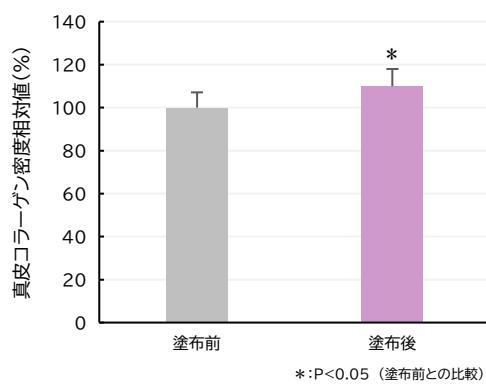
## ■ VISIAとマイクロスコープによる皮膚状態の解析(キメ(粗さ)改善例)



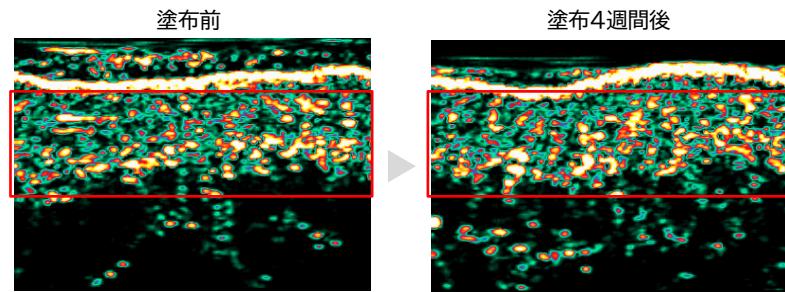
## 5. 超音波画像解析

塗布前と塗布4週間後の真皮状態は、DermaLabを用いて評価した。解析の結果、塗布前と比較して真皮コラーゲン密度スコアが有意に上昇した。これらの結果より、発酵プロビタミンオイルを配合した化粧品は真皮のコラーゲン密度を高め、シワやたるみの改善に寄与することが期待される。

真皮コラーゲン密度



## ■ DermaLabによる真皮コラーゲン密度の解析(改善例)



## 試験データ

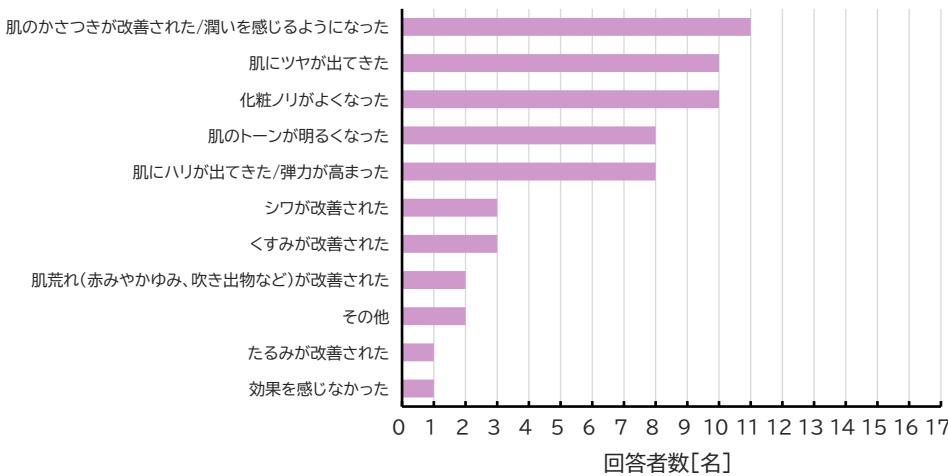
## 発酵プロビタミンオイルPRD™

## (6)発酵プロビタミンオイル配合化粧品でのヒト試験結果～配合化粧品連用試験～ 続き

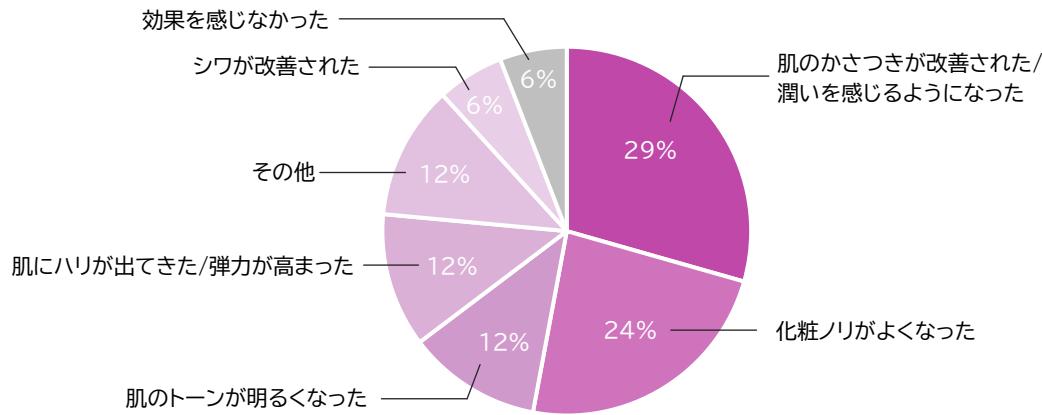
## 6. アンケートによる肌状態の評価

4週間の塗布試験後、被験者を対象に肌状態に関するアンケート調査を実施した。その結果、9割以上の被験者が何らかの肌効果を実感していた。特に「肌のかさつきが改善された/潤いを感じるようになった」、「肌にツヤが出てきた」、「化粧ノリがよくなった」、「肌のトーンが明るくなった」、「肌にハリが出てきた/弾力が高まった」の5項目では、半数近くの被験者が効果を実感した。これらの結果は、発酵プロビタミンオイルの抗シワ作用や保湿作用などの機能が、実感値としても反映された可能性を示したといえる。

実感した効果(複数回答)



最も実感した効果(単一回答)



【参考】試験データ濃度換算

【キサントフィロミセス／オリーブ果実油発酵溶解質エキス液】1%=[発酵プロビタミンオイルPRD]20%