

原料概要

(化粧品用)



ISO9001 認証取得



認定番号 132

原料一覽

化粧品原料 オリジナル原料

掲載ページ

ユニファイン・シーオー

UNIFINE®-CO

抗糖化 抗酸化 抗シワ ハリ 黄ぐすみ防止 美白 抗炎症

[表示名称]アスペルギルス/ダイズ種子エキス発酵エキス液、BG
大豆由来イソフラボンを麹菌で発酵し、8-ヒドロキシイソフラボン類に変換したオリジナルの特許原料です。
発酵前のイソフラボン以上の抗酸化力に加え、糖化を防ぐことでのたるみ防止作用、黄ぐすみ防止作用、美白作用等があります。

p. 2-8

イムノール・シーオー

IMMUNOL®-CO

免疫 バリア機能 水分保持 新陳代謝 エクソソーム産生促進

[表示名称]グルコノバクター培養液、BG
果実から単離した酢酸菌を植物由来原料を用いて発酵した原料です。
免疫賦活作用により皮膚アレルギー症状や炎症を抑え、肌をきれいに保ちます。

p. 9-13

ローズクリスタ・シーオー

ROSE CRYSTA®-CO

日焼け防止 抗糖化 抗酸化 保湿 抗シワ ハリ 美白

[表示名称]センチフォリアバラ花エキス、BG、水
バラ花びらから抽出したエキスの化粧品原料です。
抗酸化作用と抗シワ作用(ヒアルロニダーゼ阻害活性)、美白及び日焼け止め効果を確認しています。

p. 14-16

ライステクト

RICETECT®

抗炎症 抗酸化 保湿 バリア機能 抗シワ ハリ 新陳代謝

[表示名称]ベニコウジ菌/コメ発酵液、プロパンジオール
北海道唯一の黒米品種「きたのむらさき」を、豆腐乳由来の紅麹菌で発酵させたオリジナル原料です。
抗炎症、抗酸化、保湿、バリア機能改善など、外部刺激からの様々なストレスから肌を守る効果があります。

p. 17-24

ユキメ

YUKIME®

バリア機能 水分保持 新陳代謝 抗シワ ハリ 黄ぐすみ防止 抗糖化 エクソソーム産生促進

[表示名称]ラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液、ペンチレングリコール
北海道品種「ゆきひかり」玄米を発芽させ、ラカンセア酵母で発酵させたオリジナル原料です。
保湿による肌老化の防止、バリア機能・水分保持機能、新陳代謝機能、抗シワ・ハリ改善などの美容効果があります

p. 25-34

ラクティビオローズ

LACTIBIO® ROSE

美白 黄ぐすみ防止 光老化防止 抗シワ 抗酸化 抗糖化 デリケートゾーンケア

[表示名称]乳酸桿菌/センチフォリアバラ花エキス発酵液、プロパンジオール、フェノキシエタノール
バラ花びらエキスをデンマーク産チーズ由来の乳酸菌で発酵させたオリジナル原料です。
美白作用、紫外線による肌老化の防止、抗酸化作用などの美容効果があります。

p. 35-41

セラビオ

CELABIO®

抗シワ ハリ バリア機能 水分保持 エクソソーム産生促進 老化抑制 創傷治療

[表示名称]バチルス/(コメヌカエキス/ダイズエキス)発酵液、水、フェノキシエタノール、エタノール
大豆抽出物と米糠を納豆菌で発酵させた植物性プラセンタ様原料です。
プラセンタ以上の線維芽細胞増殖促進作用、ビタミンC誘導体を上回るコラーゲン産生促進作用を確認しています。

p. 42-51

はっこうじすい

肌麹水®

新陳代謝 水分保持 角層剥離 抗シワ ハリ

[表示名称]アスペルギルス培養物、ペンチレングリコール、フェノキシエタノール
厳選された6種類の麹菌から抽出された麹菌抽出原液です。
角層の水分保持能を増加させるとともに角層剥離の働きを促進させることで、乱れたターンオーバーを整えます。

p. 52-59

はっこうプロビタミンオイルピーアールディー

発酵プロビタミンオイルPRD™

抗シワ ハリ 抗酸化 抗炎症 バリア機能 水分保持 光老化防止

[表示名称]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、β-カロチン、スクワラン
小豆島産エクストラバージンオリーブオイルをパフィア酵母で発酵し、スクワラン抽出により得られた油性原料です。
プロビタミンであるβ-カロテンを含有しており、抗シワ・抗酸化・抗炎症などの美容・スキンケア効果を確認しています。

p. 60-68

アンチエイジングを目指す発酵イソフラボン
抗糖化素材

UNIFINE®-CO

ユニファイン・シーオー

大豆エキスを麹菌で発酵させることにより、
高い抗糖化作用をもったアンチエイジング
素材「8-ヒドロキシイソフラボン類」を主成
分とする原料の開発に成功しました。



UNIFINE®-COの特徴

～発酵を科学して、発酵のチカラで肌を着がえる～

- イソフラボンを含む大豆エキスを麹菌で発酵させた発酵素材です。
- 8-ヒドロキシイソフラボン類を有効成分とした抗糖化素材です。
 相山女学園大学との共同研究(特許第5318339号)
- 終末糖化産物(AGEs)の生成抑制作用と分解作用が確認されました。
- コラーゲンの糖化によるタルミの防止効果が確認されました。
- 糖化による肌の褐色変化を抑制する作用が確認されました。
- 「黄ぐすみ」の原因とされるカルボニルタンパク質の生成抑制作用が
 確認されました。
- 抗酸化能(DPPH、OHラジカル消去能)が確認されました。
- その他美肌効果としてチロシナーゼ阻害やコラゲナーゼ阻害が
 確認されました。
- 麹菌発酵することで機能性が向上していることから、特にアンチエイジ
 ングを目指す製品企画に最適です。
- 食品用途の機能性原料「UNIFINE」もご用意しております。内外美容
 を目的とした食品との併用による美肌効果の増強が期待されます。

製品名		UNIFINE®-CO
化粧品	表示名称	INCI名
	アスペルギルス/ダ イズ種子 エキス発酵 エキス液	Aspergillus/Soybean Seed Extract Ferment Extract Filtrate
	BG	Butylene Glycol

規格項目	規格	試験法
性状	黄褐色～褐色の液体で、 特異臭あり	官能検査法
確認試験： イソフラボン類	HPLC分析にて ピークが確認される	HPLC法
pH	3.0～4.5	外原規一般試験法
強熱残分	2.0%以下	外原規一般試験法
蒸発残分	0.5%以上	常圧加熱乾燥法
比重	実測値	振動式密度計
定量法： 総イソフラボン類含有量	実測値	HPLC法
定量法： 総イソフラボン類中 8-ヒドロキシイソフラボン類 含有量	実測値	HPLC法
純度試験(1)重金属	20ppm以下	外原規一般試験法
純度試験(2)ヒ素	2.0ppm以下	外原規一般試験法
一般生菌数	100cfu/mL以下	SCDLP寒天培養法
大腸菌群	陰性	AOAC法(ペトリフィルム法)
カビ・酵母	100cfu/mL以下	AOAC法(ペトリフィルム法)

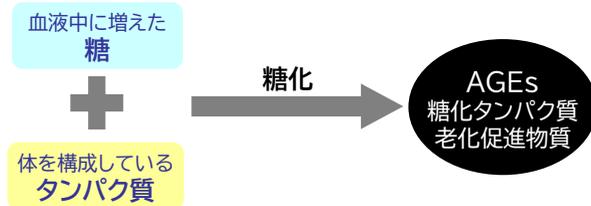
イントロダクション

UNIFINE®-CO

糖化とは... 体内糖化ストレスを抑えることが大切です

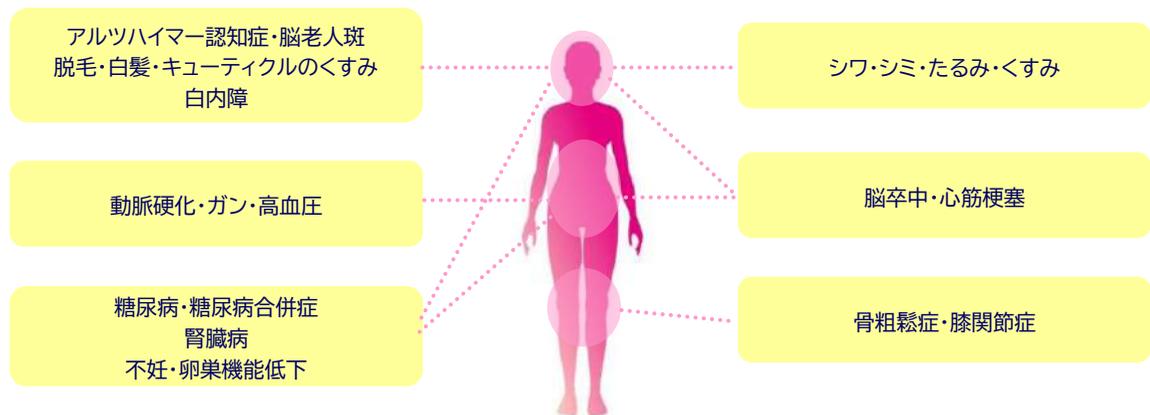
老化や病気の原因は、カラダの糖化です

血液や体内中に増えたブドウ糖を中心とした糖は、エネルギーとして代謝されないとタンパク質と結合しやすくなります。これを糖化といい、老化や病気の原因となる反応の1つです。メタボリックシンドロームの指標のひとつに血糖値がありますが、血液検査にあるHbA1cは、血液中のヘモグロビンとブドウ糖が結合したもので、血糖値のように直前の食事の影響を受けず、直近の1-2ヶ月の平均血糖値を推測できる指標として使われています。タンパク質が糖化すると、そのタンパク質の本来の機能(シグナル伝達や酵素活性等)が抑えられ、代謝等に影響がでます。これが、老化や病気の原因となるのです。



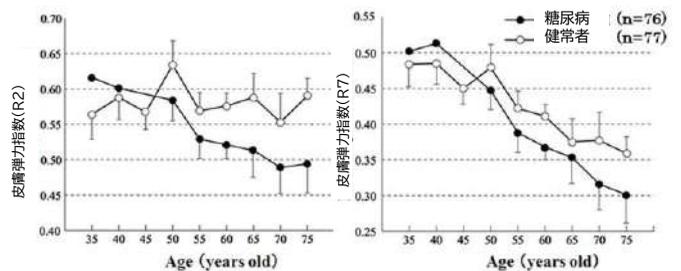
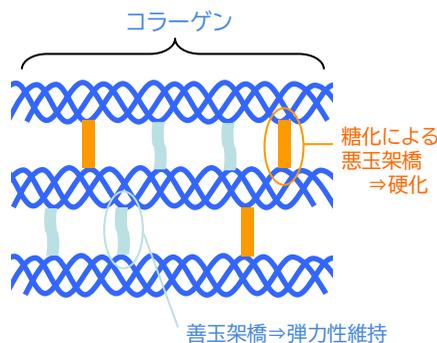
AGEs (終末糖化産物, Advanced glycation endproducts) 細胞や組織のタンパク質が糖化することにより生成する物質で、生体の機能不全を引き起こすことにより直接病気の原因となっています。

糖化によって起こる病気や症状



肌への影響

コラーゲンの3重らせん構造は互いに生理的架橋「善玉架橋」により結合し、コラーゲン線維の適度な弾性維持に寄与します。しかし、糖化反応によって形成されたAGEsにより、非生理的架橋「悪玉架橋」が形成されるとコラーゲン線維を脆弱化します。その結果、肌は弾力性が低下し硬くなります。下図は、悪玉架橋形成の模式図および糖化ストレスの高い糖尿病患者と健常者の皮膚弾力性についての文献報告例です。皮膚コラーゲン中のAGEs蓄積量が増加すると、糖尿病患者での蓄積量が同年齢の健常者よりも多いことや糖尿病患者の皮膚弾力が健常者と比べて低下していることが確認されています。



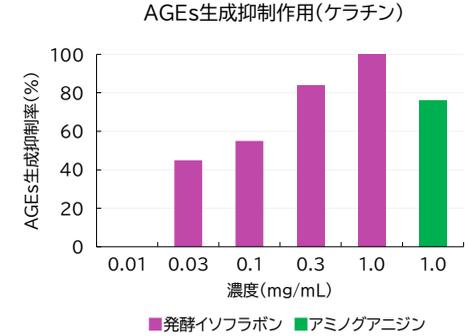
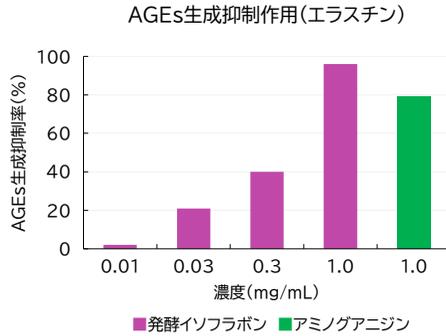
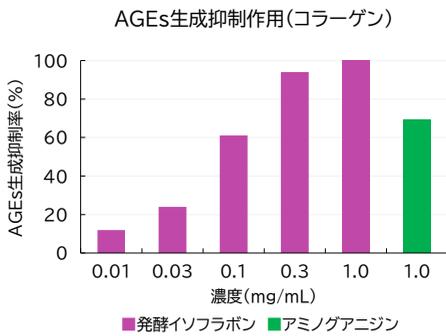
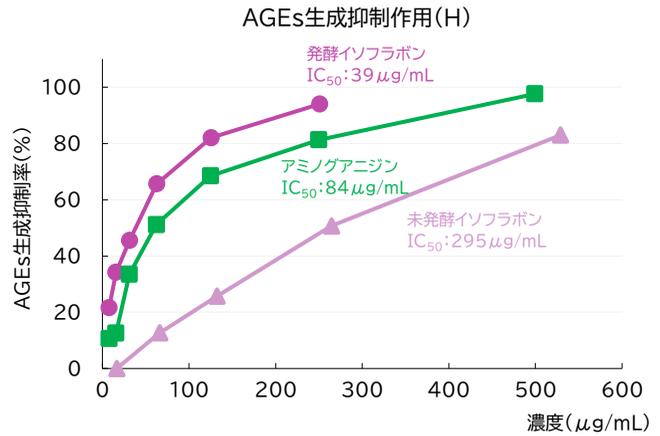
Kubo M5. J ClinBiochem Nutr 43(Suppl 1); 66-69; 2008 より

試験データ

UNIFINE®-CO

(1) 蛍光性AGEs生成抑制作用 ~発酵による機能の向上~

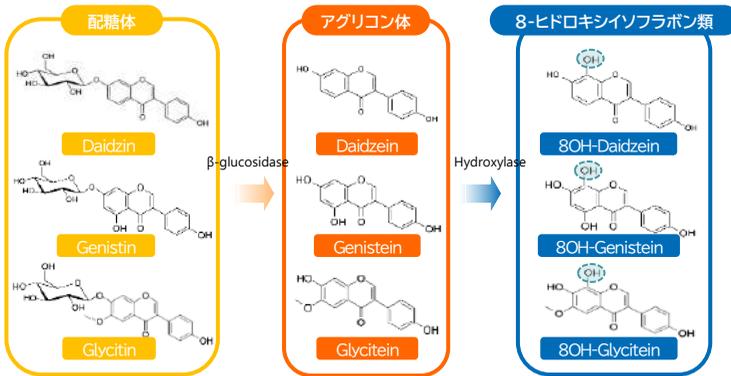
発酵イソフラボンと未発酵イソフラボンについて、グルコースとH(ヒト血清アルブミン)の糖化反応系により蛍光AGEs生成抑制作用の評価を行った。
その結果、発酵イソフラボンは未発酵イソフラボンに比べて非常に高い蛍光AGEs生成抑制作用が確認された。また、発酵イソフラボンはタンパク質としてコラーゲン、エラスチン、ケラチンを用いた反応系においても蛍光AGEs生成抑制作用が確認され、その作用は糖化反応阻害剤であるアミノグアニジンよりも強いことが確認された。



(2) 有効成分: 8-ヒドロキシイソフラボン類

麹菌発酵により大豆に含まれるイソフラボンは、水酸化されヒドロキシイソフラボン(8-ヒドロキシイソフラボン類)に変換されることや、この8-ヒドロキシイソフラボン類が豆味噌に含まれていることが報告されている。

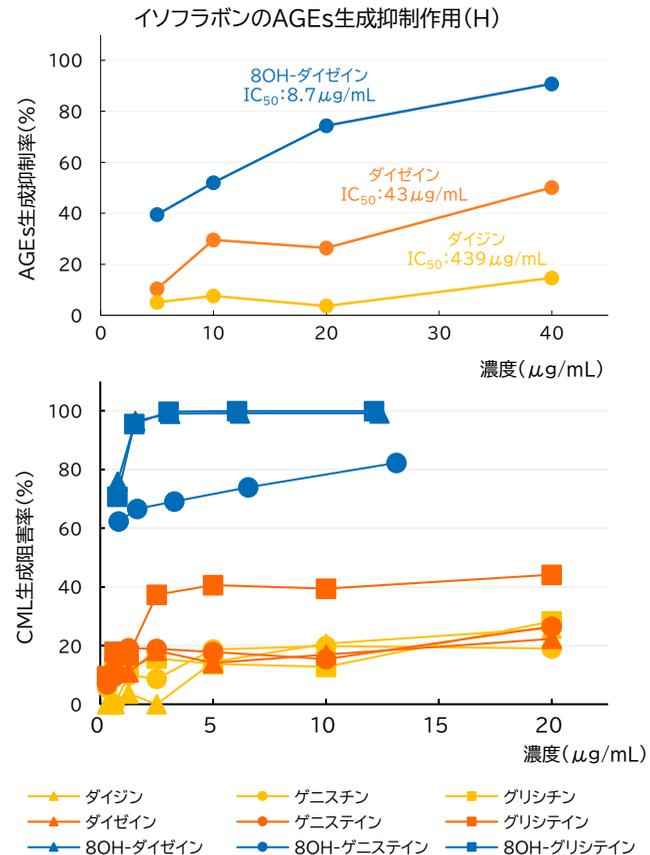
■ 麹菌発酵による大豆イソフラボンの変換



発酵イソフラボンに確認された抗糖化作用を示す有効成分として、8-ヒドロキシイソフラボン類が大きく寄与していることを次のように確認した。

主要大豆イソフラボンのひとつであるダイゼイン(アグリコン)とその配糖体ダイジンおよび水酸化誘導体(8OH-ダイゼイン)について、グルコースとH(ヒト血清アルブミン)の糖化反応系によりAGEs生成抑制作用を評価した。

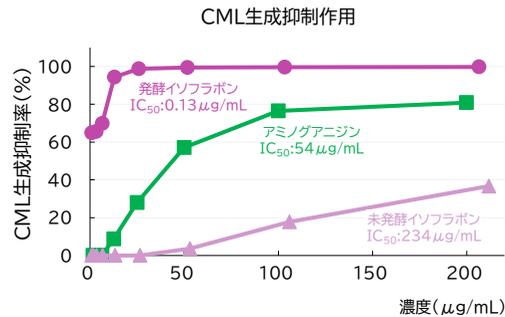
IC₅₀(50%阻害濃度)で比較すると、ダイジンとダイゼインで約10分の1、ダイゼインと8OH-ダイゼインで約5分の1の濃度となった。また、CML生成についても、イソフラボン類の阻害活性についても検討した。配糖体であるダイジン、ゲニスチンよりもアグリコンであるダイゼイン、ゲニステインが、さらに8OH-ダイゼインや8OH-ゲニステイン等の水酸化誘導体のほうがCML生成の阻害が非常に高くなっていることが確認できた。これらの結果から、8-ヒドロキシイソフラボン類は、アグリコンや配糖体と比較して強い抗糖化活性があることが確認できた。



(3) AGEs生成抑制作用 ~CML、ペントシジン、3DG生成抑制~

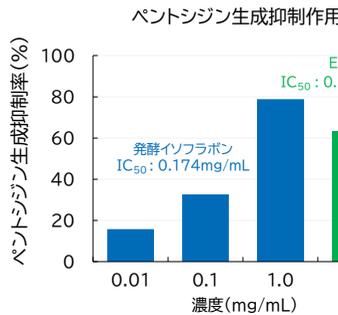
カルボキシメチルリジン(CML)生成抑制

CMLは皮膚蓄積性AGEsの代表で、生体中で形成されるAGEsの中で最も多く存在することが報告されている。CML化したコラーゲンは線維芽細胞のアポトーシス(細胞死)を誘導する。発酵イソフラボンは、CML生成を強く阻害することが確認されており、さらにその効果は未発酵イソフラボンやアミノグアニジンよりも高いことが確認された。



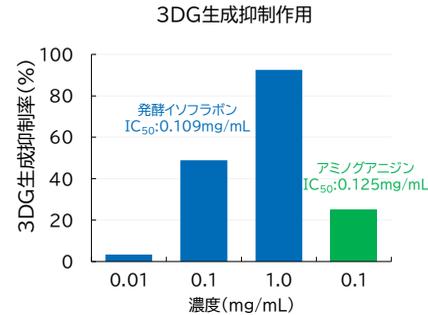
ペントシジン生成抑制

ペントシジンは、タンパク質の架橋形成に関する物質であることが知られている。皮膚コラーゲンでは加齢に伴うペントシジン蓄積の進行が確認されており、その組織中のペントシジン量と老化との関連が示唆されている。発酵イソフラボンは、カテキン(EGCg)よりも強いペントシジン生成抑制作用のあることが確認された。



3-デオキシグルコソン(3DG)生成抑制

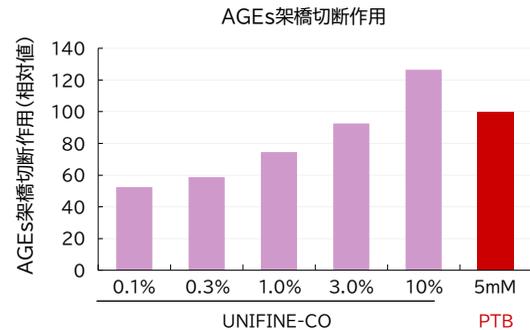
3DGは糖化反応中間体(中間生成物)とよばれている糖化反応経路におけるAGEsの前駆物質の一つである。反応性が高いため、様々な物質と速やかに反応する特性を持っており、組織や器官の糖化反応を急速に進行させるため、その生成や蓄積を防ぐことがアンチエイジングに繋がると考えられている。発酵イソフラボンは、糖化反応阻害剤であるアミノグアニジンよりも強い3DG生成抑制作用のあることが確認された。



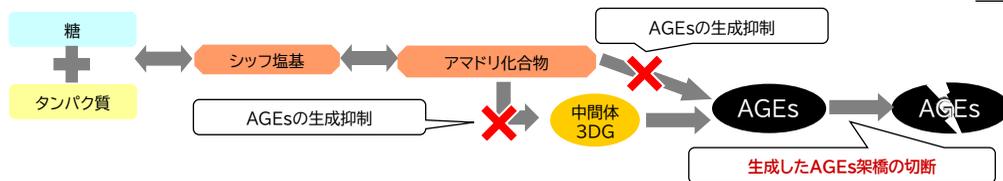
(4) AGEs架橋切断作用

AGEs生成過程の中間体としてジカルボニル化合物がある。ジカルボニル化合物はグルコースに比べ非常に高い反応性を持っており、AGEs形成に大きく寄与しているため重要な成分である。糖尿病患者の血漿中では、これらのジカルボニル化合物が増加しており、合併症発症に大きく関与していると考えられている。またAGEs生成により形成されるタンパク質間の架橋構造の1つがジカルボニル構造であることが明らかとなっている。そのため、ジカルボニル化合物の炭素-炭素間の結合を解離し、AGEsの蓄積及びタンパク質間の架橋形成を阻害する物質を開発することは、糖尿病や合併症の予防や治療に有用であるだけでなく、老化の防止においても重要と考えられる。

発酵イソフラボンは、ジカルボニル化合物の切断作用を示し、AGEsの生成抑制だけでなく、生成したAGEsを分解する作用も併せ持つことが確認された。



*PTB(N-フェナシルチアゾリウムプロミド) AGEs分解剤として、架橋切断作用が認められている



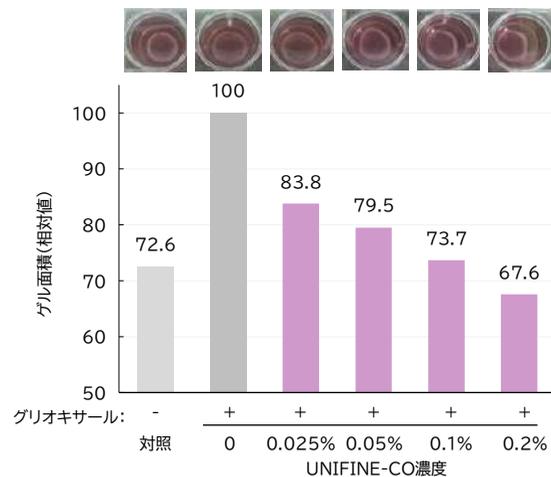
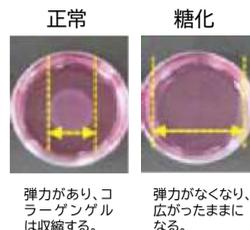
(5) コラーゲンの糖化抑制によるタルミ防止・ハリ改善効果

<試験方法>

I型コラーゲン線維中で線維芽細胞を培養すると、弾力のある真皮類似構造のコラーゲンゲルを構築し収縮する。しかしコラーゲンが糖化するとこの収縮活性は抑制され、広がったままとなる。本試験では、コラーゲンの糖化反応を促進する物質であるグリオキサール(GO)の共存化でコラーゲンゲル収縮活性を指標として糖化抑制によるタルミ防止・ハリ改善効果を確認した。

<結果>

GOのみの添加では、コラーゲンの糖化によりコラーゲンゲル収縮活性が低下した。一方、発酵イソフラボンを添加することにより、収縮低下が抑えられ、コラーゲンゲルは収縮した。これらのことから、発酵イソフラボンは、コラーゲンの収縮力を保ち、肌のたるみ防止・ハリ改善効果があることが示された。



試験データ

UNIFINE®-CO

(6) ヒト角層におけるAGEs生成阻害作用

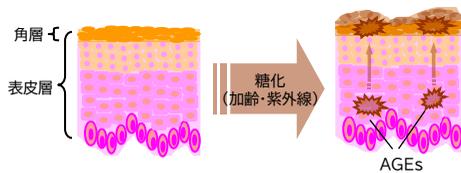
テープストリッピング法により採取したヒト角層とグリオキサールを反応させて生成されるAGEsを免疫染色し、糖化度を評価した。その結果、発酵イソフラボンは、グリオキサールにより誘導されるAGEs生成を抑制することが確認された。

一方で、「第27回 IFSCC Congress」2009(国際化粧品技術者会連盟)において、表皮AGEsについて以下のような内容が報告されている。

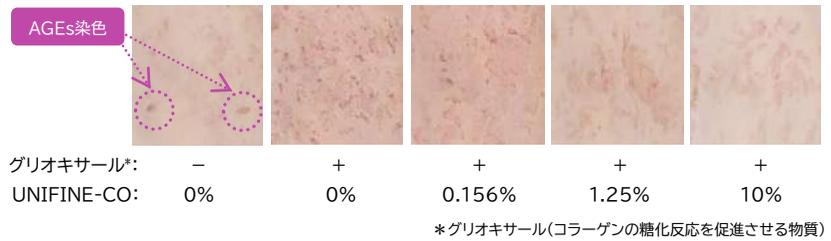
- (1) 表皮中のケラチンがAGE化される。
- (2) AGEsが多いと、角層が厚く、水分量が少ない傾向にある。
- (3) 表皮細胞で形成されたAGEsは、角化とともに角層まで持ち込まれる。
- (4) 皮膚の透明感を低下させる。

この報告と今回の結果から、発酵イソフラボンは、角層中ケラチンの糖化を抑制し、肌の水分を保ち、皮膚の透明感とやわらかさを保つ効果が期待できる。

表皮におけるAGEs形成と角層への持込み



ヒト角層におけるAGEs生成抑制作用

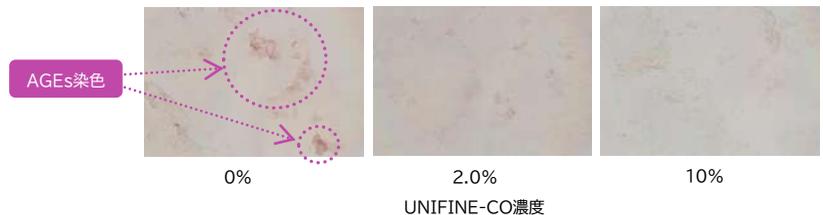


参考: Kawabata K: Aging materials with rapid turnover are produced in the epiderm; skin distribution of advanced glycation end product (AGE). Proceedings of the 136th FJ Seminar pp13-17,2009 (in Japanese)

(7) ヒト角層におけるAGEs分解作用

テープストリッピング法により採取したヒト角層を免疫染色し、発酵イソフラボンのAGEsの分解作用について検討した。その結果、図に示された濃度で処理することにより、濃度依存的に染色強度が減少し、角質細胞中のAGEsが除去されることが確認できた。

ヒト角層におけるAGEs分解作用



(8) 糖化による肌の褐変化抑制作用

角層や表皮の主要タンパク質であるケラチンが糖化により褐変すると肌の透明感が低下すると考えられている。一方、ジヒドロキシアセトン(DHA)は、タンニング剤として肌の色を褐色に着色するが、この着色は角層中のタンパク質との糖化反応によるものとされている。このDHAの糖化による肌の褐変化を指標に、UNIFINE-COの角層での糖化抑制作用を評価した。その結果、対照と比較して、UNIFINE-COを塗布した場合にはDHAによる褐変が抑制されたことから、UNIFINE-COは糖化(=老化)による肌の透明感の低下を防止する効果が期待される。

<試験方法>

- ・対照液(80%BG)または試験液(UNIFINE-CO:100%)を
含浸させた不織布を前腕内側部に20分間貼付
- ・3%-DHA水溶液を3時間閉塞貼付し、皮膚を着色
- ・剥離24時間後、被験部位を観察
(被験者: 50代男性)



試験データ

UNIFINE®-CO

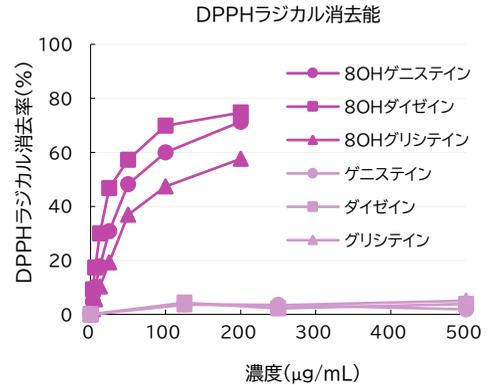
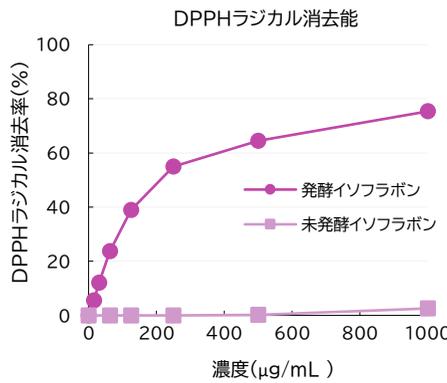
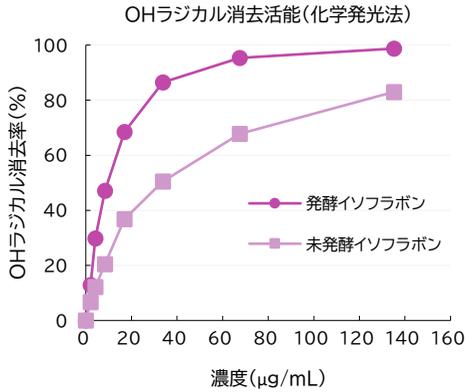
(9)抗酸化作用 ~ OHラジカル消去能、DPPHラジカル消去能及び脂質過酸化抑制作用~

OHラジカル消去能

フェントン反応により発生するOHラジカルの消去能を化学発光法により測定した。DPPHラジカル消去能と同様に発酵イソフラボン未発酵イソフラボンよりも高い抗酸化能が確認された。

DPPH消去能

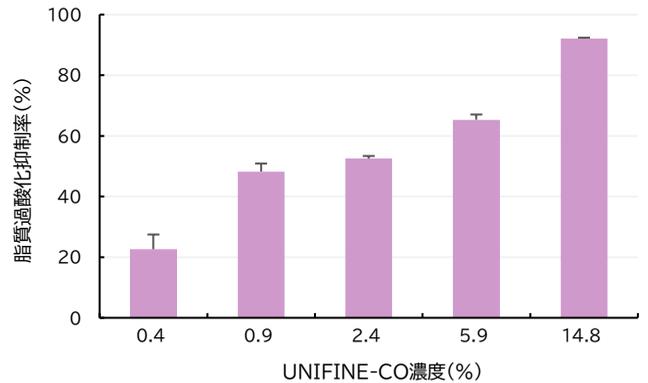
発酵イソフラボンは未発酵イソフラボンよりも有意に高い抗酸化能が確認された。また、抗酸化作用を示す有効成分として、8-ヒドロキシイソフラボン類が大きく寄与していることを確認した。



脂質過酸化抑制作用

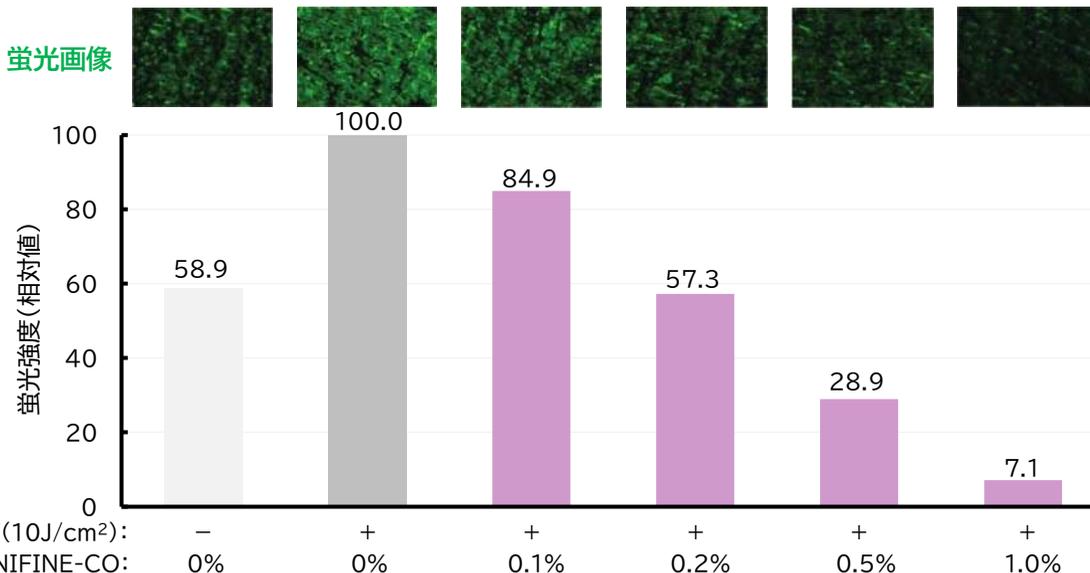
脂質過酸化の評価には、脂質の酸化により生成する過酸化脂質量を測定するロダン鉄法を用いた。その結果、UNIFINE-COの添加濃度が高いほど脂質過酸化の抑制率も上昇するという濃度依存的な抑制効果が確認された。このことから、UNIFINE-COには明確な脂質過酸化抑制作用が認められた。皮膚において脂質酸化を抑えることは、酸化脂質が原因となる黒ずみ毛穴や、角層タンパク質のカルボニル化(酸化劣化)を防ぐことにつながるため、UNIFINE-COはこれらのトラブル軽減に寄与する可能性が示唆される。

脂質過酸化抑制率(ロダン鉄法)



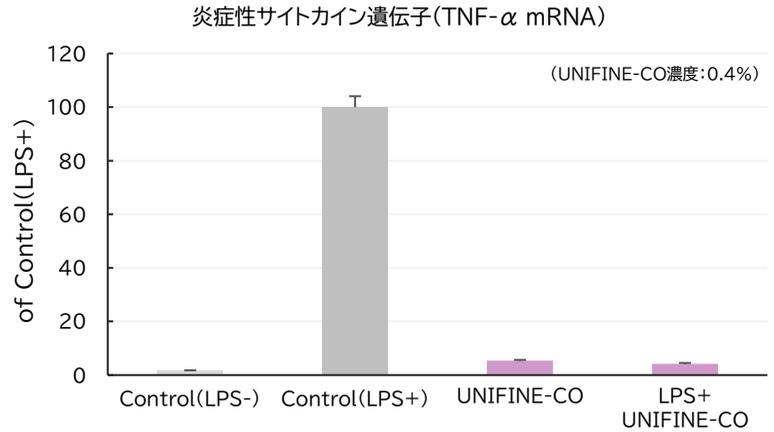
(10)カルボニルタンパク質生成阻害作用

テープストリッピング法により採取した角層にUVを照射するとカルボニルタンパク質の生成が促進される。本試験では、UNIFINE-CO存在下においてUV照射により生成するカルボニルタンパク質を5-FTSCと反応させて蛍光染色した後、蛍光画像解析によりカルボニルタンパク質の生成抑制作用を評価した。その結果、UV照射(10J/cm²)により、角層中のカルボニルタンパク質は増加することが確認されたが、UNIFINE-COを添加することにより、カルボニルタンパク質の生成が抑えられることが確認された。皮膚タンパク質のカルボニル化は「黄ぐすみ」の原因とされている。UNIFINE-COはカルボニルタンパク質の生成を抑制することにより、「黄ぐすみ」を抑え、肌の透明感を保つ効果のあることが示された。



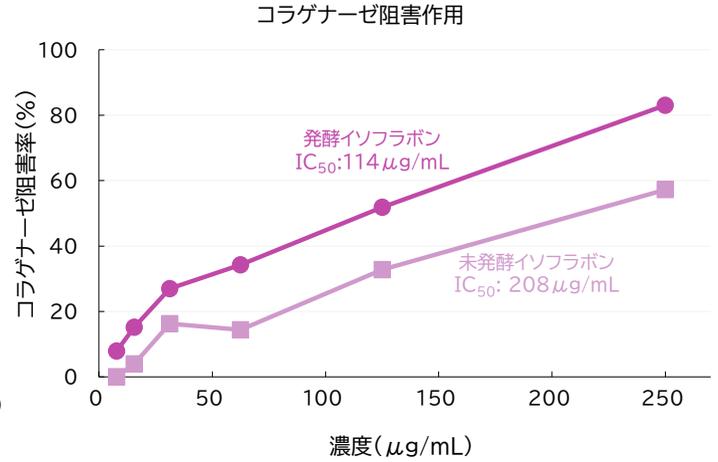
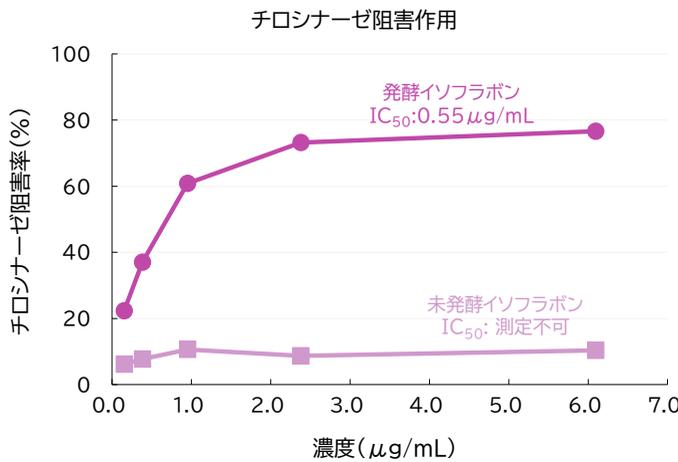
(11) ニキビ(痤瘡)に対する予防作用～皮脂腺細胞における抗炎症作用～

ニキビは、皮脂腺や毛包が炎症を起こしている状態である。そこで皮脂腺細胞における発酵イソフラボンの抗炎症作用について評価した。ヒト皮脂腺細胞(SZ95)を用いて大腸菌LPSの刺激により誘発する炎症性サイトカイン TNF- α の遺伝子発現の抑制効果として評価を実施した。TNF- α は炎症の主な原因物質である。評価の結果、皮脂腺細胞において、発酵イソフラボンが炎症性サイトカインTNF- α の発現を抑制することが確認された。このことから、発酵イソフラボンは、ニキビの予防および改善効果が期待される。



(12) その他美容効果～チロシナーゼ阻害作用・コラゲナーゼ阻害作用～

発酵イソフラボンと未発酵イソフラボンについて、チロシナーゼ阻害作用およびコラゲナーゼ阻害作用を評価した。発酵イソフラボンは、未発酵イソフラボンに比べて高いチロシナーゼ阻害作用およびコラゲナーゼ阻害作用が確認された。このことから、発酵イソフラボンは、未発酵イソフラボンに比べて、より高い美白効果およびコラーゲン分解抑制による抗シワ効果が期待できる。



安全性試験データ

安全性試験	結果
皮膚刺激性試験(代替法 OECD TG439)	無刺激性
眼刺激性試験(代替法 OECD TG492)	無刺激性
光毒性試験(代替法 OECD TG432)	陰性
ヒトパッチテスト(24時間閉塞 20名)	安全品
ヒト皮膚感作性試験 (RIPT 50名)	一次刺激性、累積刺激性および感作性は無し

(濃度: UNIFINE-COとして)

【参考】試験データ濃度換算

試験データに記載の「発酵イソフラボン」は「UNIFINE-CO」として以下の換算となる。

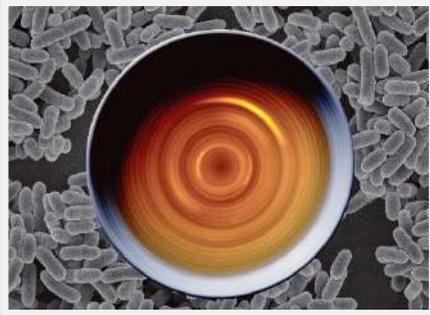
換算例) 発酵イソフラボン: 1 μg = UNIFINE-CO: 100 μg
 発酵イソフラボン: 1 mg = UNIFINE-CO: 100 mg
 発酵イソフラボン: 0.01% = UNIFINE-CO: 1%

免疫賦活、抗シワ、ハリ改善、バリア機能改善、水分保持機能改善、エクソソーム産生促進、新陳代謝機能改善素材

IMMUNOL[®]-CO

イムノール・シーオー

果実(柿)から単離した酢酸菌を植物由来原料を用いて発酵した素材で、免疫賦活作用、抗シワ・ハリ改善、バリア機能・水分保持機能、新陳代謝機能改善などの美容効果があります。



IMMUNOL[®]-COの特徴

免疫バランス ~自然免疫力を活性化~

- 有効成分のひとつであるリポ多糖(リポポリサッカライド:LPS)は、酢酸菌をはじめとするグラム陰性菌の細胞壁構成成分であり、体内の免疫バランスを正常化し、自然治癒力や皮膚の新陳代謝を促進させる効果が期待できます。

真皮と表皮にはたらきかける ~美容効果~

- 真皮(線維芽細胞)への作用
『抗シワ・ハリ改善』
免疫活性化により細胞増殖、ヒアルロン酸産生を促進させます。
- 表皮(角化細胞)への作用
『バリア機能・水分保持機能、新陳代謝機能改善』
セラミド、インボルクリンおよびフィラグリン産生を促進させます。細胞増殖促進作用があり、新陳代謝機能を改善させます。

脂肪由来間葉系幹細胞に働きかける ~美容効果~

- 脂肪由来間葉系幹細胞への作用
『抗シワ・たるみ改善』
幹細胞増殖及び幹細胞からのエクソソーム産生を促進させます。
この作用によって、皮膚細胞への細胞修復効果やバリア機能、抗シワ・たるみ改善効果がより一層高くなることが期待されます。

製品名		IMMUNOL [®] -CO
化粧品	表示名称	INCI名
	グルコノバクター培養液	Gluconobacter Ferment Filtrate
	BG	Butylene Glycol

規格項目	規格	試験法
性状	わずかに臭気を有する薄黄色~黄色の液体	官能検査法
異物	異物が確認されないこと	目視検査法
糖脂質	4.0μg/mL以上	Limulus法
pH	6.0~8.0	外原規一般試験法
蒸発残分	0.3%以上	常圧加熱乾燥法
純度試験(1)重金属	20ppm以下	外原規一般試験法
純度試験(2)ヒ素	2.0ppm以下	外原規一般試験法
一般生菌数	100cfu/mL以下	SCDLP寒天培養法
大腸菌群	陰性	AOAC法(ペトリフィルム法)
カビ・酵母	10cfu/mL以下	AOAC法(ペトリフィルム法)

イントロダクション

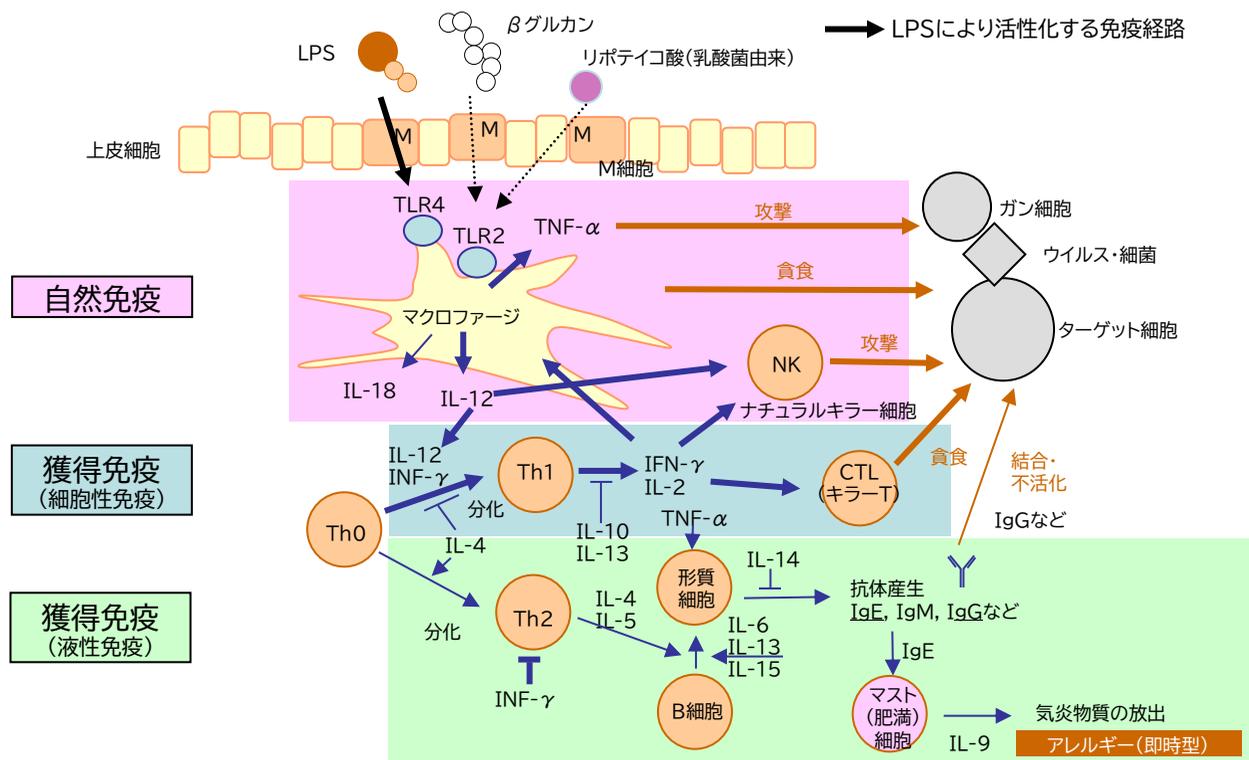
IMMUNOL®-CO

LPSによる免疫活性化のメカニズム

IMMUNOL-COに含まれるリポ多糖(LPS)は、マクロファージ等の細胞表面にあるToll様受容体(TLR; Toll-Like Receptor)4を含む複合体によって認識されます。その後、様々なシグナル伝達を経て活性化した転写因子であるNF-κBやIRFが核内へと移行し、TNF-αやインターロイキン(IL)など免疫系において重要な役割を持つサイトカイン遺伝子の発現を誘導します。

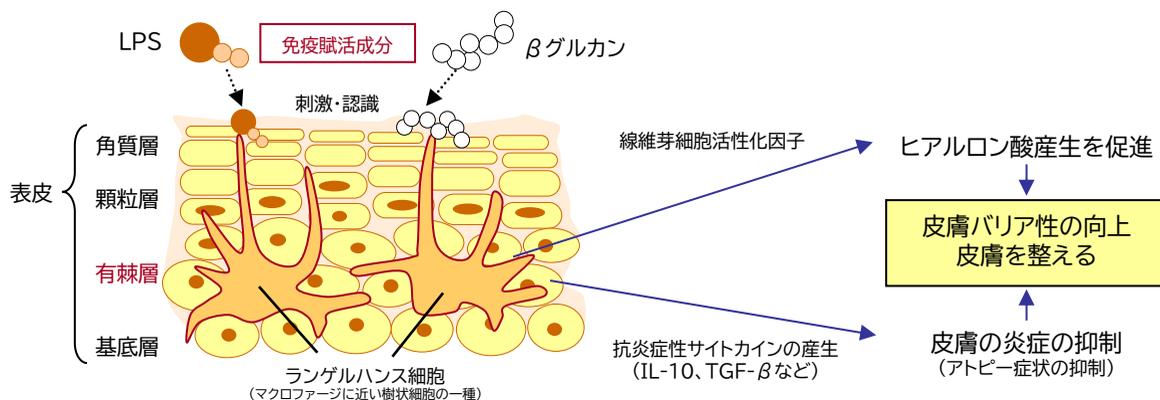
一方、免疫賦活成分として有名なβグルカンやペプチドグリカン、乳酸菌などはTLR2を介して同様の伝達が行われます。

マクロファージの活性化の指標となるNO産生能は、βグルカンなどと比較して1000~10000倍の活性があることが分かっており、LPSは免疫活性化を効率よく誘導します。また、LPSによる免疫活性化は、自然免疫とTh1を中心とする細胞性免疫であり、Th2への分化は抑えられるため、アレルギーを結果的に起こりにくくすると考えられます。



LPSによる美肌効果

肌に存在するランゲルハンス細胞は、マクロファージに近い樹状細胞の一種で、皮膚の外部からの外敵に反応してサイトカイン等を産生する免疫細胞の一種です。ランゲルハンス細胞の産生するサイトカインには、抗炎症サイトカインIL-10、TGF-βがあり、過剰な免疫反応を抑え、皮膚の炎症を抑える働きとなります。一方で、線維芽細胞を刺激し、ヒアルロン酸の産生を促進する因子を産生することで、皮膚の水分を保ったり、バリア性を保ったりする働きをすることが知られています。LPS、βグルカンなどの免疫賦活成分は、同様にランゲルハンス細胞を刺激しサイトカインを産生することで炎症を抑え、皮膚を正常に保つ効果があると考えられます。



試験データ

IMMUNOL®-CO

(1)自然免疫活性化能(マクロファージ活性化能)の評価試験 ※

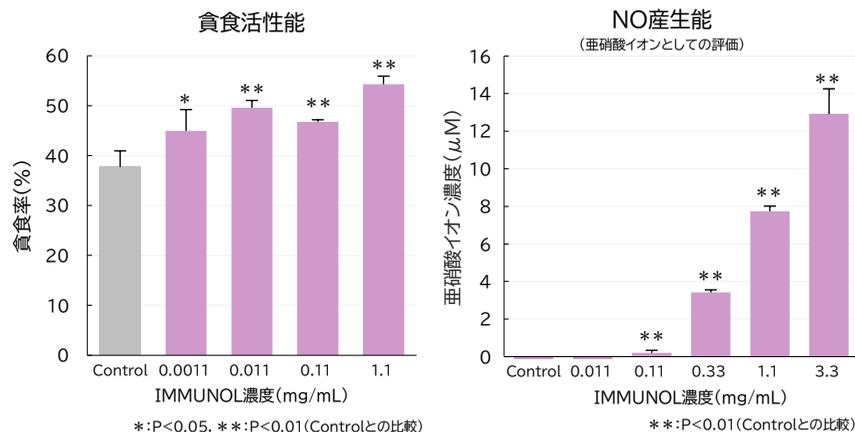
<試験方法>

任意の濃度に調製したマクロファージ細胞株(J774.1, RAW264.7)の培養液中に、グラフに示した濃度となるようにIMMUNOLを加えインキュベートした。
 貪食活性は、PE標識ポリラテックスビーズを添加後、細胞を回収し、フローサイトメーターにより貪食の評価を行った。
 またNO産生能は、細胞上清にグリース試薬を加え室温でインキュベートした後、OD 550nm/668nmを測定し、亜硝酸イオン濃度として算出することで評価した。

<結果>

IMMUNOLの投与において、濃度依存的に貪食活性能及びNO産生能の増加が確認された。

※IMMUNOLは食品用原料です。



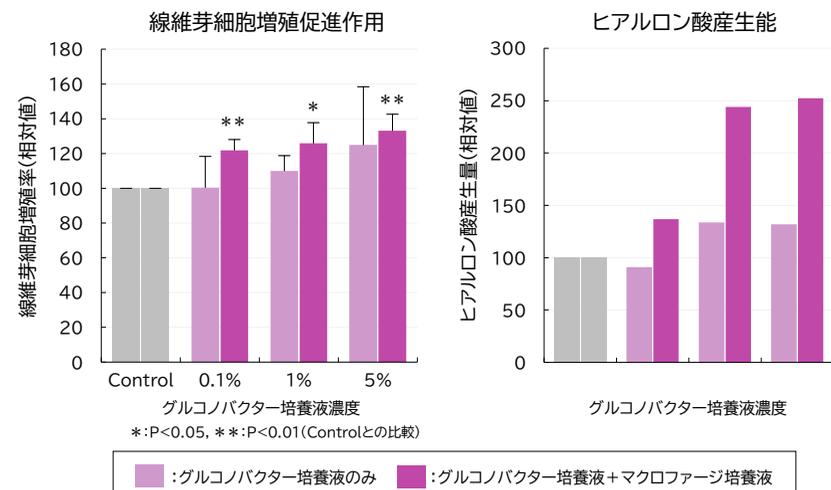
(2)自然免疫活性化(マクロファージ活性化)による美容作用

<試験方法>

グルコノバクter培養液を免疫細胞マクロファージに加え、24時間培養した後、その培養液を線維芽細胞に加えて培養し、線維芽細胞の増殖率およびヒアルロン酸産生量を測定した。比較としてマクロファージに対する刺激をせずグルコノバクter培養液のみを加えた場合も測定した。

<結果>

マクロファージに対する刺激を行わずにグルコノバクter培養液のみを加えた場合でも、線維芽細胞増殖促進作用およびヒアルロン酸産生促進作用が確認され、これらの作用は免疫細胞マクロファージの活性化によりさらに向上することが確認された。
 これらの結果から、グルコノバクter培養液は免疫活性化により肌のターンオーバーを促進させることでの美容効果が期待される。



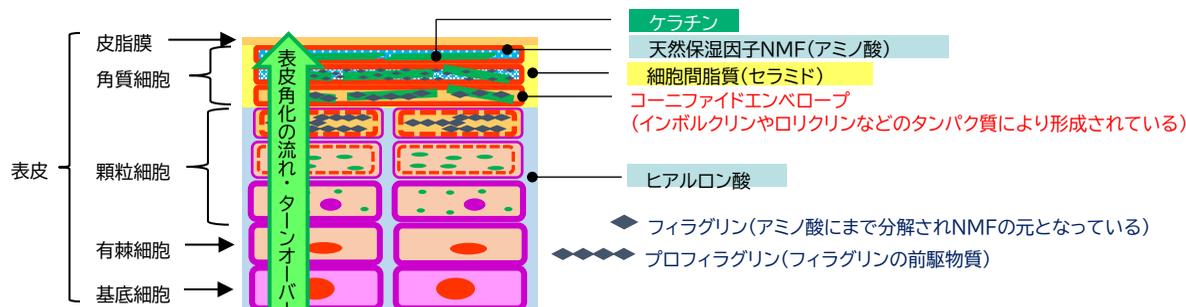
(3)表皮(角化細胞)への作用 ~バリア機能・水分保持機能・新陳代謝機能改善効果~

皮膚のバリア機能は、表皮角層の内側の水分の蒸散を防ぎ、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ます。表皮はさらに角層、顆粒層、有棘層、基底層を成す各細胞から構成されています。

皮膚表皮の細胞は基底細胞から有棘細胞、顆粒細胞と生長を続け、顆粒細胞の段階でセラミドやアミノ酸などの保湿成分の材料を顆粒に蓄えます。同時に細胞膜の内側ではコーニファイドエンベロープ(Cornified Envelope:CE)が硬く丈夫な膜をつくりはじめます。さらに細胞は生長して顆粒の中身を細胞外に放出し、外側の細胞膜と細胞の中の核が消失します。次にCEが外膜となった角質細胞が完成し、その外側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つくります。一方、細胞の内側ではケラチン線維が発達して細胞の強度を増し、外部からの圧力や刺激に対抗するとともに、内部に蓄えたアミノ酸などの天然保湿因子(Natural Moisturizing Factor:NMF)が水分を抱きかかえて角質層のうるおいを保ちます。

また、基底層で分裂した表皮角化細胞は、分化・成熟を経て上層に移行し、角層まで達した後、脱落し、ターンオーバーを繰り返し表皮を形成します。この表皮角化細胞の新陳代謝機能が衰えると、小じわ、くすみ、色素沈着、肌荒れなどの皮膚の老化症状を示します。従って、表皮角化細胞の増殖を促進し、皮膚の新陳代謝機能を回復させることが、小じわ、くすみ、色素沈着、肌荒れなどの皮膚の老化症状を予防・改善に繋がると考えられています。

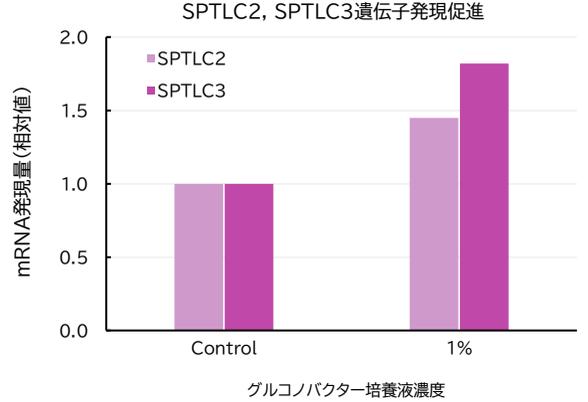
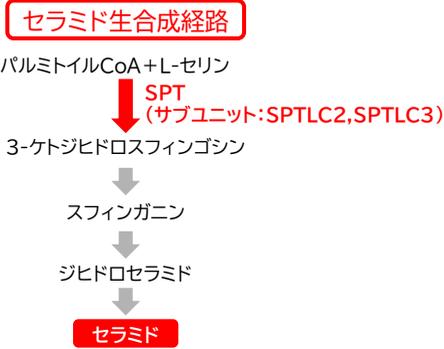
IMMUNOL-COは、セラミド、インボルグリン(CEの構成成分)、フィラグリン(NMFの元となるタンパク質)の産生を促進し、さらに表皮角化細胞の増殖を促進することによって、皮膚のバリア機能、水分保持機能および新陳代謝機能を高めることで老化から肌を守ることが期待されます。



(3)表皮(角化細胞)への作用 ~バリア機能・水分保持機能・新陳代謝機能改善効果~

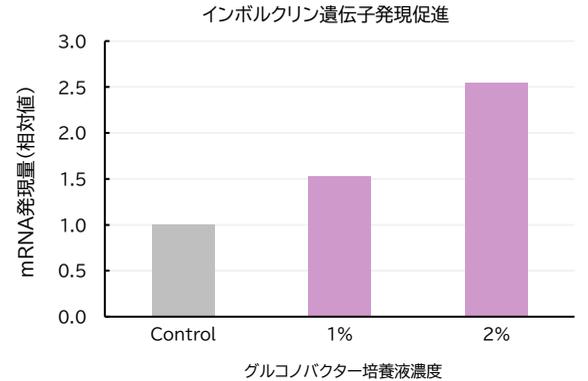
1. セラミド産生促進作用

セラミドは角層細胞間脂質成分としてラメラ構造を形成する。正常ヒト表皮角化細胞を用いてセラミド生合成の関連酵素であるセリンパルミトイルトランスフェラーゼ(SPT)遺伝子の発現評価試験を実施した結果、グルコノバクター培養液は、SPTmRNAの発現を促進することが認められた。このことからグルコノバクター培養液は、表皮角化細胞のセラミド産生能を促進し、セラミド量を増加させることにより角層細胞間のラメラ構造を補強して肌のバリア機能や水分保持力を向上させる効果が期待される。



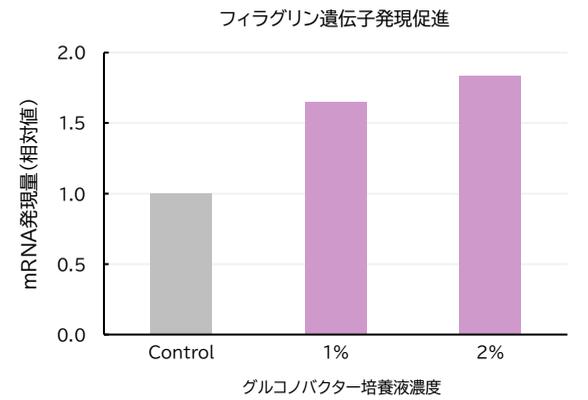
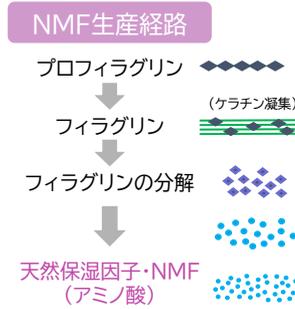
2. インボルクリン産生促進作用

インボルクリンは、肌のバリア機能を担う角層細胞の外壁であるコーニファイドエンバロープ(CE)を形成するタンパク質である。CEを土台にしてセラミドを含む細胞間脂質はラメラ構造を形成し、肌のバリア機能を担っている。正常ヒト表皮角化細胞を用いてインボルクリン遺伝子の発現評価試験を実施した結果、グルコノバクター培養液はインボルクリンmRNAの発現を促進することが認められた。このことからグルコノバクター培養液は、表皮角化細胞のインボルクリン産生能を促進し、インボルクリン量を増加させることにより、肌のバリア機能を向上させる効果が期待される。



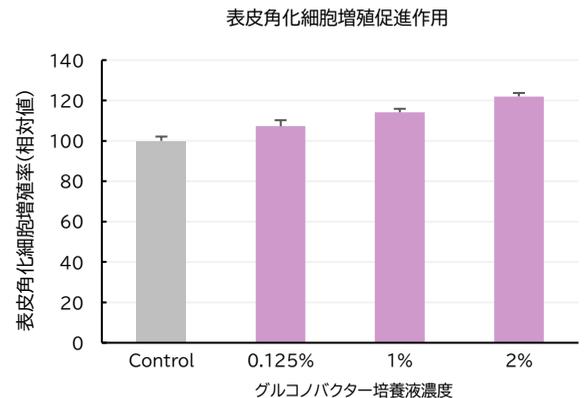
3. フィラグリン産生促進作用

フィラグリンは顆粒細胞にてその前駆体のプロフィラグリンとして合成される。その後、表皮細胞の分化に伴いフィラグリンに分解され、遊離されたフィラグリンは角質細胞内でケラチン線維を凝集させた後、さらに角質層上層で天然保湿因子(NMF)であるアミノ酸に分解される。正常ヒト表皮角化細胞を用いたフィラグリン遺伝子発現評価試験の結果、グルコノバクター培養液はフィラグリンmRNAの発現を促進することが認められた。このことから、グルコノバクター培養液はNMF(アミノ酸)の元であるフィラグリン産生能を促進し、肌の代謝と共に角質層水分の保持機能を向上させる効果が期待される。



4. 表皮角化細胞増殖促進作用

皮膚の外側に存在する表皮は、基底層、有棘層、顆粒層、角層からなり、基底層で分裂した表皮角化細胞は、分化・成熟を経て上層に移行し、角層まで達した後、脱落し、ターンオーバーを繰り返し表皮を形成している。この表皮角化細胞の新陳代謝機能が衰えると、小じわ、くすみ、色素沈着、肌荒れなどの皮膚症状を呈する。正常ヒト表皮角化細胞を用いた細胞増殖試験の結果、グルコノバクター培養液には細胞増殖促進作用があり、濃度依存的に高くなることが認められた。このことからグルコノバクター培養液は、皮膚の新陳代謝機能を回復させることにより、小じわ、くすみ、色素沈着、肌荒れなどの皮膚の老化症状を予防・改善することが期待される。

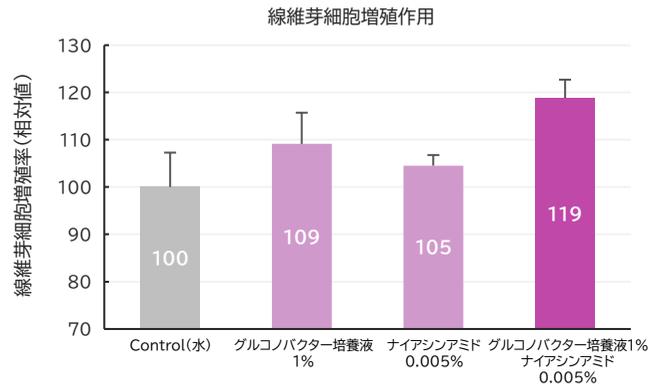


試験データ

IMMUNOL®-CO

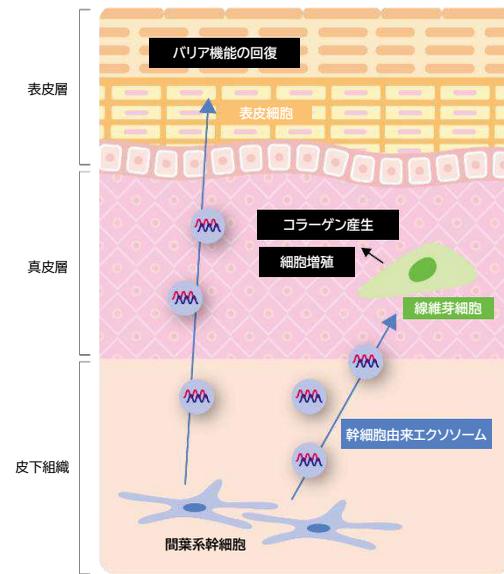
(4)線維芽細胞増殖作用 ~ナイアシンアミドとの併用によるシナジー効果~

グルコノバクター培養液は肌に存在するランゲルハンス細胞への刺激を介した線維芽細胞増殖作用の他に、単独添加による細胞増殖作用も確認されている。そこで本試験では、同じシワ改善の成分であり、医薬部外品の有効成分としても承認されているナイアシンアミドとの併用による線維芽細胞増殖能に関する評価を行った。その結果、グルコノバクター培養液およびナイアシンアミドの単独添加時における細胞増殖率がControl比9%増、5%増であるのに対して、併用した場合の増殖率が19%増となった。つまり、それぞれの単独添加時増殖率の加算値(14%)よりも併用時増殖率(19%)の方が約1.4倍高くなったことから、グルコノバクター培養液とナイアシンアミドを併用することによって、線維芽細胞の増殖能が相乗的に向上することが期待できる。



(5)脂肪由来間葉系幹細胞への作用 ~幹細胞増殖・エクソソーム産生促進作用~

エクソソームとは様々な細胞が分泌する遺伝子情報(mRNA、miRNAなど)が含まれている直径100nmほどの小胞である。エクソソームは隣り合った細胞だけではなく、遠い細胞にも情報を届け、細胞間の情報伝達に重要な役割を担っている。皮下組織に存在する脂肪幹細胞は自己複製能及び多分化能を持つ間葉系幹細胞の一種である。脂肪由来間葉系幹細胞から分泌されるエクソソームが皮膚に存在する細胞に取り込まれると、その細胞の機能を制御する。表皮細胞においてはバリア機能の回復、また真皮線維芽細胞においては細胞の増殖およびコラーゲンの産生を促進するといった様々な機能を発揮する。さらに、脂肪由来間葉系幹細胞から分泌されるエクソソームが細胞の老化抑制作用も有することが報告されている。従って、脂肪由来間葉系幹細胞を活性化させることによって、エクソソームが多く分泌され、エクソソームを介する抗シワやたるみ改善及び老化抑制といった若返りのアンチエイジング効果を期待することができる。

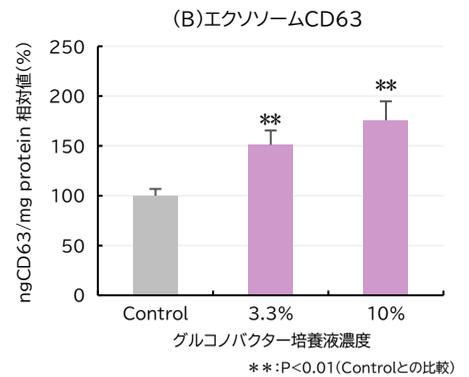
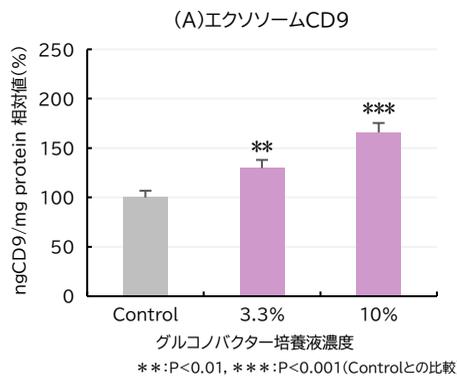
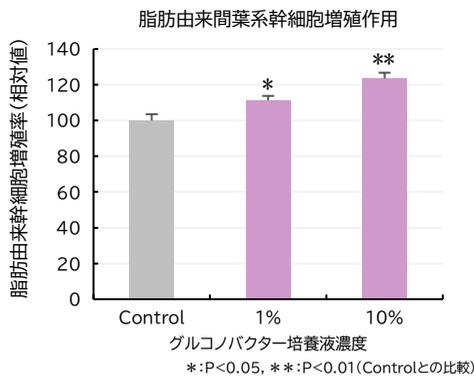


1. 脂肪由来間葉系幹細胞の増殖能

脂肪由来間葉系幹細胞を用いた細胞増殖試験の結果、グルコノバクター培養液は濃度依存的に細胞増殖を促進させることが示された。

2. エクソソームの産生促進作用

脂肪由来間葉系幹細胞をグルコノバクター培養液添加培地で培養した後、その培養上清を回収した。培養上清中のエクソソーム特異的マーカーであるCD9及びCD63を用いて評価した。その結果、グルコノバクター培養液は濃度依存的にエクソソーム産生を促進させることが確認された(A, B)。



安全性試験	結果
皮膚刺激性試験(代替法 OECD TG439)	無刺激性
眼刺激性試験(代替法 OECD TG492)	無刺激性
光毒性試験(代替法 OECD TG432)	陰性
ヒトパッチテスト(24時間閉塞 20名)	安全品
ヒト皮膚感作性試験 (RIPT 50名)	一次刺激性、累積刺激性および感作性は無し

総合美容化粧品用素材

ローズクリスタ(バラ花びら抽出物)シリーズ

ROSE CRYSTA®-CO

ローズクリスタ・シーオー

ROSE CRYSTA®-CO(バラエキス)は、
バラ花びらを熱水抽出・精製した総合美容
のための機能性化粧品素材です。



ROSE CRYSTA®-COの特徴

- バラ花びらから抽出・調製したエキスです。
- チロシナーゼ活性を阻害することでメラニンの生成を抑制することから、美白作用が期待されます。
- 日焼け防止効果を確認しました。
- ヒアルロン酸を分解する酵素「ヒアルロニダーゼ」阻害作用により、お肌のしわを予防しはりのある肌を保ち、日焼け等による肌の炎症を抑制することが期待されます。
- 黄色ブドウ球菌やニキビの原因となるアクネ菌に対する抗菌効果を確認しました。
- 抗酸化能(DPPHラジカル消去能)が確認されました。
- 医薬部外品原料規格2021「バラエキス」に適合しています。

製品名		ROSE CRYSTA®-CO			
化粧品	表示名称	INCI名		組成%	
	センチフォリアバラ花エキス*	Ro Centifolia Flower Extract		1.5	
	水	Water		49.5	
	BG	Butylene Glycol		49	
医薬部外品	部外品表示名称	組成%	成分コード	規格コード	成分名(組成)
	バラエキス	1.5	520882	51	バラエキス(51%)
	精製水	49.5			
	1,3-ブチレングリコール	49	100040	51	1,3-ブチレングリコール(49%)

*)中国名称:洋薔薇(RO CENTIFOLIA)花提取物

規格項目	規格	試験法
性状	褐色～濃褐色の液で、 においは無いか又はわずかに 特異なにおいがある	官能検査法
確認試験(1)	液は紅色を呈する	外原規「バラエキス」による
確認試験(2)	液は緑青色～濃緑褐色を 呈する	外原規「バラエキス」による
蒸発残分	1.0%～2.0%	常圧加熱乾燥法
純度試験(1)重金属	20ppm以下	外原規一般試験法
純度試験(2)ヒ素	2ppm以下	外原規一般試験法
一般生菌数	300cfu/mL以下	SCDLP寒天培養法
大腸菌群	陰性	AOAC法(ペトリフィルム法)

試験データ

ROSE CRYSTA®-CO

(1)美白効果(チロシナーゼ阻害作用, β アルブチンとの併用によるシナジー効果)

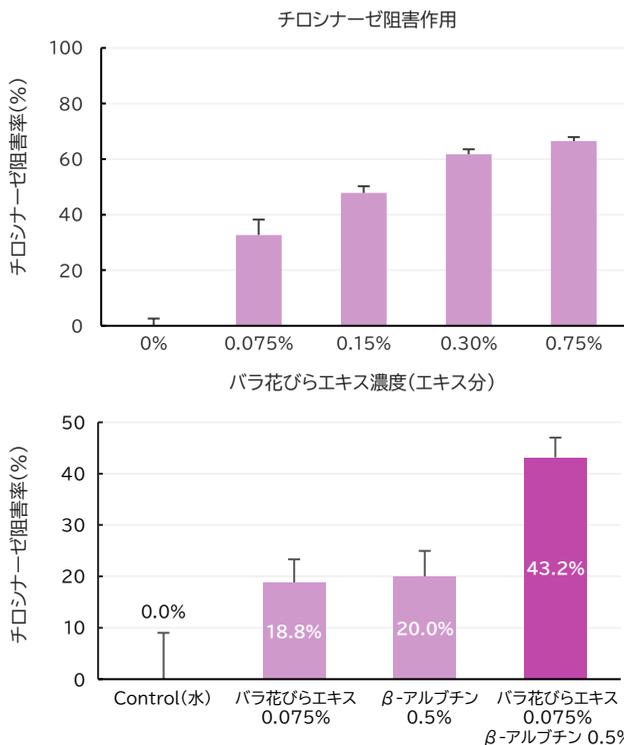
チロシナーゼは、L-チロシンからL-ドーパ、さらにはL-ドーパからドーパキノンへの2段階の反応を触媒するメラニン合成経路における律速酵素である。つまり、チロシナーゼがアミノ酸の一種かつ出発物質であるチロシンに働きかけることでメラニンの合成がはじまる。メラニンの過剰生産はシミやそばかす等色素の沈着の原因となる。チロシナーゼの活性を抑制することで新たに作られるメラニン色素を減少させ、美白への効果が期待される。

バラ花びらエキスの美白効果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パクロムの赤色を475nmにて吸光度を測定した。その結果、バラ花びらエキス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、バラ花びらエキスはシミ予防効果が期待される。

また、医薬部外品の美白有効成分としても承認されている β -アルブチンとの併用によるチロシナーゼ阻害作用についても評価した。

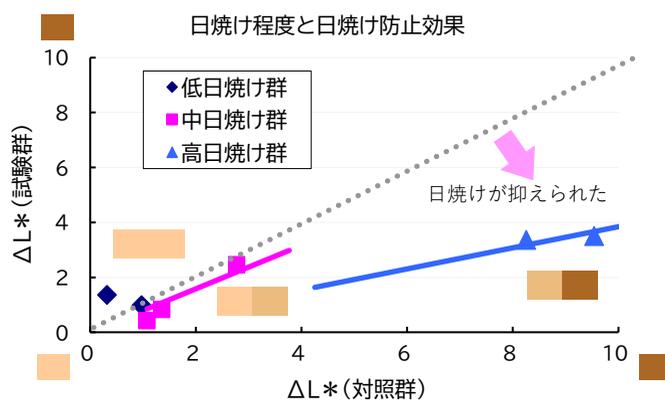
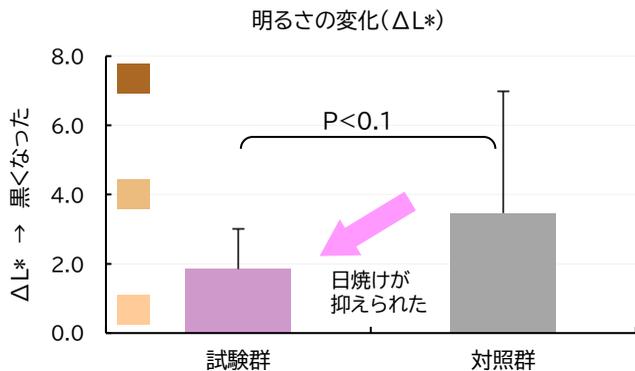
その結果、バラ花びらエキスおよび β -アルブチンの単独添加時におけるチロシナーゼ阻害率は18.8%、20.0%であるのに対して、併用した場合の阻害率が43.2%となった。つまり、それぞれの単独添加時阻害率の加算値(38.8%)よりも併用時阻害率(43.2%)の方が約1.1倍高くなったことから、バラ花びらエキスと β -アルブチンを併用することによってチロシナーゼ阻害作用が相乗的に向上した。

ROSE CRYSTA-COエキス分:1.5%



(2)肌の日焼け止め効果

男性1名女性6名に、ROSE CRYSTA-COを50%含む化粧水(試験群)と含まない化粧水(対照群)を前腕部または手の甲に塗布し、UVインデックスが「強い」地域で2日間過ごし、ROSE CRYSTA-COの効果を確認した。塗布は、朝夜2回/日とした。色差計を用いて測定した結果、対照群では、明るさ(ΔL^*)がおおよそ3.5変化した(黒くなった)が、試験群では1.85程度の変化に抑えられた。この結果、ROSE CRYSTA-COは、紫外線を防止して肌の日焼を防ぐ効果があることが確認された。さらに、日焼けの程度が高い被験者(高日焼け群)で有意な日焼け防止効果が確認された。また、このように紫外線を防止することは、ヒアルロン酸やコラーゲンなどの分解を防ぎ肌のハリを保ち、シワを防止する効果を高めることも期待される。



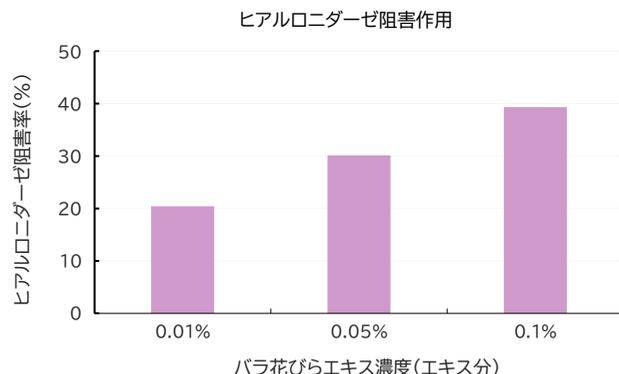
(3)肌のハリ・うるおい効果(ヒアルロニダーゼ阻害作用)

ヒアルロン酸は肌の水分保持、柔軟性の維持といった役割があり、肌の潤いを保持するのに重要な成分である。ヒアルロン酸加水分解酵素であるヒアルロニダーゼを阻害することで、ヒアルロン酸の分解を抑制し、皮膚の保湿性、潤滑性、柔軟性を防止できる。また、ヒアルロニダーゼは炎症反応を促進するため、これを阻害することは炎症を抑える働きにもつながる。

<試験結果>

バラ花びらエキスにはヒアルロニダーゼ阻害作用のあることが確認された。ヒアルロン酸の分解が抑制されることで、肌のシワを予防したり、張りのある肌を保つことが期待できる。また、この阻害作用により、日焼け等による肌の炎症を抑える働きも期待できる。

ROSE CRYSTA-COエキス分:1.5%



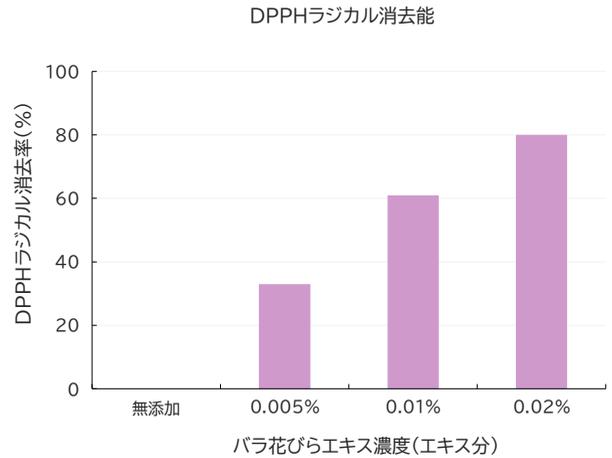
試験データ

ROSE CRYSTA®-CO

(4)肌のさびつき防止(抗酸化作用)

バラ花びらの抽出物について、抗酸化の指標であるDPPHラジカル消去能を測定した。その結果、抗酸化作用が確認された。バラ花びら抽出物は、細胞の脂質酸化による肌のさびつきを防ぐことができる。

ROSE CRYSTA-COエキス分:1.5%



(5)抗菌作用

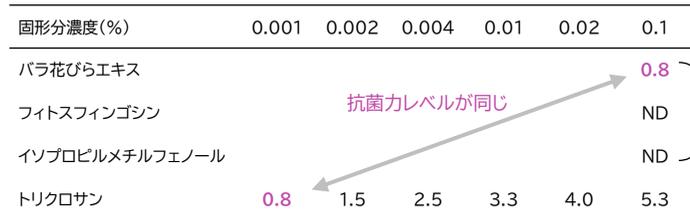
アトピー性皮膚炎などを悪化させるひとつとして、ヒト皮膚上での黄色ブドウ球菌の増殖に関連しているといわれている。ROSE CRYSTA-COは、クローブなどのハーブよりも強い抗菌活性があり、ヒト皮膚の炎症を改善ができる可能性が確認された。また、ニキビの原因となるアクネ菌(*Cutibacterium acnes*)に対する抗菌作用を確認した。一般に殺菌剤として使われるフィトスフィンゴシンやイソプロピルメチルフェノールよりも強い活性を持ち、トリクロサン0.001%相当であることが確認された。よってバラ花びらエキスにはアクネ菌に対する抗菌効果があることが期待される。

ROSE CRYSTA-COエキス分:1.5%

試料	固形分濃度 (w/v)%	<i>Corynebacterium</i> sp. (コリネバクテリア)	<i>Staphylococcus aureus</i> (黄色ブドウ球菌)
対照	0	+	+
バラ	0.01	+	+
	0.1	-	-
	0.5	-	-
ニンジン	0.01	+	+
	0.1	+	+
	0.5	+	+
クローブ	0.01	+	+
	0.1	-	±
	0.5	-	-
オールスパイス	0.01	+	±
	0.1	±	±
	0.5	-	-

+ : 生育, ± : 弱く生育, - : 生育できず

アクネ菌に対する増殖阻止円直径(cm)



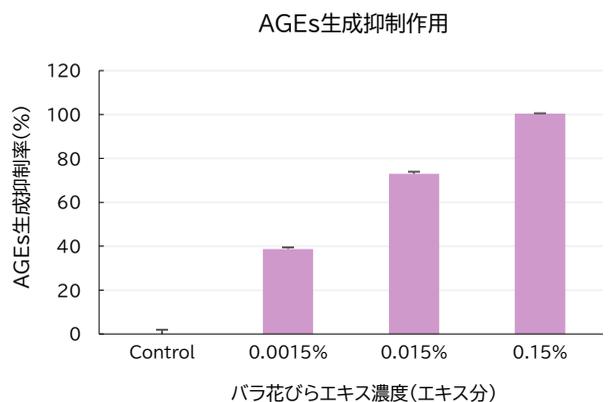
(6)蛍光性AGEs生成抑制作用

「糖化」とは生体内にあるコラーゲンなどのタンパク質と食事によって摂取した「糖」とが結びつくことで、糖化した変性タンパク質が生成され、最終的にAGEs(終末糖化産物)という異常タンパク質が生成し、年齢を重ねるにつれて体内に蓄積してしまう現象である。「糖化」が進行すると、乾燥や黄ぐすみなどの肌の老化が引き起こされる。

<試験結果>

グルコースとHSA(ヒト血清アルブミン)との糖化反応系を用いて、蛍光性AGEsに対する生成抑制効果に関する評価を行った。グルコースとHSAとの混合液にROSE CRYSTA-COを添加することで、蛍光性AGEsに対する濃度依存的な生成抑制効果が確認されたことから、ROSE CRYSTA-COには糖化を抑える効果が期待できる。

ROSE CRYSTA-COエキス分:1.5%



様々な外部刺激から肌を守る、
抗炎症・抗酸化・保湿作用発酵液素材

黒米紅麹菌発酵素材

RICETECT®

ライステクト

北海道唯一の黒米品種「きたのむらさき」
を、豆腐乳由来の紅麹菌で発酵させたオリ
ジナル原料です。

抗炎症、抗酸化、保湿、バリア機能改善な
ど、外部刺激からの様々なストレスから肌
を守る効果があります。



RICETECT®の特徴

～外部刺激からお肌を守り、健やかな若々しい肌へ～

- 黒米「きたのむらさき」を、豆腐乳由来のベニコウジ菌 (*Monascus purpureus*) で発酵させた素材です。
- 自然指数1.0 (ISO16128準拠) の原料です。

<機能性概要一覧>

- 『抗炎症』
炎症時の過剰なNO, IL-6産生を抑制します。
(特許第7277984号)
- 『抗酸化』
活性酸素の消去、活性酸素・UVBからの細胞保護効果を有します。
- 『保湿』
ヒアルロン酸合成酵素 (HAS3) 遺伝子発現を促進させます。
- 『バリア機能改善』
インボルクリン産生促進作用を有します。
- 『抗シワ・ハリ改善』
線維芽細胞のコラーゲン産生を促進させます。
- 『ターンオーバー機能改善』
表皮角化細胞の細胞増殖促進作用を促進させます。

製品名		RICETECT®
化粧品	表示名称	INCI名
	ベニコウジ菌/コメ発酵液*	Monascus/Rice Ferment
	プロパンジオール	Propanediol

*) 中国名称: 红曲 (MONASCUS) / 大米发酵产物

規格項目	規格	試験法
性状	透明から黄褐色の液体で 特異臭あり	官能検査法
pH	4.0~5.5	外原規一般試験法
比重	実測値	振動式密度計
純度試験(1)重金属	20ppm以下	外原規一般試験法
純度試験(2)ヒ素	2.0ppm以下	外原規一般試験法
一般生菌数	100cfu/mL以下	SCDLP寒天培養法
大腸菌群	陰性	AOAC法(ペトリフィルム法)
カビ・酵母	100cfu/mL以下	AOAC法(ペトリフィルム法)

イントロダクション

RICETECT®

様々な外部刺激によりもたらされるバリア機能の低下と肌荒れ

近年、世界中で環境問題が深刻になり、その影響は自然環境だけでなくヒトへの影響も報告されています。ヒトの肌への影響として、特に大気汚染物質や紫外線の影響が大きく、それらは肌へ酸化ストレスを与え、肌のバリア機能を低下させ、肌荒れ、シミ、シワをもたらすことが報告されています。また、その他の外部刺激として、ウイルス対策等で着用されるマスクによる肌荒れも報告されています。マスクによる主な肌荒れの症状としてはニキビ、かさつき、赤み等が報告されています。これらの症状は肌の酸化、炎症、乾燥によりもたらされており、結果として肌のバリア機能低下をもたらします。

<大気汚染物質による肌荒れ・老化のメカニズム>

- ① 排気ガスに含まれるベンゾピレン等の多環芳香族炭化水素類(PAHs)は親油性のため細胞膜を通過し、皮膚細胞のアリル炭化水素受容体(AhR)との結合を介し、CYP1A1の発現を促すことで、活性酸素種(ROS)の産生を誘導します。
- ② 表皮細胞が過剰なROSを産生すると、炎症をもたらす炎症性サイトカインや、シワをもたらすコラーゲン分解酵素のMMP-1が誘導されます。
- ③ 結果として肌荒れ、シワの形成がもたらされます。

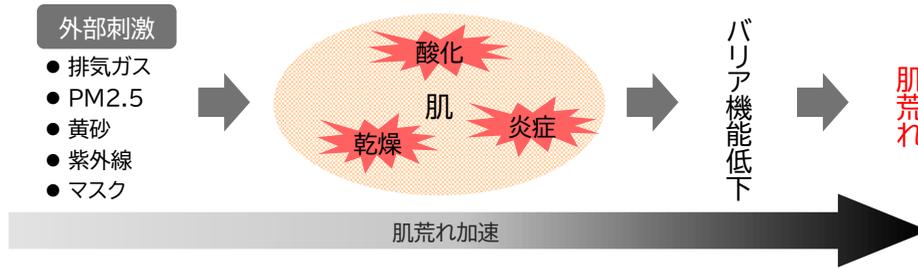
<マスクによる肌荒れ原因>

- ① 皮脂過剰分泌：マスクを長時間着用すると、マスク内部が高温多湿になり、皮脂が過剰分泌されます。その皮脂が酸化され、毛穴を詰まらせる角栓となりニキビが引き起こされ、肌のバリア機能が低下します。
- ② 摩擦：マスク繊維の擦れによる物理的刺激が炎症を引き起こし、バリア機能低下をもたらします。
- ③ 高温多湿：マスクの長時間着用は、マスク内部を高温多湿状態にします。それが皮膚をふやかせ、マスクを外した時に肌内部からの急激な水分蒸散を引き起こします。結果として肌が乾燥し、バリア機能が低下します。

バリア機能が衰えた肌はこれらの影響をより受けやすくなり、肌荒れ・老化の進行が促進されます。

バリア機能低下から始まる肌荒れ加速！

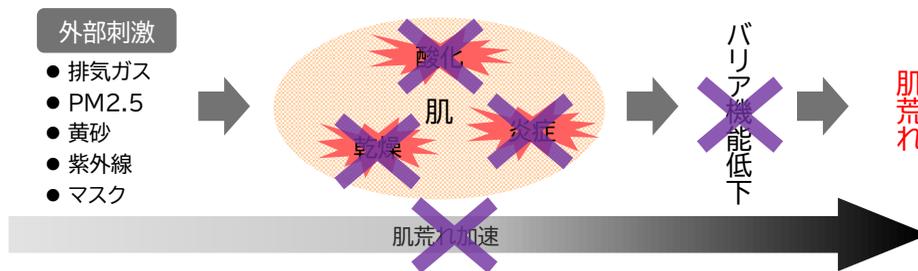
外部刺激からの肌ストレスにより肌のバリア機能が低下すると、外部刺激の影響を受けやすくなります。その結果、肌荒れが加速し、肌トラブルが深刻化します。



RICETECTの効果 ~様々な外部刺激の肌ストレスから肌を守る~

様々な肌ストレスから肌を包括的に“守る”効果

RICETECTは外部刺激にもたらされる酸化・炎症・乾燥といった肌トラブル・肌老化の原因を緩和する効果が細胞試験の結果から明らかになりました。抗炎症作用として、炎症時に肌細胞内で産生・発現するNO、IL-6の抑制、抗酸化作用として、酸化ストレス(H₂O₂・UV)からの細胞保護効果、保湿作用として、ヒアルロン酸合成酵素(HAS3)の遺伝子発現量の促進の効果を有します。また、バリア機能改善としてインボルクリン産生促進作用、ターンオーバー機能改善として細胞増殖能の促進、抗シワ・ハリ改善作用として、細胞のコラーゲン産生を促進します。RICETECTは、肌ストレスから包括的に肌を“守る”チカラを有しています。



外部刺激(大気汚染物質、UV、マスクなど)



発酵液を纏うことで、様々な外部刺激から肌を“守る”

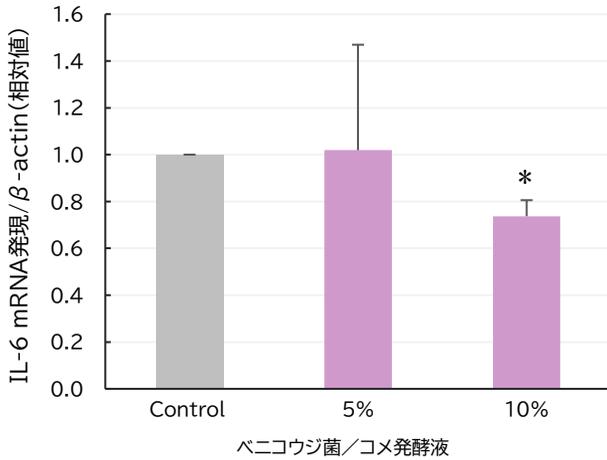
(1) 抗炎症作用 ~炎症性サイトカイン・NO産生抑制~

1. 炎症性サイトカインIL-6の産生抑制効果

肌が紫外線に長期間暴露されると、表皮細胞中のIL-1活性が上昇し、IL-1の刺激により炎症性サイトカインであるIL-6の産生が誘導される。IL-6の産生は過剰な炎症反応や慢性炎症性疾患に関与していることが知られている。マクロファージ様細胞RAW264に、炎症を誘導する大腸菌由来のLPSと共にペニコウジ菌/コメ発酵液を加えて24時間インキュベートした後、細胞よりRNAを抽出し、Real Time-PCRにて遺伝子発現量の解析を行った。結果として下記グラフに示すようにペニコウジ菌/コメ発酵液はIL-6の遺伝子発現量を抑制することが確認された。

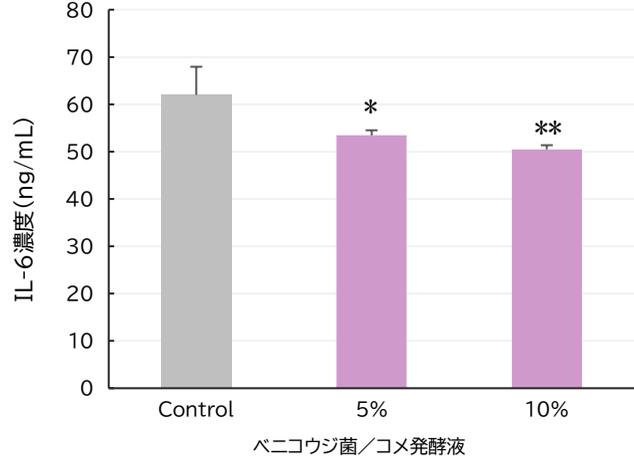
また、同様に培養したマクロファージ様細胞RAW264に、リポ多糖及びペニコウジ菌/コメ発酵液を加えて24時間インキュベートした後の培養上清を回収し、培養上清中のIL-6の濃度を市販mouse IL-6キットを用いて測定を行った。結果として、ペニコウジ菌/コメ発酵液の濃度依存的なIL-6の抑制が確認された。ペニコウジ菌/コメ発酵液は肌の炎症を抑制することが期待される。

IL-6 mRNA発現抑制



*: P<0.05 (Controlとの比較)

IL-6の産生抑制作用



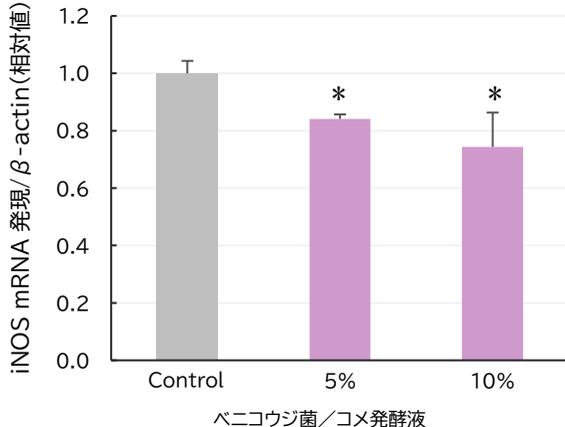
*: P<0.05, **: P<0.01 (Controlとの比較)

2. NO産生抑制効果

マクロファージ様細胞などから産生される一酸化窒素(NO)は、ラジカルとしての殺菌作用や免疫シグナルとして異物排除に働く一方、過剰なNOの産生は細胞へのダメージなどにより炎症を悪化させる。そのため、NOの過剰な産生を抑制することは炎症抑制に繋がると考えられる。本試験ではマクロファージ様細胞RAW264を用いて、ペニコウジ菌/コメ発酵液における、NO産生を誘導する誘導型一酸化窒素合成酵素(iNOS)の遺伝子発現量の抑制評価、及びNOの産生抑制の評価を行った。iNOSの遺伝子発現量はマクロファージ様細胞RAW264の培養液に、炎症を誘導する大腸菌由来のリポ多糖とペニコウジ菌/コメ発酵液を加えて24時間インキュベートした後、細胞よりRNAを抽出し、Real Time-PCRにて遺伝子発現量の解析を行った。NO産生量は同様にインキュベートした培養上清にグリース試薬を加えて室温で10分間反応させた後、OD530/700nmにて測定した。NO濃度は亜硝酸ナトリウム標準曲線よりNO濃度として算出した。

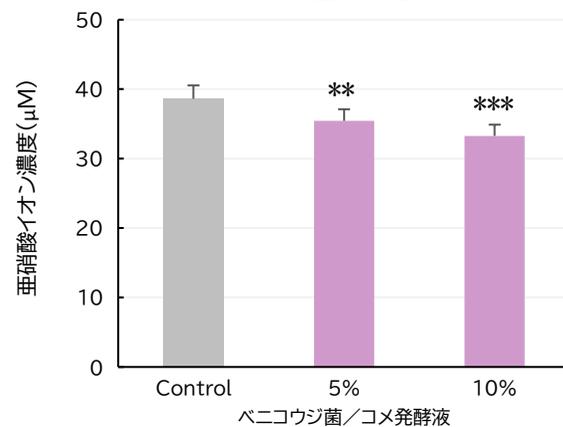
結果として、ペニコウジ菌/コメ発酵液の濃度依存的なiNOSの遺伝子発現量とNO産生量の抑制が確認された。ペニコウジ菌/コメ発酵液は、炎症によりもたらされる肌荒れを抑制することが期待される。

iNOS mRNA 発現抑制



*: P<0.05 (Controlとの比較)

NO産生抑制



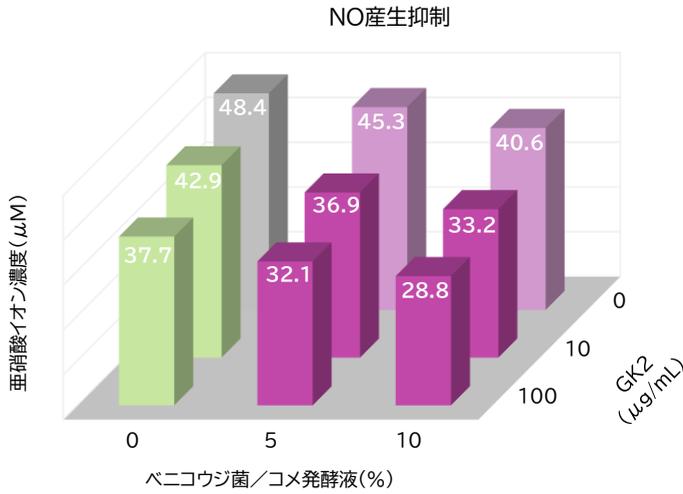
** : P<0.01, *** : P<0.001 (Controlとの比較)

試験データ

RICETECT®

(1) 抗炎症作用 ~グリチルリチン酸ジカリウムとのNO産生抑制相乗効果~

マクロファージ様細胞などから産生される一酸化窒素(NO)は、ラジカルとしての殺菌作用や免疫シグナルとして異物排除に働く一方、過剰なNOの産生は血管拡張や細胞へのダメージなどにより炎症を悪化させる。そのため、NOの過剰な産生を抑制することは炎症抑制に繋がると考えられる。本試験では、抗炎症作用が報告されているグリチルリチン酸ジカリウム(GK2)との併用により、NO産生抑制作用の相乗効果を評価した。マクロファージ様細胞RAW264を用いて評価を行った。NO濃度は亜硝酸ナトリウム標準曲線よりNO濃度として算出し、相乗効果倍率は下記の式で算出した。相乗効果倍率=(混合時の実際のNO濃度抑制量)÷(ペニコウジ菌/コメ発酵液単独+グリチルリチン酸ジカリウム単独でのNO濃度抑制量の合計) 1を超えて相乗効果有り。結果として、NO産生抑制の相乗効果が確認された。ペニコウジ菌/コメ発酵液は、グリチルリチン酸ジカリウムと併用することで、炎症によりもたらされる肌荒れをより一層抑制することが期待される。



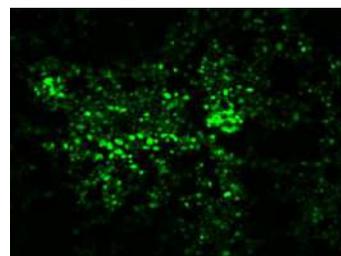
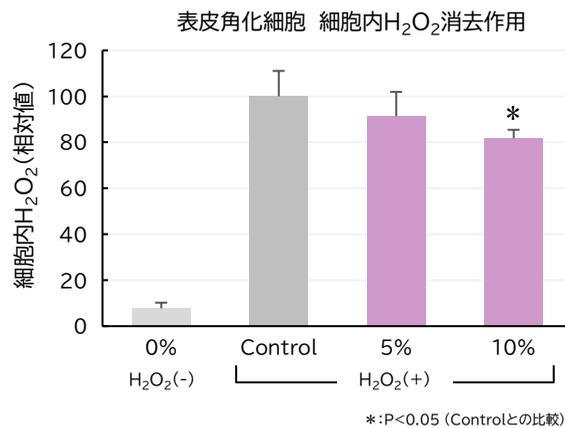
ペニコウジ菌/コメ発酵液 (%)	GK2 (μg/mL)	NO産生抑制相乗効果倍率(※)
5.0	10.0	1.4
5.0	100.0	1.2
10.0	10.0	1.2
10.0	100.0	1.1

※各濃度の単独合算値を1とした時の倍率

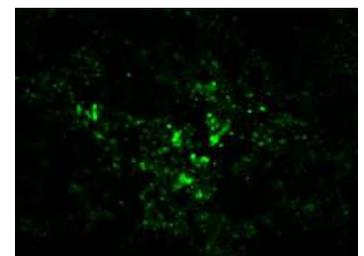
(2) 抗酸化作用~活性酸素の消去・細胞保護効果~

1. 活性酸素種(ROS)の消去能~表皮角化細胞での効果~

まず本試験では、正常ヒト表皮角化細胞(NHEK)を用いてペニコウジ菌/コメ発酵液による活性酸素の消去能を評価した。ペニコウジ菌/コメ発酵液でプレ培養した表皮角化細胞に蛍光プローブを与え細胞内に取り込ませた後、ペニコウジ菌/コメ発酵液の存在下で、活性酸素種として過酸化水素(H₂O₂)を表皮角化細胞に暴露させ、H₂O₂を取り込ませた状態での発酵液による細胞内のH₂O₂の消去能を評価した。H₂O₂は細胞に暴露すると、速やかに細胞に浸透し、細胞内のH₂O₂濃度が上昇する。細胞内に取り込まれたH₂O₂を蛍光測定により評価した。またH₂O₂は、細胞内で生じる活性酸素のうち、最も長寿命である事に加え、細胞傷害性がきわめて高いヒドロキシラジカルを発生する。結果として下記に示すようにペニコウジ菌/コメ発酵液はH₂O₂を濃度依存的に消去し、表皮細胞への酸化ダメージを抑制することが示唆された。(※グラフX軸はペニコウジ菌/コメ発酵液の濃度を示している)



Control

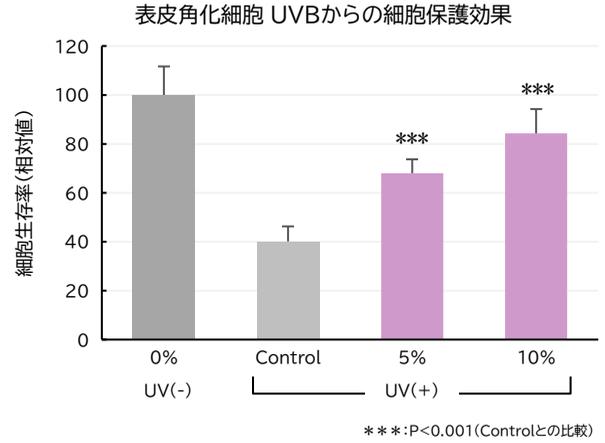
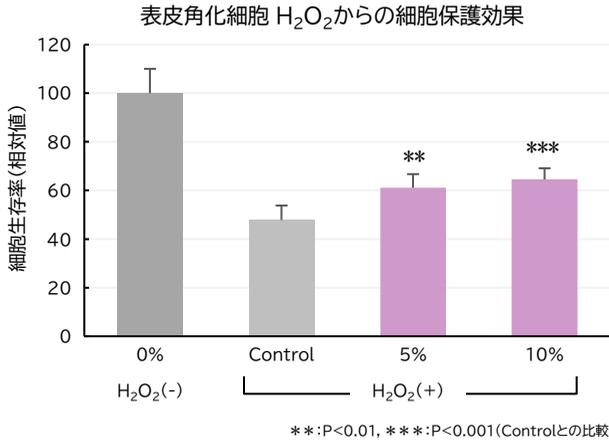


10% ペニコウジ菌/コメ発酵液

(2) 抗酸化作用～活性酸素の消去・細胞保護効果～

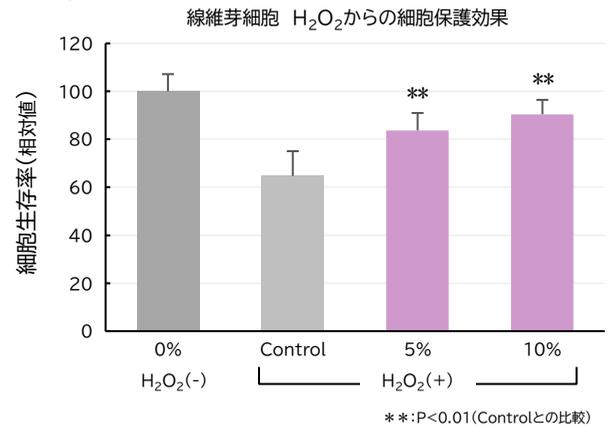
2. 活性酸素種(ROS)、UVからの細胞保護効果 ～表皮角化細胞での効果～

続いて活性酸素(H₂O₂)からの細胞保護効果を、ペニコウジ菌/コメ発酵液とともに与えた場合の正常ヒト表皮角化細胞の生存率で評価した。グラフに示すように、ペニコウジ菌/コメ発酵液の添加濃度依存的に細胞生存率が上昇することが確認された。さらに、紫外線(UVB)からの細胞保護効果においても同様の試験方法で評価を行った。紫外線を受けると表皮角化細胞内で活性酸素が発生・増加し、その結果として細胞が酸化ダメージを受け、細胞生存率が低下する。結果としてペニコウジ菌/コメ発酵液は、紫外線を与えた場合においても、添加濃度依存的に酸化傷害による細胞生存率の低下を抑制し、細胞を保護する効果が確認された。(※各グラフX軸はペニコウジ菌/コメ発酵液の濃度を示している)



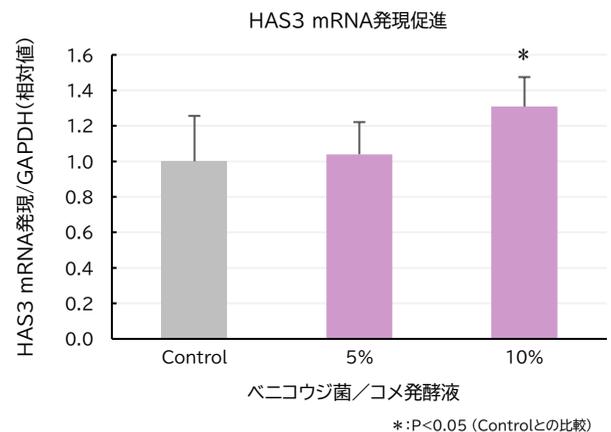
3. 活性酸素種(ROS)からの細胞保護効果～真皮線維芽細胞での効果～

正常ヒト真皮線維芽細胞においても同様に活性酸素(H₂O₂)を与えた場合の細胞生存率を評価した。結果として、線維芽細胞においてもペニコウジ菌/コメ発酵液の添加濃度依存的に細胞生存率が上昇することが確認された。以上のことから、ペニコウジ菌/コメ発酵液は、皮膚が酸化ストレスに曝された際に、皮膚細胞で発生・増加する活性酸素を抑え、酸化ダメージから肌を守ることが期待される。(※グラフX軸はペニコウジ菌/コメ発酵液の濃度を示している)



(3) 保湿作用 ～ヒアルロン酸合成酵素(HAS3)遺伝子発現促進～

表皮ヒアルロン酸は表皮中の水分を保持し、肌の保湿機能を維持している。加齢や紫外線、活性酸素などにより表皮ヒアルロン酸産生能は減少し、肌の乾燥の原因の1つとなっている。正常ヒト表皮角化細胞を用いたヒアルロン酸産生試験の結果、ペニコウジ菌/コメ発酵液は表皮ヒアルロン酸合成酵素(HAS3)mRNAの発現を促進させることが認められた。このことからペニコウジ菌/コメ発酵液は、表皮角化細胞のヒアルロン酸産生能を促進し、肌の水分保持機能を向上させる効果が期待される。

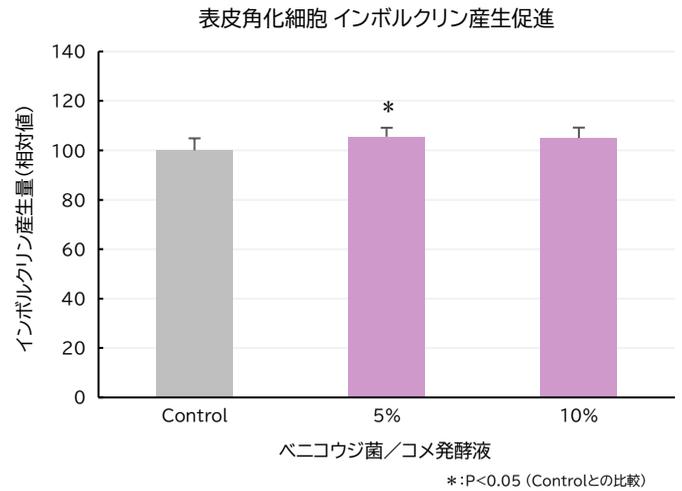
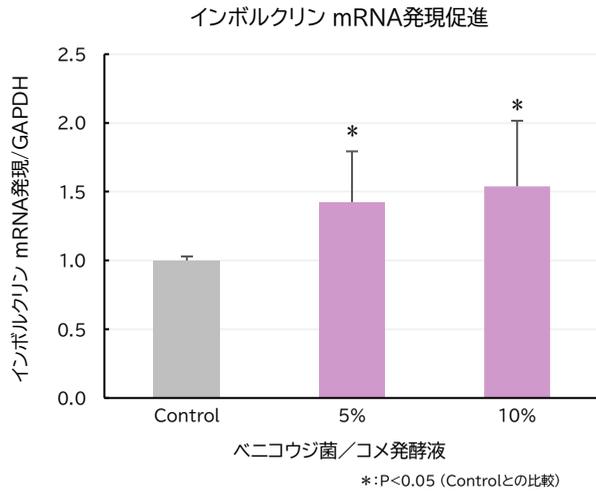


試験データ

RICETECT®

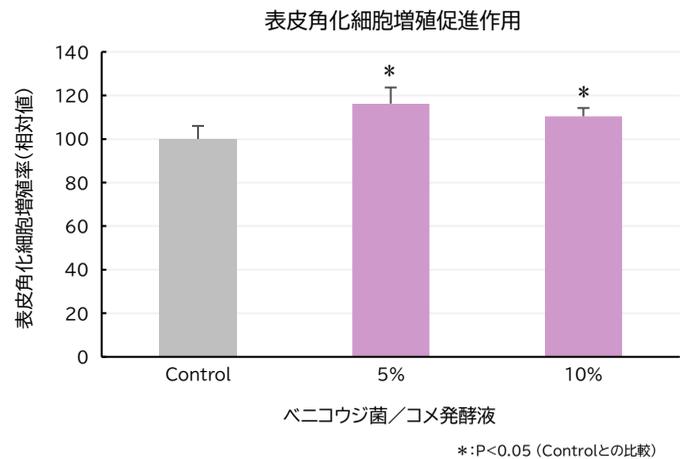
(4)バリア機能改善 ~インボルクリン産生促進作用~

インボルクリンは、肌のバリア機能を担う角層細胞の外壁であるコーニファイドエンベロープ(CE)を形成するタンパク質である。CEを土台にしてセラミドを含む細胞間脂質はラメラ構造を形成し、肌のバリア機能を担っている。正常ヒト表皮角化細胞(NHEK)を用いたインボルクリン産生試験の結果、ベニコウジ菌/コメ発酵液は、インボルクリンmRNAの発現を促進し、さらにインボルクリン産生量を増加させることが認められた。このことからベニコウジ菌/コメ発酵液は、表皮角化細胞のインボルクリン産生能を促進し、インボルクリン量を増加させることにより、肌のバリア機能を向上させる効果が期待される



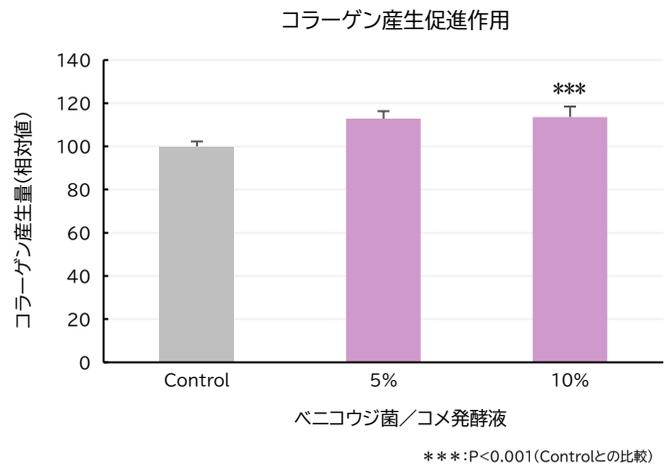
(5)ターンオーバー機能改善 ~細胞増殖促進作用~

基底層で分裂した表皮角化細胞では、分化・成熟を経て上層に移行し、角層まで達した後、脱落しターンオーバーを繰り返す、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衰えると小じわ、色素沈着、角層の天然保湿因子の発現の低下などが導かれる。正常ヒト表皮角化細胞を用いた細胞増殖試験の結果、ベニコウジ菌/コメ発酵液は、有意な細胞増殖促進作用を有することが認められた。このことからベニコウジ菌/コメ発酵液は、皮膚の新陳代謝機能を回復させることにより、小じわ、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される。



(6)シワ・ハリ改善 ~コラーゲン合成能~

コラーゲンは真皮線維芽細胞により生み出され、肌弾力に寄与し、肌にハリをもたらしている。正常ヒト線維芽細胞を用いたコラーゲン産生試験の結果、ベニコウジ菌/コメ発酵液は有意なコラーゲン産生促進作用を有することが認められた。このことからベニコウジ菌/コメ発酵液は、線維芽細胞のコラーゲン産生能を高め、シワやたるみなどを改善する効果が期待される。



(7)RICETECT配合化粧品でのヒト試験データ

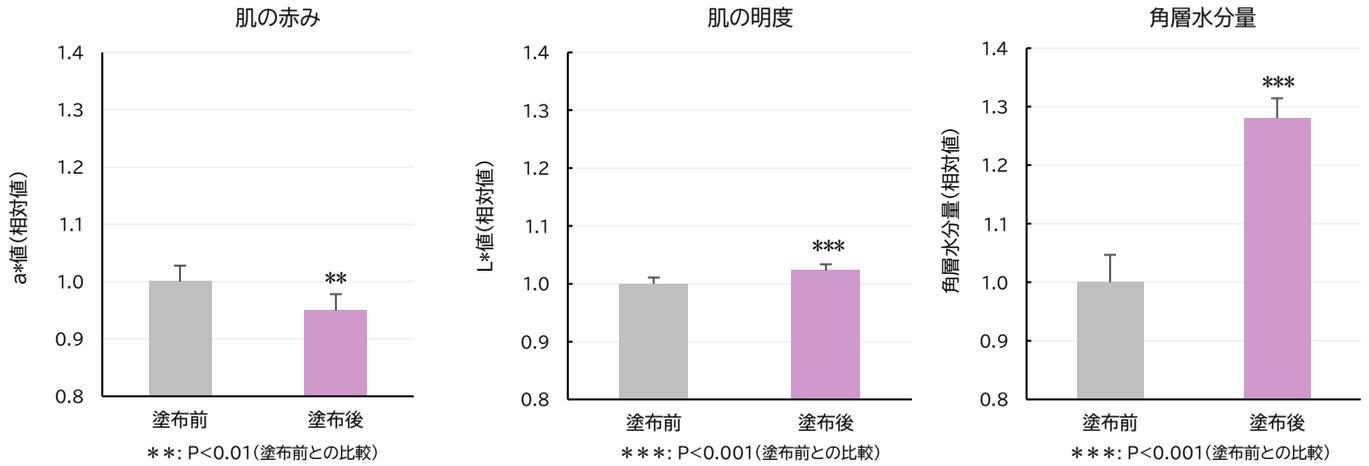
<試験方法>

成人女性34~54歳の17名(平均年齢: 42.3±5.3歳)を対象に、RICETECT15%配合化粧品(化粧水、美容液、クリーム)を10月から11月の時期にかけて使用期間を4週間として、朝晩2回の塗布を実施し、塗布前の0週目と連用塗布後の4週目での皮膚状態の変化をVISIA、コルネオメーターを使い評価試験を行った。

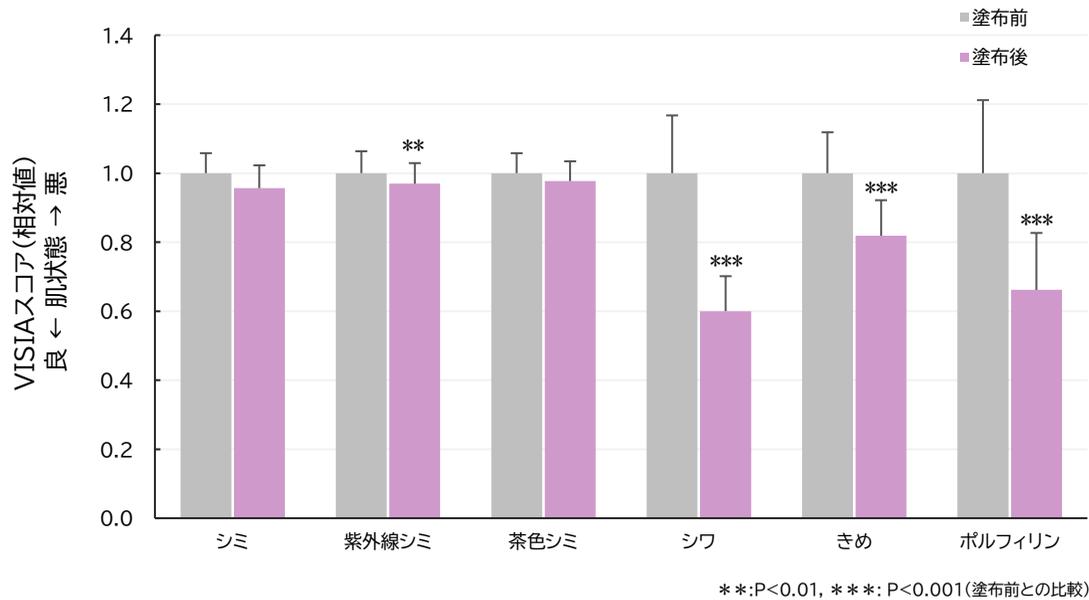
1. VISIA及びコルネオメーターによる皮膚状態の変化の解析

評価項目は試験開始日、塗布4週間後にVISIAによる顔面画像の撮影、左右頬部の角層水分量の測定を行った。角層水分量の測定において、左右目じりのわきから下した垂線と鼻の下部からの水平線の交点を測定部位としてそれぞれ5回の測定を行った。肌の色味値L*(明るさ)、a*値(赤み)はVISIAで取得した顔面画像を用いて付属したL*a*b*解析ソフトより解析を行った。尚、グラフは、左右顔面の平均値で示した。

結果として、肌荒れや炎症状態の指標となる肌の赤み(a*値)において、有意差有の改善傾向が見られたことから、RICETECT配合化粧品の連用塗布により、肌荒れを示唆する肌の赤みを改善することが確認された。また、その他VISIAの複数の項目において有意差有の改善傾向が見られ、コルネオメーターによる角層水分量測定においても有意差有の改善傾向が見られた。



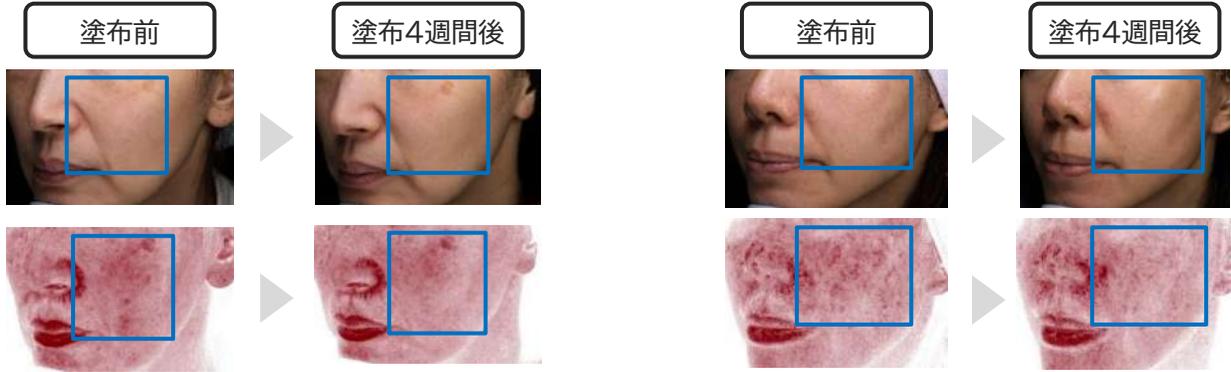
VISIAによる皮膚状態の解析



(7)RICETECT配合化粧品でのヒト試験データ

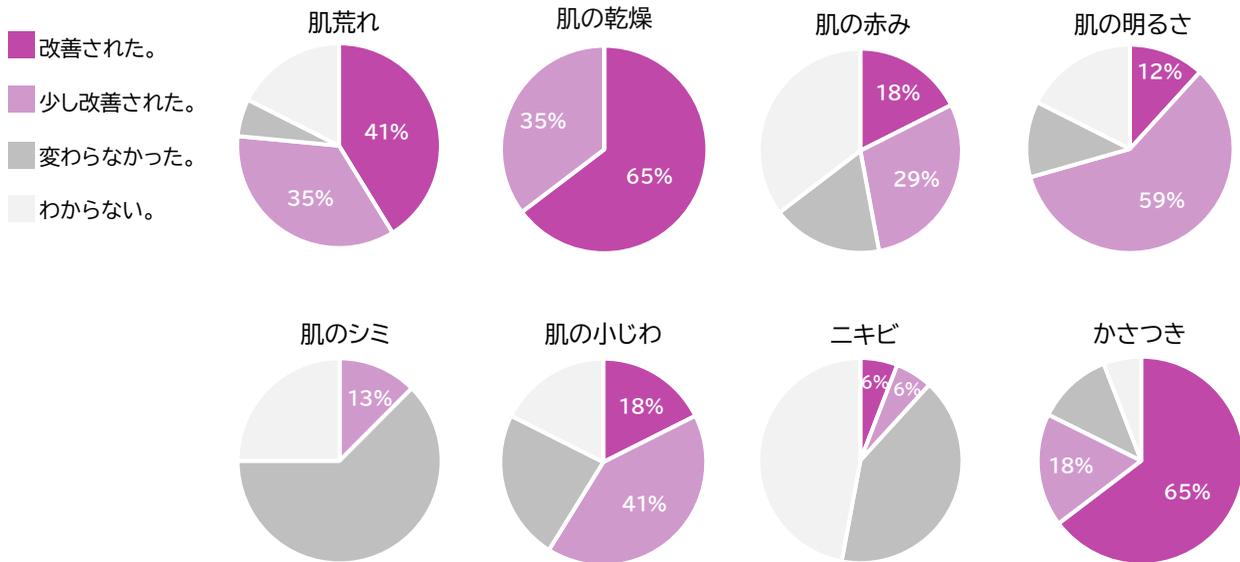
2. VISIAによる肌の赤み改善の塗布前後比較

VISIAで取得したa*値(赤み)の顔面画像をRICETECT配合化粧品の4週間連用塗布の前後で比較した。塗布前に比べ、4週間連用塗布後は肌の赤みが軽減されていることが画像からも確認された。



3. アンケートによる体感評価

RICETECT配合化粧品の4週間連用塗布により、体感として感じた変化を複数の項目でアンケート調査を行った。その結果、RICETECTの抗炎症・抗酸化・保湿といった肌を守る包括的な機能が作用し、肌荒れ、乾燥、小じわなどの項目において、被験者が体感の変化として改善効果を感じられたという結果が得られた。このことからRICETECT配合化粧品を使用することで、肌荒れ・乾燥などの肌状態の改善効果を体感としても得られやすいことが確認された。



安全性試験データ

安全性試験	結果
Ames試験	陰性
皮膚刺激性試験(代替法 OECD TG439)	無刺激性
眼刺激性試験(代替法 OECD TG492)	無刺激性
光毒性試験(代替法 OECD TG495)	陰性
ヒトパッチテスト(24時間閉塞 20名)	安全品
ヒト皮膚感作性試験 (RIPT 50名)	累積刺激性および感作性は無し

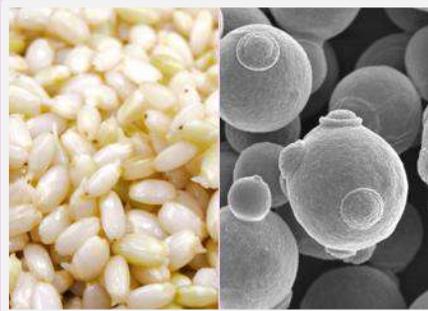
保湿作用を有するバリア機能・水分保持機能、
新陳代謝機能、抗シワ・ハリ改善機能、
抗糖化、エクソソーム産生促進素材

発芽玄米酵母発酵素材

YUKIME®
ユキメ

北海道品種「ゆきひかり」玄米を発芽させ、
イチジク由来のラカンセア酵母で発酵させ
たオリジナル原料です。

保湿による肌老化の防止、バリア機能・水
分保持機能、新陳代謝機能、抗シワ・ハリ改
善などの美容効果があります。



YUKIME®の特徴

～乾燥からお肌を守り、潤いのある若々しい肌へ～

- 発芽させた北海道品種ゆきひかり玄米を、イチジク由来のラカンセア酵母 (*Lachancea kluyveri*) で発酵した素材です。
(特許第7162351号)
- 発酵により、表皮角化細胞における複数のセラミド合成関連酵素の遺伝子発現促進作用が高まることが確認されました。
- 表皮角化細胞への作用
『バリア機能・水分保持機能、新陳代謝機能改善』
セラミド産生量、セラミド合成関連酵素、プロフィラグリン(天然保湿因子の前駆体)、アクアポリン(AQP3:細胞間の水分調節)の遺伝子発現量、ATP産生、細胞増殖能を促進します。
- 線維芽細胞への作用
『抗シワ・ハリ改善』
ヒアルロン酸合成酵素(HAS2)の遺伝子発現量、ヒアルロン酸産生、コラーゲン産生、細胞増殖能を促進します。コラーゲン産生についてVC誘導体との相乗効果が確認されました。(特許第7162352号)
- 脂肪由来間葉系幹細胞への作用
『抗シワ・たるみ改善』
幹細胞増殖及び幹細胞からのエクソソーム産生を促進させます。
この作用によって、皮膚細胞への細胞修復効果やバリア機能、抗シワ・たるみ改善効果がより一層高くなることが期待されます。
- ヒト試験結果
『角層水分保持能の改善・ターンオーバー改善・角層の健全化・肌の黄ぐすみ低減・肌の透明度向上』
ヒト試験により、角層水分量の増加、鱗屑の減少、重層剥離の減少、カルボニル化タンパク質減少効果が確認されました。

製品名		YUKIME®
化粧品	表示名称	INCI名
	ラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液	Lachancea/Hydrolyzed Germinated Rice Grain Ferment Lyte Filtrate
	ペンチレングリコール	Pentylene Glycol

規格項目	規格	試験法
性状	淡黄色から黄褐色の液体で特異臭あり	官能検査法
pH	4.0~5.5	外原規一般試験法
蒸発残分	0.5%以上	常圧加熱乾燥法
比重	実測値	振動式密度計
純度試験(1)重金属	20ppm以下	外原規一般試験法
純度試験(2)ヒ素	2.0ppm以下	外原規一般試験法
一般生菌数	100cfu/mL以下	SCDLP寒天培養法
大腸菌群	陰性	AOAC法(ペトリフィルム法)
カビ・酵母	100cfu/mL以下	AOAC法(ペトリフィルム法)

イントロダクション

YUKIME®

乾燥による肌老化

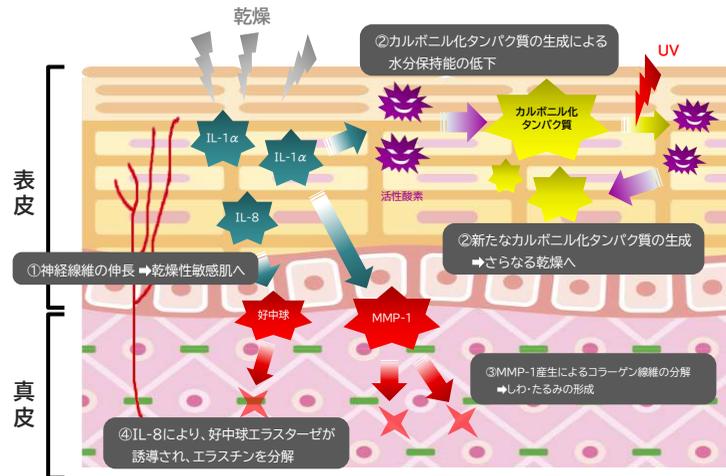
肌は乾燥状態に曝されると皮膚の表面でカルボニル化タンパクや活性酸素が増加し、皮膚に様々なダメージを与え老化を進めます。下図はその乾燥による皮膚ダメージの一部を示したものです。

<乾燥によるダメージ>

皮膚が乾燥すると、炎症性サイトカインの IL-1 α やIL-8が分泌亢進され、神経線維が伸長します。結果として皮膚刺激の感受性が高まり、乾燥性敏感肌となります。分泌されたIL-1 α は活性酸素の産生を亢進し、活性酸素は皮脂を酸化し過酸化脂質を生成します。過酸化脂質の最終産物であるアルデヒド化合物はタンパク質を酸化修飾し、カルボニル化タンパク質を生成します。カルボニル化タンパク質は保湿機能の低下、肌の黄ぐすみ、透明度の低下をもたらします。さらに、カルボニル化タンパク質はUVを吸収すると新たな活性酸素を生成し、それが新たなカルボニル化タンパク質を生成し、皮膚をさらなる乾燥に導きます。また、IL-1 α は線維芽細胞の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み、しわ・たるみの原因となります。IL-8は、好中球の真皮組織への浸潤を誘導し、真皮で好中球はエラスターゼを分泌し、コラーゲン繊維を束ねてハリや弾力性をもたらししているエラスチンを分解します。さらに好中球エラスターゼはコラーゲン繊維をMMP-1から保護しているデコリンを分解し、MMP-1によるコラーゲン繊維の分解を促進します。このように乾燥により導かれた炎症性サイトカインから、様々な因子が誘発され、結果的に肌のハリ・弾力性を低下させしわの原因となります。

肌老化の原因は乾燥！

肌の乾燥は炎症性サイトカイン等の様々な老化因子を誘発し、さらなる乾燥を導くカルボニル化タンパク質や、真皮のコラーゲンを分解するMMP-1産生を増加させます。結果的に乾燥がしわ等の肌老化を引き起こす原因となります。



皮膚の表皮と真皮にはたらきかける

バリア機能・水分保持機能、新陳代謝機能改善効果

表皮は角層、顆粒層、有棘層、基底層を成す各細胞から構成されています。皮膚のバリア機能は、表皮角層の内側の水分の蒸散を防ぎ、外界からの異物(アレルギー・細菌など)の侵入を防ぐ役割を担っています。皮膚表皮の細胞は基底細胞から有棘細胞、顆粒細胞と生長を続け、顆粒細胞の段階でセラミドやアミノ酸などの保湿成分の材料を顆粒に蓄えます。さらに細胞は生長して顆粒の中身を細胞外に放出し、外側の細胞膜と細胞の中の核が消失します。そして角質細胞が完成し、その外側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つくります。

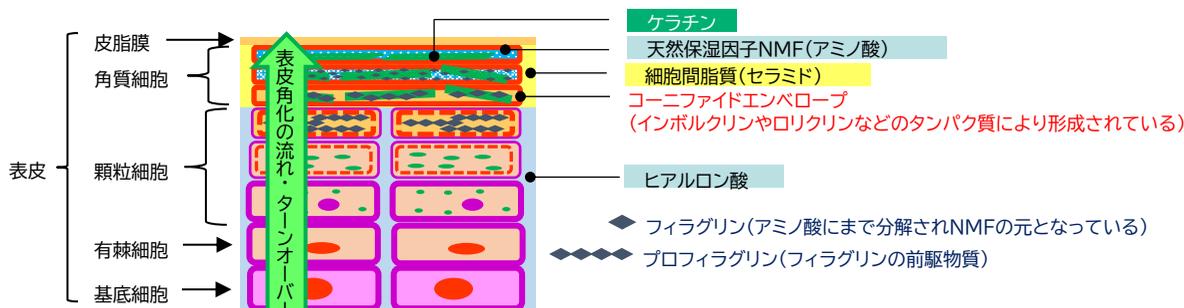
一方、細胞の内側ではケラチン線維が発達して細胞の強度を増し、外部からの圧力や刺激に対抗するとともに、内部に蓄えたアミノ酸などの天然保湿因子(Natural Moisturizing Factor: NMF)が水分を抱きかかえ角質層のうるおいを保ちます。

ラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液は、表皮においてセラミドの産生、セラミド合成関連酵素、プロフィラグリン、アクアポリン3(AQ3)のmRNA遺伝子発現、ATP産生、細胞増殖能を促進することによって、皮膚のバリア機能・水分保持機能を高めることで老化から肌を守り、皮膚の新陳代謝を高めることが期待されます。

皮膚表皮の内側にある真皮は、皮膚組織の主要な部分を構成しており、肌の本体ともいえます。真皮は、線維状のタンパク質であるコラーゲンがその大部分を占め、その間をヒアルロン酸などのゼリー状の成分が水分を抱えながら満たしています。そしてこれらの成分を生成する細胞を線維芽細胞といい、皮膚のマトリクス構造を形成することで、肌の健康が保たれています。

皮膚の老化は、皮膚を構成している線維芽細胞の機能低下、さらには細胞外マトリクス成分であるコラーゲンやヒアルロン酸の産生能力の低下によって引き起こされます。その結果、皮膚を支えていたマトリクス構造が保てなくなり、水分も低下してシワやたるみが生まれてきます。

ラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液は、真皮において線維芽細胞の増殖と、コラーゲンとヒアルロン酸産生を促進することによって、加齢に伴い衰えた肌機能に働きかけ、潤いやハリといった肌質の改善を促進します。



(1)表皮(角化細胞)への作用 ~バリア機能・水分保持機能・新陳代謝機能改善効果~

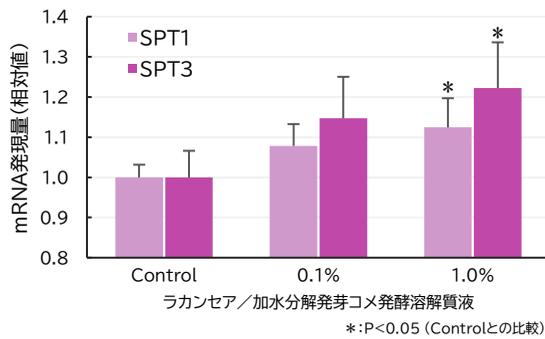
1. セラミド産生促進作用

セラミドは角層細胞間脂質成分としてラメラ構造を形成する。正常ヒト表皮角化細胞を用いたセラミド産生促進作用を評価した。試験の結果、発酵により、セラミド生合成の関連酵素であるセリンパルミトイルトランスフェラーゼ(SPT1,SPT3)mRNAの発現促進作用が高くなることが確認された。(A)

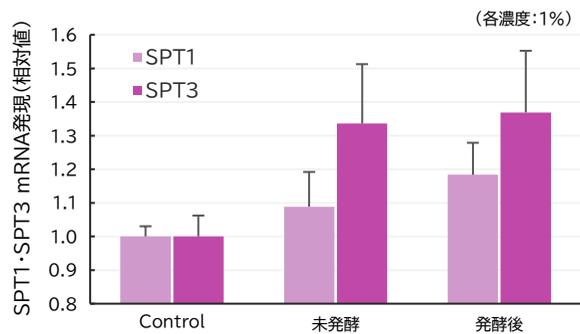
またラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液は、SPT1,SPT3mRNAの発現を濃度依存的に促進し(B)、さらにセラミド産生量を増加させること(C)が認められた。このことからラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液は、表皮角化細胞のセラミド産生能を促進し、セラミド量を増加させることにより角層細胞間のラメラ構造を補強して肌のバリア機能や水分保持力を向上させる効果が期待される。



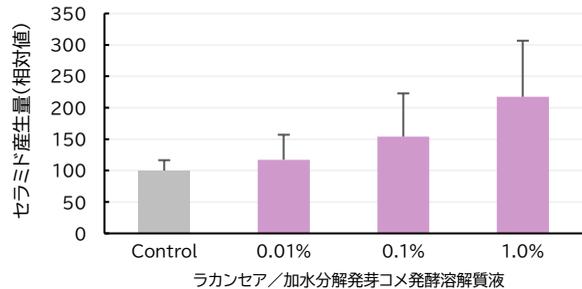
(B)SPT1,SPT3遺伝子発現



(A)発酵前後でのSPT1, SPT3のmRNA発現量の比較



(C)正常ヒト表皮角化細胞におけるセラミド産生量

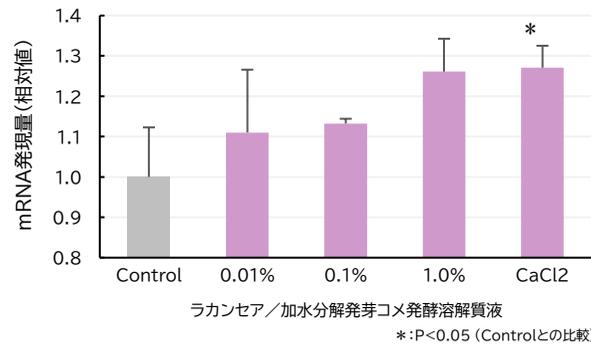


2. アクアポリン3(AQP3)遺伝子発現促進作用

アクアポリン3は皮膚のセラチノサイトに存在する水チャネルであり、水分子やグリセロールの輸送を促進する。そのため肌の潤いや弾力性の維持に寄与している。また創傷時の治癒促進や炎症の制御にも関わるとされている。加齢に伴い発現量が減少していくAQP3を取り戻すことにより、皮膚質感の若返りが期待できる。

正常ヒト表皮角化細胞を用いたAQP3遺伝子発現評価試験の結果、ラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液は濃度依存的にAQP3mRNAの発現を促進することが認められた。このことからラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液は、肌の保湿機能・皮膚質感を向上させる効果が期待される。

AQP3遺伝子発現

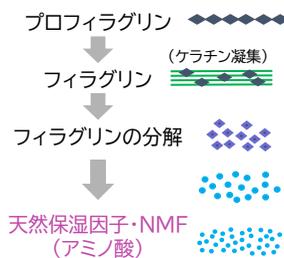


3. プロフィラグリン産生促進作用

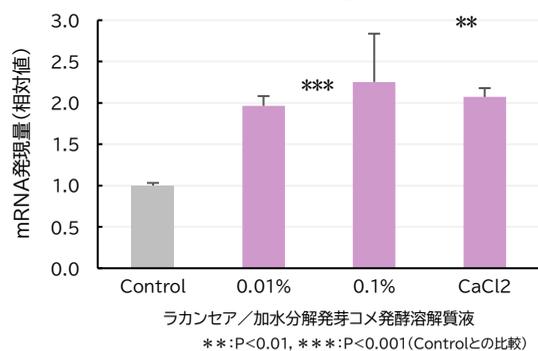
フィラグリンは顆粒細胞にて、その前駆体のプロフィラグリンとして合成される。その後、表皮細胞の分化に伴いフィラグリンに分解され、遊離されたフィラグリンは角質細胞内でケラチン線維を凝集させた後、さらに角質層上層で天然保湿因子(NMF)であるアミノ酸に分解される。

正常ヒト表皮角化細胞を用いたプロフィラグリン遺伝子発現評価試験の結果、ラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液はプロフィラグリンmRNAの発現を促進することが認められた。このことからラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液は、NMF(アミノ酸)の元であるプロフィラグリン産生能を促進し、肌の代謝と共に角質層水分の保持機能を向上させる効果が期待される。

NMF生産経路



プロフィラグリン遺伝子発現

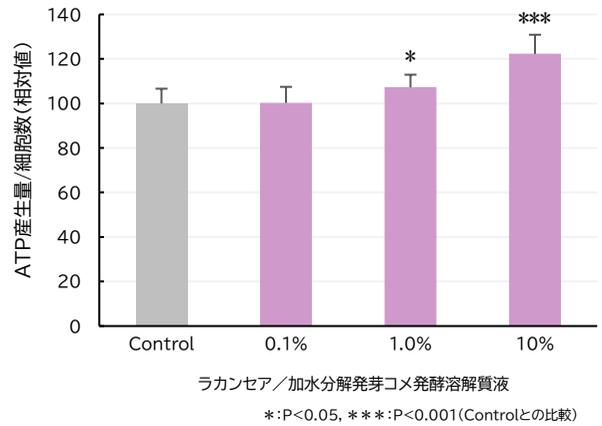


(1)表皮(角化細胞)への作用 ~バリア機能・水分保持機能・新陳代謝機能改善効果~

4. ATP産生促進作用

環境の外的因子の影響や加齢により、表皮細胞の活動や増殖能が低下すると、表皮のターンオーバー速度が遅延するため、表皮の菲薄化や角質層肥厚などの分化不全が引き起こされる。その結果、皮膚の保湿機能や弾力性が低下し、角質の異常剥離が起こり、シワ、くすみ、きめの消失、弾力性の低下等の変化が生じる。そこで、角化細胞の増殖を促進することができれば、皮膚のターンオーバーが促進され、肌の新陳代謝機能の回復が期待される。細胞増殖を促進するためには、細胞分裂に必要な生体エネルギーであるATPの産生量を上げることが重要である。実際に、機能の低下した細胞や老化した細胞では、ATP産生量は正常細胞より減少する。そのため、細胞におけるATPの産生を促進することができれば、皮膚のターンオーバーを促進し、肌の新陳代謝機能の回復が期待される。正常ヒト表皮角化細胞を用いたATP産生評価試験の結果、ラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液はATP産生を促進することが認められた。このことからラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液は、表皮角化細胞のATP産生能を促進し、肌の新陳代謝機能を回復させる効果が期待される

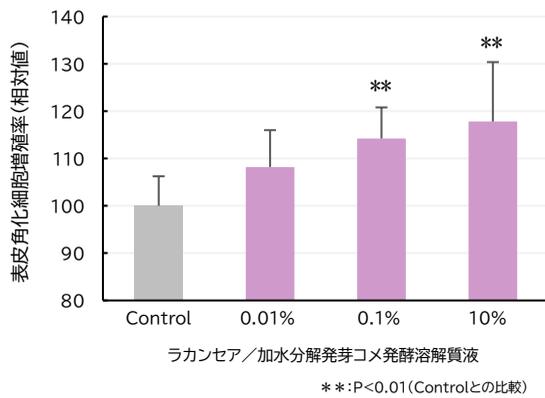
表皮角化細胞におけるATP産生促進作用



5. 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では、分化・成熟を経て上層に移行し、角層まで達した後、脱落し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衰えると小じわ、色素沈着、角層の天然保湿因子の発現の低下などが導かれる。正常ヒト表皮角化細胞を用いた細胞試験の結果、ラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液は細胞増殖促進作用があり、濃度依存的に高くなることが認められた。このことからラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液は、皮膚の新陳代謝機能を回復させることにより、小じわ、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される。

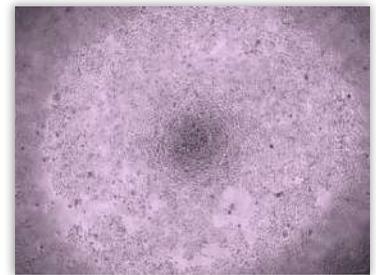
表皮角化細胞における細胞増殖促進作用



Control



ラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液

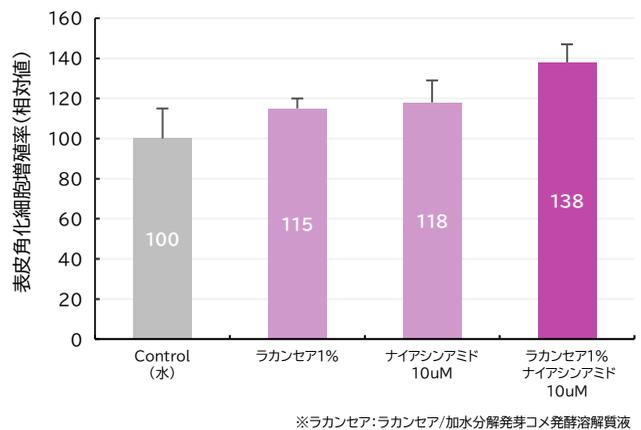


▲ 正常ヒト表皮角化細胞の培養48h後のプレートのwell撮影写真。
ラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液は、表皮角化細胞の増殖を促進することが確認された。

6. 表皮角化細胞における細胞増殖促進作用 ~ナイアシニアミドとの併用によるシナジー効果~

表皮角化細胞はターンオーバーの正常化や保湿機能に関わる成分産生(セラミド, NMF等)に寄与していることから、表皮角化細胞の増殖能を高めることは健康的で美しい肌を作り上げる上で重要である。そこで本試験では、医薬部外品におけるシワ改善の有効成分でありながら、表皮におけるバリア機能改善効果も有するナイアシニアミドとの併用による表皮角化細胞増殖能に関する評価を行った。その結果、ラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液およびナイアシニアミドの単独添加時における細胞増殖率が15%, 18%であるのに対して、併用した場合の増殖率が38%となった。つまり、それぞれの単独添加時増殖率の加算値(33%)よりも併用時増殖率(38%)の方が約1.2倍高くなったことから、ラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液とナイアシニアミドを併用することによって表皮角化細胞増殖能が相乗的に向上することが期待される。

表皮角化細胞における細胞増殖促進作用



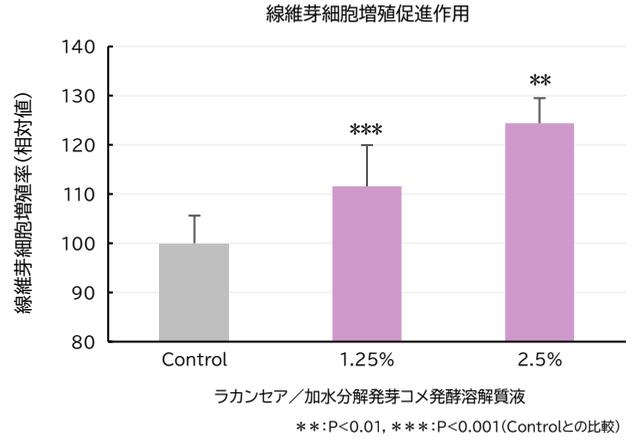
試験データ

YUKIME®

(2)真皮(線維芽細胞)への作用 ~抗シワ・ハリ改善効果~

1. 線維芽細胞における細胞増殖促進作用

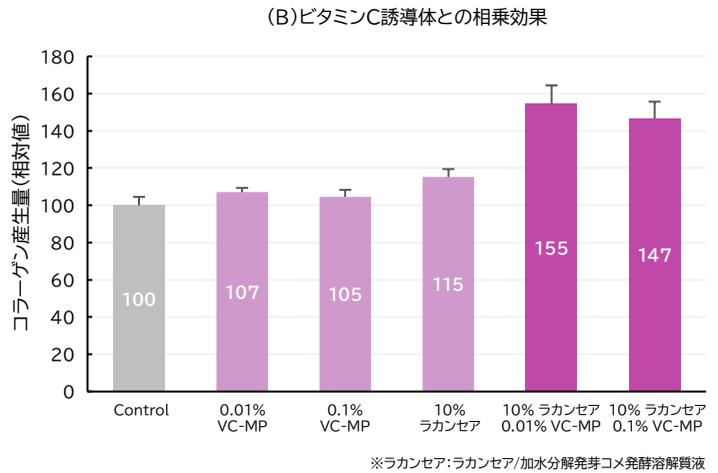
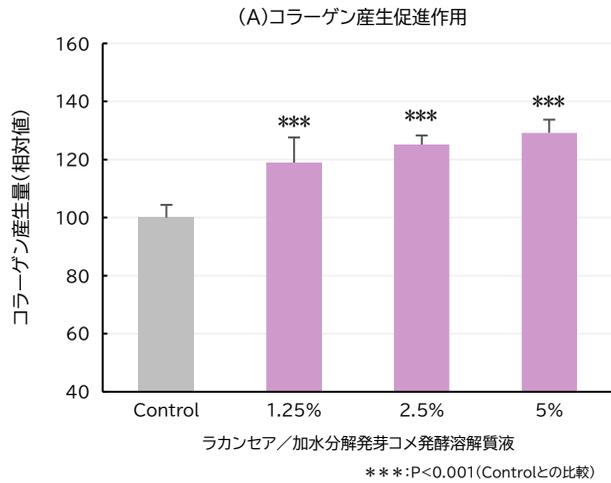
正常ヒト線維芽細胞を用いた細胞増殖試験の結果、ラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液は、植物由来成分でありながら有意に高い活性が認められた。このことからラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液は、線維芽細胞の増殖を促進することにより、細胞から作られるコラーゲンやエラスチン、ヒアルロン酸などの成分の産生も促進し、肌の老化防止効果が期待される。



2. コラーゲン産生促進作用

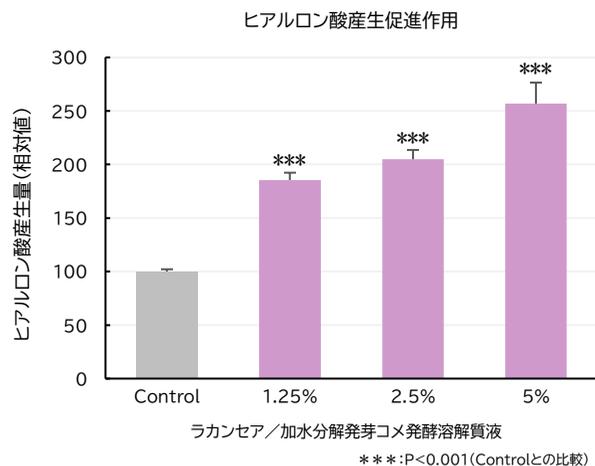
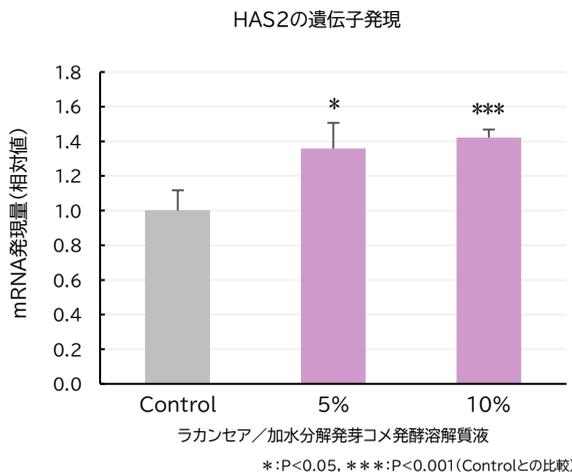
正常ヒト線維芽細胞を用いたコラーゲン産生試験の結果、ラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液は、有意なコラーゲン産生促進作用を有することが認められた(A)。さらにラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液と併用してアスコルビン酸リン酸エステルマグネシウム塩(VC-MP)存在下において、それぞれでコラーゲン生成促進作用の増強が認められた(B)。ラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液、VC-MPそれぞれ単独でのコラーゲン産生促進作用の足し合わせよりも併用した場合の方が高かったことから相乗効果が確認された。

このことからラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液は、線維芽細胞のコラーゲン産生能を高め、シワやたるみなどを改善する効果が期待される。またビタミンC誘導体と併用することで相乗効果が示唆された。



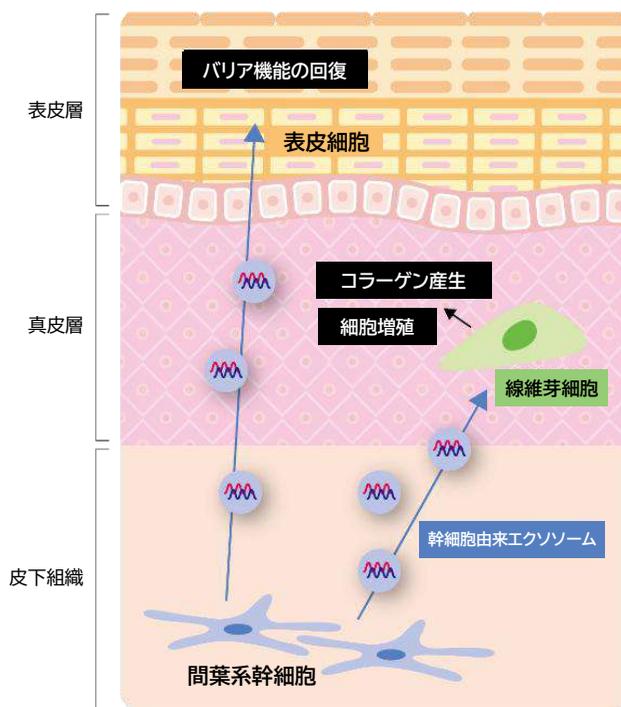
3. ヒアルロン酸産生促進作用

正常ヒト線維芽細胞を用いたヒアルロン酸産生試験の結果、ラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液は、濃度依存的にヒアルロン酸合成酵素(HAS2)のmRNA発現を促進させると共に、濃度依存的にヒアルロン酸産生能を促進することが認められた。ラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液は、線維芽細胞のコラーゲン産生能だけでなく、ヒアルロン酸産生能も促進することから、シワやたるみなどを改善する効果がよりいっそう期待される。



(3) 脂肪由来間葉系幹細胞への作用 ~幹細胞増殖・エクソソーム産生促進作用~

エクソソームとは様々な細胞が分泌する遺伝子情報(mRNA、miRNAなど)が含まれている直径100nmほどの小胞である。エクソソームは隣り合った細胞だけではなく、遠い細胞にも情報を届け、細胞間の情報伝達に重要な役割を担っている。皮下組織に存在する脂肪幹細胞は自己複製能及び多分化能を持つ間葉系幹細胞の一種である。脂肪由来間葉系幹細胞から分泌されるエクソソームが皮膚に存在する細胞に取り込まれると、その細胞の機能を制御する。表皮細胞においてはバリア機能の回復、また真皮線維芽細胞においては細胞の増殖およびコラーゲンの産生を促進するといった様々な機能を発揮する。さらに、脂肪由来間葉系幹細胞から分泌されるエクソソームが細胞の老化抑制作用も有することが報告されている。従って、脂肪由来間葉系幹細胞を活性化させることによって、エクソソームが多く分泌され、エクソソームを介する抗シワやたるみ改善及び老化抑制といった若返りのアンチエイジング効果を期待することができる。

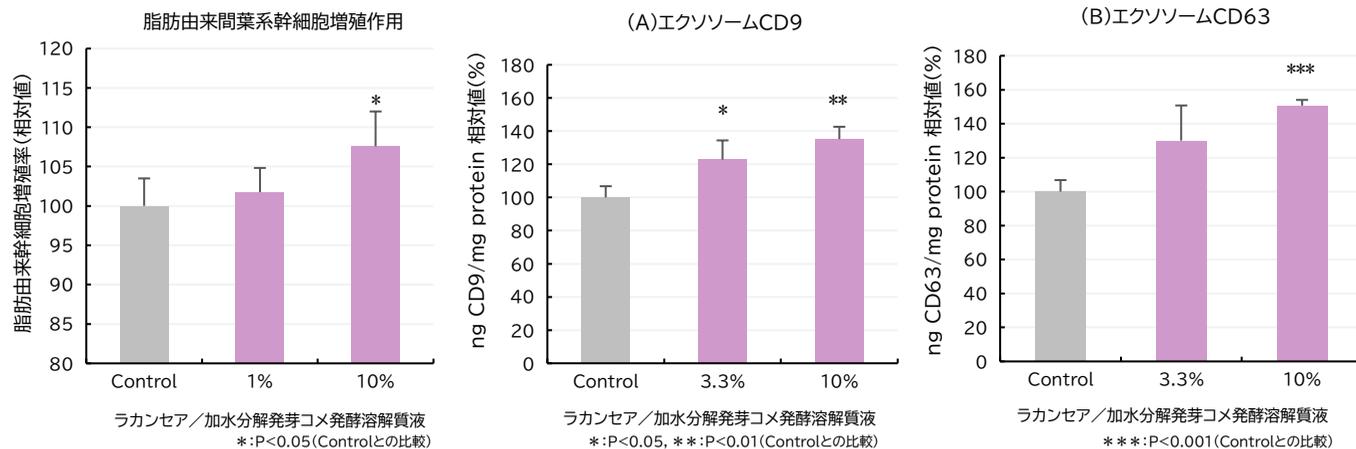


1. 脂肪由来間葉系幹細胞の増殖能

脂肪由来間葉系幹細胞を用いた細胞増殖試験の結果、ラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液は濃度依存的に細胞増殖を促進させることが示された。

2. エクソソームの産生促進作用

脂肪由来間葉系幹細胞をラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液添加培地で培養した後、その培養上清を回収した。培養上清中のエクソソーム特異的のマーカであるCD9及びCD63を用いて評価した。その結果、ラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液は濃度依存的にエクソソーム産生を促進させることが確認された(A, B)。



(4) 蛍光性AGEs生成抑制作用

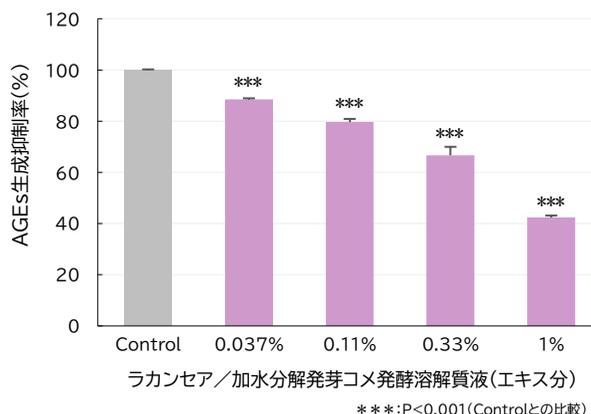
「糖化」とは生体内にあるコラーゲンなどのタンパク質と食事によって摂取した「糖」とが結びつくことで、糖化した変性タンパク質が生成され、最終的にAGEs(終末糖化産物)という異常タンパク質が生成し、年齢を重ねるとつれて体内に蓄積してしまう現象である。「糖化」が進行すると、乾燥や黄ぐすみなどの肌の老化が引き起こされる。

<試験結果>

グルコースとHSA(ヒト血清アルブミン)との糖化反応系を用いて、蛍光性AGEsに対する生成抑制効果に関する評価を行った。グルコースとHSAとの混合液にラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液を添加することで、蛍光性AGEsに対する濃度依存的な生成抑制効果が確認されたことから、YUKIMEには糖化を抑える効果が期待できる。

YUKIMEエキス分:0.9%

AGEs生成抑制作用



(5) YUKIME配合ローションでのヒト試験結果～水分保持能改善～

1. 角層水分量の変化

成人男女16名(女性11名、男性5名、平均年齢：41.4±9.5歳)を被験者、また前腕内側部を被検部位として実施した。

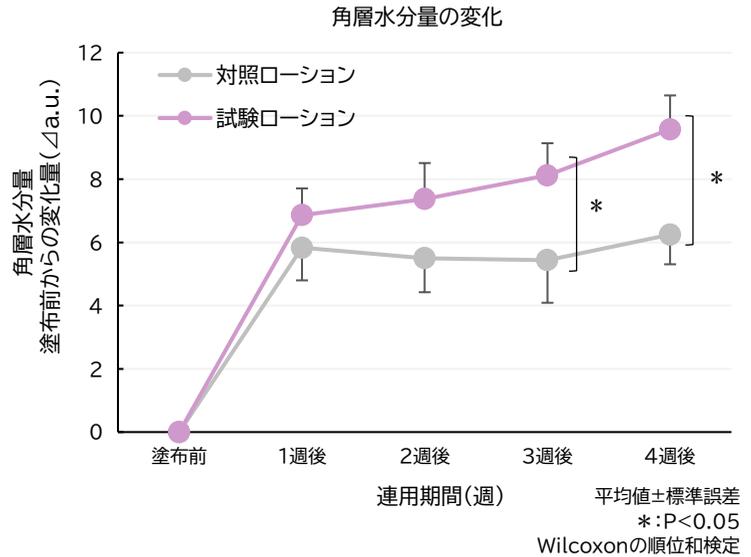
被験者は朝晩の1日2回の塗布を4週間連用し、塗布前から塗布後4週間に渡り、1週間おきに測定を行った。測定日の朝は塗布を控え、測定はマイルドな洗浄剤で両腕の被検部位を洗浄し、室温20～22℃、湿度40～45%の恒温室にて20分間の馴化後、Corneometer CM825を用いて角層水分量を測定した。被検部内5点を測定し、最大値と最小値を除く3点の平均値を採用した。

塗布は下記2種類のローションを等量、両腕の対称被検部位にそれぞれ塗り分けた。

- ・試験ローション: YUKIME 90%配合
- ・対照ローション: YUKIME 非配合
(ラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液を水に代替)

対照群に比べ、YUKIME配合の試験ローションを塗布した被検部位の角層水分量は経時的に上昇し、3週間目以降では対照群と比べて、有意な増加が確認された。

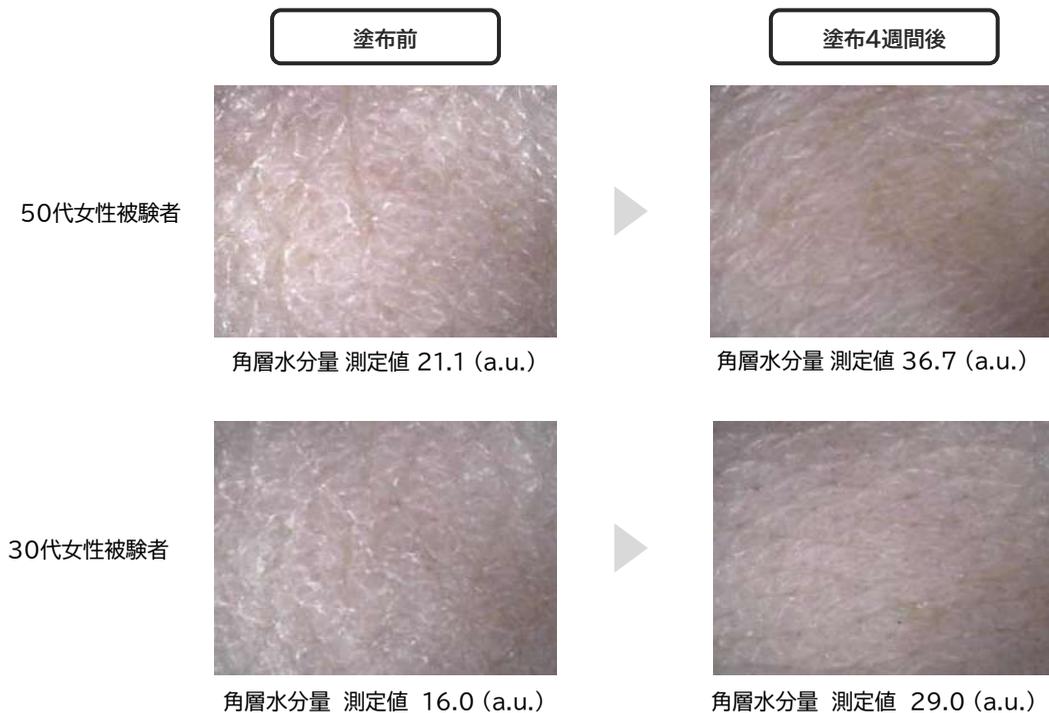
この結果から、YUKIMEは、肌の保湿力を向上する効果のあることが明らかとなった。



2. 角層水分量の上昇に伴う肌状態の変化

上記4週間の連用試験において、YUKIME配合ローションにおける塗布前と4週間連用後の肌状態を同一被検部にてドライスキンマイクロスコープMC-50T(インテグラル製)で観察した。乾燥状態で観察される鱗屑が角層水分量の上昇に伴い、減少していることが確認された。

■肌表面乾燥状態の変化



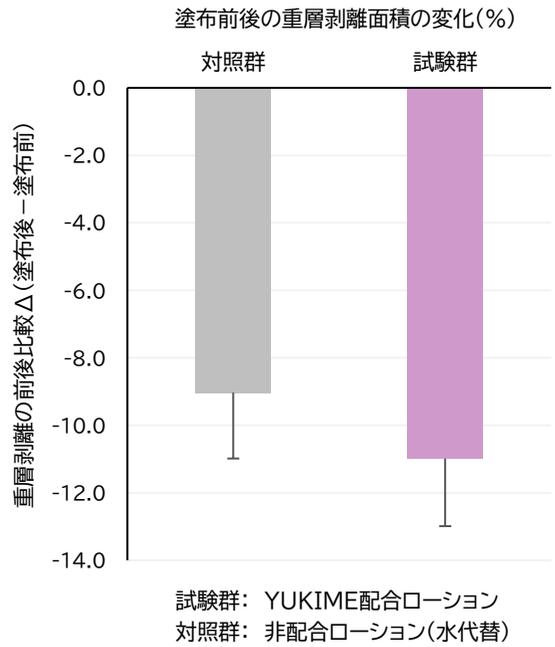
(5)YUKIME配合ローションでのヒト試験結果～角質層の健全化～

3. 角層水分量の上昇に伴う肌状態の変化
～重層剥離の減少～

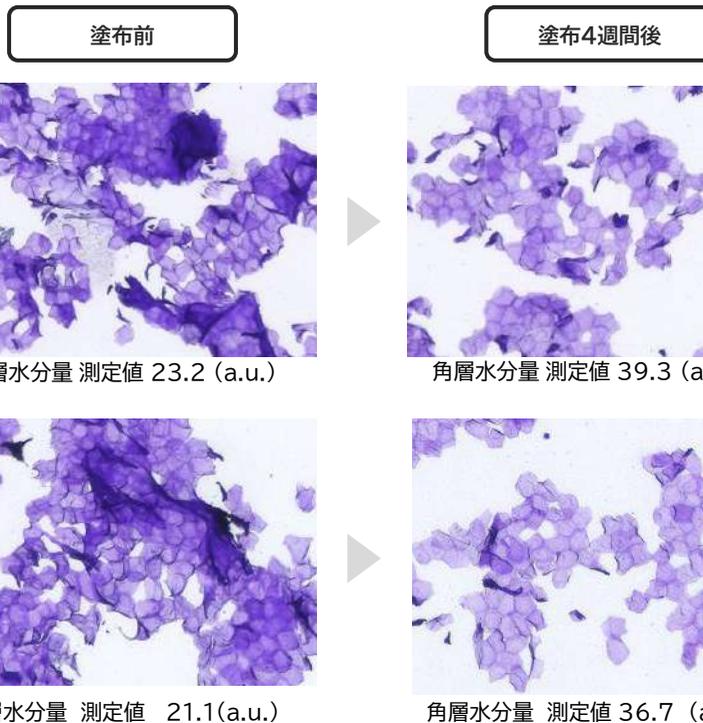
皮膚の角層を粘着テープで採取したときに、角層が重なって剥がれることを重層剥離という。重層剥離の多い皮膚は、バリア機能に劣り、肌荒れ、乾燥、炎症状態を伴うことが多い。重層の程度が大きいほど、肌荒れ状態がひどく、逆に肌状態が改善することにより、重層剥離の程度も小さくなる。そのメカニズムの一つとして、角層の水分含量が少ない乾燥状態にあると、角層細胞同士を接着しているデスモソームの分解が抑制され、角層細胞が正常より厚くなって落屑するといわれている。ターンオーバーが正常に行われていると、一層毎にきれいに重なった状態の角層になる。

ヒト試験において塗布前及び塗布4週間後、テープストリッピングにより採取した角層をゲンチアナバイオレット液にて染色を行った後、画像解析により細胞総面積及び重層剥離面積をそれぞれ抽出し、総角層細胞面積に対する重層剥離面積の割合の平均値を角層の重層剥離度合として評価した。

ヒト連用塗布試験の結果、試験群では対照群と比べて塗布前後による重層剥離面積の減少の変化量が大きかった。この結果から、YUKIMEは、肌のターンオーバーを改善し、角層を健全な状態に導くことが期待される。



■角層重層剥離状態の変化



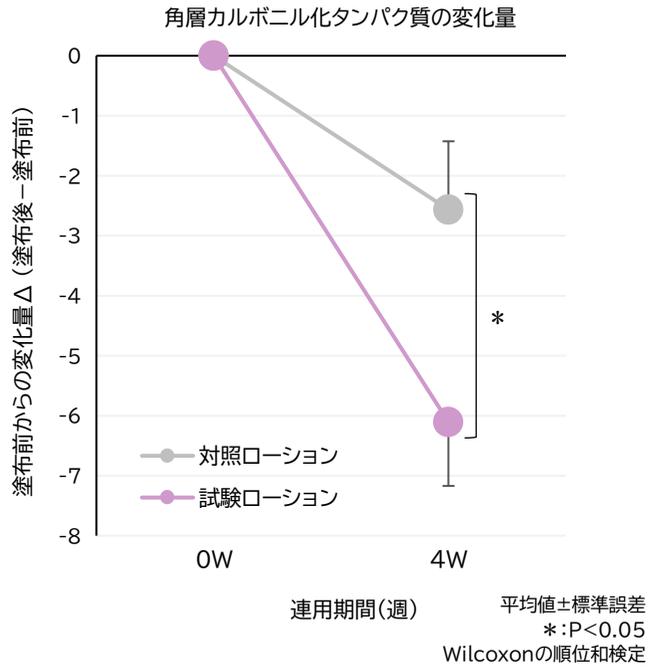
(5) YUKIME配合ローションでのヒト試験結果～水分保持能改善・肌の黄ぐすみ低減・肌の透明度向上～

4. 角層水分量の上昇に伴う肌状態の変化
～カルボニル化タンパク質の減少～

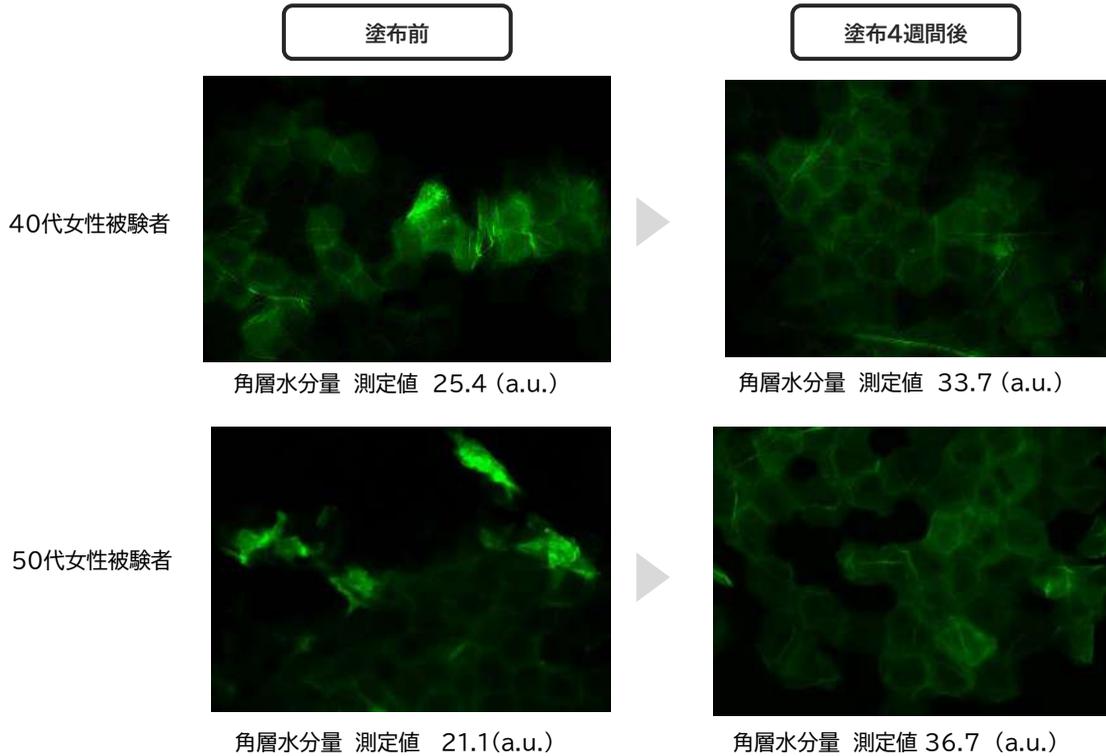
カルボニル化タンパク質は過酸化脂質の最終産物であるアルデヒド類のタンパク質への酸化修飾によって生成するが、その主な発生意因は乾燥であると言われている。また、カルボニル化タンパク質は保湿機能を低下させ、肌の黄ぐすみや透明度の低下を引き起こす。

ヒト試験において、塗布前及び塗布4週間後、テープストリッピングにより採取した角層をFluorescein-5-thiosemicarbazide (5-FTSC) と反応させて蛍光染色した後、蛍光画像解析により各画像から抽出した総細胞面積に対する蛍光輝度の細胞面積の相対値を求め、角層カルボニル化タンパク質の評価を行った。

ヒト連用塗布試験の結果、試験群では対照群と比べて有意にカルボニル化タンパク質の量が減少した。この減少効果は、YUKIMEによる角層水分量の増加効果へ寄与していると考えられ、同時に皮膚の黄ぐすみ低減や肌の透明度向上効果も、もたらすことが期待される。



■角層中カルボニル化タンパク質の変化

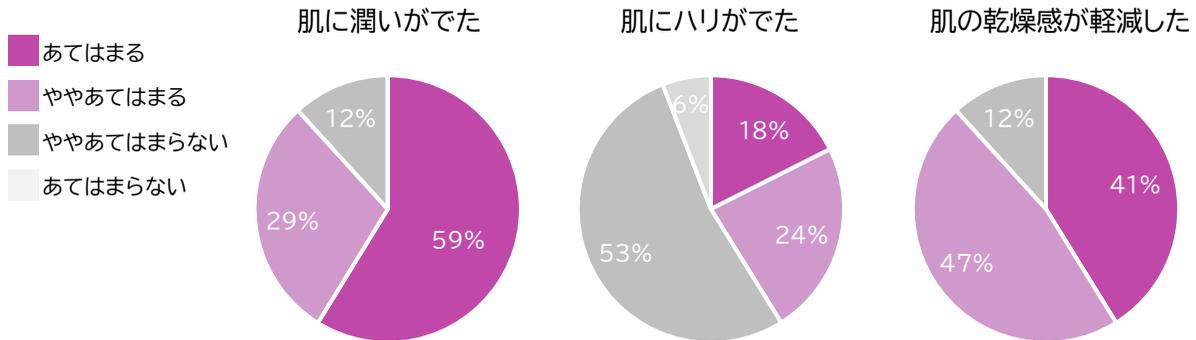


(5)YUKIME配合ローションでのヒト試験結果 ~体感アンケート~

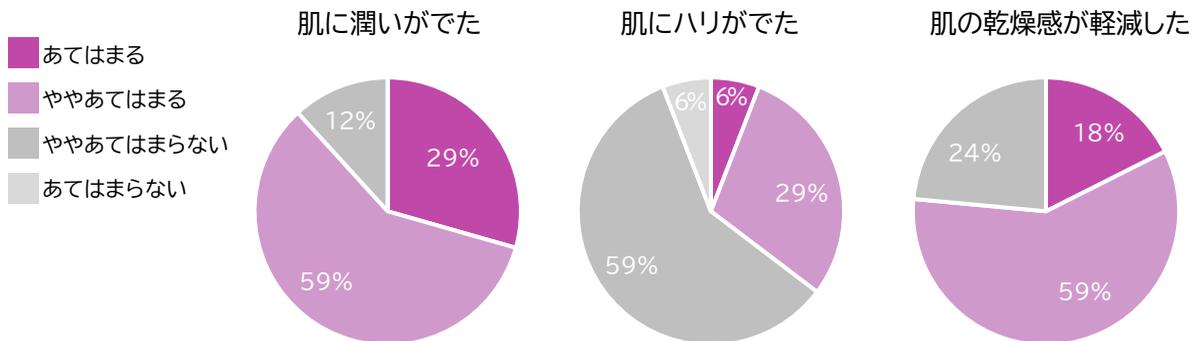
5. 試験ローション・対照ローション4週間連用塗布後のアンケートによる肌状態の実感結果

4週間の保湿連用試験において、社内被験者による4週間連用後での肌状態のアンケート調査を実施した。その結果、「肌に潤いがでた」「肌にハリがでた」「肌の乾燥感が軽減した」という項目において、「あてはまる」という評価がYUKIME配合ローションの方が多いという結果が得られた。YUKIME配合により、肌状態での実感が得られやすいことが分かった。

■試験ローション
(YUKIME配合品)



■対照ローション
(水代替配合品)



安全性試験データ

安全性試験	結果
Ames試験	陰性
皮膚刺激性試験(代替法 OECD TG439)	無刺激性
眼刺激性試験(代替法 OECD TG492)	無刺激性
光毒性試験(代替法 OECD TG 432)	陰性
ヒトパッチテスト(24時間閉塞 20名)	安全品
ヒト皮膚感作性試験 (RIPT 50名)	累積刺激性および感作性は無し

美白、抗光老化、抗酸化作用を有する
アンチエイジング素材

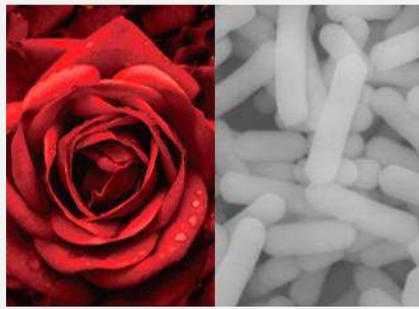
バラ花びらエキス発酵素材

LACTIBIO® ROSE

ラクティビオローズ

バラ花びらエキスをデンマーク産チーズ由来の乳酸菌で発酵させたオリジナル原料です。

美白作用、紫外線による肌老化の防止、抗酸化作用などの美容効果があります。



LACTIBIO® ROSEの特徴

～紫外線からお肌を守り、透明感のある若々しい肌へ～

- センチフォリアバラ花びらエキスを乳酸菌で発酵させた素材です。
- チロシナーゼ活性を阻害することでメラニン生成を抑制することから、美白作用が期待されます。（東洋大学との共同研究）
- 「黄ぐすみ」の原因とされるカルボニルタンパク質の生成を抑えます。
- 抗酸化作用(DPPH/OHラジカル消去能)および活性酸素による肌細胞ダメージを抑えることが確認されました。
- 紫外線照射によって惹き起こされる肌細胞ダメージおよびコラーゲンの破壊を抑えることが確認されました。
- その他美肌効果としてコラゲナーゼ阻害、ヒアルロニダーゼ阻害、エラスターゼ阻害作用が確認されました。

製品名		LACTIBIO® ROSE
化粧品	表示名称	INCI名
	乳酸桿菌／センチフォリアバラ花エキス発酵液	Lactobacillus/Ro Centifolia Flower Extract Ferment Filtrate
	プロパンジオール	Propanediol
	フェノキシエタノール	Phenoxyethanol

規格項目	規格	試験法
性状	褐色～暗褐色の液体で特異臭あり	官能検査法
pH	4.0～5.5	外原規一般試験法
蒸発残分	0.8%以上	常圧加熱乾燥法
比重	1.000～1.030	振動式密度計
純度試験(1)重金属	20ppm以下	外原規一般試験法
純度試験(2)ヒ素	2.0ppm以下	外原規一般試験法
一般生菌数	100cfu/mL以下	SCDLP寒天培養法
大腸菌群	陰性	AOAC法(ペトリフィルム法)
カビ・酵母	100cfu/mL以下	AOAC法(ペトリフィルム法)

紫外線による肌ダメージ(光老化)

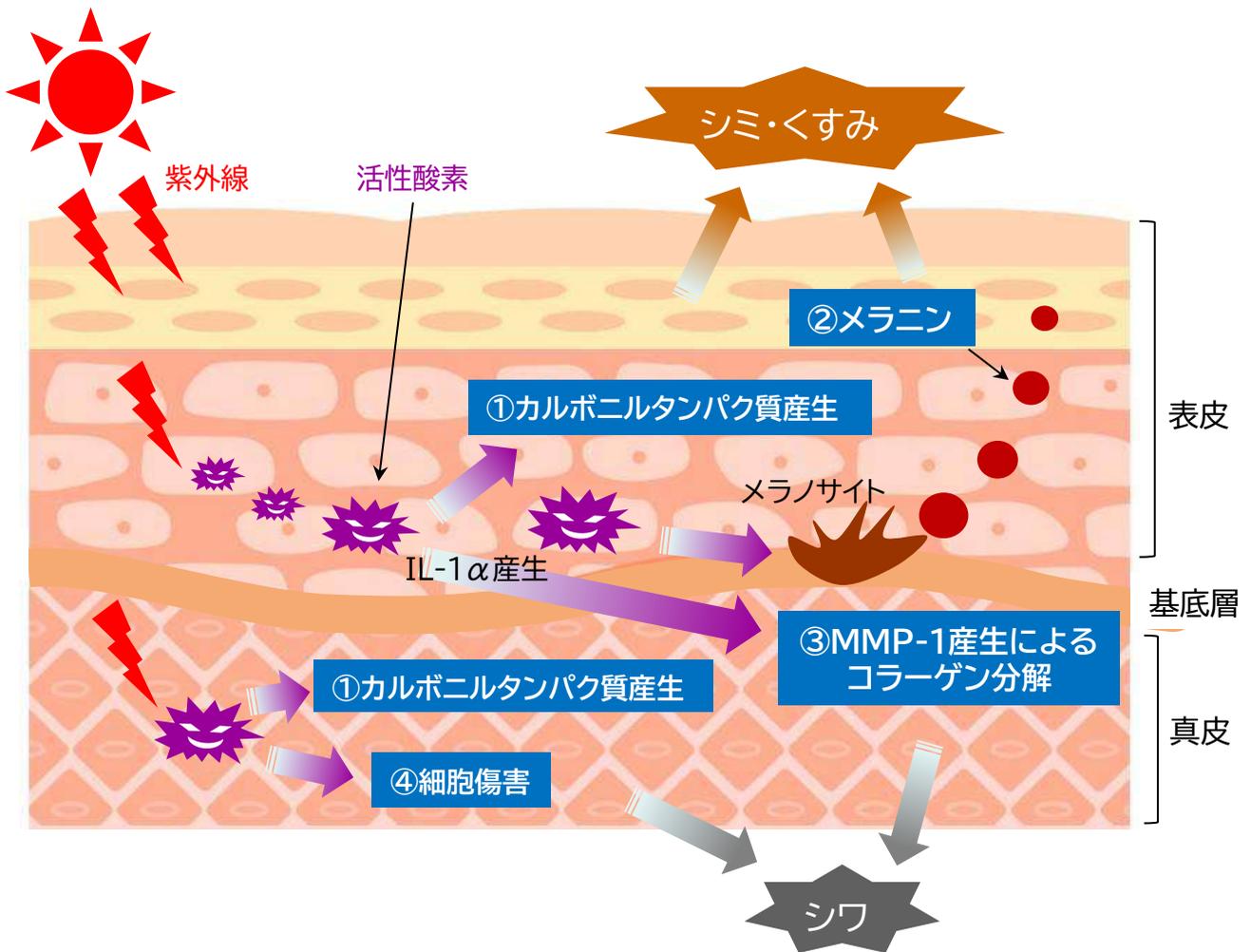
太陽光の中の紫外線に曝されると皮膚の表面で活性酸素が発生し、皮膚に様々なダメージを与え老化を進めます。下図はその紫外線による皮膚ダメージの一部を示したものです。

<紫外線によるダメージ>

- ① 角層タンパク質および真皮タンパク質のカルボニル化が進み「黄ぐすみ」の原因となります。
- ② メラノサイトが活性化されチロシナーゼが生成されます。生成されたチロシナーゼはアミノ酸の一種であるチロシンと反応し、最終的にメラニンを生成します。
- ③ 角層においてサイトカインIL-1 α の産生が進みます。IL-1 α は線維芽細胞のコラーゲン分解酵素MMP-1の産生を促進させ、コラーゲンの分解を進めます。
- ④ 細胞内DNAを損傷させ、細胞傷害を惹き起こします。

肌老化の原因は紫外線！

顔や手のように直接紫外線を浴びることが多い肌の老化原因の約8割は紫外線による光老化にあるといわれています。



試験データ

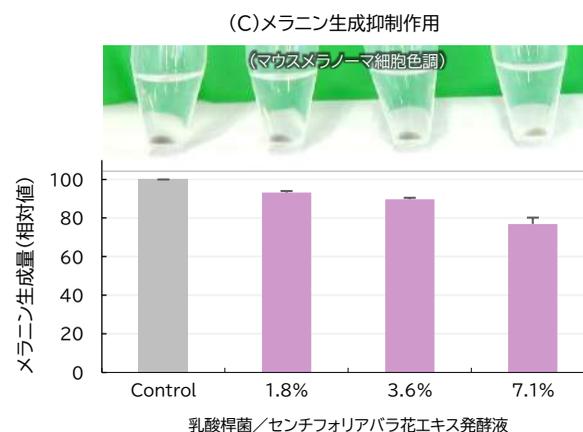
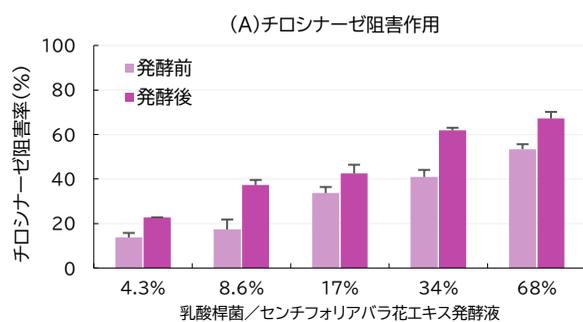
LACTIBIO® ROSE

(1)美白作用

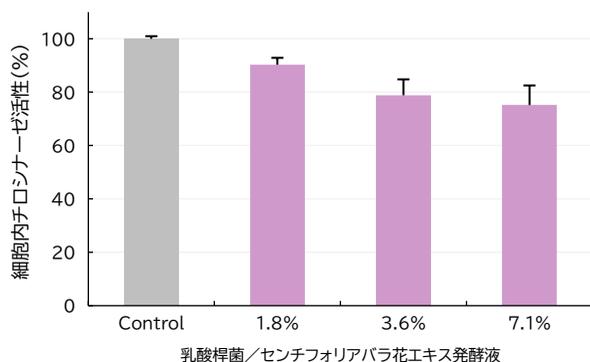
乳酸桿菌／センチフォリアバラ花エキス発酵液の美白効果を評価するためにチロシナーゼ阻害作用、マウスメラノーマ細胞を用いたメラニン生成抑制作用について調べた。

その結果、発酵によりチロシナーゼ阻害作用の高くなることが確認された(A)。さらに発酵によって得られた乳酸桿菌／センチフォリアバラ花エキス発酵液は、細胞内チロシナーゼを阻害することにより(B)、メラニンの生成を抑えることが確認された(C)。

このことから、乳酸桿菌／センチフォリアバラ花エキス発酵液はシミ予防効果が期待される。



(B)細胞内チロシナーゼ阻害作用

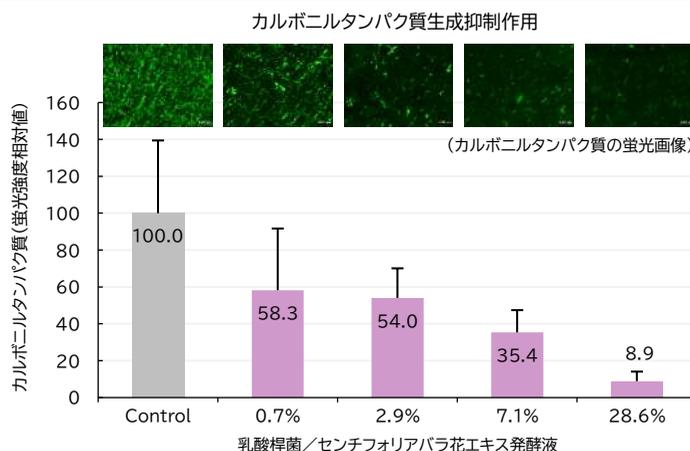


(2)黄ぐすみ防止(カルボニルタンパク質生成阻害作用)

紫外線により角層タンパク質および真皮タンパク質のカルボニル化が進むと、「黄ぐすみ」の原因となる。本試験では、テープストリッピング法により採取した角層を用いた。乳酸桿菌／センチフォリアバラ花エキス発酵液の存在下において紫外線照射により生成するカルボニルタンパク質を5-FTSCと反応させて蛍光染色した後、蛍光画像解析によりカルボニルタンパク質の生成抑制作用を評価した。

その結果、紫外線照射(10J/cm²)により、角層中のカルボニルタンパク質は増加することが確認されたが、乳酸桿菌／センチフォリアバラ花エキス発酵液を添加することにより、カルボニルタンパク質の生成が抑えられることが確認された。

皮膚タンパク質のカルボニル化は「黄ぐすみ」の原因とされている。乳酸桿菌／センチフォリアバラ花エキス発酵液はカルボニルタンパク質の生成を抑制することにより、「黄ぐすみ」を抑え、肌の透明感を保つ効果のあることが示された。

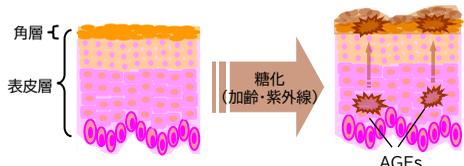


3)黄ぐすみ・老化防止(AGEs生成抑制作用)

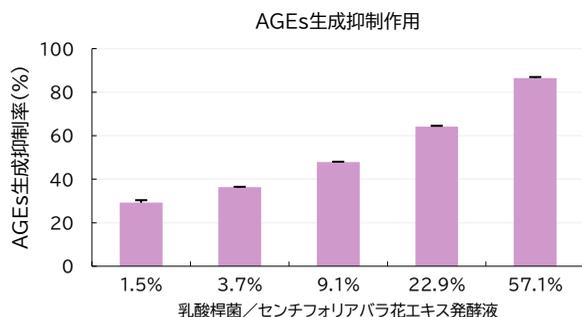
加齢により角層セラチンおよび真皮コラーゲンの糖化が進むと終末糖化産物(AGEs)が形成される。AGEs=「老化物質」とも言われ、肌でAGEsが形成されるとタルミ、シワなどの老化現象をもたらす。また、表皮細胞で形成されたAGEsは、角化とともに角層まで持ち込まれ、その結果として皮膚の透明感を低下させるといわれている(「第27回 IFSCC Congress」(2009国際化粧品技術者会連盟))。ここでは乳酸桿菌／センチフォリアバラ花エキス発酵液の存在下において、グルコースとH(ヒト血清アルブミン)の糖化反応系によりAGEs生成抑制作用を評価した。AGEs生成量の測定は蛍光強度測定により実施した。

その結果、乳酸桿菌／センチフォリアバラ花エキス発酵液は、AGEs生成抑制作用が確認され、抗糖化作用のあることがわかった。このことから乳酸桿菌／センチフォリアバラ花エキス発酵液は、糖化による肌の老化(タルミ・シワ)を防止し、角層セラチンの糖化を抑制することで肌の透明感を保つ効果が期待できる。

表皮におけるAGEs形成と角層への持込み



参考: Kawabata K: Aging materials with rapid turnover are produced in the epidermis; skin distribution of advanced glycation end product (AGE). Proceedings of the 136th FJ Seminar pp13-17,2009 (in Japanese)

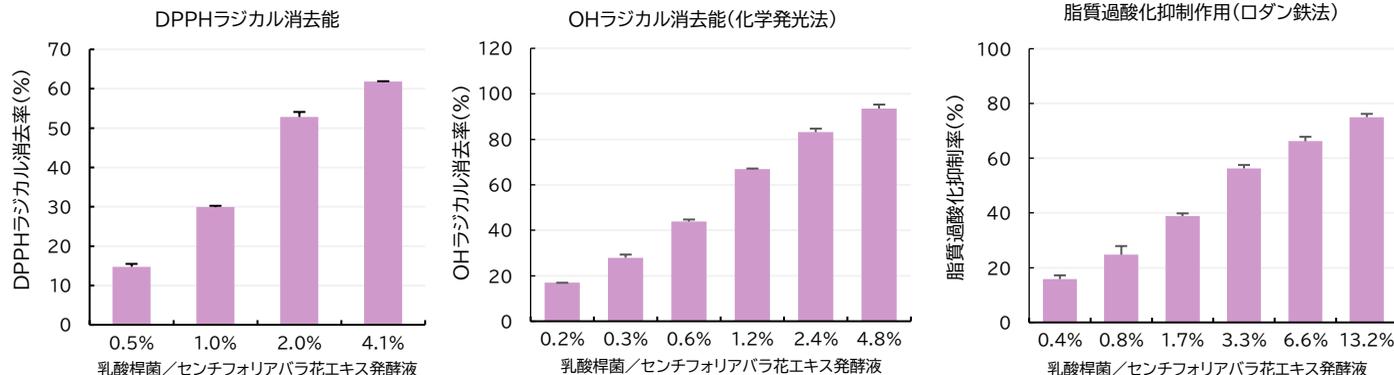


試験データ

LACTIBIO® ROSE

(4)抗酸化作用

乳酸桿菌／センチフォリアバラ花エキス発酵液の抗酸化能を評価するために、DPPHラジカル消去能、OHラジカル消去能および脂質過酸化抑制作用について評価した。OHラジカル消去能は、フェントン反応により発生するOHラジカルを発光基質ルミノールを用いた化学発光法により測定した。脂質過酸化抑制作用は、ロダン鉄法によりリノール酸の過酸化度として評価した。その結果、いずれの評価法においても、乳酸桿菌／センチフォリアバラ花エキス発酵液は明らかな抗酸化能が確認された。このことから、乳酸桿菌／センチフォリアバラ花エキス発酵液は、紫外線照射により発生する活性酸素が原因で肌が受けるダメージを抑えることが期待される。



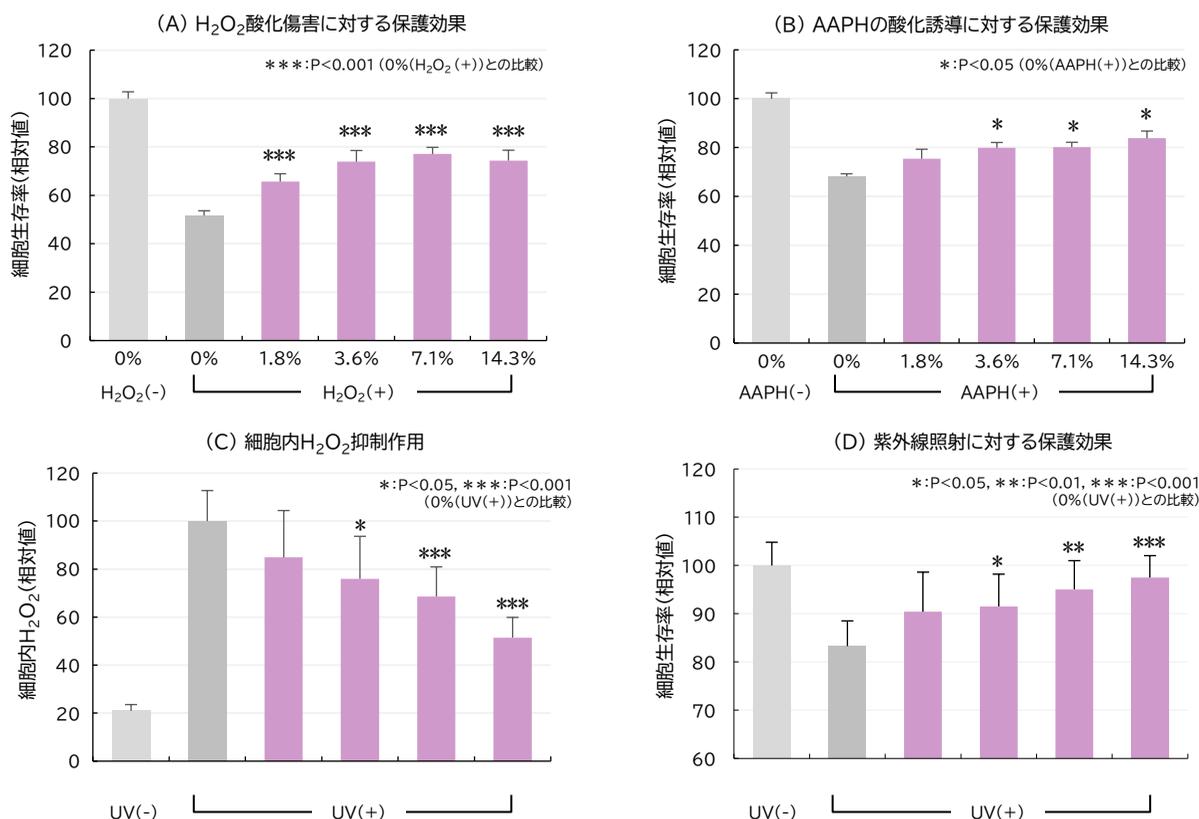
(5)紫外線照射に対する保護効果(細胞における抗酸化作用)

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促進することにより細胞傷害を惹き起こす。本試験では、皮膚真皮に存在する正常ヒト皮膚線維芽細胞を用いて酸化ストレスに対する乳酸桿菌／センチフォリアバラ花エキス発酵液の抗酸化能を評価した。

まず、活性酸素種として過酸化水素(H₂O₂)およびペルオキシラジカル発生剤のAAPH(2,2'-azobis[2-aminodipropyl]dihydrochloride)を線維芽細胞に暴露した場合の抗酸化能を細胞生存率として評価した。過酸化水素は、細胞内で生じる活性酸素のうち、最も長寿命である事に加え、細胞傷害性がきわめて高いヒドロキシラジカルを発生する。また、ペルオキシラジカルは、多価不飽和脂肪酸のフリーラジカル連鎖反応を通じて細胞膜傷害を起す活性酸素種である。

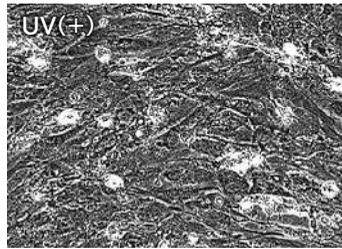
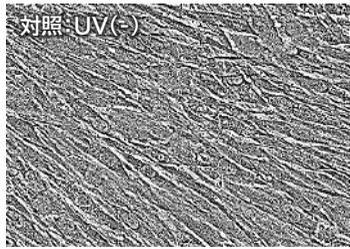
下図(A、B)に示すように乳酸桿菌／センチフォリアバラ花エキス発酵液は、過酸化水素およびAAPHペルオキシラジカルどちらの酸化傷害に対しても抑制し、細胞保護効果のあることが確認された。さらに、紫外線照射により誘導される酸化ストレスに対する抗酸化能を評価した。紫外線により線維芽細胞内の過酸化水素は増加し、その結果として細胞は酸化傷害を受け生存率の低下を来す(C、D)。乳酸桿菌／センチフォリアバラ花エキス発酵液は、この紫外線による過酸化水素の発生を抑え、酸化傷害による細胞生存率の低下を抑制することが確認された。このことは線維芽細胞の顕微鏡画像からも確認され、紫外線により細胞が破壊されるが、乳酸桿菌／センチフォリアバラ花エキス発酵液がそのダメージを抑えている。以上のことから、乳酸桿菌／センチフォリアバラ花エキス発酵液は、皮膚細胞内の活性酸素の発生を抑えることにより紫外線から受ける肌ダメージを軽減し、光老化を防止することが期待される。

(※各グラフX軸は乳酸桿菌／センチフォリアバラ花エキス発酵液の濃度を示している)



(5)紫外線照射に対する保護効果(細胞における抗酸化作用)

■線維芽細胞画像(紫外線照射の影響)



(細胞が破壊され形が崩れている)

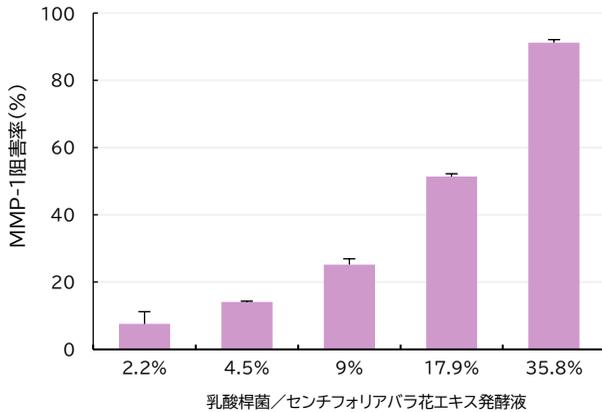
(細胞の破壊が抑えられ形を維持している)

(6)紫外線照射に対する保護効果(コラーゲン分解抑制による抗シワ作用)

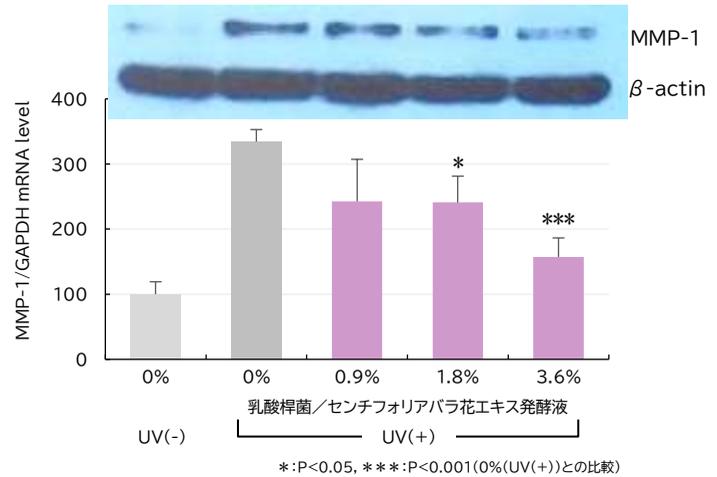
皮膚が紫外線に曝されると角層においてサイトカインIL-1 α の産生が進む。さらにIL-1 α は、線維芽細胞のI型コラーゲン分解酵素MMP-1の遺伝子発現および産生を促進し、その結果コラーゲンの分解が進む。これが紫外線によるシワ形成のメカニズムの1つである。本試験では、乳酸桿菌/センチフォリアバラ花エキス発酵液の紫外線による皮膚コラーゲンダメージへの影響を調べることを目的として、(A)IL-1 α により誘導した線維芽細胞のMMP-1に対する阻害作用、(B)紫外線によるMMP-1のmRNA発現およびタンパクレベルの発現抑制作用について評価した。

その結果、乳酸桿菌/センチフォリアバラ花エキス発酵液は、IL-1 α により誘導されるMMP-1の活性を阻害し、さらには、紫外線によるMMP-1のmRNA発現およびタンパク質レベルでの抑制効果が確認された。これらの結果から、乳酸桿菌/センチフォリアバラ花エキス発酵液は、紫外線照射により促進されるI型コラーゲン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1つであるシワ形成を防止することが期待される。

(A) 線維芽細胞MMP-1阻害作用 (IL-1 α 誘導)



(B) MMP-1 mRNA発現およびタンパク質レベルの発現抑制

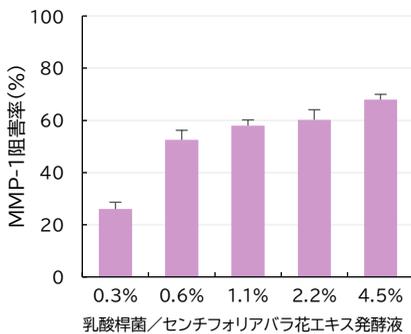


(7)抗シワ作用(コラゲナーゼ、ヒアルロニダーゼ及びエラスターゼ阻害作用)

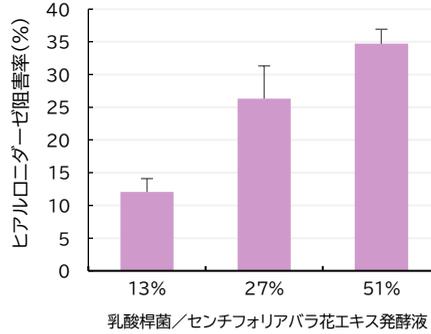
真皮には、I型コラーゲン、エラスチン、ヒアルロン酸などの細胞外マトリックスとよばれる成分があり、これら成分により肌のハリや弾力、瑞々しさが保たれシワができにくい肌状態が維持される。これら細胞外マトリックス成分は線維芽細胞により合成されるが、一方で線維芽細胞が産生する酵素により分解される。これら細胞外マトリックス成分の合成分解のバランスの変化が、皮膚のシワやたるみの原因のひとつとして考えられている。本試験では、乳酸桿菌/センチフォリアバラ花エキス発酵液の抗シワ作用を評価するために細胞外マトリックス成分の分解酵素阻害作用について調べた。

その結果、乳酸桿菌/センチフォリアバラ花エキス発酵液は、I型コラゲナーゼ、ヒアルロニダーゼ及びエラスターゼのいずれに対しても阻害作用を示した。このことから乳酸桿菌/センチフォリアバラ花エキス発酵液は、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、瑞々しさを維持し、その結果としてシワ形成を抑えることが期待できる。

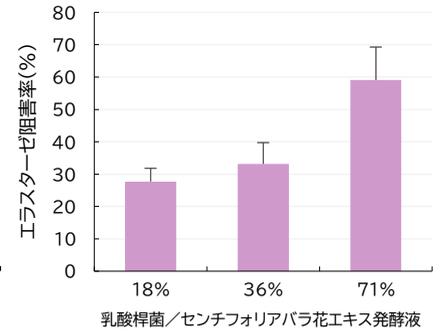
MMP-1 (I型コラゲナーゼ)阻害作用



ヒアルロニダーゼ阻害作用



エラスターゼ阻害作用



(8) LACTIBIO ROSE配合ローションでの保湿効果

成人男女13名(女性6名、男性7名)を被験者、また前腕内側部を被検部位として実施した。

ぬるま湯で両腕の被検部位を洗浄し、15分間の馴化後、下記2種類のローション250μLを両腕の被検部位に塗り分けた。各ローションの塗布前及び塗布後7分毎にCorneometer CM825を用いて角層水分量を測定した。

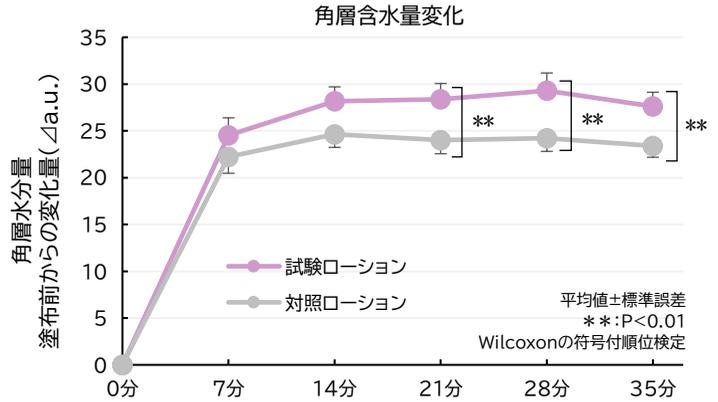
・試験ローション: LACTIBIO ROSE 50%配合

・対照ローション: LACTIBIO ROSE非配合

(乳酸桿菌/センチフォリアバラ花エキス発酵液を水に代替)

対照ローション塗布に比べLACTIBIO ROSE配合の試験ローション塗布の方が角層水分量が高く、その高い状態が維持され、時間の経過に伴い有意差が確認された。

この結果から、乳酸桿菌/センチフォリアバラ花エキス発酵液は、肌の保湿力を維持する効果のあることが明らかとなった。



(9) LACTIBIO ROSE配合ローション塗布による美肌効果

37~51歳の成人女性11名(平均年齢:44.9±1.4歳)を対象に、2024年12月上旬から2025年3月上旬までの12週間、LACTIBIO ROSEを配合したローションの塗布試験を実施した。被験者には、同ローションを朝・晩の1日2回、顔全体に塗布してもらった。測定は塗布前(0週目)、4週目、8週目、12週目に行った。測定当日は洗顔後、20±2℃・湿度50±10%の測定室で約20分間の馴化を行い、以下の項目を左頬で測定した。

・角層水分量: Corneometer CM825 (5回測定の平均値)

・皮膚粘弾性: Cutometer MPA580 (1回測定)

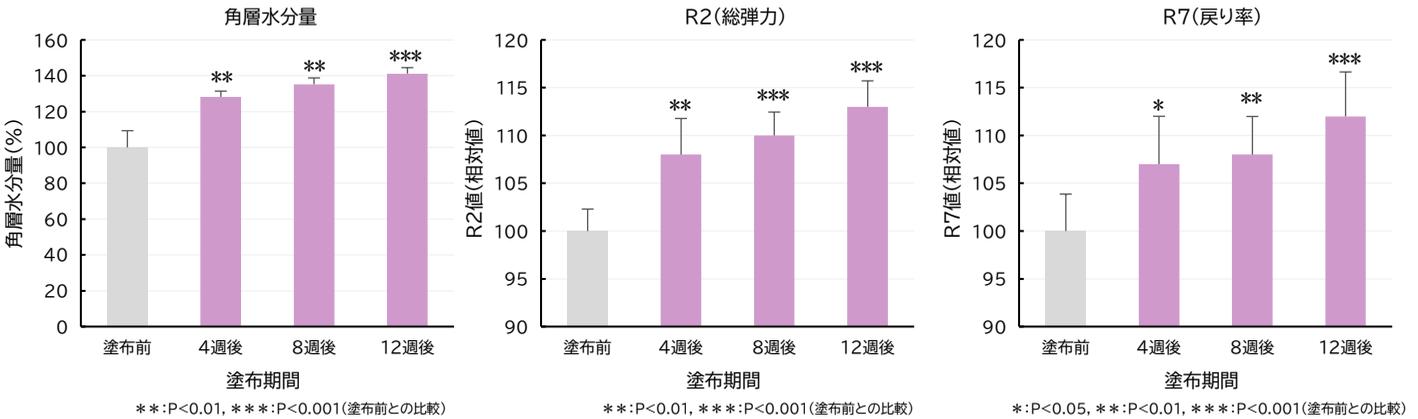
・顔画像解析: VISIA Evolution

データ解析では、塗布前(0週目)を100とした相対値で算出した。さらに、12週間の試験終了後には、被験者に体感変化に関するアンケートを実施した。

(1) 角層水分量および肌弾力の変化

・角層水分量: 塗布前(0週目)と比較して、4週後、8週後、12週後のすべての時点で有意に上昇した。

・皮膚粘弾性: 皮膚弾力性指標であるR2(Ua/Uf)総弾力およびR7(Ur/Uf)戻り率の値は、4週後、8週後、12週後のいずれにおいても有意に上昇した。

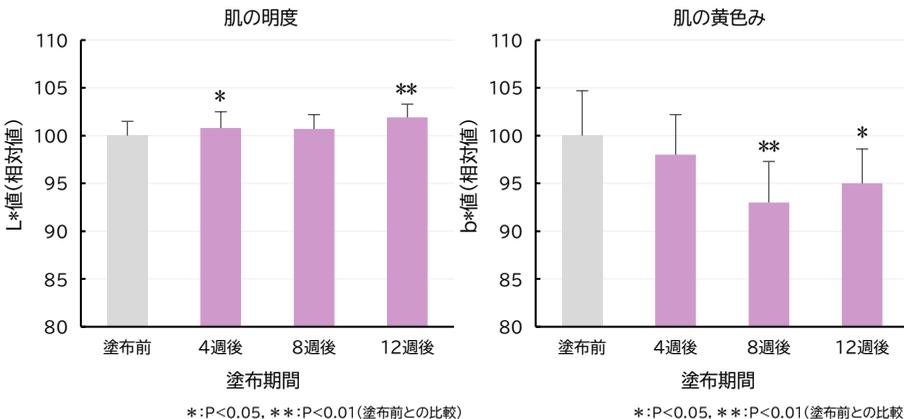


(2) VISIA画像解析による肌明度・色みの変化

・肌の明度(L*): 明度を示すL*値は、塗布前(0週目)と比較して4週後および12週後において有意に上昇した。

・肌の黄色み(b*): 黄色みの指標であるb*値は、塗布前(0週目)と比較して8週後および12週後において有意に低下した。

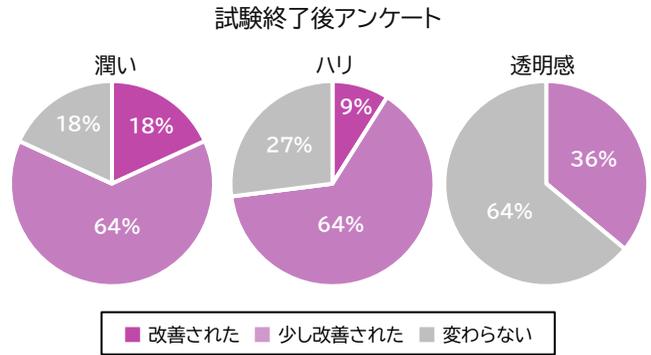
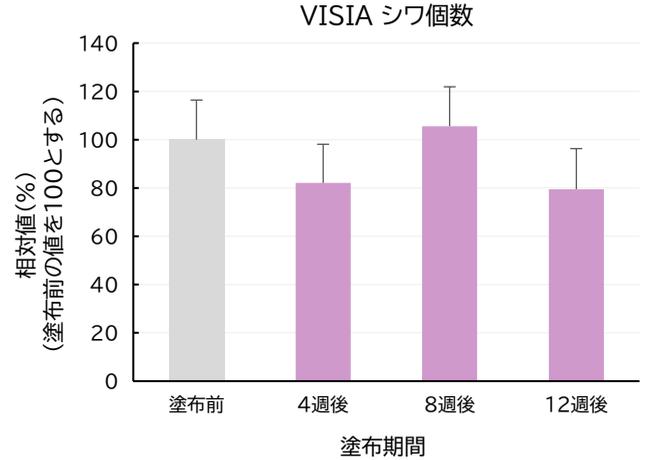
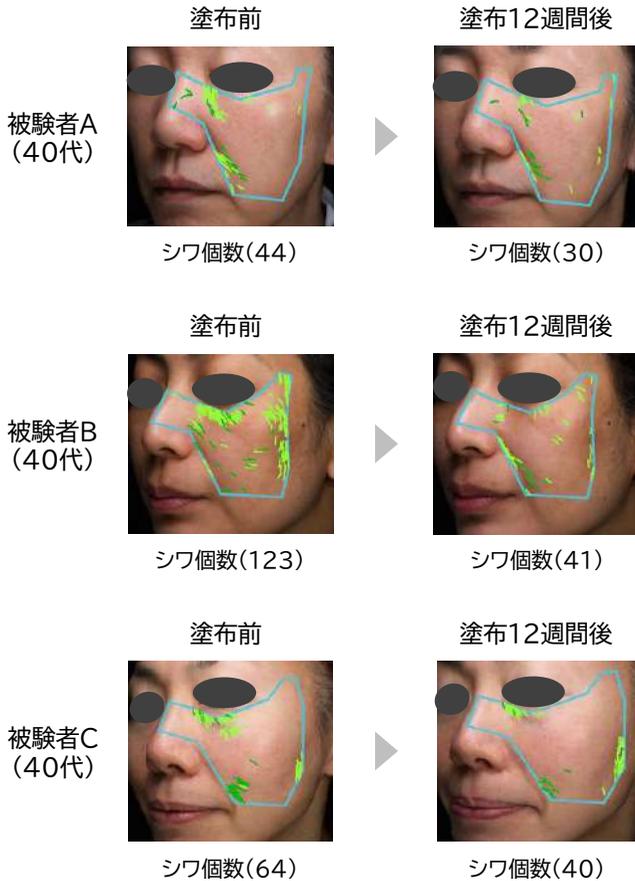
これらの結果から、LACTIBIO ROSEを配合したローションの継続塗布により、肌における透明感の向上や黄ぐすみの軽減が期待される。



(9)LACTIBIO ROSE配合ローション塗布による美肌効果

(3)VISIA画像解析によるシワの改善

VISIA 画像解析により算出したシワスコアの相対値を用いて評価したところ、塗布前(0週目)と比較して4週後にシワ数の減少が確認された。8週後には一時的に塗布前の状態に近づく傾向が見られたが、これは年間で最も気温・湿度が低く、肌が乾燥しやすい2月の環境要因の影響である可能性が考えられる。しかし、塗布を継続した結果、12週後には再びシワ数が減少し、11名中9名で小じわの改善が認められた。また、塗布試験終了後に回収したアンケートでは、シワそのものの自覚改善は明確ではなかったものの、「潤い」や「ハリ」については改善を感じた回答が多く、保湿・弾力性の向上に対する満足度が高い結果となった。



安全性試験データ

安全性試験	結果
Ames試験	陰性
皮膚刺激性試験(代替法 OECD TG439)	無刺激性
眼刺激性試験(代替法 OECD TG 492)	無刺激性
光毒性試験(代替法 OECD TG 432)	陰性
ヒトパッチテスト(24時間閉塞 20名)	安全品
ヒト皮膚感作性試験(RIPT 50名)	累積刺激性および感作性は無し

抗シワ、ハリ改善、バリア機能改善
水分保持機能改善、エクソソーム産生促進、
老化抑制、創傷治癒素材

米糠・大豆エキス納豆菌発酵素材

CELABIO®

セラビオ

米ぬかと大豆抽出物を納豆菌で発酵させた安全性の高い植物性素材です。皮膚細胞に働きかけて、抗シワ・ハリ改善、バリア機能・水分保持機能改善などの美容効果があります。



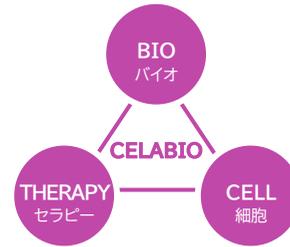
CELABIO®の特徴

- 非常に安全性の高い植物性天然素材です。
- 真皮(線維芽細胞)への作用『抗シワ・ハリ改善』
優れた細胞増殖促進作用やコラーゲン、ヒアルロン酸産生促進作用を有します。
- 表皮(角化細胞)への作用『バリア機能・水分保持機能改善』
セラミド、インボルクリン、ヒアルロン酸およびフィラグリン産生を促進させます。
- 脂肪由来間葉系幹細胞への作用『エクソソーム産生促進・老化防止』
幹細胞増殖及び幹細胞からのエクソソーム産生を促進させます。
(特許第7755321号)
また、老化線維芽細胞に対する老化抑制効果も確認されました。
- ヒト試験にて抗シワ・ハリ改善効果を確認しました。
- 他素材との併用による相乗効果(線維芽細胞増殖促進作用)を確認しました。レチノールとの相乗効果(特許第4945556号)
大豆ペプチド、シルクペプチドとの相乗効果(特許第4945692号)

CELABIO®ネーミングの由来

CELL(細胞)+THERAPY(セラピー・治療)+BIO(バイオ)

CELABIOは、CELL(細胞)、THERAPY(セラピー・治療・癒し)、BIO(バイオ)の3つの要素から作られた原料ブランドです。肌細胞に働きかけて、肌や体の状態を整える原料を東洋発酵独自の発酵の力で作り上げました。



製品名	CELABIO®
表示名称	INCI名
バチルス/(コメヌカエキス/ダイズエキス)発酵液*	Bacillus/Rice Bran Extract/Soybean Extract Ferment Filtrate
水	Water
フェノキシエタノール	Phenoxyethanol
エタノール	Alcohol

*)中国名称:芽孢杆菌/米糠提取物/大豆提取物发酵产物滤液

規格項目	規格	試験法
性状	淡褐色から黄褐色の半透明な液体で、わずかに特異臭あり	官能検査法
確認試験(1)	液は紫色を呈する	ニンヒドリン反応法
確認試験(2)	液の界面に赤紫色の環を生じる	モーリッシュ反応法
pH	5.5~7.0	外原規一般試験法
強熱残分	2.0%以下	外原規一般試験法
蒸発残分	0.8%以上	常圧加熱乾燥法
比重	実測値	外原規一般試験法
純度試験(1)重金属	20ppm以下	外原規一般試験法
純度試験(2)ヒ素	2.0ppm以下	外原規一般試験法
一般生菌数	100cfu/mL以下	SCDLP寒天培養法
大腸菌群	陰性	AOAC法(ペトリフィルム法)
カビ・酵母	100cfu/mL以下	AOAC法(ペトリフィルム法)
黄色ブドウ球菌	陰性	AOAC法(ペトリフィルム法)
緑膿菌	陰性	日本薬局方

イントロダクション

CELABIO®

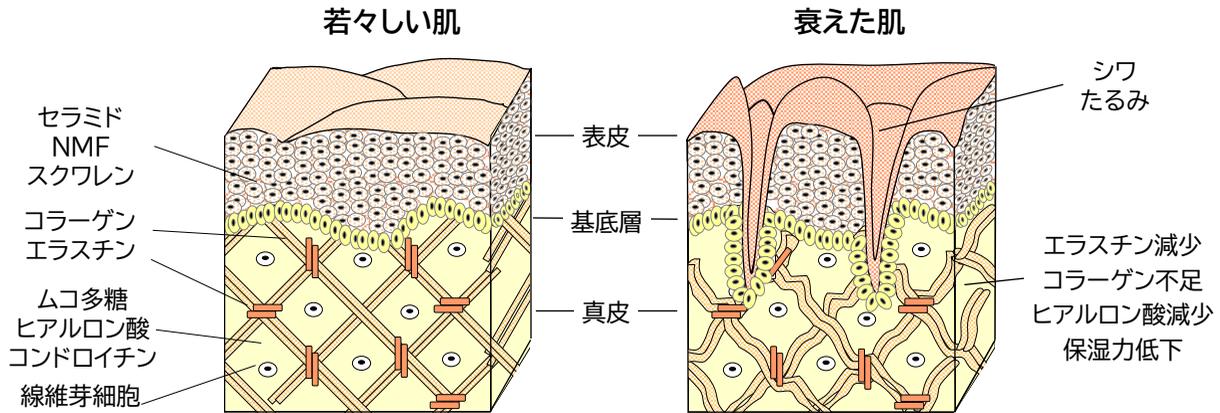
皮膚の真皮と表皮にはたらきかける

抗シワ・老化防止効果

皮膚表皮の内側にある真皮は、皮膚組織の主要な部分を構成しており、肌の本体ともいえます。真皮は、線維状のタンパク質であるコラーゲンがその大部分を占め、その間をヒアルロン酸などのゼリー状の成分が水分を抱えながら満たしています。そしてこれらの成分を生成する細胞を線維芽細胞といい、皮膚のマトリックス構造を形成することで、肌の健康が保たれています。

皮膚の老化は、皮膚を構成している線維芽細胞の機能低下、さらには細胞外マトリックス成分であるコラーゲンやヒアルロン酸の産生能力の低下によって引き起こされます。その結果、皮膚を支えていたマトリックス構造が保てなくなり、水分も低下してシワやたるみが生まれてきます。

CELABIOは、線維芽細胞の増殖と、コラーゲンとヒアルロン酸産生を促進することによって、老化から肌を守り、体内から皮膚や細胞、皮膚の新陳代謝を高める機能を持っています。

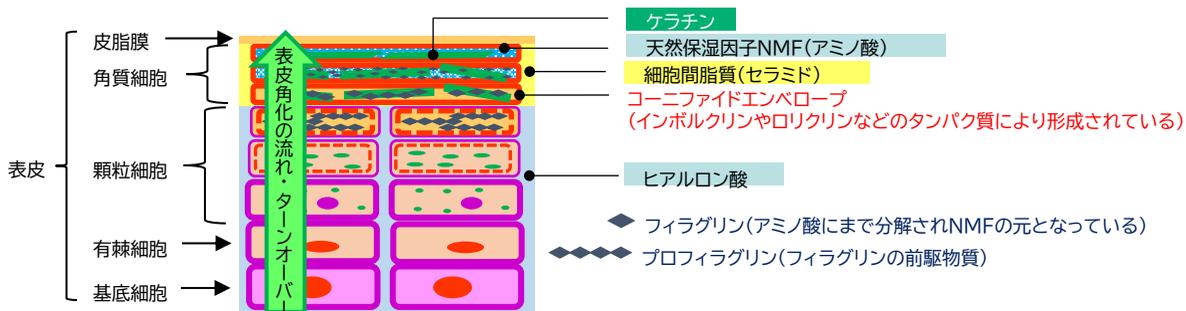


バリア機能・水分保持機能改善効果

皮膚のバリア機能は、表皮角層の内側の水分の蒸散を防ぎ、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ます。表皮はさらに角層、顆粒層、有棘層、基底層を成す各細胞から構成されています。

皮膚表皮の細胞は基底細胞から有棘細胞、顆粒細胞と生長を続け、顆粒細胞の段階でセラミドやアミノ酸などの保湿成分の材料を顆粒に蓄えます。同時に細胞膜の内側ではコーニファイドエンベロープ(Cornified Envelope:CE)が硬く丈夫な膜をつくりはじめます。さらに細胞は生長して顆粒の中身を細胞外に放出し、外側の細胞膜と細胞の中の核が消失します。次にCEが外膜となった角質細胞が完成し、その外側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つくります。一方、細胞の内側ではケラチン線維が発達して細胞の強度を増し、外部からの圧力や刺激に対抗するとともに、内部に蓄えたアミノ酸などの天然保湿因子(Natural Moisturizing Factor:NMF)が水分を抱きかかえて角質層のうるおいを保ちます。また、表皮ではヒアルロン酸も産生しており、加齢によってヒアルロン酸量が顕著に減少することが知られています。

CELABIOは、セラミド、ヒアルロン酸、インポルクリン(CEの構成成分)、フィラグリ(NMFの元となるタンパク質)の産生を促進することによって、皮膚のバリア機能および水分保持機能を高めることで老化から肌を守ることが期待されます。



試験データ

CELABIO®

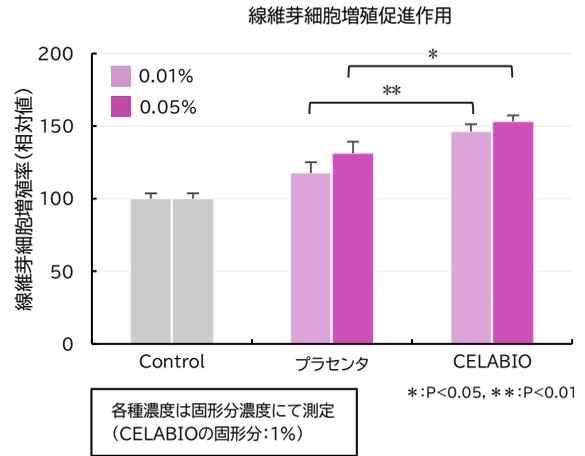
(1) 真皮(線維芽細胞)への作用 ~抗シワ・ハリ改善~

1. 細胞増殖促進作用(プラセンタとの比較)

正常ヒト線維芽細胞を用いた細胞増殖試験の結果、CELABIOは植物由来成分でありながら、細胞増殖促進作用を有することが広く知られているプラセンタエキスより有意に高い活性が認められた。このことからCELABIOは、線維芽細胞の増殖を促進することにより、細胞から作られるコラーゲンやエラスチン、ヒアルロン酸などの成分の産生も促進し、肌の老化防止効果が期待される。



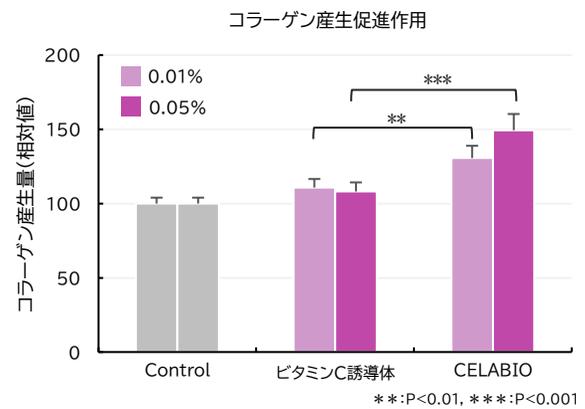
▲ 線維芽細胞培養プレートのwell撮影写真。CELABIOはプラセンタよりも細胞増殖を促すことが確認された。



2. コラーゲン産生促進作用(ビタミンC誘導体との比較)

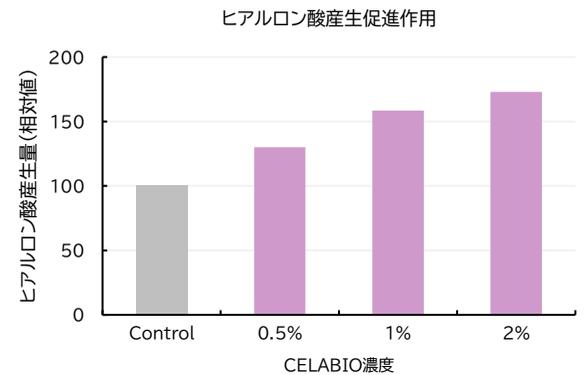
正常ヒト線維芽細胞を用いたコラーゲン産生試験の結果、CELABIOは高いコラーゲン産生促進作用を有することで知られているビタミンC誘導体(リン酸アスコルビルMg)より高いコラーゲン産生促進作用が認められた。このことから、CELABIOは線維芽細胞のコラーゲン産生能を高め、シワやたるみなどを改善する効果が期待される。

各種濃度は固形分濃度にて測定 (CELABIOの固形分:1%)



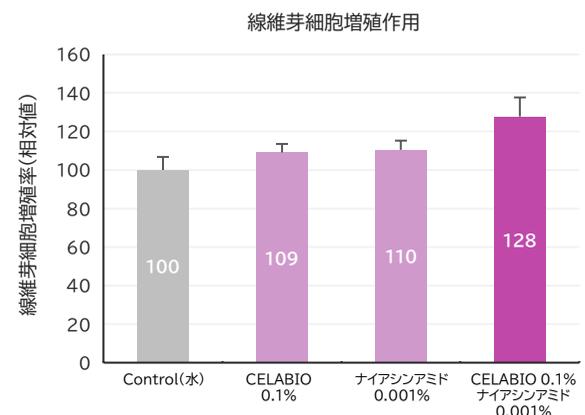
3. ヒアルロン酸産生促進作用

正常ヒト線維芽細胞を用いたヒアルロン酸産生試験の結果、CELABIOは濃度依存的にヒアルロン酸産生能を促進することが認められた。CELABIOは線維芽細胞のコラーゲン産生能だけでなく、ヒアルロン酸産生能も促進することから、シワやたるみなどを改善する効果がよりいっそう期待される。



4. ナイアシンアミドとの併用によるシナジー効果

シワ改善の成分であり、医薬部外品の有効成分としても承認されているナイアシンアミドとの併用による線維芽細胞増殖能に関する評価を行った。その結果、CELABIOおよびナイアシンアミドの単独添加時における細胞増殖率がControl比9%増、10%増であるのに対して、併用した場合の増殖率が28%増となった。つまり、それぞれの単独添加時増殖率の加算値(19%)よりも併用時増殖率(28%)の方が約1.5倍高くなったことから、CELABIOとナイアシンアミドを併用することによって、線維芽細胞の増殖能が相乗的に向上することが期待できる。



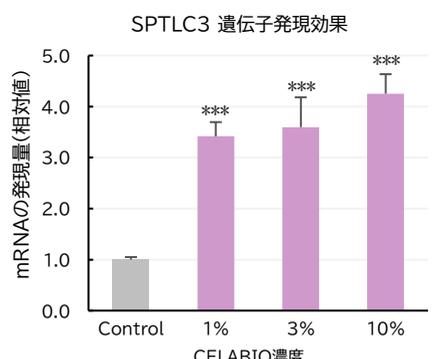
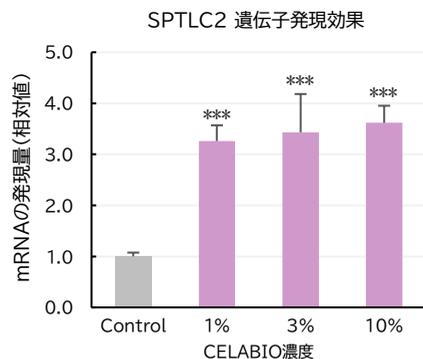
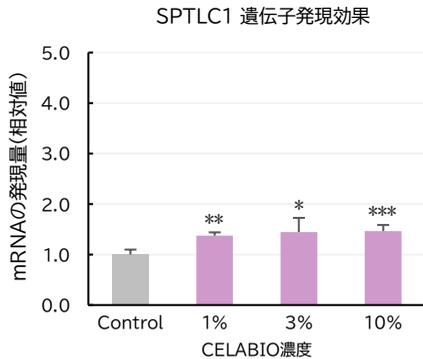
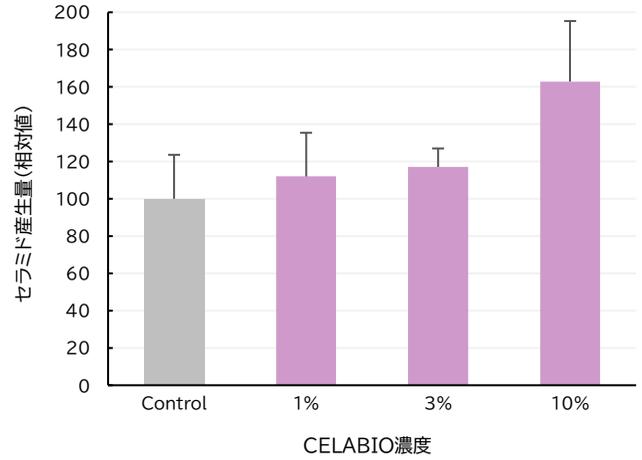
(2)表皮(角化細胞)への作用 ~バリア機能・水分保持機能改善~

1. セラミド産生促進作用

セラミドは角層細胞間脂質成分としてラメラ構造を形成する。正常ヒト表皮角化細胞を用いたセラミド産生試験の結果、CELABIOは、セラミド生合成の関連酵素であるセリンパルミトイルトランスフェラーゼ(SPT)mRNAの発現を促進し、さらにセラミド産生量を増加させることが認められた。このことからCELABIOは、表皮角化細胞のセラミド産生能を促進し、セラミド量を増加させることにより角層細胞間のラメラ構造を補強して肌のバリア機能や水分保持力を向上させる効果が期待される。



セラミド産生促進作用



*:P<0.05, **:P<0.01, ***:P<0.001(Controlとの比較)

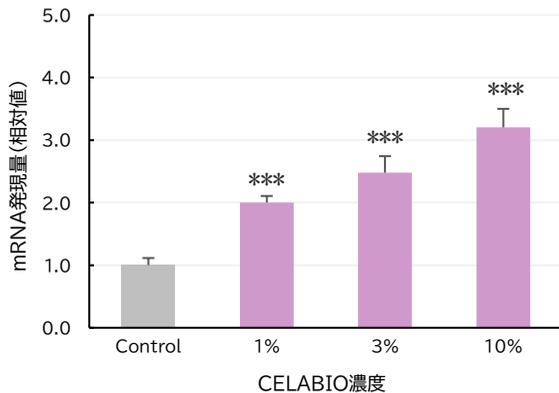
***:P<0.001(Controlとの比較)

***:P<0.001(Controlとの比較)

2. インボルクリン産生促進作用

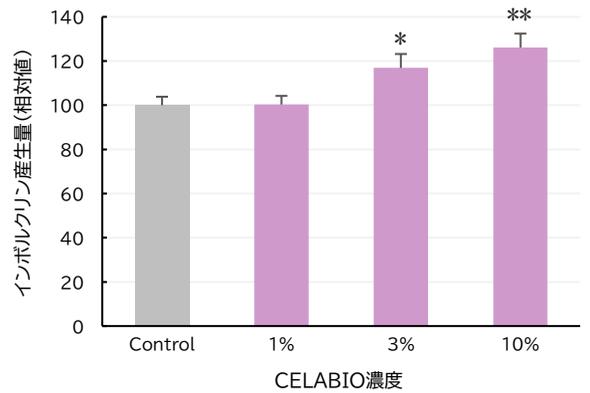
インボルクリンは、肌のバリア機能を担う角層細胞の外壁であるコーニファイドエンベロップ(CE)を形成するタンパク質である。CEを土台にしてセラミドを含む細胞間脂質はラメラ構造を形成し、肌のバリア機能を担っている。正常ヒト表皮角化細胞を用いたインボルクリン産生試験の結果、CELABIOはインボルクリンmRNAの発現を促進し、さらにインボルクリン産生量を増加させることが認められた。このことからCELABIOは、表皮角化細胞のインボルクリン産生能を促進しインボルクリン量を増加させることにより、肌のバリア機能を向上させる効果が期待される。

インボルクリン遺伝子発現促進



***:P<0.001(Controlとの比較)

インボルクリン産生促進作用

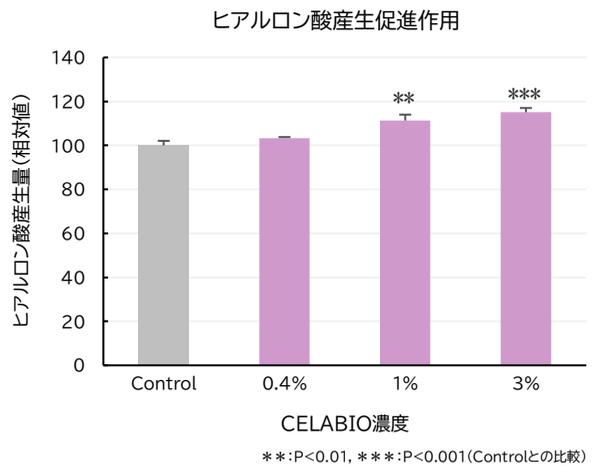
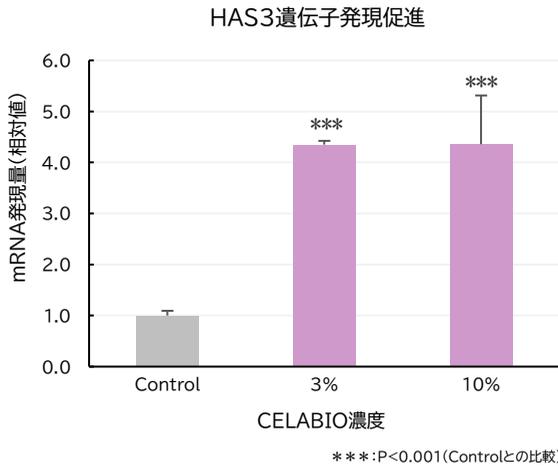


*:P<0.05, **:P<0.01(Controlとの比較)

(2)表皮(角化細胞)への作用 ~バリア機能・水分保持機能改善~

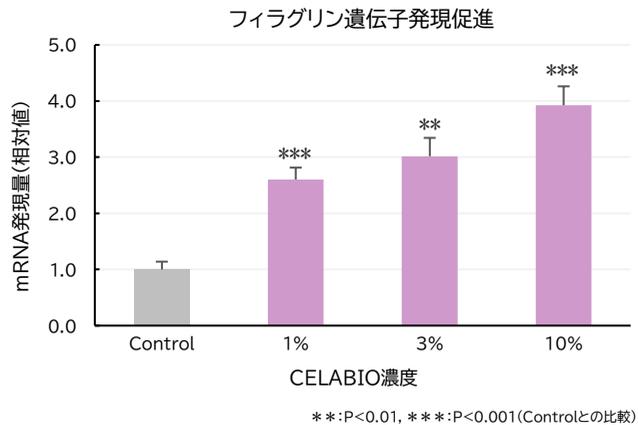
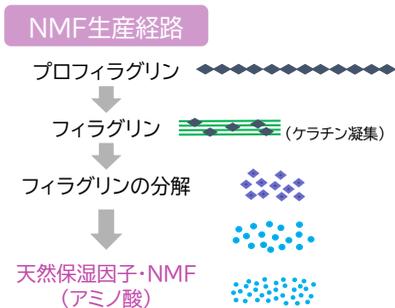
3. ヒアルロン酸産生促進作用

表皮ヒアルロン酸は表皮中の水分を保持し、肌の保湿機能を維持している。加齢や紫外線、活性酸素などにより表皮ヒアルロン酸産生能は減少し、肌の乾燥の原因の1つとなっている。正常ヒト表皮角化細胞を用いたヒアルロン酸産生試験の結果、CELABIOは表皮ヒアルロン酸合成酵素-3(HAS3)mRNAの発現を促進し、さらにヒアルロン酸産生量を増加させることが認められた。このことからCELABIOは、表皮角化細胞のヒアルロン酸産生能を促進し、ヒアルロン酸量を増加させることにより、肌の水分保持機能を向上させる効果が期待される。



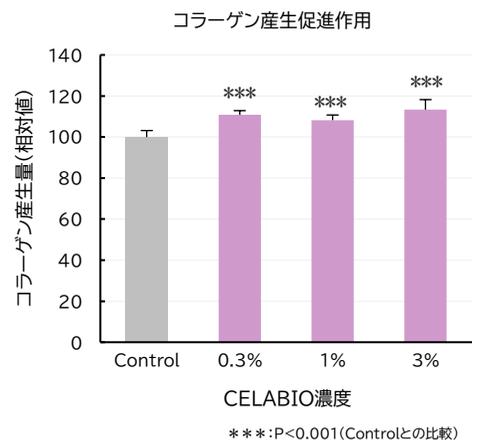
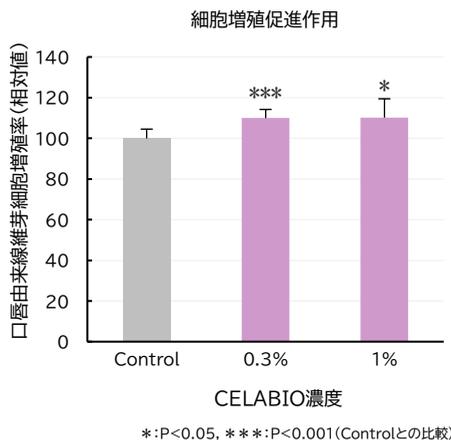
4. フィラグリン産生促進作用

フィラグリンは顆粒細胞にて、その前駆体のプロフィラグリンとして合成される。その後、表皮細胞の分化に伴いフィラグリンに分解され、遊離されたフィラグリンは角質細胞内でケラチン線維を凝集させた後、さらに角質層上層で天然保湿因子(NMF)であるアミノ酸に分解される。正常ヒト表皮角化細胞を用いたフィラグリン遺伝子発現評価試験の結果、CELABIOはフィラグリンmRNAの発現を促進することが認められた。このことからCELABIOは、NMF(アミノ酸)の元であるフィラグリン産生能を促進し、肌の代謝と共に角質層水分の保持機能を向上させる効果が期待される。



(3)口唇由来線維芽細胞への作用

加齢や紫外線により口唇線維芽細胞の数や機能が低下し、コラーゲンやエラスチンなどの細胞外マトリックスが減少する。その結果、唇のシワ、たるみ、口唇の薄化といった老化サインが生じる。口唇線維芽細胞の増殖を促進することは、これら老化兆候の予防および改善に資するアプローチとなり得る。本研究では、セラビオが口唇由来の線維芽細胞に対して細胞活性化作用を有するかを検討した。評価の結果、セラビオ添加群では細胞増殖およびコラーゲン産生量が有意に増加した。これらの結果から、CELABIOは真皮線維芽細胞だけでなく、唇の線維芽細胞における活性も高め、ハリ・弾力を支える成分産生を促すことで、老化を防止する効果が期待できる。



試験データ

CELABIO®

(4)-1 脂肪由来間葉系幹細胞への作用 ~幹細胞増殖・エクソソーム産生促進作用~

エクソソームとは様々な細胞が分泌する遺伝子情報(mRNA, miRNAなど)が含まれている直径100nmほどの小胞である。エクソソームは隣り合った細胞だけではなく、遠い細胞にも情報を届け、細胞間の情報伝達に重要な役割を担っている。

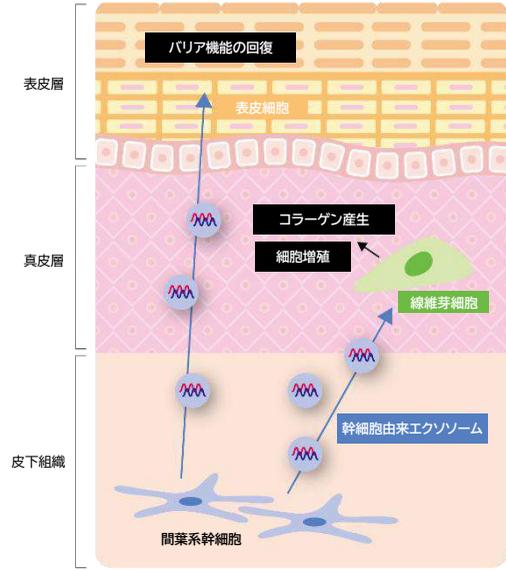
皮下組織に存在する脂肪幹細胞は自己複製能及び多分化能を持つ間葉系幹細胞の一種である。脂肪由来間葉系幹細胞から分泌されるエクソソームが皮膚に存在する細胞に取り込まれると、その細胞の機能を制御する。表皮細胞においてはバリア機能の回復、また真皮線維芽細胞においては細胞の増殖およびコラーゲンの産生を促進するといった様々な機能を発揮する。さらに、脂肪由来間葉系幹細胞から分泌されるエクソソームが細胞の老化抑制作用も有することが報告されている。従って、脂肪由来間葉系幹細胞を活性化させることによって、エクソソームが多く分泌され、エクソソームを介する抗シワやたるみ改善及び老化抑制といった若返りのアンチエイジング効果を期待することができる。

1. 脂肪由来間葉系幹細胞の増殖能

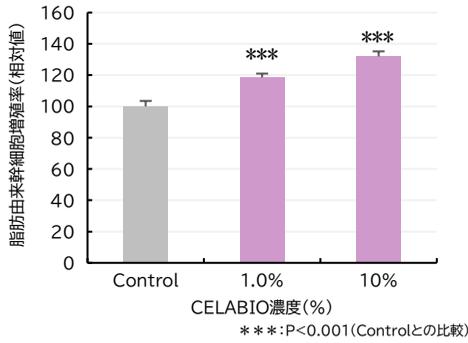
脂肪由来間葉系幹細胞を用いた細胞増殖試験の結果、CELABIOは濃度依存的に細胞増殖を促進させることが示された。

2. エクソソームの産生促進作用

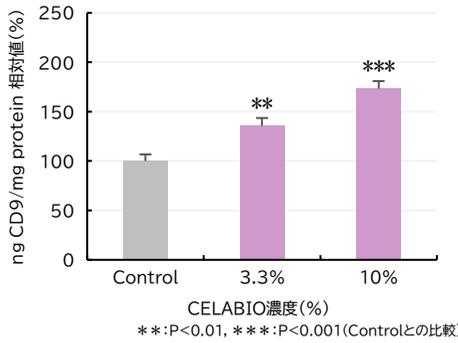
脂肪由来間葉系幹細胞をCELABIO添加培地で培養した後、その培養上清を回収した。培養上清中のエクソソーム特異的のマーカであるCD9及びCD63を用いて評価した。その結果、CELABIOは濃度依存的にエクソソーム産生を促進させることが確認された。(A, B)



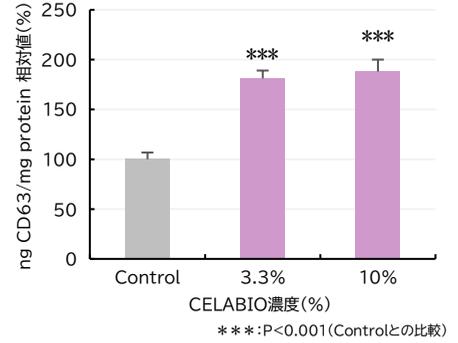
脂肪由来間葉系幹細胞増殖作用



(A)エクソソームCD9



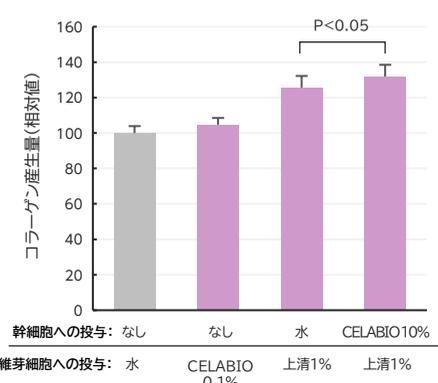
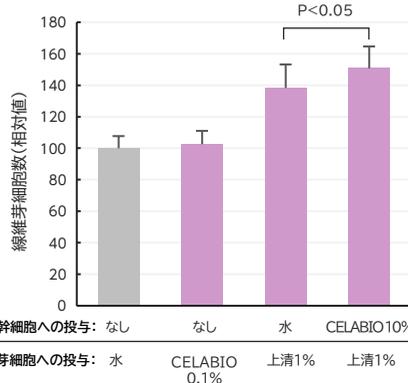
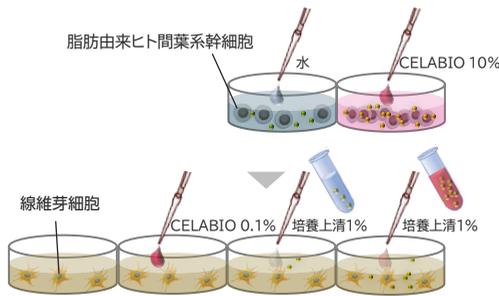
(B)エクソソームCD63



(4)-2 脂肪由来間葉系幹細胞エクソソーム(培養上清)を介した線維芽細胞への作用

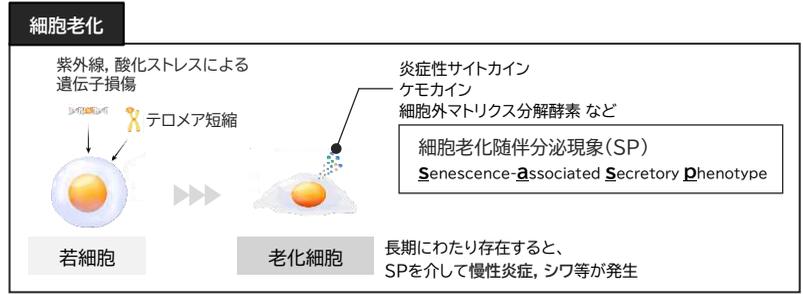
脂肪由来間葉系幹細胞をCELABIO添加培地で培養した後、その培養上清を回収した。得られたエクソソーム含有脂肪由来幹細胞の培養上清を正常ヒト真皮線維芽細胞へ添加し、細胞増殖及びコラーゲン産生に関する促進効果について評価した。なお、CELABIO未添加の脂肪由来幹細胞培養上清に関しても正常ヒト真皮線維芽細胞へ添加し、同様の評価を行った。結果については幹細胞培養上清未添加時の細胞数(Control)を100とした場合の相対値で示した。

その結果、脂肪由来幹細胞培養上清を与えた線維芽細胞では、細胞増殖及びコラーゲン産生に関する促進効果が確認された。なお、これらの効果はCELABIOを添加して得られた培養上清を添加した方が高くなった。以上のことから、CELABIOを塗布することで線維芽細胞への直接的な増殖促進作用だけでなく、脂肪由来幹細胞からのエクソソーム産生を介した線維芽細胞増殖促進作用も期待できる。



(4)-3 脂肪幹細胞エクソソーム(培養上清)を介する線維芽細胞の老化抑制作用

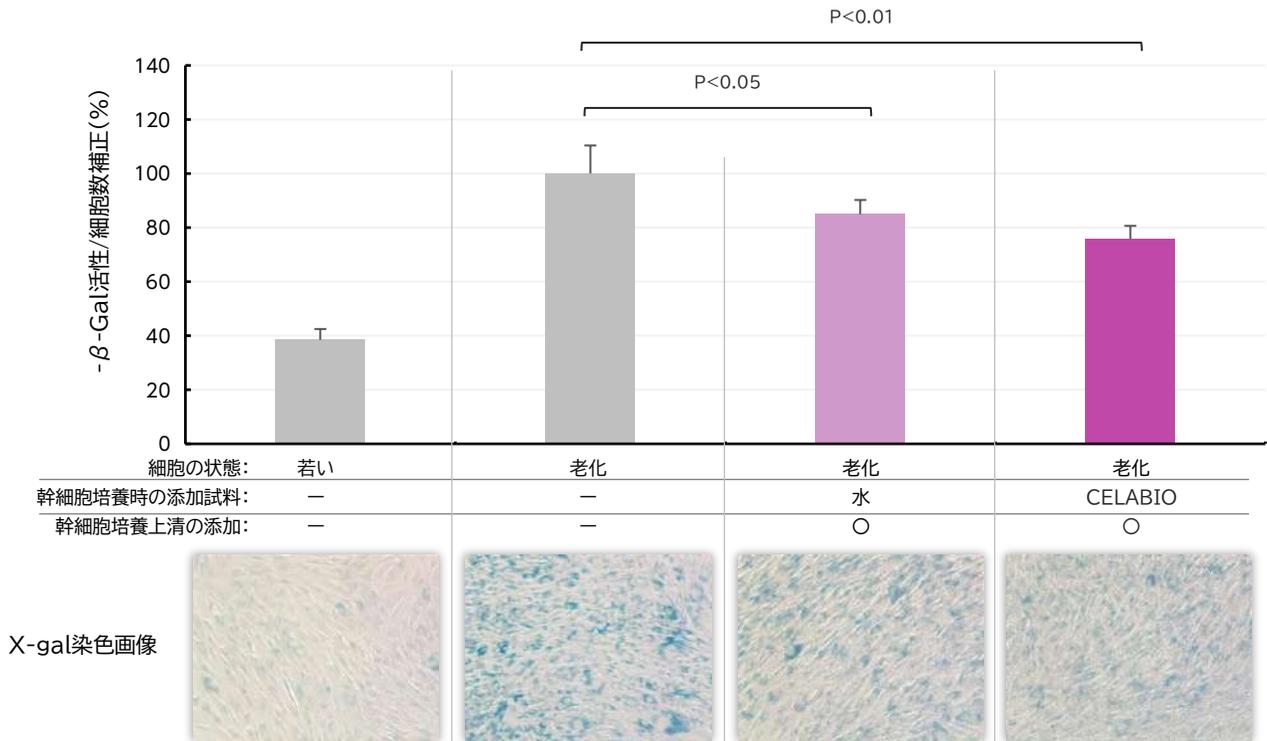
年齢を重ねるとシワやたるみと言った美容に関する悩みがふえつつある。これらの悩みに細胞レベルの老化「老化細胞(Senescent cell)」の存在も原因の一つである。加齢や各内因性・外因性ストレスによって誘導される細胞老化は、細胞の肥大化、扁平化、細胞の機能低下等特徴を持つ。老化細胞は皮膚に蓄積されると炎症性サイトカインやコラーゲン分解酵素といった老化促進物質(SP因子)を分泌し、細胞機能の低下が更に引き起こされる。結果として、コラーゲンを作り出す力の低下やコラーゲン分解の促進、慢性炎症及びその周辺への炎症連鎖反応等を生じ、シワ・たるみといった肌の老化が進めると考えられる。従って、細胞の老化または老化細胞の蓄積を抑えることができれば、シワやたるみの改善に繋がり、若々しい肌を引き出すことが期待される。



老化線維芽細胞に対する老化抑制作用

CELABIOを与えた脂肪由来間葉系幹細胞の培養上清を用いて老化線維芽細胞に対する老化抑制効果を検証した。細胞老化の評価モデルとしては、長期継代培養によって細胞老化を誘導した老化線維芽細胞を用いた。(3)-2で得られた幹細胞培養上清を老化線維芽細胞へ添加し、老化細胞に過剰に発現する酸性βガラクトシダーゼ(-β-Gal)を老化度指標として酵素活性測定及び基質X-Gal染色を行った。比較のため、若い線維芽細胞も同時に評価した。

その結果、若い細胞と比べて老化細胞では酸性β-ガラクトシダーゼ活性が相対的に高くなった。また、老化細胞においてはエクソソーム含有脂肪由来間葉系幹細胞の培養上清を添加することでその活性が抑えられたが、CELABIO添加培養上清の方がより高く抑えることができた。つまり、老化細胞が産生する酸性β-ガラクトシダーゼ活性の抑制にエクソソームが寄与することが示唆された。以上の結果から、CELABIOはエクソソーム産生を介した老化線維芽細胞における酸性βガラクトシダーゼの活性を抑えることで、細胞老化を軽減させる効果が期待される。



(4)-4 脂肪幹細胞(培養上清)エクソソームを介した線維芽細胞への創傷治癒効果

脂肪由来間葉系幹細胞から分泌されるエクソソームは、真皮層から皮膚表面までの細胞を活性化させ、皮膚の損傷修復に対する効果を有することが知られている。そこで、CELABIO投与によって産生される間葉系幹細胞由来エクソソームを介した線維芽細胞に対する創傷治癒効果について評価した。

脂肪由来間葉系幹細胞をCELABIO含有培地で培養した後、その培養上清を回収した。この時、水のみを投与した幹細胞培養上清も比較のために回収した。得られたそれぞれのエクソソーム含有培養上清および水をコンフルエントになった正常ヒト真皮線維芽細胞へ添加し、滅菌チップを用いてスクラッチアッセイを行った。スクラッチ直後を0時間として経時的に細胞画像を取得し、得られた画像からスクラッチ部位における細胞増殖面積を求めた。なお、創傷治癒効果は以下の式で表す修復率として算出した。

$$【修復率(%)】=(評価時の細胞増殖面積/スクラッチ直後(0時間)のスクラッチ部面積)×100$$

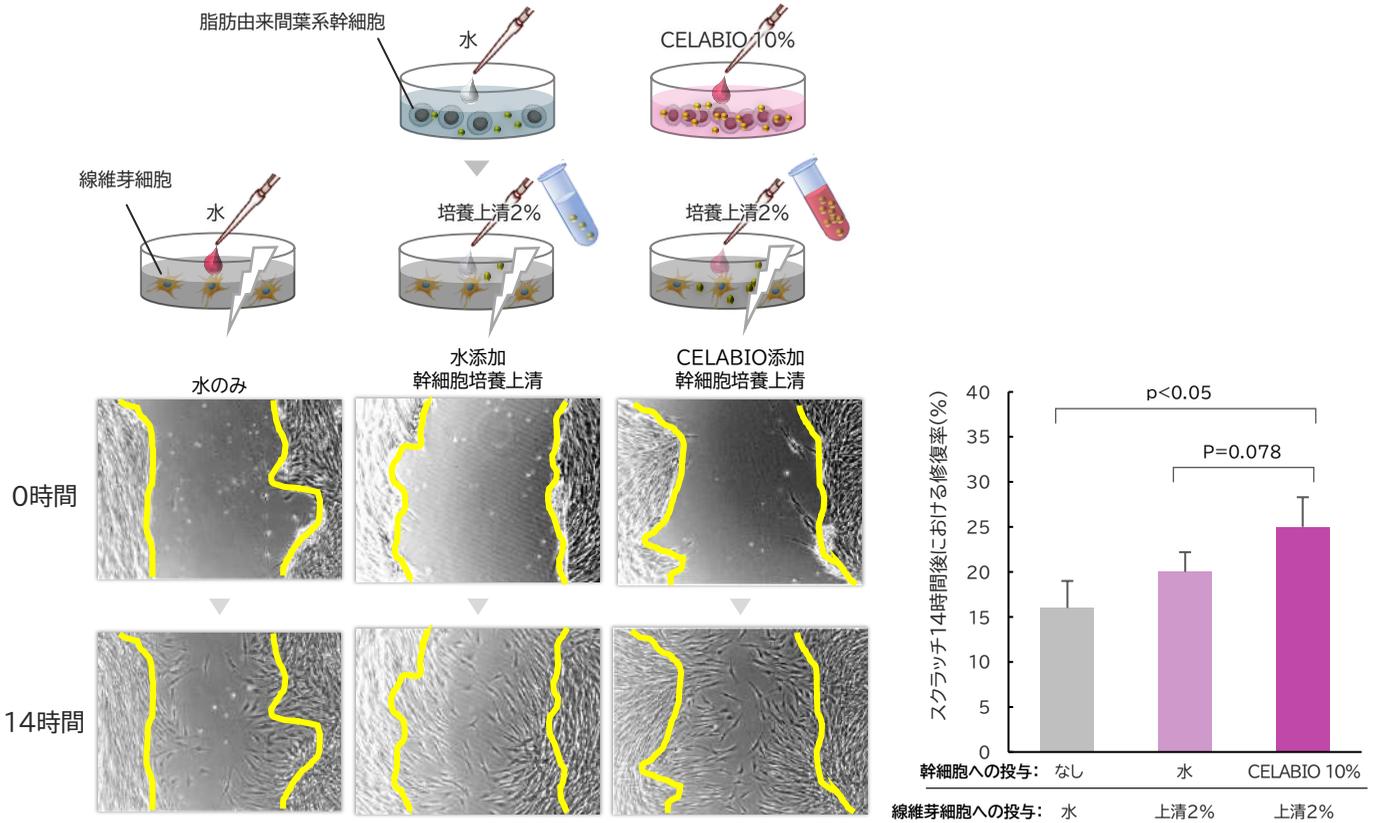
その結果、水のみを与えた線維芽細胞と比べて幹細胞培養上清を添加した場合は、より短時間での細胞修復作用が確認された。さらにその効果は、エクソソームをより多く含有したCELABIO投与の幹細胞培養上清を添加した場合において顕著であった。

以上の結果から、CELABIOはエクソソームを介した肌細胞への働きかけによって紫外線や物理的損傷によるダメージ細胞を早期に修復し、肌を健全な状態に維持させる効果が期待される。

試験データ

CELABIO®

(4)-4 脂肪幹細胞(培養上清)エクソソームを介した線維芽細胞への創傷治癒効果



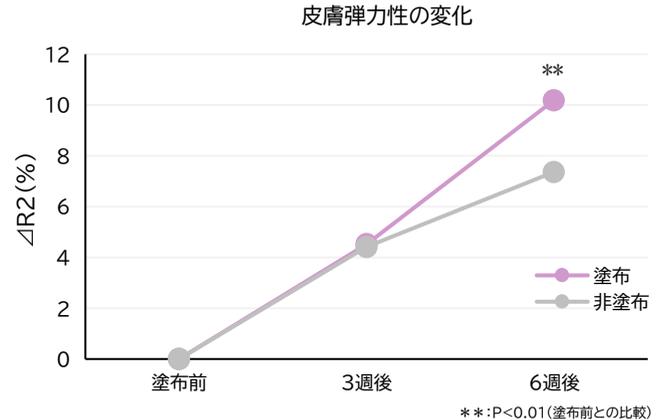
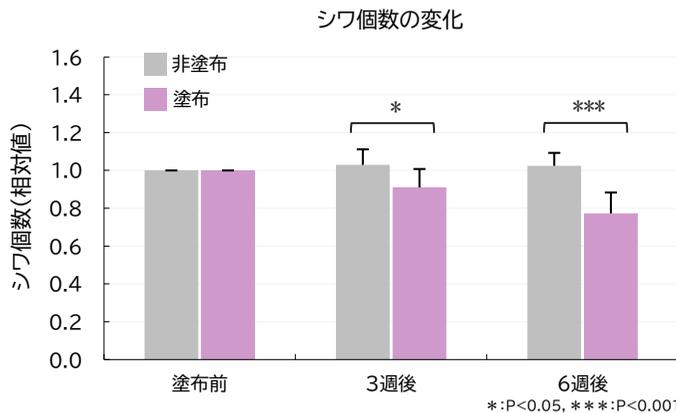
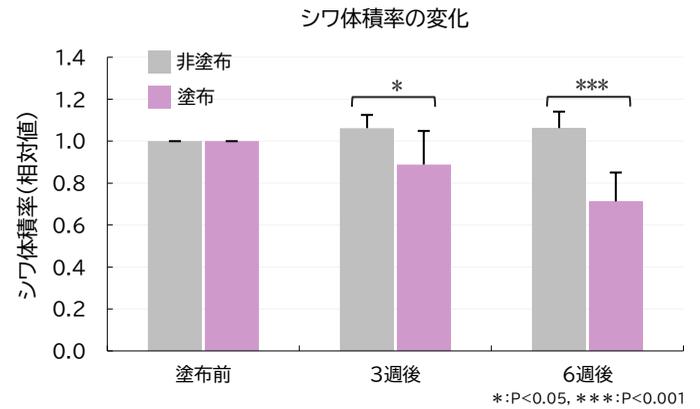
(5)CELABIOの臨床試験①(外部試験機関にて実施)

<試験方法>

30代から50代の女性被験者16名のうちキュートメーターによる皮膚弾力性測定値の低い者を8名選抜した。使用期間は6週間とした。右目周辺にCELABIO50%配合化粧水を連用し、左目周辺は非使用とする左右の比較によりシワおよび皮膚弾力性の改善効果について評価試験を実施した。

<結果>

レプリカ画像・数値解析の結果、目じりのシワの「シワ体積率」と「シワ個数」について全ての被験者に改善が見られた。また、塗布、非塗布の比較では、3週後および6週後において有意差が確認された。皮膚弾力性(戻り率:R2)は、非塗布より塗布のほうが塗布前と比較して有意に高くなった。

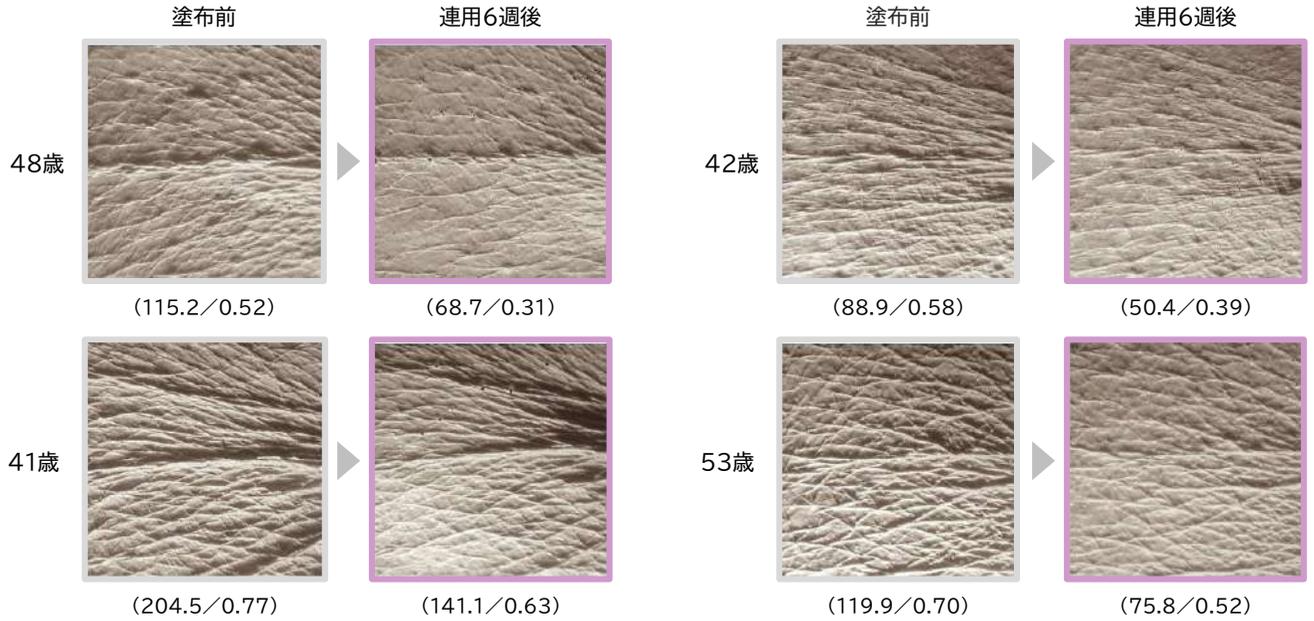


試験データ

CELABIO®

(5)CELABIOの臨床試験①(外部試験機関にて実施)

■レプリカ画像(改善例:シワ体積率/シワ個数)



(6)CELABIOの臨床試験②(皮膚科クリニックにて実施)

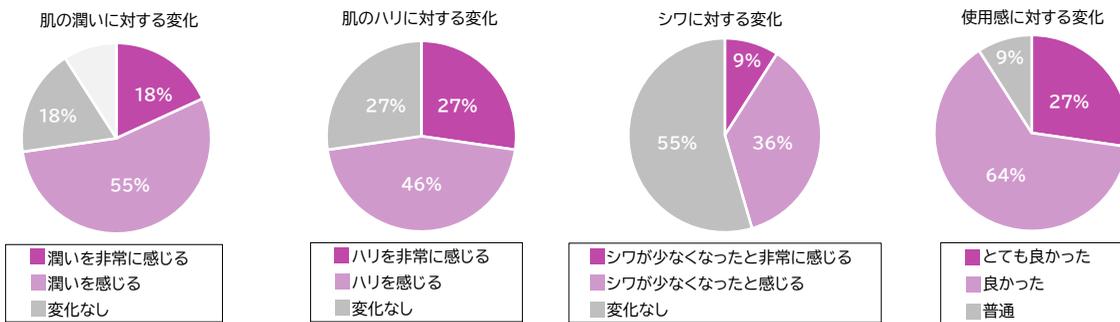
<試験方法>

20代から50代の男女11名(うち女性10名、男性1名、2名のアトピー性皮膚炎疾患患者を含む)に、CELABIO50%配合化粧水を約2ヶ月間連用し、肌の改善効果を観察した。

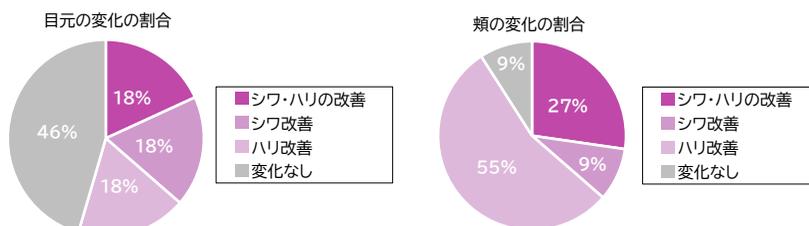
<結果>

肌状態の変化についてアンケートを実施した結果、約3/4の被験者が肌に潤いとハリを感じるようになり、約半数がシワの減少を感じた。総合的な使用感に関しては、90%以上の被験者が良かったと回答した。肌の写真およびマイクロスコープによる肌状態を評価した結果、目元のシワ、ハリについては半数以上に改善が見られ、頬については90%以上の被験者に改善が見られた。

■CELABIO配合化粧水の使用アンケート



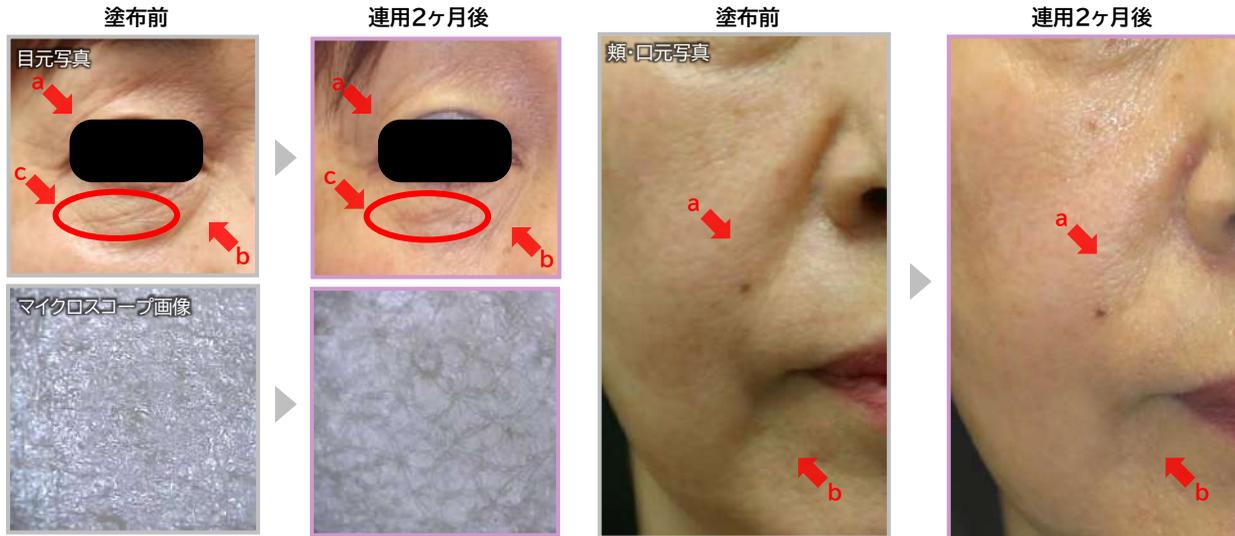
■肌状態評価結果(変化の割合)



(6)CELABIOの臨床試験②(皮膚科クリニックにて実施)

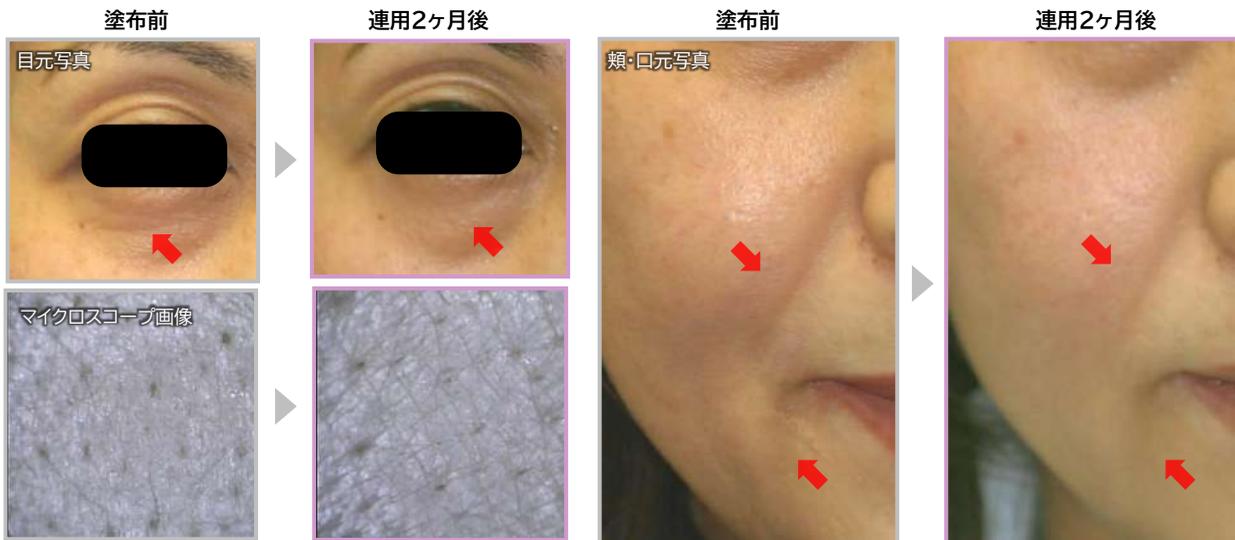
■肌状態評価結果(改善例:50代後半 女性)

CELABIO50%配合化粧水の使用により、目の深いシワや小シワが浅くなり、シワによる影も目立ちにくくなった(目元写真:a,b,c)。また、鼻唇溝の深さも浅くなり、口元の影も目立ちにくくなった(頬・口元写真:a,b)。顕微鏡画像では、使用開始前には皮溝・皮丘が見られない箇所があったが、CELABIO50%配合化粧水の使用により皮溝・皮丘が見られキメが改善された。



■肌状態評価結果(改善例:30代後半 女性)

CELABIO50%配合化粧水の使用により、目の下の細かいシワとクマのような大きいシワが薄くなりハリが出た(目元写真:矢印)。また、塗布前には頬がたるんだ感じがあるが、使用2カ月後にはハリが出て頬丘の位置が高くなりリフトアップした。顕微鏡画像では、使用開始前には皮溝・皮丘が見られない箇所があったが、CELABIO50%配合化粧水の使用により皮溝・皮丘が見られキメが改善された。



安全性試験データ

安全性試験	結果
Ames試験	陰性
ヒトパッチテスト(24時間閉塞 43名)	安全品
ヒト光パッチテスト(43名)	光毒性は認められず

角質層を柔らかくしターンオーバーの正常化を促す麹菌抽出素材

肌代謝を整える麹菌抽出原液

肌麹水[®]

はだこうじすい

肌麹水は厳選された6種類の麹菌から抽出された機能性素材です。角層の水分保持能を増加させるとともに角層剥離の働きを促進させることで、乱れたターンオーバーを整えます。



肌麹水[®]の特徴

～肌代謝を整え、肌の生まれ変わりをサポートします～

- 6種類の厳選された麹菌 (*Aspergillus oryzae*, *Aspergillus luchuensis*) から抽出された素材です。
- 20種類のアミノ酸やビタミンB類といった200種類以上の美容成分を含有しています。
- NMF(天然保湿因子)の元となるプロフィラグリンのmRNA発現を促進させます。
- 表皮角化細胞のヒアルロン酸合成酵素(HAS3)のmRNA発現を促進させます。
- ターンオーバーの際の角層細胞の剥離を促すKallikrein-7(KLK7)のmRNA発現を増加させます。
- 表皮角化細胞のATP産生促進作用により、肌のターンオーバーを促進させます。
- 線維芽細胞のコラーゲン産生を促進させます。
- ヒトにおけるターンオーバーの促進効果が確認されました。
- ヒトでの肌麹水化粧品連用試験において角層水分量の改善、KLK7活性の増加、重層剥離度軽減、またシワの減少、肌明るさの向上及び肌弾力の増加等といった肌状態の改善が確認されました。

製品名	肌麹水 [®]
表示名称	INCI名
アスペルギルス培養物*	Aspergillus Ferment
ペンチレングリコール	Pentylene Glycol
フェノキシエタノール	Phenoxyethanol

*)中国名称:曲霉发酵产物

規格項目	規格	試験法
性状	淡黄色から黄褐色の液体で特異臭あり	官能検査法
pH	4.5～5.5	外原規一般試験法
蒸発残分	0.5%以上	常圧加熱乾燥法
比重	実測値	振動式密度計
純度試験(1)重金属	20ppm以下	外原規一般試験法
純度試験(2)ヒ素	2.0ppm以下	外原規一般試験法
一般生菌数	100cfu/mL以下	SCDLP寒天培養法
大腸菌群	陰性	AOAC法(ペトリフィルム法)
カビ・酵母	100cfu/mL以下	AOAC法(ペトリフィルム法)

イントロダクション

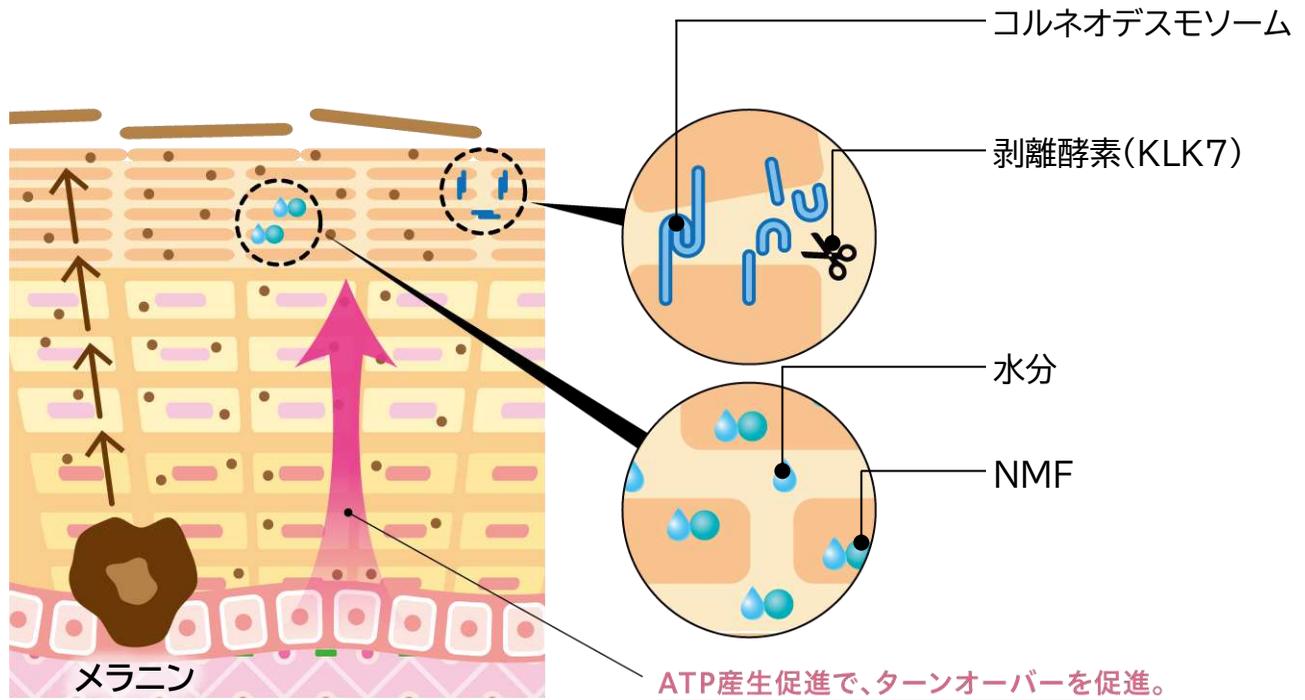
肌麹水®

ターンオーバー改善のアプローチ

表皮は厚さが0.1~0.2mm程度の組織であり、最深部に位置する基底層から表皮角化細胞が増殖・分化し、有棘層、顆粒層を経て最外層の角層と成長していき、最終的には垢となって剥がれ落ちていきます。この基底細胞が分裂して垢となり剥がれ落ちていくまでの期間をターンオーバーと呼び、その期間は細胞が基底層から角層に至るまで約2週間、角層を通過するのに約2週間を要し、合計約4週間といわれています。

ターンオーバーは加齢や乾燥等の原因により、角層の水分量が減少し、新しい皮膚が生まれ古い皮膚が剥がれ落ちるサイクルが正常に行われなくなることで乱れます。それによって肌のごわつきや紫外線ジミが生じます。したがって、ターンオーバーの乱れを整えるためには、角層中の水分保持機能を高めること、また古い角質をスムーズに排出することが必要となります。

肌麹水は水分保持機能ではプロフィラグリンやヒアルロン酸の生成を高める効果があり、また古い角質をスムーズに排出する機能では剥離酵素であるKLK7の生成を高める効果もあります。さらに、肌麹水は表皮角化細胞の増殖やATP産生を高める効果も有しています。つまり、肌麹水はこれらの効果からターンオーバーの正常化を導き、メラニン排出等を促すことで健全な肌状態を維持し、乱れた肌を改善することができます。



試験データ

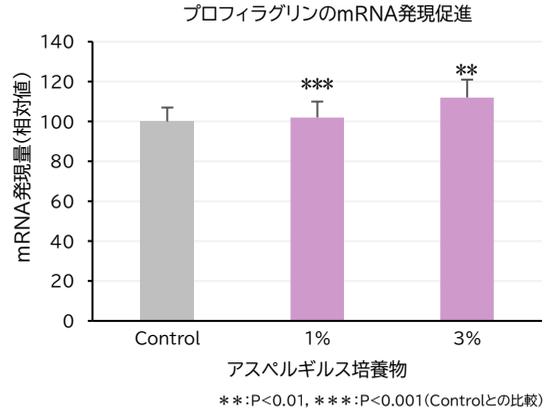
肌翹水®

(1)表皮角化細胞への作用 ~水分保持機能・剥離酵素・ATP活性促進~

1. プロフィラグリン産生促進作用

フィラグリンは顆粒細胞にて、その前駆体のプロフィラグリンとして合成される。その後、表皮細胞の分化に伴いフィラグリンに分解され、遊離されたフィラグリンは角質細胞内でセラチン線維を凝集させた後、さらに角質層上層でNMFであるアミノ酸に分解される。

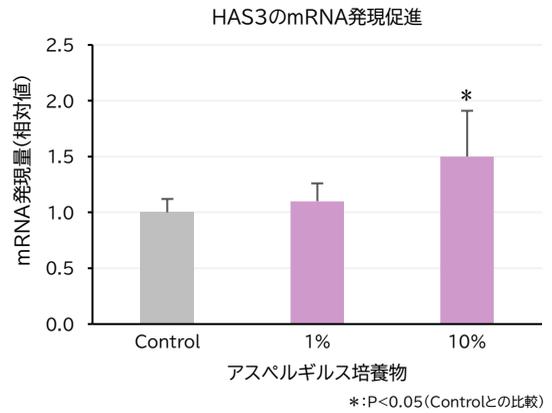
正常ヒト表皮角化細胞を用いたプロフィラグリン遺伝子発現評価試験の結果、アスペルギルス培養物はプロフィラグリンmRNAの発現を促進することが認められた。このことからアスペルギルス培養物は、NMFの元であるプロフィラグリン産生能を促進し、肌の代謝と共に角層中の水分保持機能を向上させる効果が期待される。



2. ヒアルロン酸産生促進作用

ヒアルロン酸は表皮中の水分を保持し、肌の保湿機能を維持している。加齢や紫外線、活性酸素などにより表皮ヒアルロン酸産生能は減少し、肌の乾燥の原因の1つとなっている。

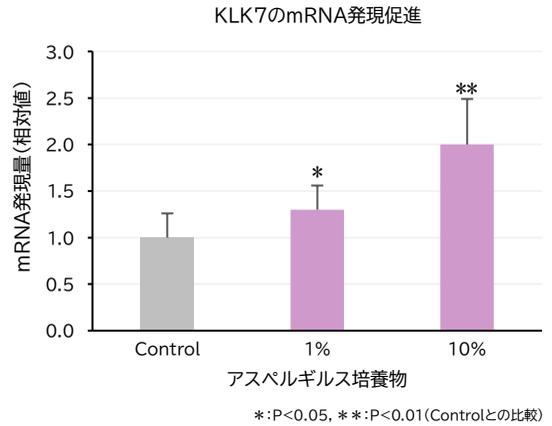
正常ヒト表皮角化細胞を用いたヒアルロン酸産生試験の結果、アスペルギルス培養物はHAS3mRNAの発現を促進することが認められた。このことからアスペルギルス培養物は、表皮角化細胞のヒアルロン酸産生能を促進し、ヒアルロン酸量を増加させることにより、肌の水分保持機能を向上させる効果が期待される。



3. KLK7活性促進作用

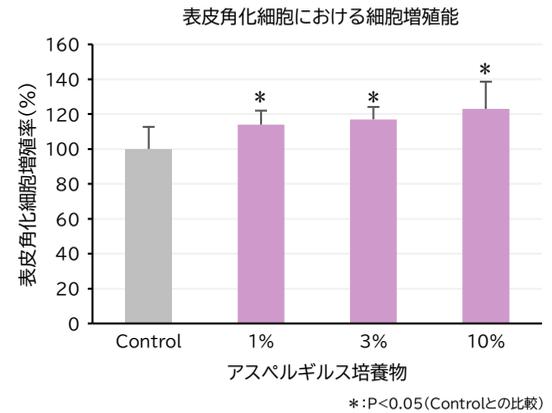
加齢や低湿度環境などの影響によって角層の水分量が減少すると、コルネオデスモソームを分解する剥離酵素(KLK7)の働きが弱くなり、コルネオデスモソームが正常に分解されなくなる。結果として、剥がれ落ちるべき角質細胞が正常に剥離できなくなり、残存した状態によって、角質肥厚(過角化)等を生じる。従って、剥離酵素の活性を促進することは古い角質のスムーズな排出を導くと考えられる。

正常ヒト表皮角化細胞を用いた剥離酵素産生試験の結果、アスペルギルス培養物はKLK7のmRNA発現を促進することが認められた。このことから、アスペルギルス培養物は、KLK7産生能を促進し、古い角質をスムーズに排出させる効果が期待される。



4. 表皮角化細胞増殖促進作用

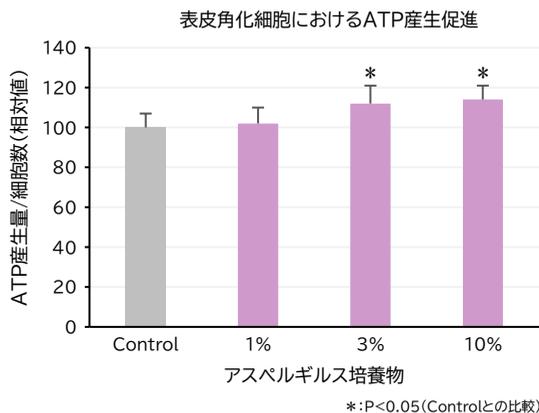
皮膚の外側に存在する表皮は、基底層、有棘層、顆粒層、角層からなり、基底層で分裂した表皮角化細胞は、分化・成熟を経て上層に移行し、角層まで達した後、脱落し、ターンオーバーを繰り返して表皮を形成している。この表皮角化細胞の新陳代謝機能が衰えると小じわ、くすみ、色素沈着、肌荒れ等の皮膚症状を呈する。正常ヒト表皮角化細胞を用いた細胞試験の結果、アスペルギルス培養物には細胞増殖促進作用があることが認められた。このことからアスペルギルス培養物は、皮膚の新陳代謝機能を回復させることが期待される。



(1)表皮角化細胞への作用 ~水分保持機能・剥離酵素・ATP活性促進~

5. 表皮細胞内におけるATP産生促進作用

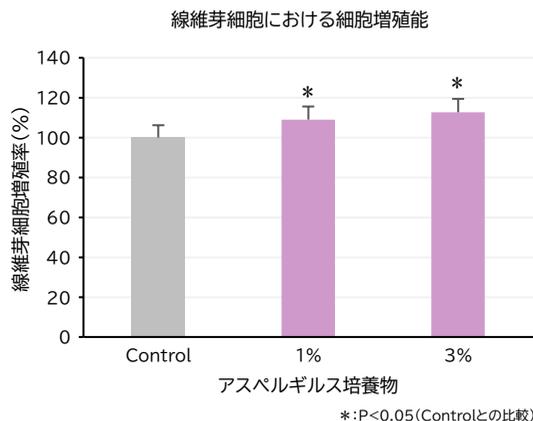
環境の外的因子の影響や加齢により、表皮細胞の活動や増殖能が低下すると、表皮のターンオーバー速度が遅延するため、表皮の菲薄化や角質層肥厚などの分化不全が引き起こされる。その結果、皮膚の保湿機能や弾力性が低下し、角質の異常剥離が起こり、シワ、くすみ、きめの消失、弾力性の低下等の変化が生じる。そこで、角化細胞の増殖を促進することができれば、皮膚のターンオーバーが促進され、肌の新陳代謝機能の回復が期待される。細胞増殖を促進するためには、細胞分裂に必要な生体エネルギーであるATPの産生量を上げることが重要である。実際に、機能の低下した細胞や老化した細胞では、ATP産生量は正常細胞より減少する。そのため、細胞におけるATPの産生を促進することができれば、皮膚のターンオーバーを促進し、肌の新陳代謝機能の回復が期待される。正常ヒト表皮角化細胞を用いたATP産生評価試験の結果、アスペルギルス培養物は細胞内のATP産生を促進することが認められた。このことからアスペルギルス培養物は、表皮角化細胞のATP産生能を促進し、肌の新陳代謝機能を回復させる効果が期待される。



(2)線維芽細胞への作用 ~抗シワ・ハリ改善~

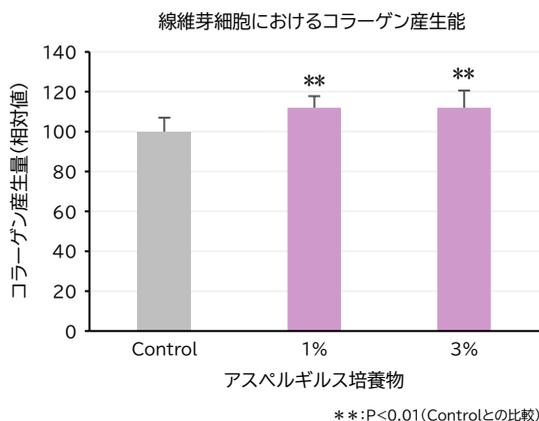
1. 線維芽細胞増殖促進作用

正常ヒト線維芽細胞を用いた細胞増殖試験の結果、アスペルギルス培養物は細胞増殖促進作用が確認できた。このことからアスペルギルス培養物は線維芽細胞の増殖を促進することにより、細胞から作られるコラーゲンやエラスチン、ヒアルロン酸などの成分の産生も促進し、肌の老化防止効果が期待される。



2. コラーゲン産生促進作用

正常ヒト線維芽細胞を用いたコラーゲン産生試験の結果、アスペルギルス培養物は有意に高い活性が認められた。このことからアスペルギルス培養物は、線維芽細胞のコラーゲン産生能を高め、シワやたるみなどを改善する効果が期待される。

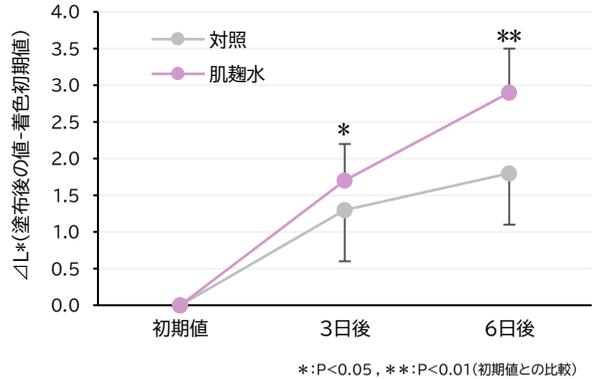


(3)肌麹水でのヒト試験データ ~ターンオーバー促進試験~

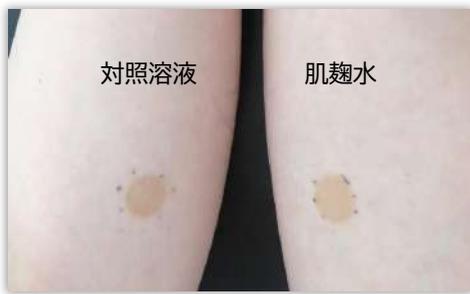
1. ターンオーバー促進作用(肌麹水原液)

成人男女7名(男性3名、女性4名)を被験者として試験を行った。
15%ジヒドロキシアセトン(タンニング剤)水溶液を直径12mmのフィンチャーパー紙に滴下して染み込ませ、左右前腕内側の指定部位に閉塞貼付3H後、剥がした。肌の色が褐色に変わり、安定するまで約24H放置した。その後、写真撮影並びに色差分光測色計(SE7700)で褐色斑の肌明度(L*)を測定した。肌麹水と対照溶液の塗布はそれぞれの指定部位に1日、朝晩の2回、連続6日間塗布した。対象溶液には5%ベンチレングリコール水溶液を使用した。3日間隔で測定を行った。測定はそれぞれ5回ずつ測り、その平均を求めた。ジヒドロキシアセトンで着色した日を初期値として、3日後及び6日後は初期値を差し引いた値を示した。肌麹水を連続で6日間塗布することによって、対照と比較して、褐色斑における皮膚の明度が有意に高くなった。この結果より、肌麹水のターンオーバー促進作用を有することが示された。

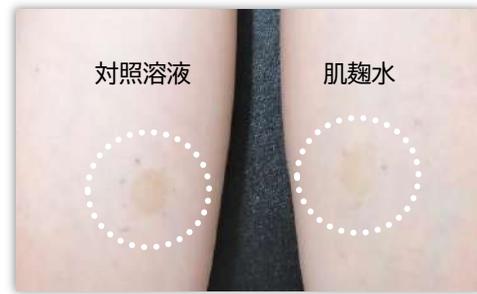
△L*値の経時変化



塗布前(初期値)



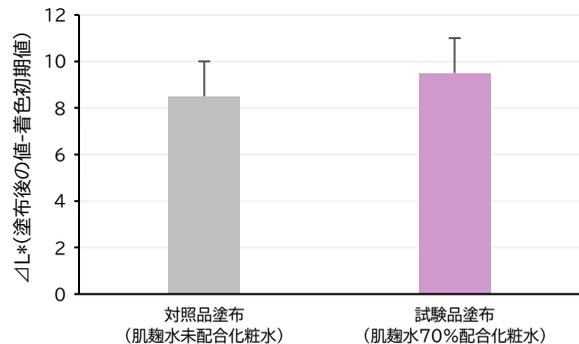
塗布後(6日後)



2. ターンオーバー促進作用(肌麹水70%配合化粧品)

成人男性7名を被験者として試験を行った(試験方法は1.と同様)。
・試験試料: 70%肌麹水配合化粧品
・対照試料: 肌麹水未配合化粧品(アスペルギルス培養物を水で代替)
塗布10日後に測定を行った。測定はそれぞれ3回ずつ測り、その平均を求めた。色斑定着して24時間後の値を初期値とした。グラフは使用10日間後、初期値を差し引いた値を示した。肌麹水配合化粧品を連続で10日間塗布することによって、対照と比較して褐色斑における皮膚の明度が高くなった。この結果より、肌麹水70%配合化粧品のターンオーバー促進作用を有することが示された。

塗布前後におけるL*の変化量



塗布前(初期値)



塗布後(10日後)



(4)肌翹水配合化粧品でのヒト試験結果 ~肌翹水配合化粧品連用試験~

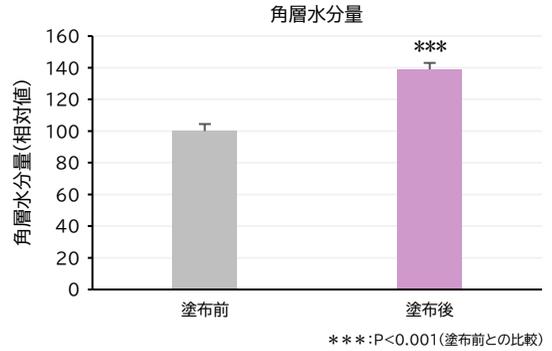
<試験方法>

参加同意を得た健康な成人女性18名を対象として、左顔の角層水分量をコルネオメーターCM825(Courage+Khazaka社)にて測定した。その内、同社の取扱説明書における乾燥指標「乾燥」または「大変乾燥」に該当し、かつ角層水分量値における下位12名(平均年齢:44.5±5.6歳)を被験者とした。試験品は肌翹水70%配合化粧品と美容液、60%配合クリームとした。被験者は試験品を朝晩2回、全顔塗布した。

試験期間は10月末から11月末の4週間とした。測定当日、被験者全員に指定したクレンジング及び洗顔剤で顔の洗浄を行った後、温度20±2℃、湿度は40-60%の専用測定室で20分間安静し環境に馴染ませた。測定は画像VISIA(顔画像)、マルチ皮膚計測機器(角層水分、肌弾力)を用いた。尚、角層試験に関してはテープストリッピング法を用いた。

1. 角層水分量の改善

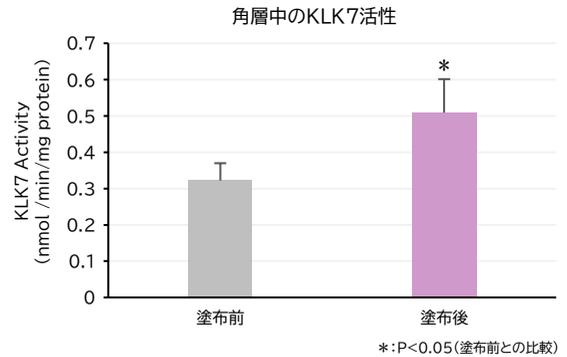
コルネオメーターCM825による角層水分量の評価を行った。各試験品の塗布前と塗布4週間後に片顔の測定を行った。測定の結果、角層水分量が試験品塗布前と比較すると有意に高くなった。この結果より、肌翹水配合化粧品により肌の保湿力を向上させることが確認できた。



2. 角層剥離酵素活性の改善

KLK7酵素活性の評価は各試験品の塗布前と塗布4週間後に右頬をテープストリッピングにより回収した角層を用いて評価を行った。採取した角層は測定するまで-80℃にて保存した。テープに付着した角層を超音波処理によって抽出した。角層抽出液中のKLK7酵素活性は合成MCA基質を用いてタンパク当たりのAMC遊離量を単位として表した。

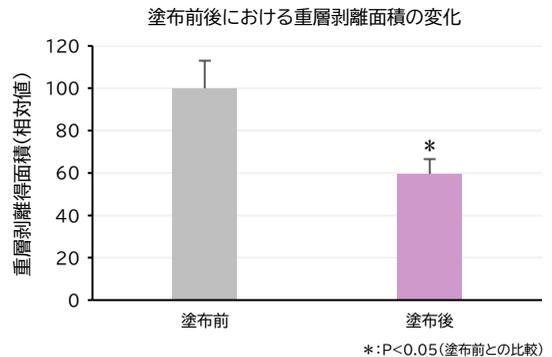
KLK7酵素活性は1mL当たりの1分間に遊離する1nmolのAMC量を1mUとして表す。1mU=1nmol AMC/min/mL測定の結果、試験品の塗布によって、KLK7活性が試験品塗布前と比較すると有意に高くなった。この結果より、乾燥により低下したKLK7活性が肌翹水配合化粧品の塗布によって、回復することが示された。KLK7活性の改善はターンオーバー低下により生じた角層剥離の遅れを促進することが期待される。



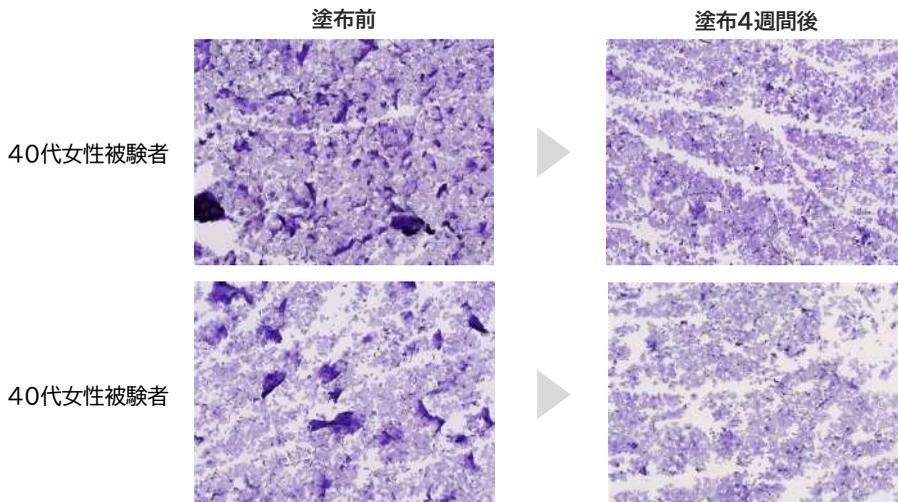
3. 重層剥離度の確認

重層剥離の評価は各試験品の塗布前と塗布4週間後にテープストリッピングにより評価を行った。角層をスライドガラスに転写した後、ゲンチアナバイオレットで染色を行った。蛍光顕微鏡で9視野の画像(9枚)を取得した後、付属解析ソフトにより1枚の画像につき全体の細胞面積及び重層剥離面積をそれぞれ算出した。重層剥離度は全体の細胞面積に対する重層剥離面積の割合を算出し、9枚の平均値を求めた。グラフは重層剥離度の相対値を示した。

解析の結果、試験品の塗布によって、肌重層剥離が試験品塗布前と比較すると有意に低くなった。この結果より、肌翹水配合化粧品の塗布により、ターンオーバーが促進されることで、肌表面積の角層がスムーズに剥がれ、健在な肌状態をもたらす効果が期待される。



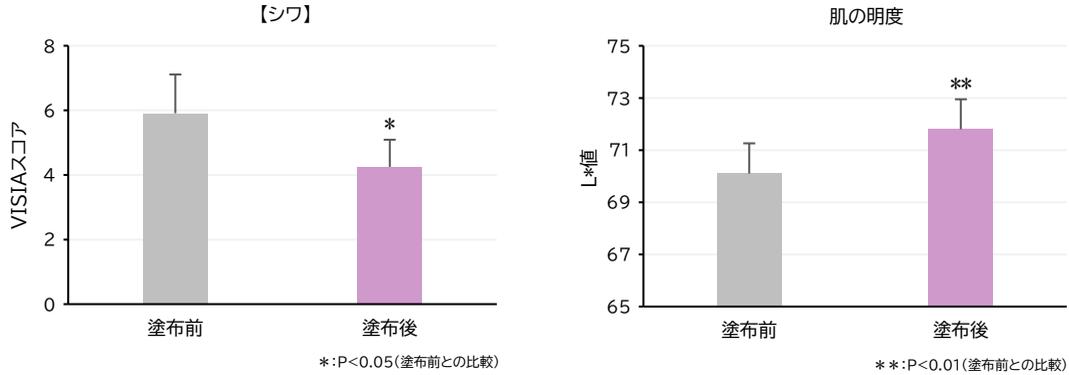
■角層重層剥離状態の変化



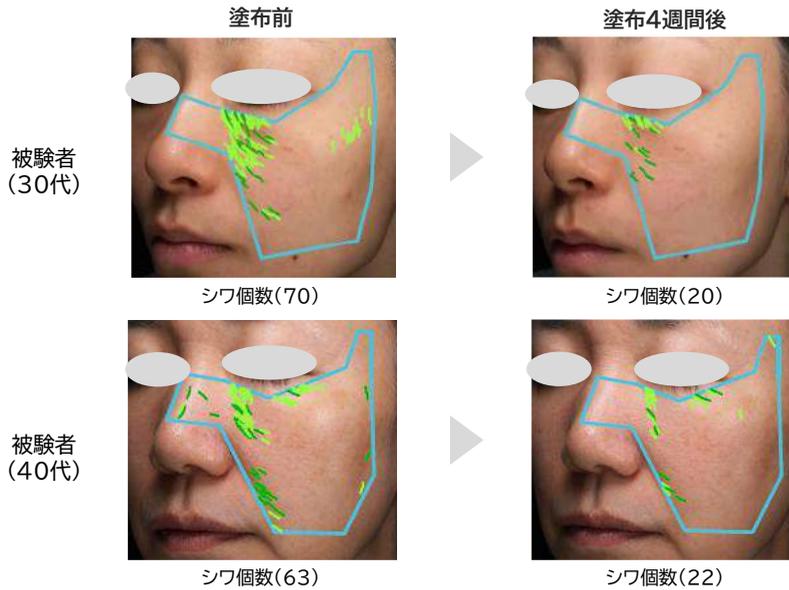
(4)肌翹水配合化粧品でのヒト試験結果 ~肌翹水配合化粧品連用試験~

4. 肌のしわ、明るさの改善

塗布前と塗布4週間後の顔画像の分析はVISIAを用いて評価した。肌明度はVISIAで取得した顔画像を用いて付属したL*a*b*解析ソフトより解析を行った。グラフは左右顔の平均値で示した。解析の結果、塗布後と比較してシワの数値が有意に低くなった。また、肌明度L*値についても塗布前と比較して有意に高くなった。この結果より、肌翹水配合化粧品においてはシワの改善や肌の明るさ向上に導く効果が期待される。



■VISIAによる皮膚状態の解析(シワ改善例)



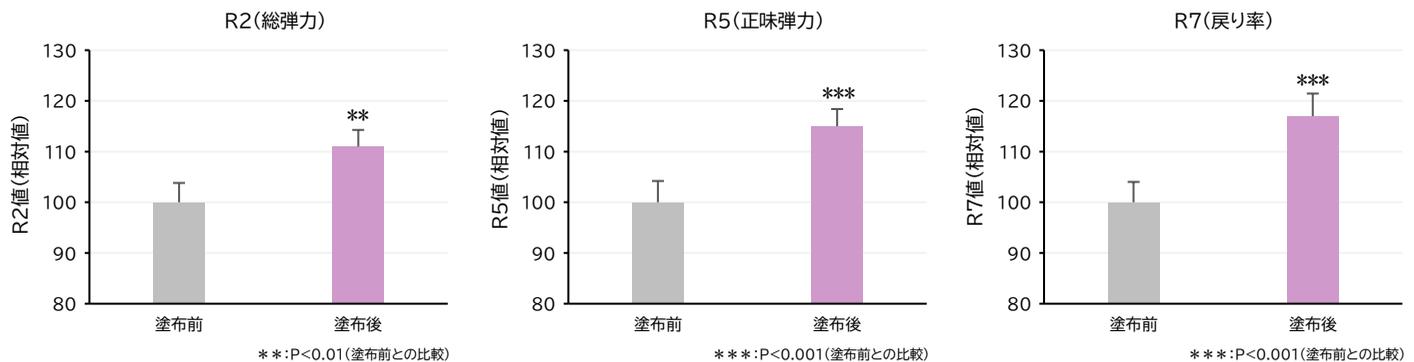
5. 肌弾力の測定

肌弾力の評価は各試験品の塗布前と塗布4週間後に片顔の測定を行った。

測定機器:キュートメーターMPA580

肌弾力指標:R2(Ua/Uf)総弾力 R5(Ur/Ue)正味弾力 R7(Ur/Uf)戻り率

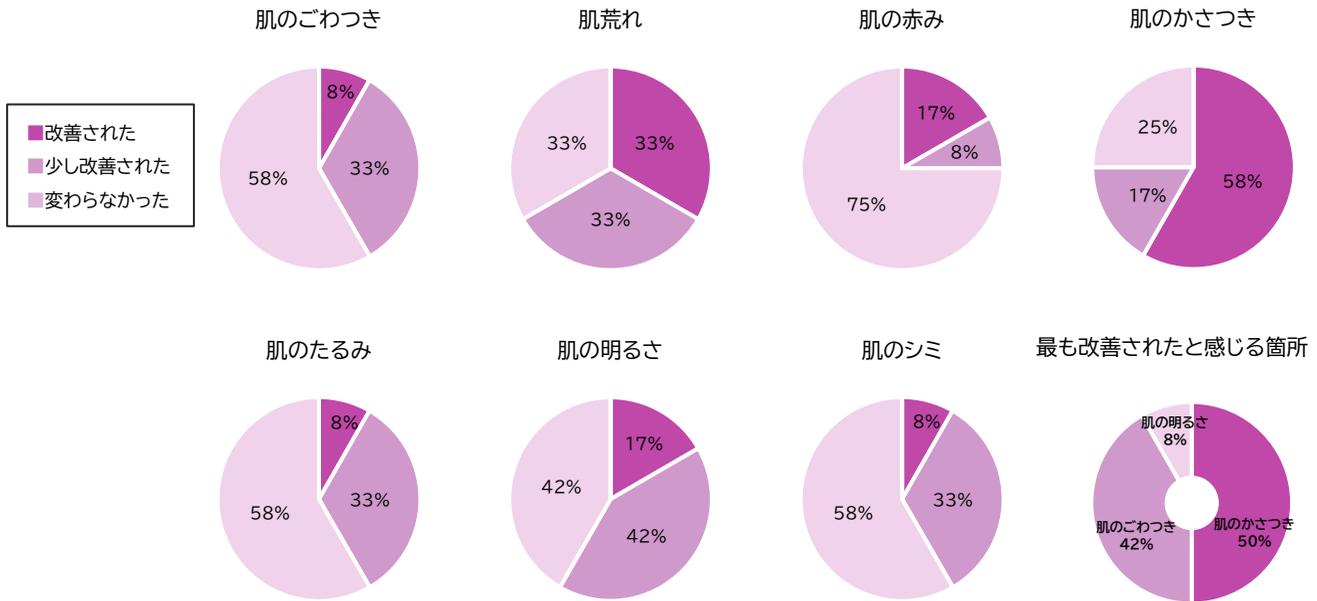
測定結果では、試験品の塗布によって、肌弾力が試験品塗布前と比較すると有意に高くなった。この結果より、肌翹水配合化粧品は肌弾力の向上が期待される。



(4)肌翹水配合化粧品でのヒト試験結果 ~肌翹水配合化粧品連用試験~

6. アンケート結果による肌の確認

試験品を4週間塗布した試験者に肌状態のアンケート調査を行った。結果として、肌のごわつき、肌荒れ、肌のかさつき、肌の明るさが体感として改善したと感じた人が半数以上おり、その中でも特に肌のかさつきと肌のごわつきが改善したと感じた人が多かった。このことから、肌翹水の角質中の水分保持機能と古い角質をスムーズに排出する効果が影響し、肌のかさつきと肌のごわつきが改善する体感が得られやすいことが確認できた。



安全性試験データ

安全性試験	結果
Ames試験	陰性
皮膚刺激性試験(代替法 OECD TG439)	無刺激性
眼刺激性試験(代替法 OECD TG492)	無刺激性
光毒性試験(代替法 OECD TG495)	陰性
ヒトパッチテスト(24時間閉塞 20名)	安全品
ヒト皮膚感作性試験 (RIPT 50名)	累積刺激性および感作性は無し

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

～生命力を呼び起こす、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、エラスターゼ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・オクルディン(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。

製品名		発酵プロビタミンオイルPRD™
化粧品	表示名称	INCI名
	スクワラン	Squalane
	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	Xanthophyllomyces/Olive Fruit Oil Ferment Lysate Extract Filtrate
	β-カロチン	Beta-Carotene

規格項目	規格	試験法
性状	橙色から赤橙色の液体で 特異臭あり	官能検査法
比重	0.790~0.850	ピクノメーター法
吸光度 (OD478nm)	1.0~2.0(暫定値)	分光光度計
純度試験(1)重金属	20ppm以下	外原規一般試験法
純度試験(2)ヒ素	2.0ppm以下	外原規一般試験法
一般生菌数	100cfu/mL以下	AOAC法(ペトリフィルム法)
大腸菌群	陰性	AOAC法(ペトリフィルム法)
カビ・酵母	100cfu/mL以下	AOAC法(ペトリフィルム法)

イントロダクション

発酵プロビタミンオイルPRD™

皮膚の表皮と真皮にはたらきかける

エイジングケア

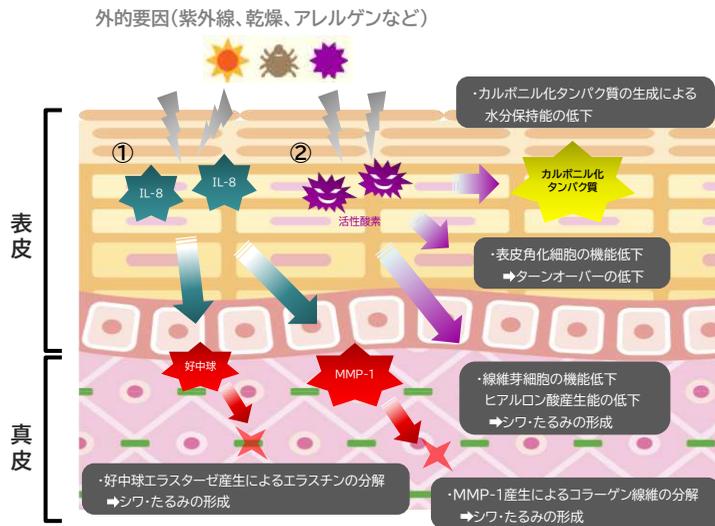
皮膚は紫外線や乾燥、アレルギーなどの外的要因によって様々なダメージを受け老化が進みます。下記の記載は外部要因によって皮膚ダメージが起きる流れの一部とそのイメージを示したものです。

皮膚は外的要因によって…

①IL-8等の炎症性サイトカインの分泌を亢進します。IL-8は、好中球の真皮組織への浸潤を誘導し、真皮で好中球はエラスターゼを分泌し、コラーゲン繊維を束ねて皮膚のハリや弾力性をもたらしけるエラスチンを分解します。さらに好中球エラスターゼはコラーゲン繊維をI型コラーゲン分解酵素(MMP-1)から保護しているデコリンを分解し、MMP-1によるコラーゲン繊維の分解を促進します。このように外的要因により誘発された炎症性サイトカインが肌のハリ・弾力性を低下させシワの原因となります。

②活性酸素の産生が亢進します。活性酸素は、表皮角化細胞や線維芽細胞のDNA傷害を起こし、それぞれの細胞の機能を低下させます。表皮角化細胞ではターンオーバーの低下、線維芽細胞ではコラーゲンやヒアルロン酸産生能の低下などが起こります。さらに活性酸素は皮脂を酸化させ過酸化脂質を生成します。過酸化脂質の最終産物であるアルデヒド化合物はタンパク質を酸化修飾し、カルボニル化タンパク質を生成します。カルボニル化タンパク質は保湿機能の低下、肌の黄ぐすみ、透明感の低下をもたらします。

発酵プロビタミンオイルは、IL-8の生成抑制作用といった抗炎症作用や、表皮角化細胞における活性酸素の生成抑制作用や細胞の保護作用などの抗酸化作用が認められました。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たことから、皮膚の抗シワ・たるみ機能を高めることで老化から肌を守る効果が期待されます。



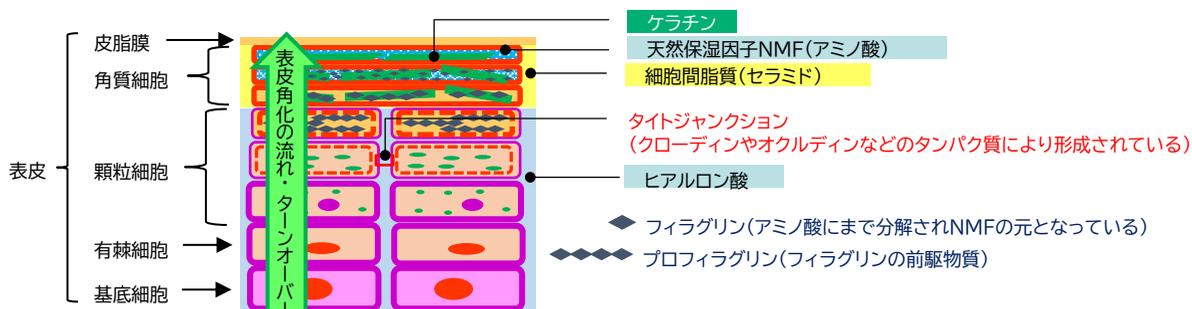
保湿・バリア機能改善効果

皮膚のバリア機能は、表皮角層内側の水分蒸発を防ぐとともに、外界からの異物(アレルギー・細菌など)の侵入を防ぐ役割を担っています。表皮はさらに角層・顆粒層・有棘層・基底層を構成する各種細胞から成り立っています。

表皮細胞は基底層で分裂し、有棘細胞、顆粒細胞へと分化・成熟しながら上方へと移動します。顆粒細胞の段階で、セラミドやアミノ酸などの保湿成分の材料が顆粒として細胞内に蓄えられます。さらに細胞が成熟すると、顆粒の中身は細胞外へ放出され、細胞膜の外側で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ます。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きます。

一方、細胞の内側ではケラチン線維が発達して細胞の強度を高め、外部からの圧力や刺激に対抗します。また、内側に蓄えたアミノ酸などの天然保湿因子(Natural Moisturizing Factor:NMF)が水分を保持することで、角質層のうるおいが保たれます。

発酵プロビタミンオイルは、表皮角化細胞の増殖を促進し、セラミド合成関連酵素、ヒアルロン酸合成酵素、フィラグリン(NMFの元となるタンパク質)、およびTJ構成成分であるクローディン-1とオクルディンの遺伝子発現を高めることにより、皮膚の保湿・バリア機能を向上させ、老化から肌を守ることが期待されます。



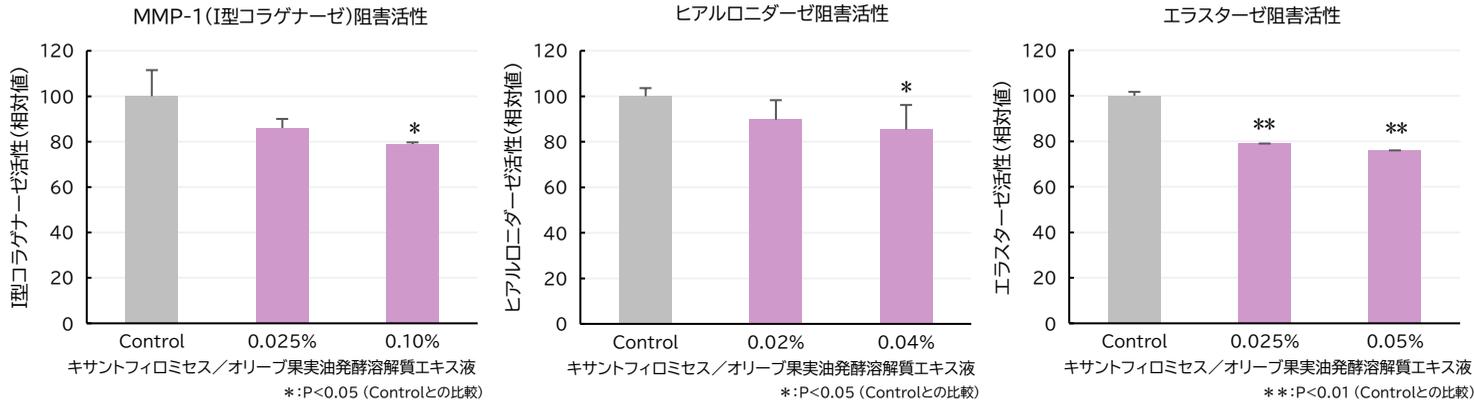
試験データ

発酵プロビタミンオイルPRD™

(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。

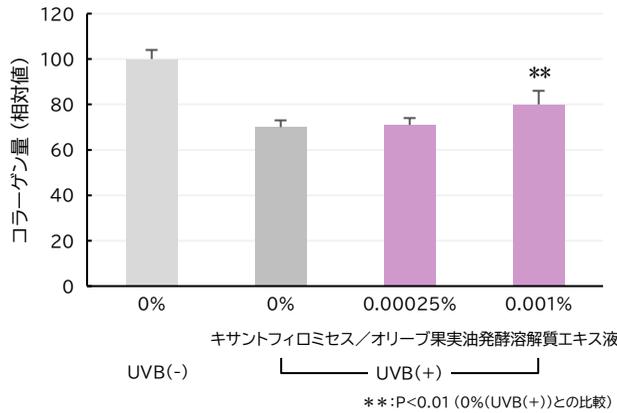


2. 紫外線照射に対する細胞外マトリックス保護作用

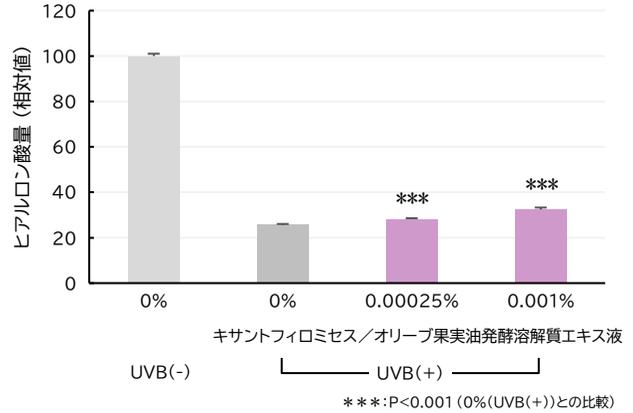
皮膚が紫外線に曝されると、表皮においてIL-8や活性酸素の産生を促進する。IL-8は線維芽細胞におけるI型コラーゲン分解酵素MMP-1の産生を促進し、その結果コラーゲンの分解が進行する。一方、活性酸素は線維芽細胞の機能を低下させ、コラーゲンやヒアルロン酸産生能も低下させる。これが紫外線によるシワ形成のメカニズムの一つと考えられている。

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。

(A) 線維芽細胞におけるコラーゲン分解抑制作用



(B) 線維芽細胞におけるヒアルロン酸分解抑制作用

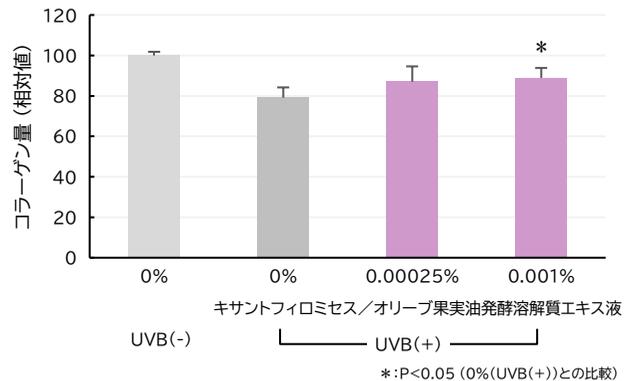


3. 紫外線照射に対する唇における細胞外マトリックス保護作用

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。

口唇由来線維芽細胞におけるコラーゲン分解抑制作用



試験データ

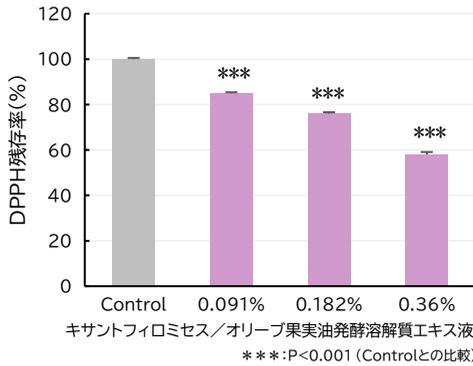
発酵プロビタミンオイルPRD™

(2)抗酸化作用

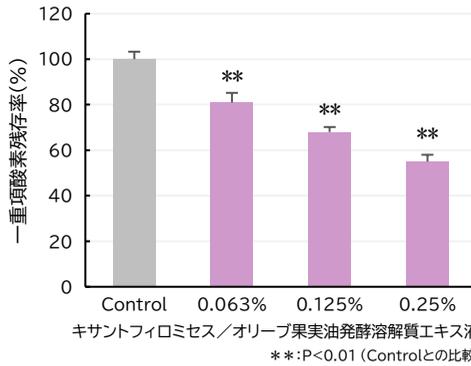
1. DPPHラジカル消去能、一重項酸素消去活性、脂質過酸化抑制作用

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。

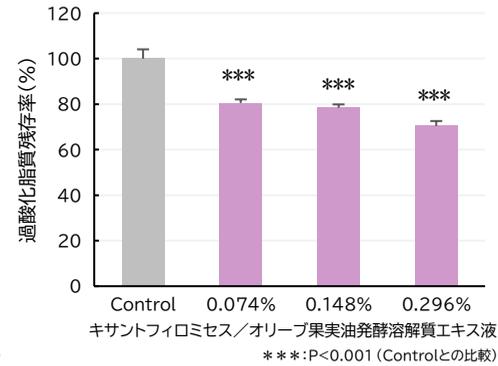
DPPHラジカル消去活性



一重項酸素消去活性



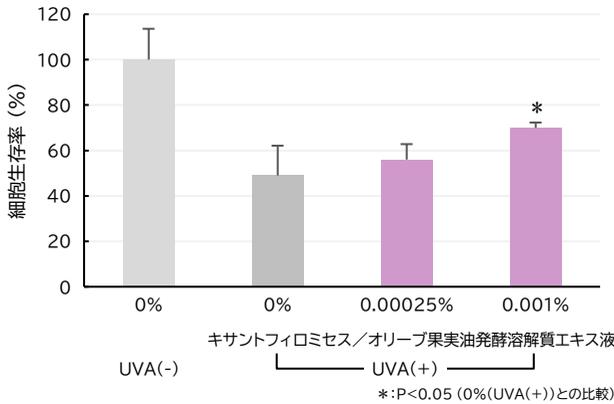
脂質過酸化抑制作用(ロダン鉄法)



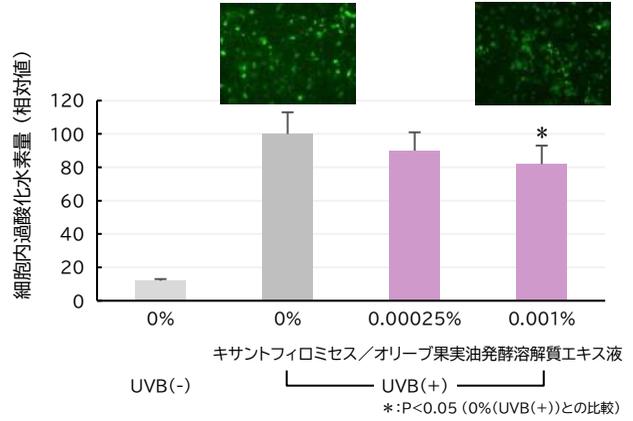
2. 活性酸素(酸化ストレス)に対する保護効果

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ませ、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

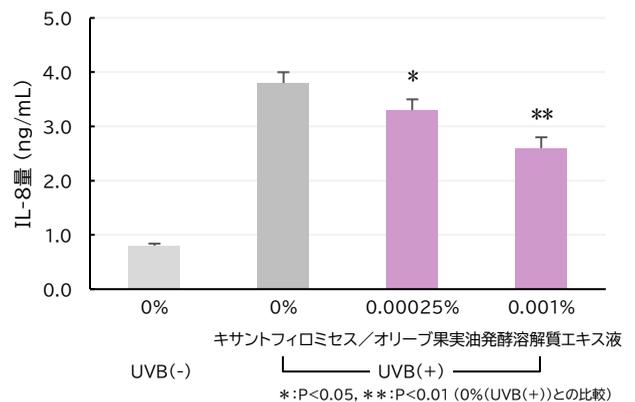


(3)抗炎症作用

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。

IL-8生成抑制作用



試験データ

発酵プロビタミンオイルPRD™

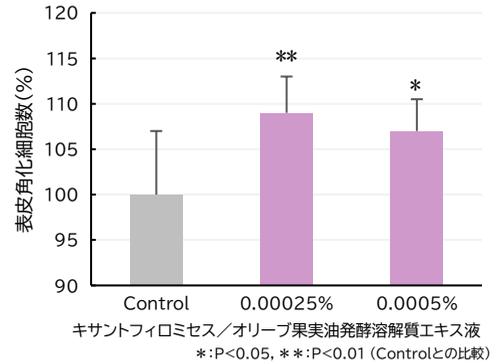
(4)保湿・バリア機能改善作用

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。

表皮角化細胞における細胞増殖促進作用

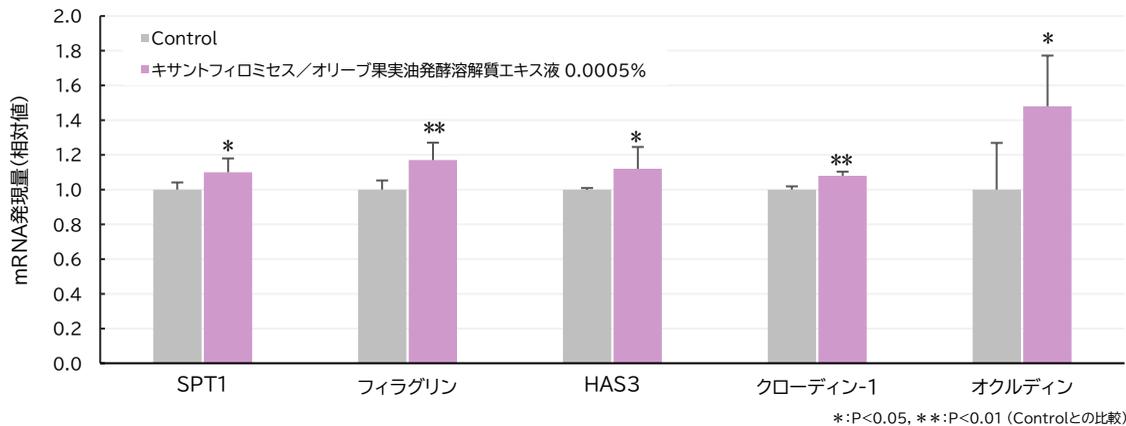


2. 保湿・バリア機能に関する遺伝子発現促進作用

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とオクルディ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。

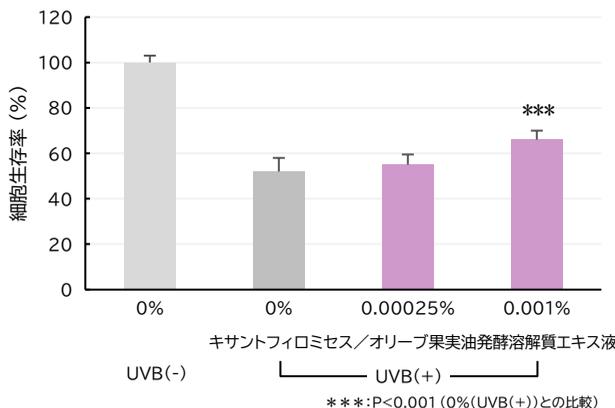
表皮角化細胞における保湿・バリア機能関連遺伝子発現促進作用



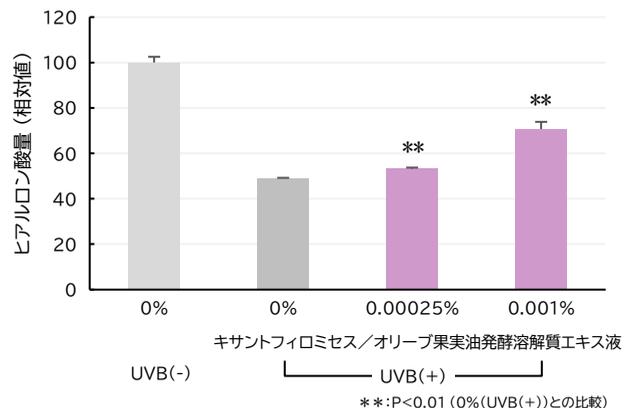
3. 紫外線に対する保護効果

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に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。

(A) UVB照射に対する表皮角化細胞の細胞保護効果



(B) UVB照射に対するヒアルロン酸減少抑制作用



試験データ

発酵プロビタミンオイルPRD™

(5)くすみ改善・美白作用

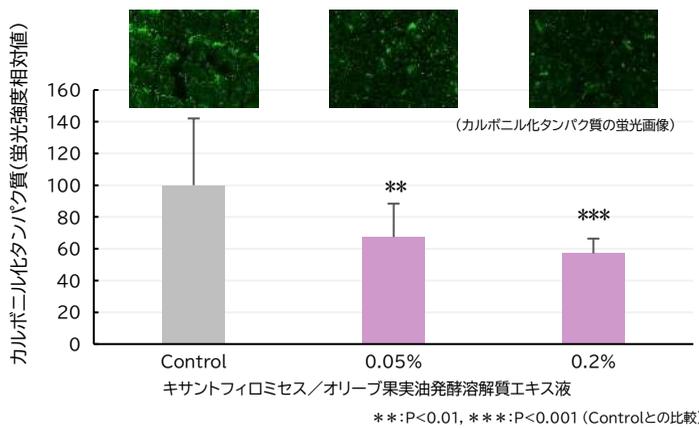
1. くすみ改善

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。

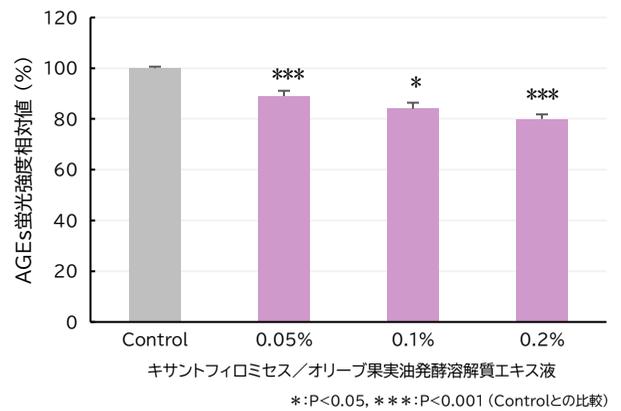
(A)カルボニル化タンパク質は、過酸化脂質の最終産物であるアルデヒド類のタンパク質への酸化修飾によって生じ、皮膚機能や透明感の低下をもたらすことが知られている。本試験では、テープストリッピング法により採取した角層を用いた。キサントフィロミセス／オリーブ果実油発酵溶解質エキス液の存在下でUVAを照射し、生成したカルボニル化タンパク質を5-FTSCと反応させて蛍光染色した後、蛍光画像解析によりカルボニル化タンパク質の生成抑制作用を評価した。その結果、UVA照射により角層中のカルボニル化タンパク質は増加することが確認され、キサントフィロミセス／オリーブ果実油発酵溶解質エキス液を添加することで、その生成が抑制されることが明らかとなった。以上より、本エキス液はカルボニル化タンパク質の増加を抑えることで、肌の乾燥や透明感の低下を防ぐ効果が期待される。

(B)糖化は、生体内にあるコラーゲンなどのタンパク質と食事によって摂取した糖が結びつき、タンパク質が変性して最終的にAGEs(終末糖化産物)が生じる現象である。糖化が進行すると肌では弾力が失われたり、透明感が低下することが知られている。本試験では、抗糖化作用を評価するためにアルブミン-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することで糖化反応をどの程度抑えられるか、蛍光性AGEsの蛍光強度を測定し評価した。その結果、本エキス液は、濃度依存的にAGEsの生成が抑えられることが示されたことから、抗糖化作用による肌のアンチエイジングやくすみ防止に期待できる。

(A)カルボニル化タンパク質生成抑制作用



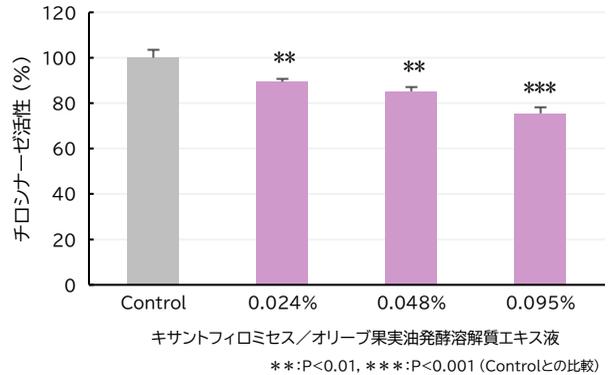
(B)AGEsの生成抑制作用



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パクロムの赤色を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。

チロシナーゼ阻害作用



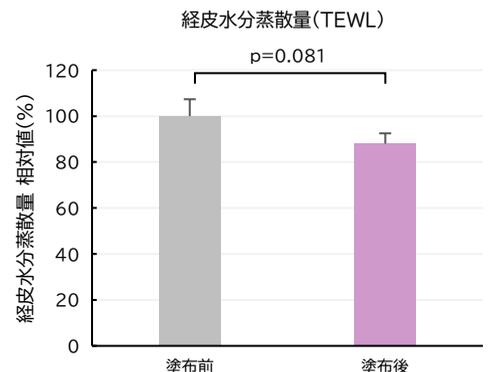
(6)発酵プロビタミンオイル配合化粧品でのヒト試験結果 ～配合化粧品連用試験～

<試験方法>

参加同意を得た健康な成人女性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℃・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。



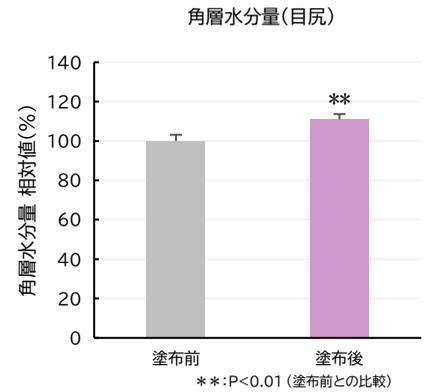
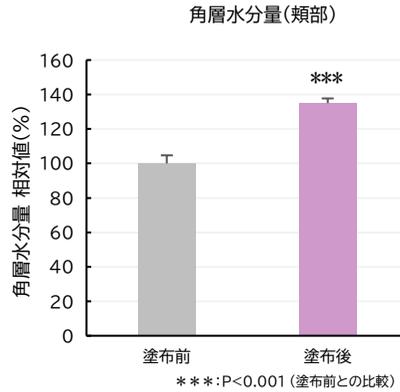
試験データ

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

2. 角層水分量の改善

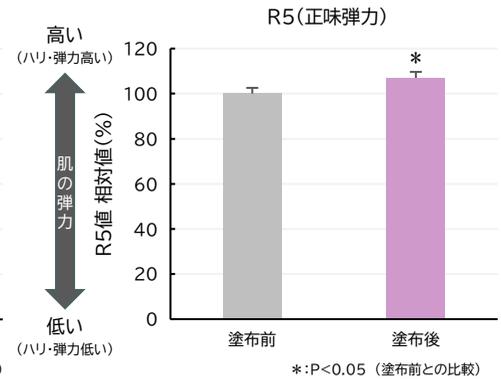
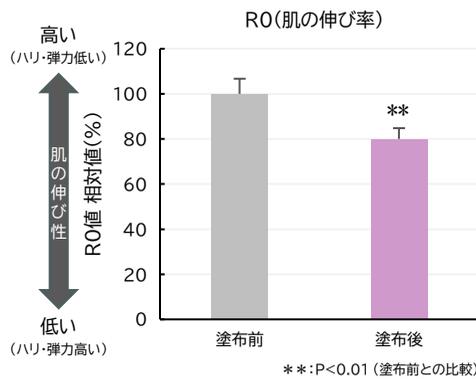
角層水分量の評価には、Corneometer® CM825を使用した。各試験品の塗布前および塗布4週間後に、左頬部で測定を実施した。また、アイクリームを使用した被験者については、追加で左目尻部の測定も行った。その結果、角層水分量は塗布前と比較して、いずれの測定部位においても有意に増加した。これらの結果より、発酵プロビタミンオイルを配合した化粧品は、肌の保湿力を向上させる効果があることが確認された。



3. 肌弾力の改善

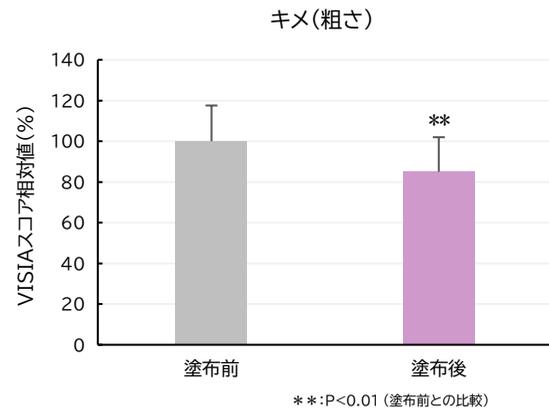
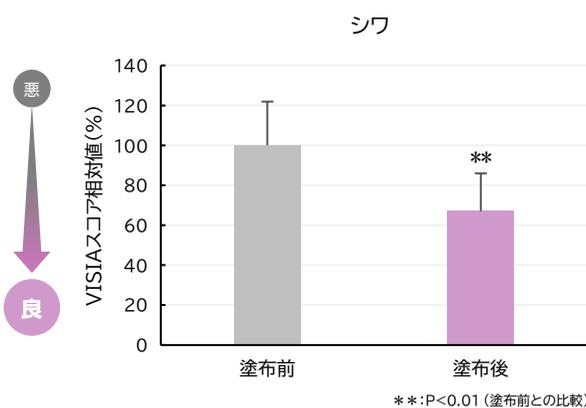
肌弾力の評価には、Cutometer®MPA580を使用した。各試験品の塗布前および塗布4週間後に、左頬部で測定を実施した。その結果、弾力性の指標であるR0は有意に低下し、R5は有意に増加した。R0の低下は皮膚の「ハリ」の向上を示し、R5の増加は「即時弾力性の向上」を示す。これらの結果より、発酵プロビタミンオイル配合化粧品は、肌のたるみ改善、引き締め効果、ハリ・弾力の向上に寄与することが期待される。

※R0:Uf(肌の伸び率) R5:Ur/Ue(正味弾力)

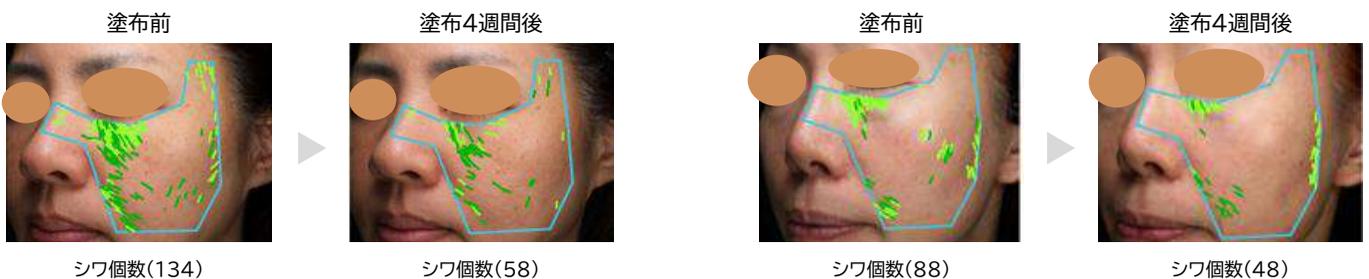


4. VISIA画像解析

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。



■VISIAによる皮膚状態の解析(シワ改善例)

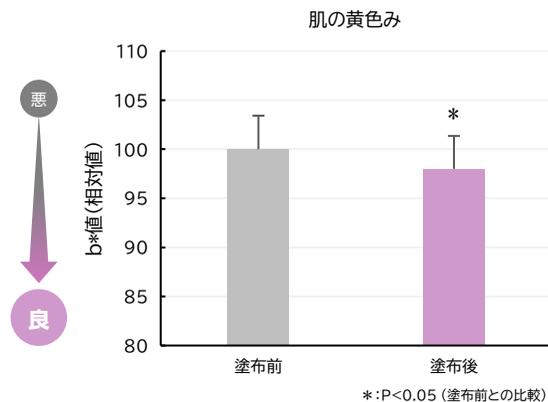
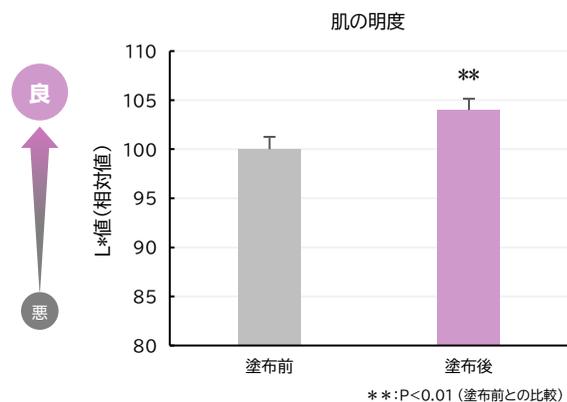
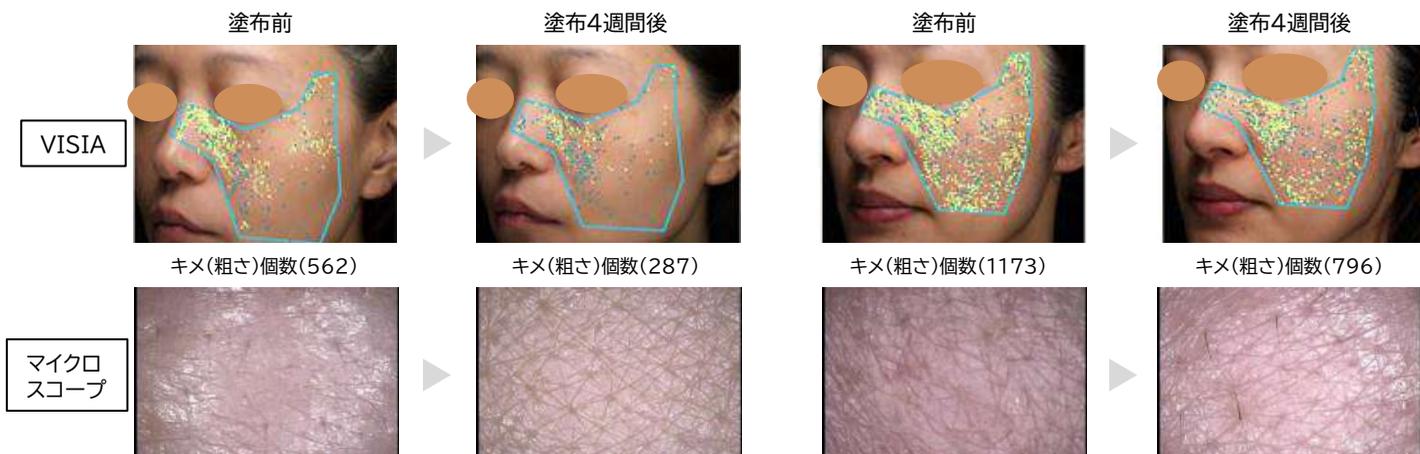


試験データ

発酵プロビタミンオイルPRD™

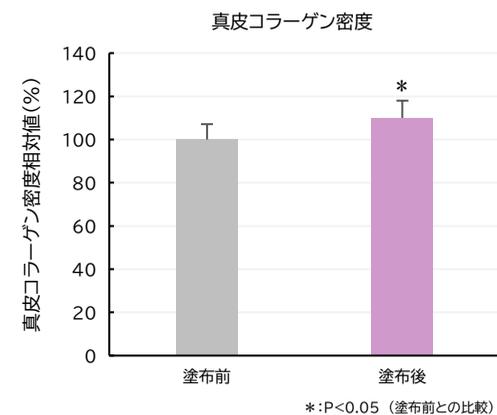
(6)発酵プロビタミンオイル配合化粧品でのヒト試験結果 ~配合化粧品連用試験~ 続き

■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)

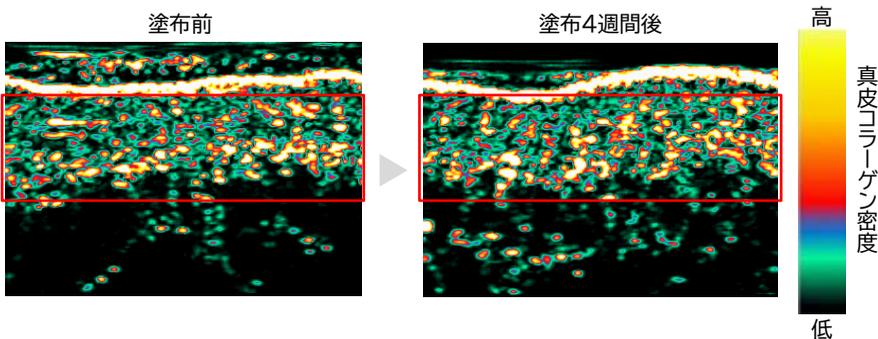


5. 超音波画像解析

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。



■DermaLabによる真皮コラーゲン密度の解析(改善例)

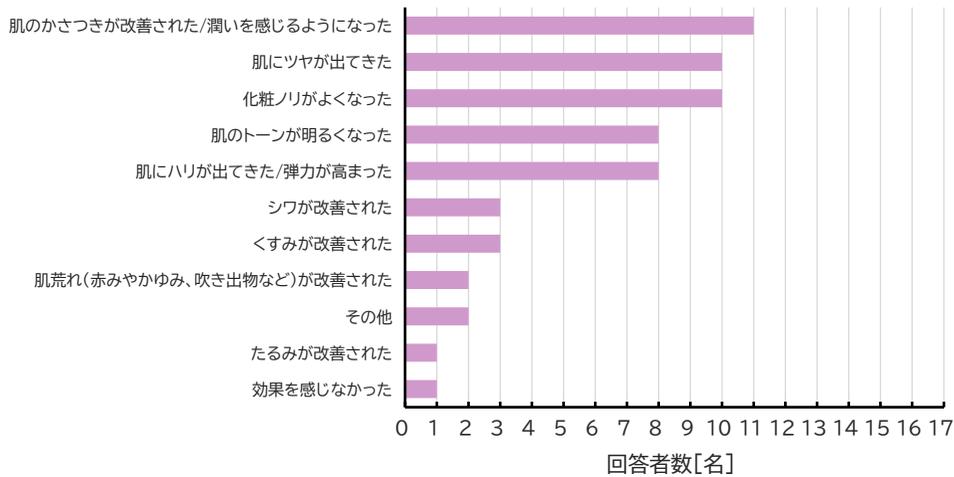


(6)発酵プロビタミンオイル配合化粧品でのヒト試験結果 ～配合化粧品連用試験～ 続き

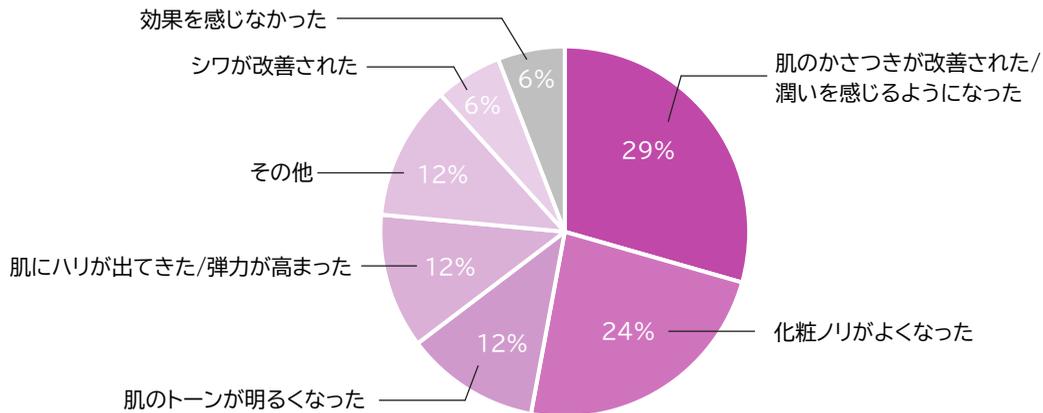
6. アンケートによる肌状態の評価

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)



安全性試験データ

安全性試験	結果
Ames試験	陰性
皮膚刺激性試験(代替法 OECD TG439)	無刺激性
眼刺激性試験(代替法 OECD TG492)	無刺激性
光毒性試験(代替法 OECD TG 495)	陰性
ヒトパッチテスト(24時間閉塞 20名)	安全品
ヒト皮膚感作性試験 (RIPT 50名)	累積刺激性および感作性は無し

【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%



株式会社東洋発酵

www.toyohakko.com

