

原料概要

(化粧品用)



ISO9001 認証取得

原 料 一 覧

化粧品原料 オリジナル原料

掲載ページ

UNIFINE®-CO ユニファイン・シーオー

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

p. 2-8

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。

IMMUNOL®-CO イムノール・シーオー

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

p. 9-13

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。

ROSE CRYSTA®-CO ローズクリスタ・シーオー

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

p. 14-16

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。

RICETECT® ライステクト

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

p. 17-24

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。

YUKIME® ユキメ

バリア機能 水分保持 新陳代謝 抗シワ ハリ 黄ぐすみ防止 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

p. 25-34

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

LACTIBIO® ROSE ラクティビオローズ

美白 黄ぐすみ防止 光老化防止 抗シワ 抗酸化 抗糖化

[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

p. 35-40

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の特許原料です。

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。

CELABIO® セラビオ

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 創傷治癒

[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

p. 41-50

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賦活作用、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。

肌麹水® はだこうじすい

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

p. 51-58

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。

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	組成%
	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	20
	BG	Butylene Glycol	80

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

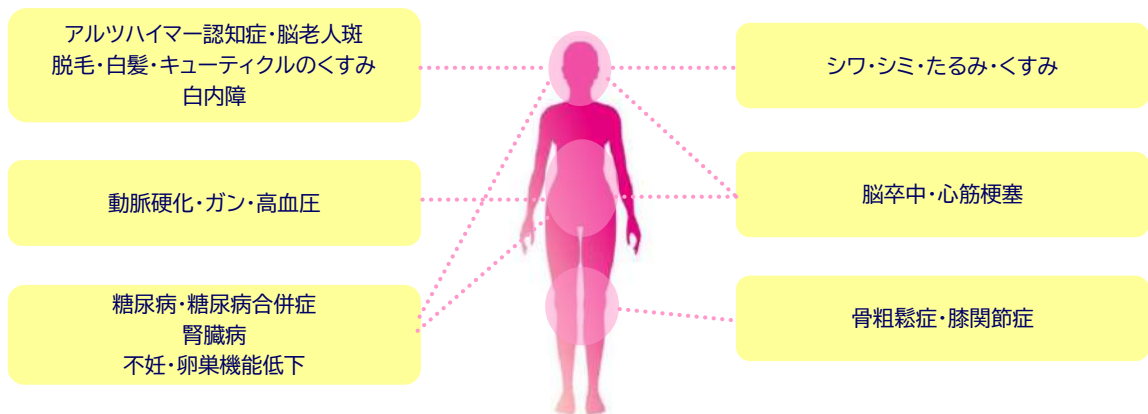
糖化とは... 体内糖化ストレスを抑えることが大切です

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。

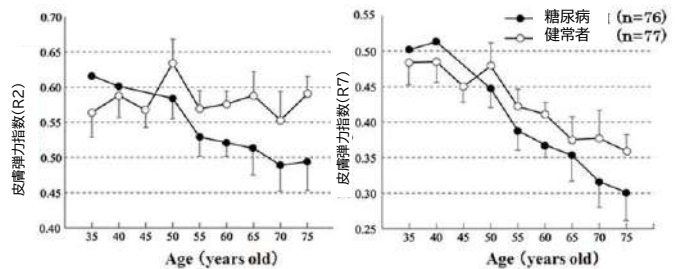
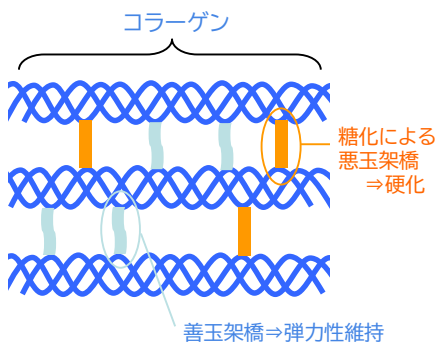


糖化によって起こる病気や症状



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。



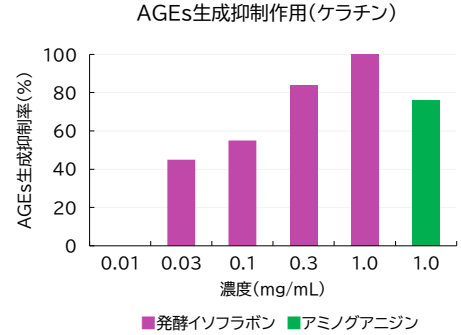
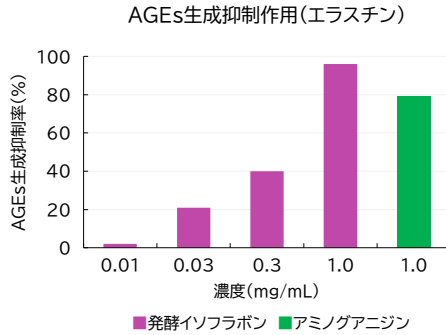
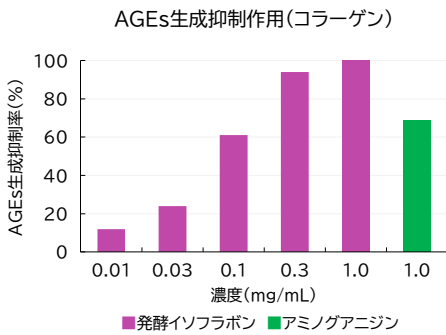
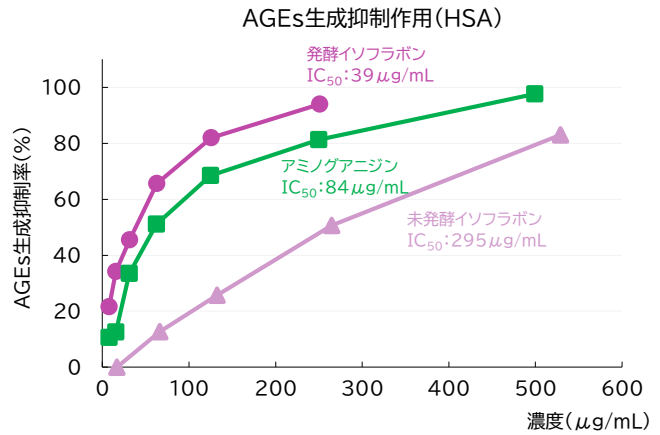
Kubo M5, J ClinBiochem Nutr 43(Suppl 1); 66-69; 2008 より

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~

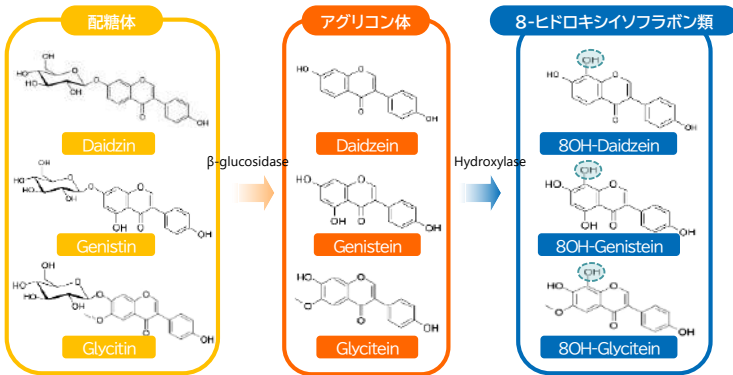
発酵イソフラボンと未発酵イソフラボンについて、グルコースとHSA(ヒト血清アルブミン)の糖化反応系により蛍光AGEs生成抑制作用の評価を行なった。その結果、発酵イソフラボンは未発酵イソフラボンに比べて非常に高い蛍光AGEs生成抑制作用が確認された。また、発酵イソフラボンはタンパク質としてコラーゲン、エラスチン、ケラチンを用いた反応系においても蛍光AGEs生成抑制作用が確認され、その作用は糖化反応阻害剤であるアミノグアニジンよりも強いことが確認された。



(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。

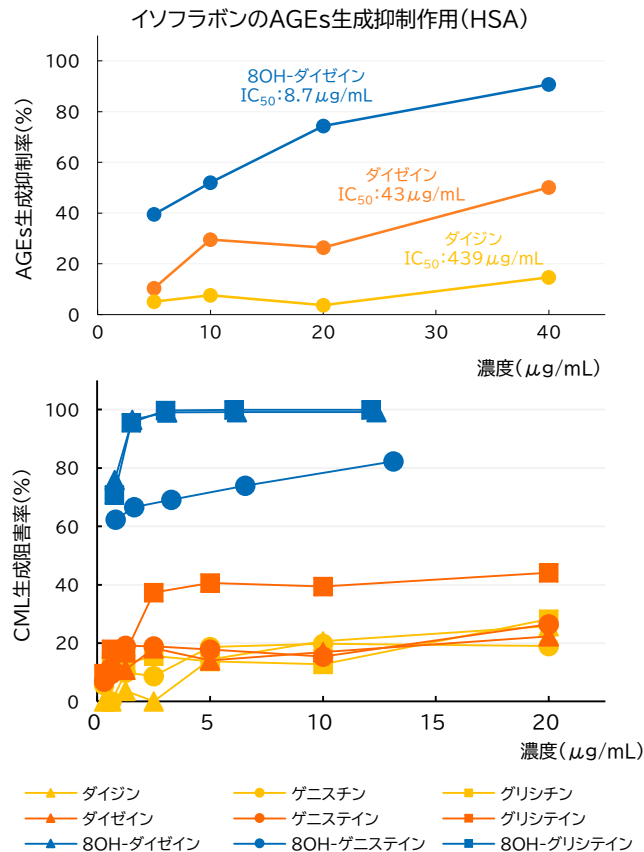
■ 麹菌発酵による大豆イソフラボンの変換



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HSA(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。

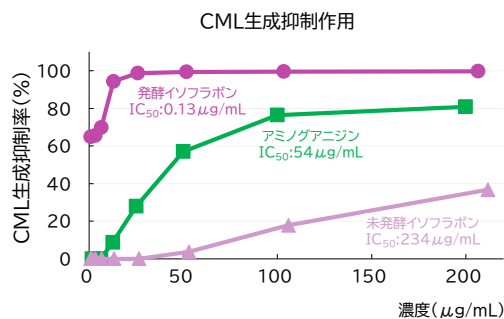
IC₅₀(50%阻害濃度)で比較すると、ダイジンとダイゼインで約10分の1、ダイゼインと8OH-ダイゼインで約5分の1の濃度となった。また、CML生成についても、イソフラボン類の阻害活性についても検討した。配糖体であるダイジン、ゲニステインよりもアグリコンであるダイゼイン、ゲニステインが、さらに8OH-ダイゼインや8OH-ゲニステイン等の水酸化誘導体のほうがCML生成の阻害が非常に高くなっていることが確認できた。これらの結果から、8-ヒドロキシイソフラボン類は、アグリコンや配糖体と比較して強い抗糖化活性があることが確認できた。



(3) AGEs生成抑制作用 ~CML、ペントシジン、3DG生成抑制~

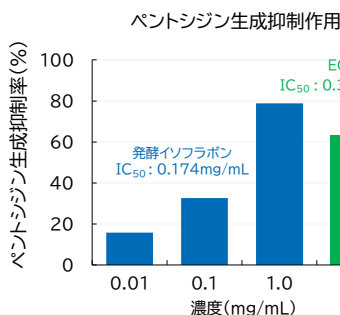
カルボキシメチルリジン(CML)生成抑制

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。

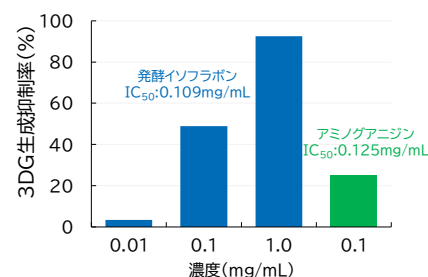


ペントシジン生成抑制

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。



3DG生成抑制作用



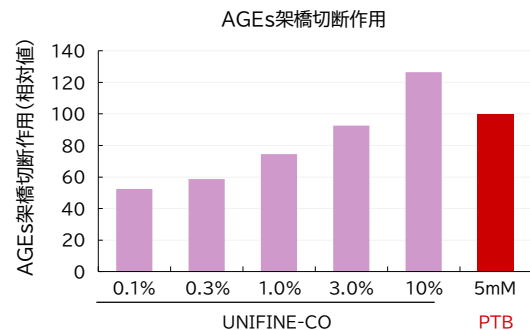
3-デオキシグルコソン(3DG)生成抑制

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。

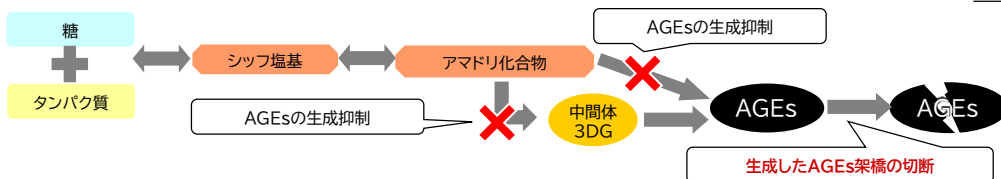
(4) AGEs架橋切断作用

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-炭素間の結合を解裂し、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-フェニ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



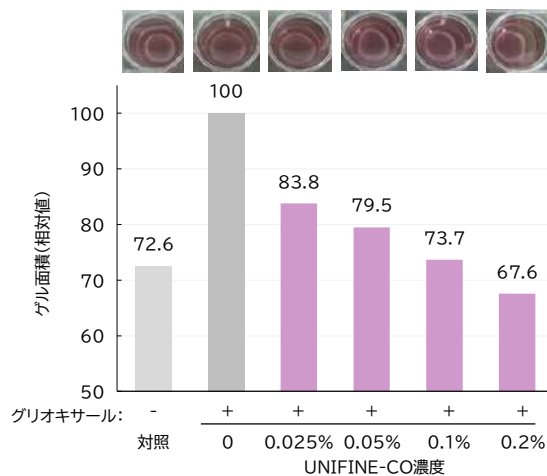
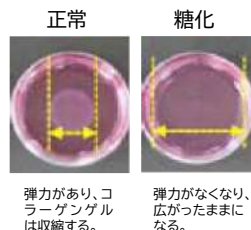
(5) コラーゲンの糖化抑制によるタルミ防止・ハリ改善効果

<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。



(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。

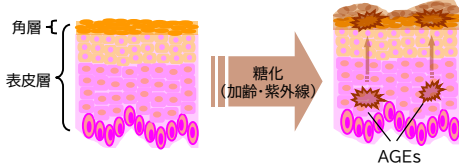
その結果、発酵イソフラボンは、グリオキサールにより誘導されるAGEs生成を抑制することが確認された。

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。

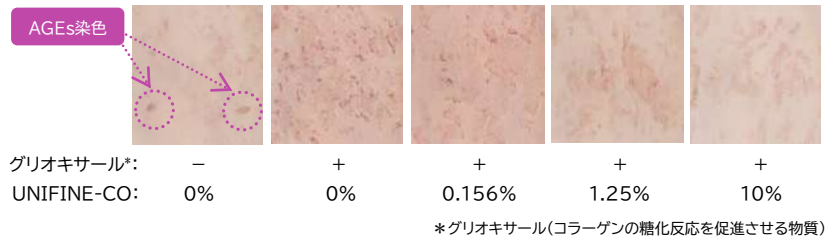
- (1) 表皮中のケラチンがAGE化される。
- (2) AGEsが多いと、角層が厚く、水分量が少ない傾向にある。
- (3) 表皮細胞で形成されたAGEsは、角化とともに角層まで持ち込まれる。
- (4) 皮膚の透明感を低下させる。

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

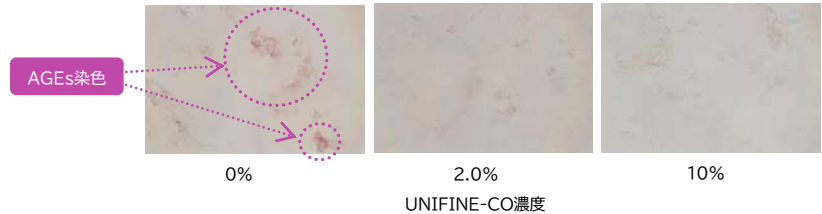


参考: Kawabata K: Aging materials with rapid turnover are produced in the epiderm; skin distribution of advanced glycation end product (AGE). Proceedings of the 136th FJ Seminar pp13-17, 2009 (in Japanese)

(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)

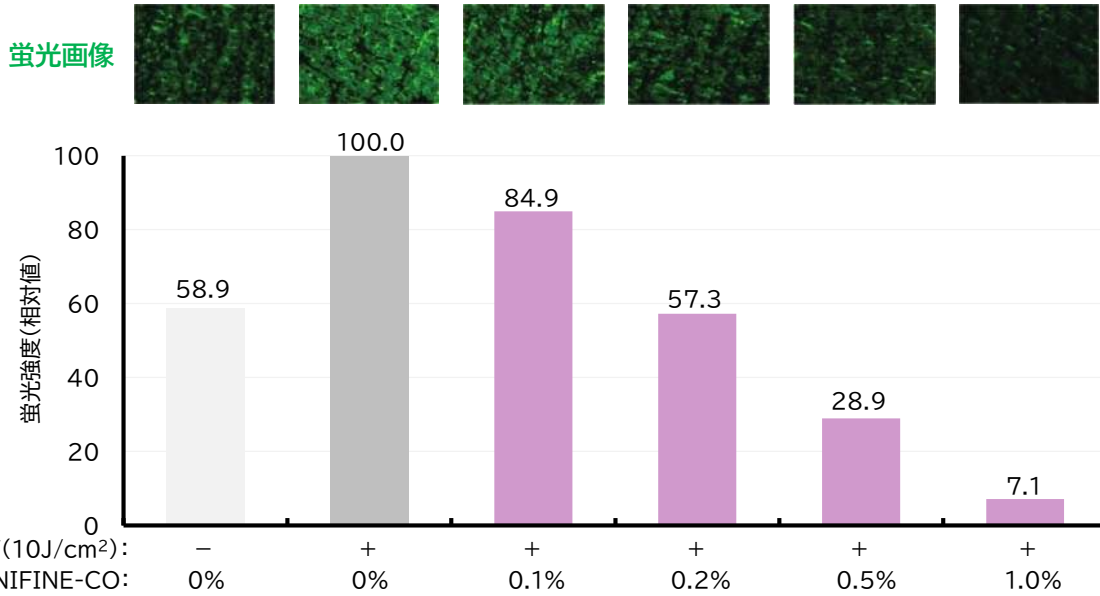


試験データ

UNIFINE®-CO

(9)カルボニルタンパク質生成阻害作用

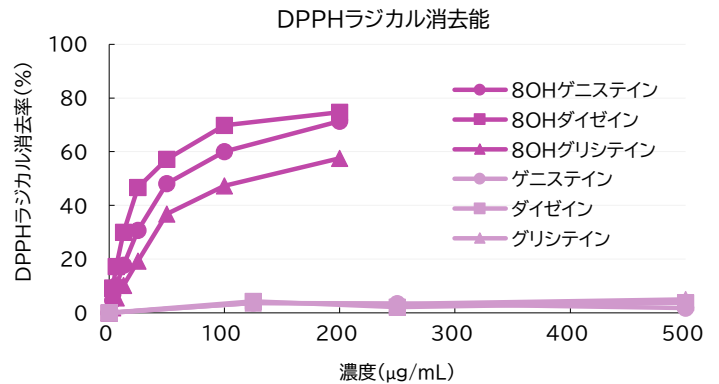
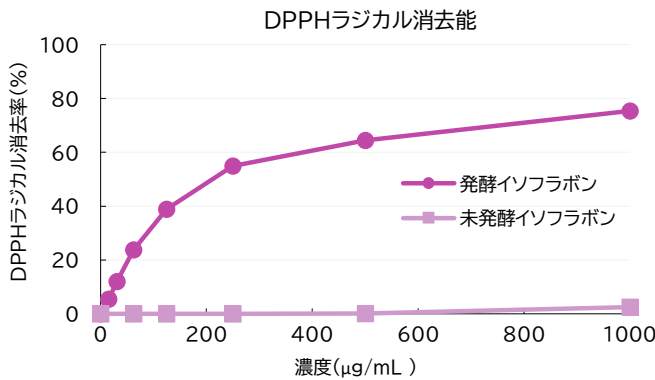
テープストリッピング法により採取した角層にUVを照射するとカルボニルタンパク質の生成が促進される。本試験では、発酵イソフラボン存在下においてUV照射により生成するカルボニルタンパク質を5-FTSCと反応させて蛍光染色した後、蛍光画像解析によりカルボニルタンパク質の生成抑制作用を評価した。その結果、UV照射(10J/cm²)により、角層中のカルボニルタンパク質は増加することが確認されたが、発酵イソフラボンを添加することにより、カルボニルタンパク質の生成が抑えられることが確認された。皮膚タンパク質のカルボニル化は「黄ぐすみ」の原因とされている。発酵イソフラボンはカルボニルタンパク質の生成を抑制する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



(10)抗酸化作用 ~DPPHラジカルおよびOHラジカル消去能~

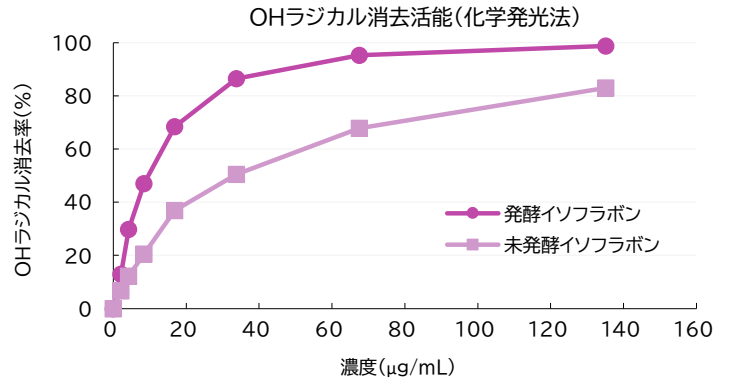
DPPH消去能

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。



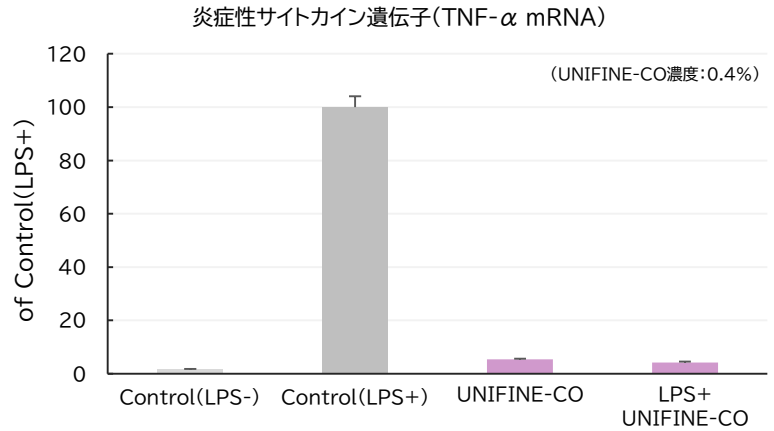
OHラジカル消去能

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は未発酵イソフラボンよりも高い抗酸化能が確認された。



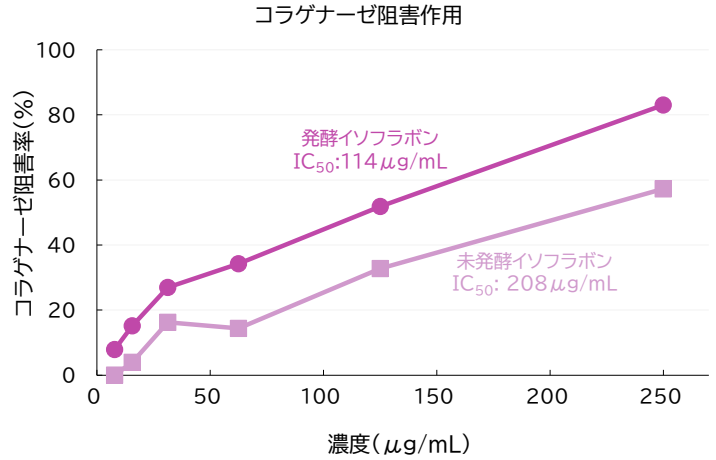
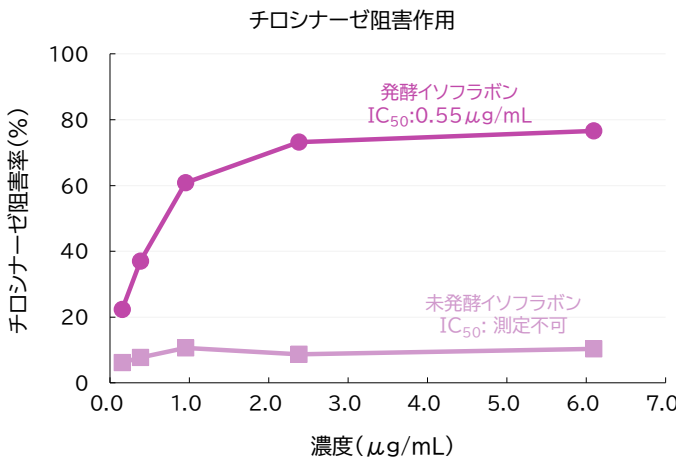
(11) ニキビ(痤瘡)に対する予防作用～皮脂腺細胞における抗炎症作用～

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(濃度:10%)
眼刺激性試験(代替法 OECD TG492)	無刺激性(濃度:10%)
光毒性試験(代替法 OECD TG432)	陰性(濃度:100%)
ヒトパッチテスト(24時間閉塞 20名)	安全品(濃度:10%)
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:10%)

(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。

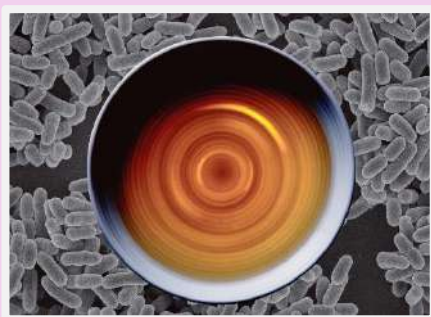
換算例) 発酵イソフラボン:1 μ g = UNIFINE-CO:100 μ g
 発酵イソフラボン:1mg = UNIFINE-CO:100mg
 発酵イソフラボン:0.01% = UNIFINE-CO:1%

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賦活作用、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。細胞賦活作用があり、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	組成%
	グルコノバクター培養液	Gluconobacter Ferment Filtrate	50
	BG	Butylene Glycol	50

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

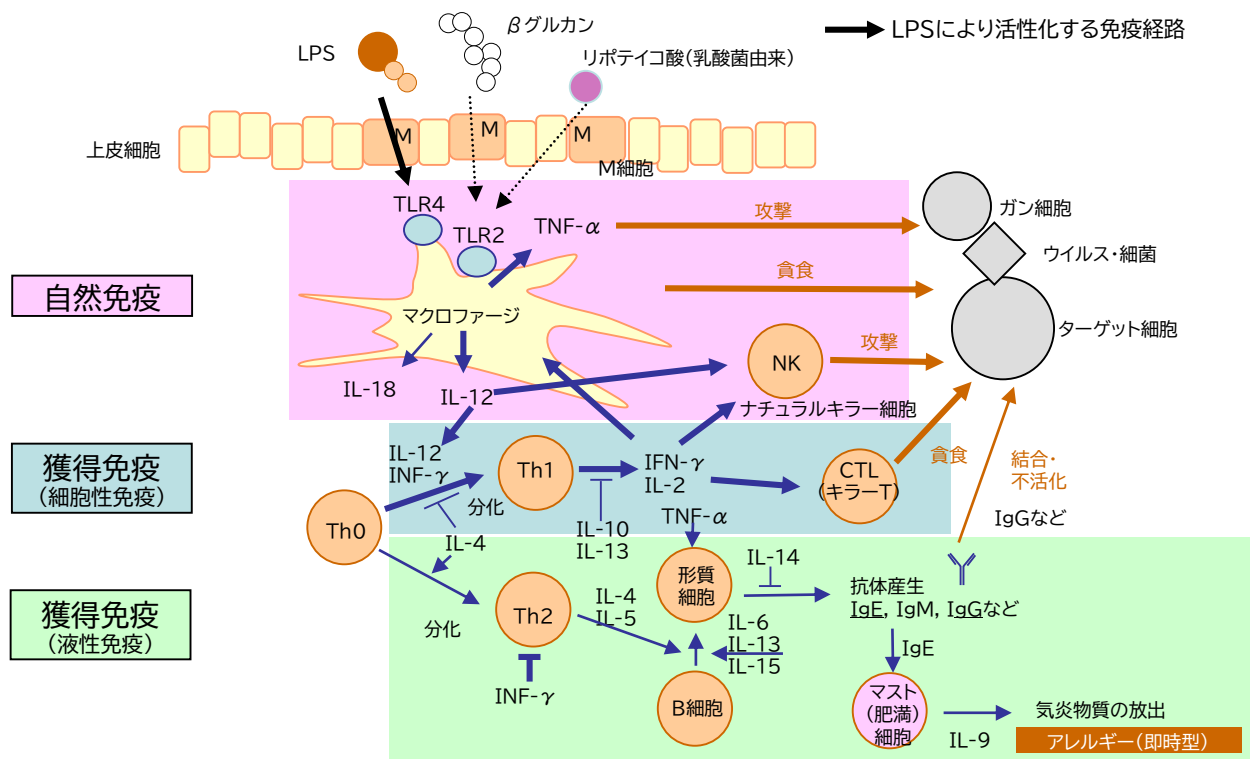
IMMUNOL®-CO

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。

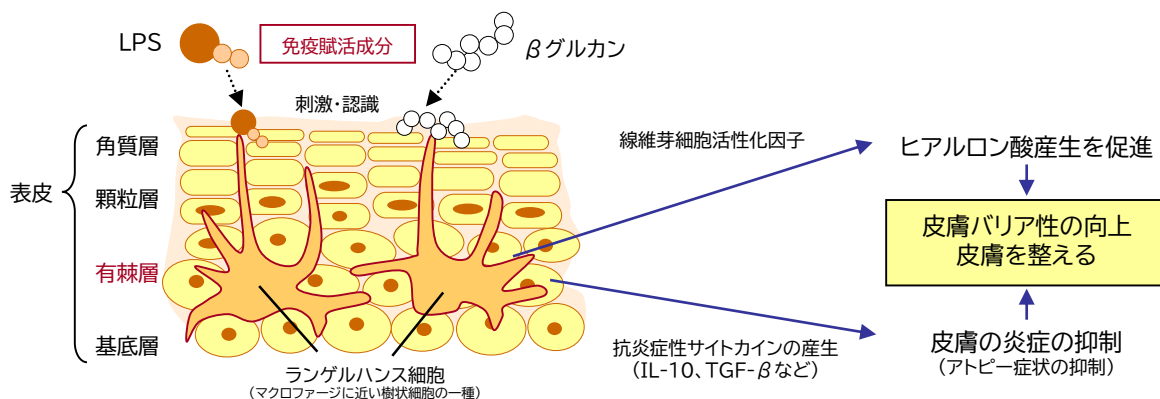
一方、免疫賦活成分として有名なβグルカンやペプチドグリカン、乳酸菌などはTLR2を介して同様の伝達が行われます。

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 ※

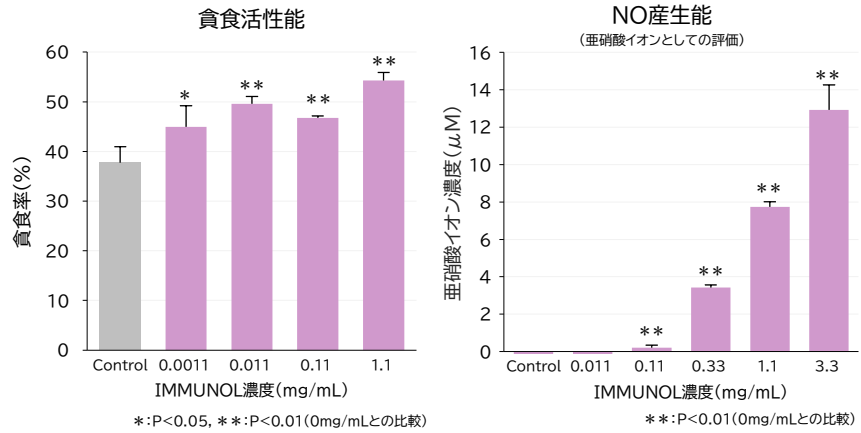
<試験方法>

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。



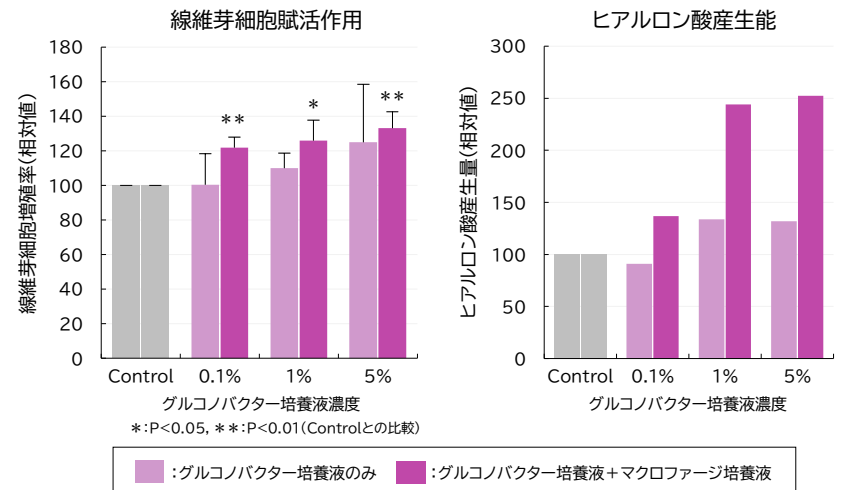
(2)自然免疫活性化(マクロファージ活性化)による美容作用

<試験方法>

グルコノバクテリア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テリア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テリア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、グルコノバクテリア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。



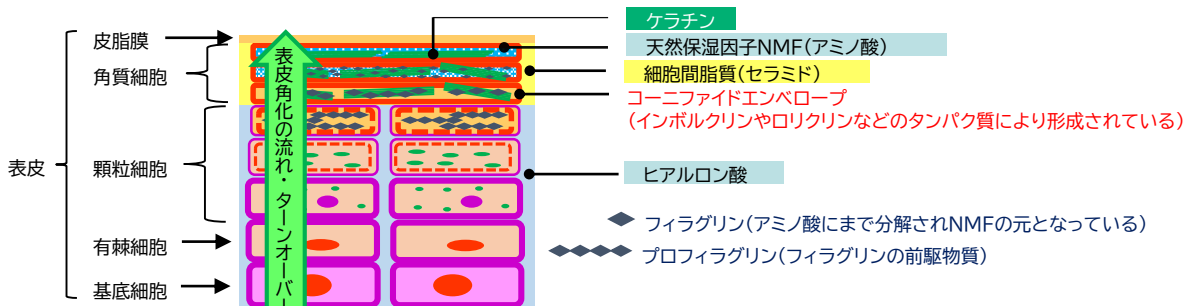
(3)表皮(角化細胞)への作用 ~バリア機能・水分保持機能・新陳代謝機能改善効果~

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。



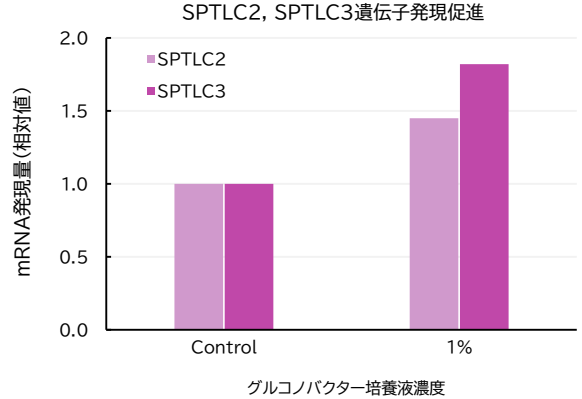
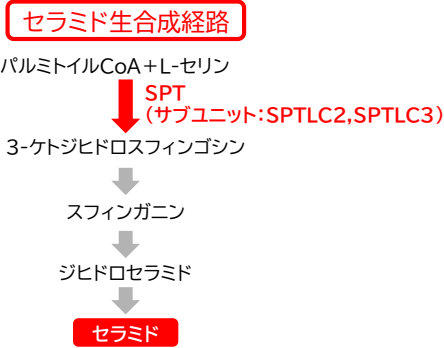
試験データ

IMMUNOL®-CO

(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~

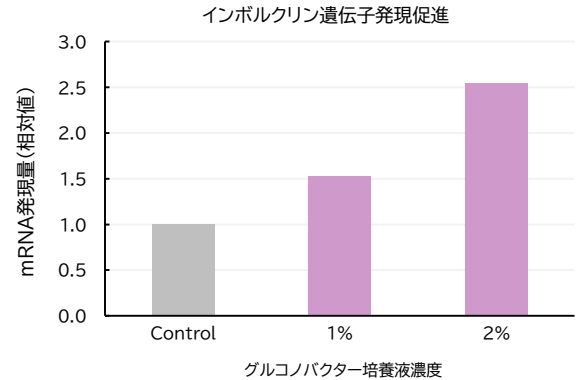
1. セラミド産生促進作用

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。



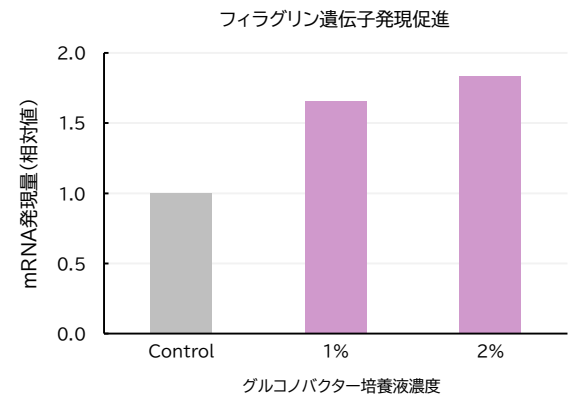
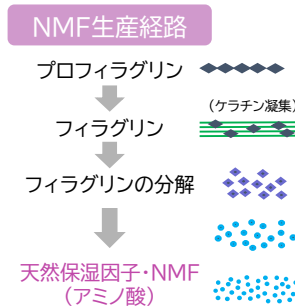
2. インボルクリン産生促進作用

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。



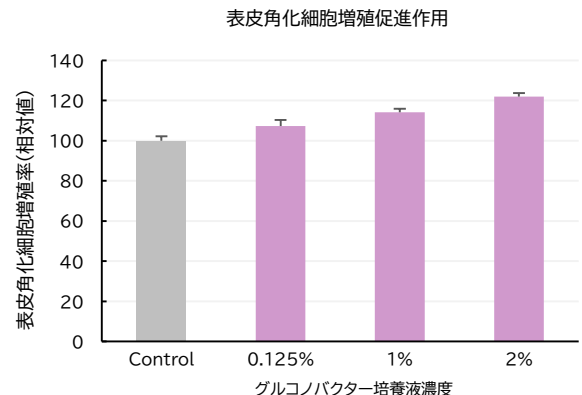
3. フィラグリン産生促進作用

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賦活作用があり、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。

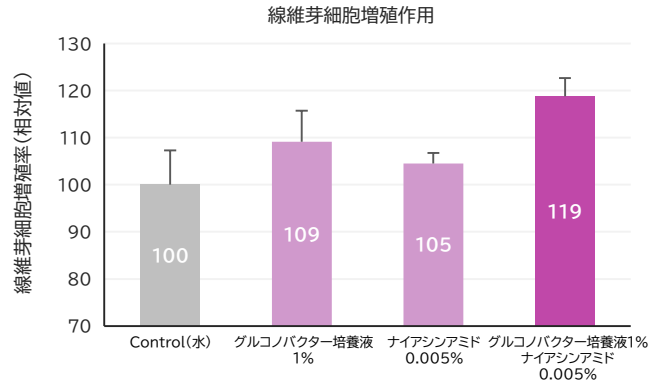


試験データ

IMMUNOL®-CO

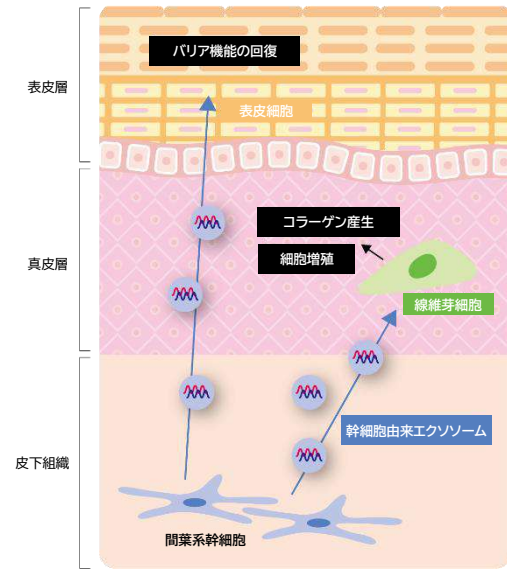
(4)線維芽細胞増殖作用 ~ナイアシンアミドとの併用によるシナジー効果~

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。

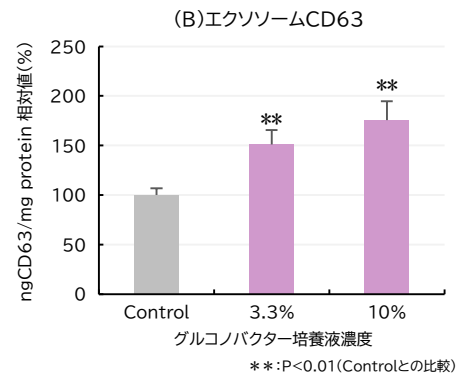
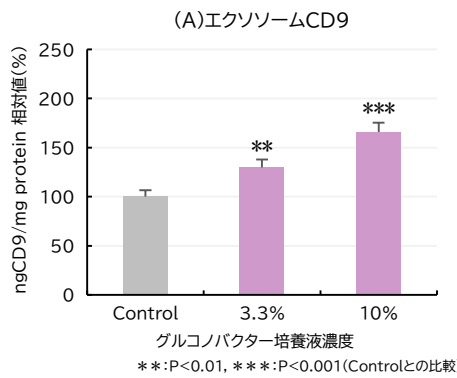
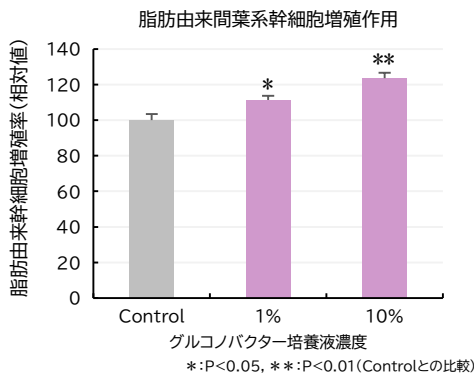


1. 脂肪由来間葉系幹細胞の増殖能

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(濃度:10%)
眼刺激性試験(代替法 OECD TG492)	無刺激性(濃度:10%)
光毒性試験(代替法 OECD TG432)	陰性(濃度:50%)
ヒトパッチテスト(24時間閉塞 20名)	安全品(濃度:50%)
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:10%)

(濃度:グルコノバクター培養液として)

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*	Rosa 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(ROSA 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

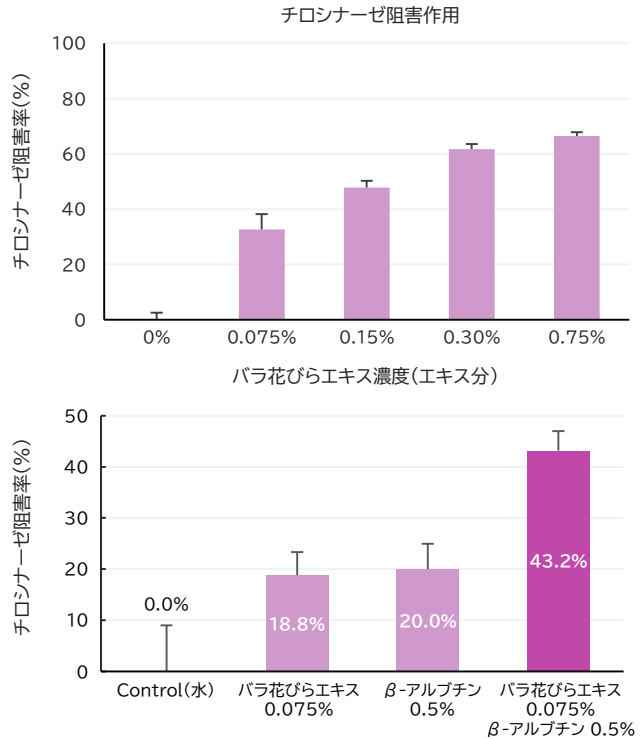
(1)美白効果(チロシナーゼ阻害作用, β アルブチンとの併用によるシナジー効果)

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。

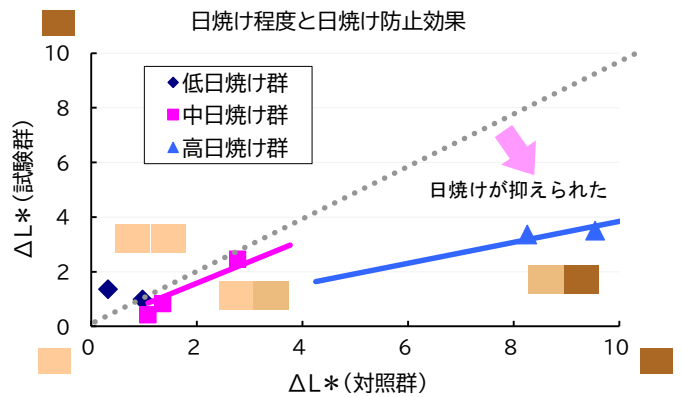
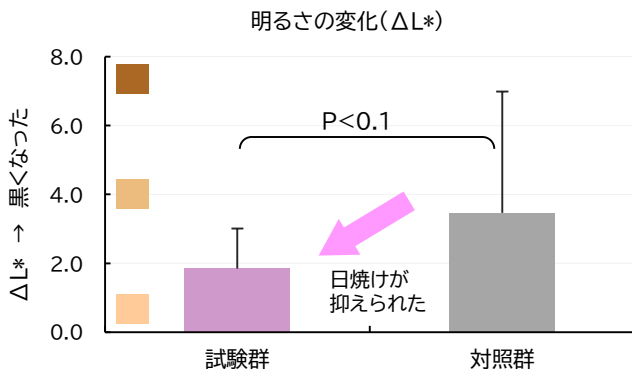
また、医薬部外品の美白有効成分としても承認されている β -アルブチンとの併用によるチロシナーゼ阻害作用についても評価した。その結果、バラ花びらエキスおよび β -アルブチンの単独添加時におけるチロシナーゼ阻害率は18.8%、20.0%であるのに対して、併用した場合の阻害率が43.2%となった。つまり、それぞれの単独添加時阻害率の加算値(38.8%)よりも併用時阻害率(43.2%)の方が約1.1倍高くなったことから、バラ花びらエキスと β -アルブチンを併用することによってチロシナーゼ阻害作用が相乗的に向上した。

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。



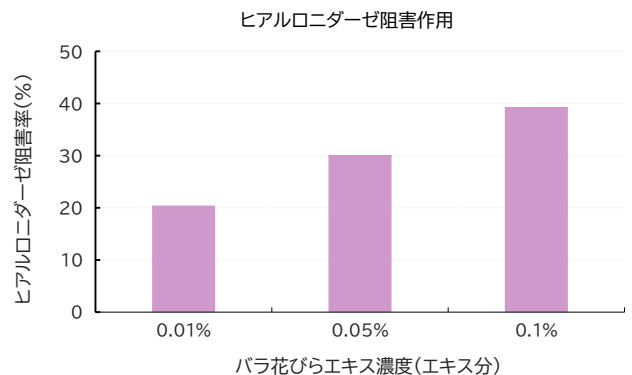
(3)肌のハリ・うるおい効果(ヒアルロニダーゼ阻害作用)

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%



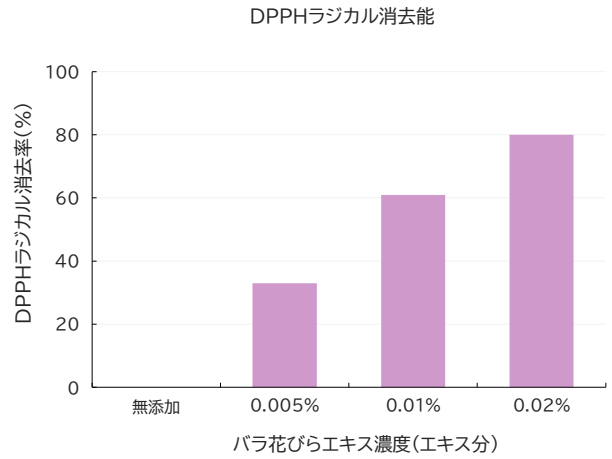
試験データ

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。

試料	固形分濃度 (w/v)%	<i>Corynebacterium</i> sp.	<i>Staphylococcus aureus</i>
		(コリネバクテリア)	(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)

固形分濃度(%)	0.001	0.002	0.004	0.01	0.02	0.1
バラ花びらエキス						0.8
フィトスフィンゴシン						ND
イソプロピルメチルフェノール						ND
トリクロサン	0.8	1.5	2.5	3.3	4.0	5.3

抗菌力レベルが同じ

バラの抗菌力がより強い

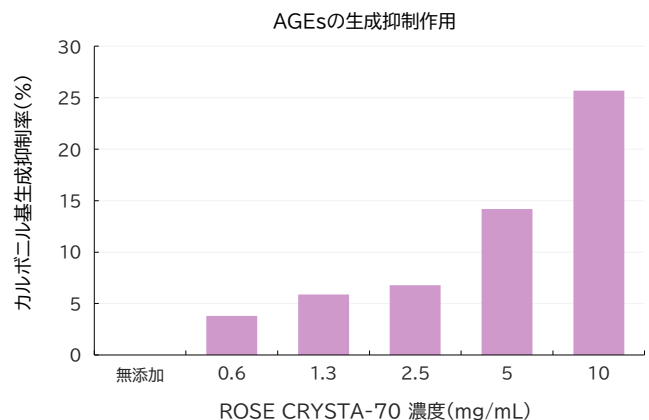
ROSE CRYSTA-COエキス分:1.5%

(6)糖化物産生抑制作用

「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」が進んでいくと、肌を老化させるばかりか、骨を弱らせ、白内障・動脈硬化・認知症など、さまざまな老化現象を引き起こすとされている。

<試験結果>

アルブミン-グルコース混合液にROSE CRYSTA-70を添加することで糖化反応をどの程度抑えられるか、カルボニル基の量を指標として評価した。この試験の結果、ROSE CRYSTA-70の濃度に依存して、カルボニル基の生成が抑えられることが示され、ROSE CRYSTA-70が糖化反応を抑えることが分かった。



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	組成%
	ベニコウジ菌/コメ発酵液*	Monascus/Rice Ferment	70
	プロパンジオール	Propanediol	30

*) 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。

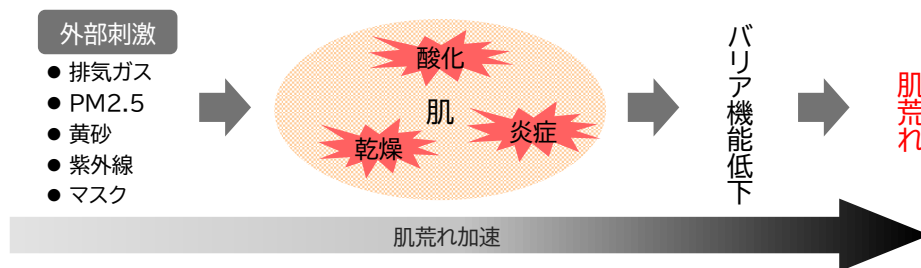
<マスクによる肌荒れ原因>

- 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！

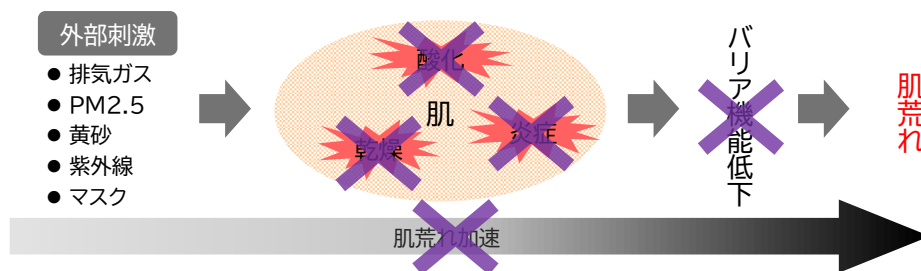
外部刺激からの肌ストレスにより肌のバリア機能が低下すると、外部刺激の影響を受けやすくなります。その結果、肌荒れが加速し、肌トラブルが深刻化します。



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”

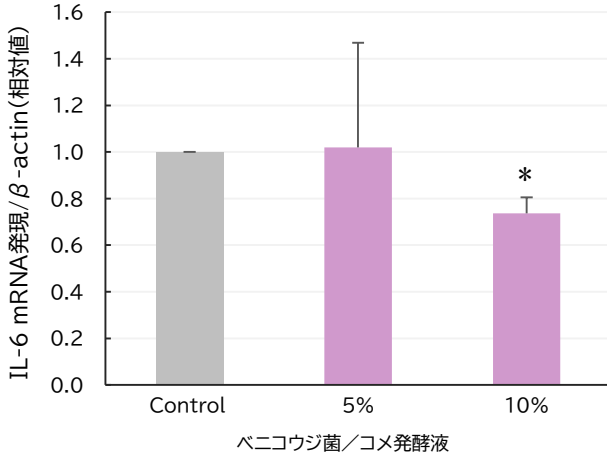
(1)抗炎症作用 ~炎症性サイトカイン・NO産生抑制~

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。

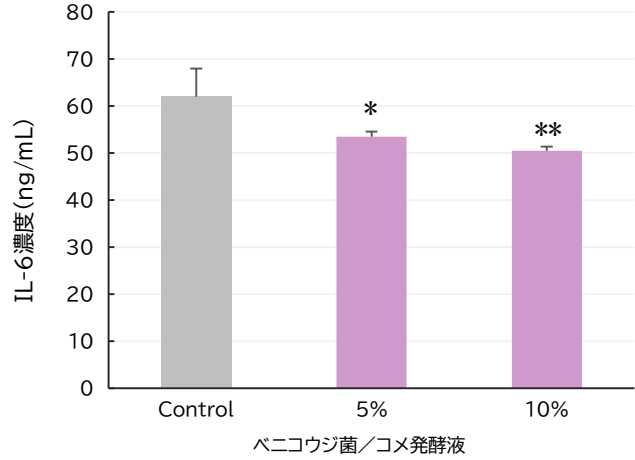
また、同様に培養したマクロファージ様細胞RAW264に、リポ多糖及びペニコウジ菌/コメ発酵液を加えて24時間インキュベートした後の培養上清を回収し、培養上清中のIL-6の濃度を市販mouse IL-6キットを用いて測定を行った。結果として、ペニコウジ菌/コメ発酵液の濃度依存的なIL-6の抑制が確認された。ペニコウジ菌/コメ発酵液は肌の炎症を抑制することが期待される。

IL-6 mRNA発現抑制



*: P<0.05 (Controlとの比較)

IL-6の産生抑制作用



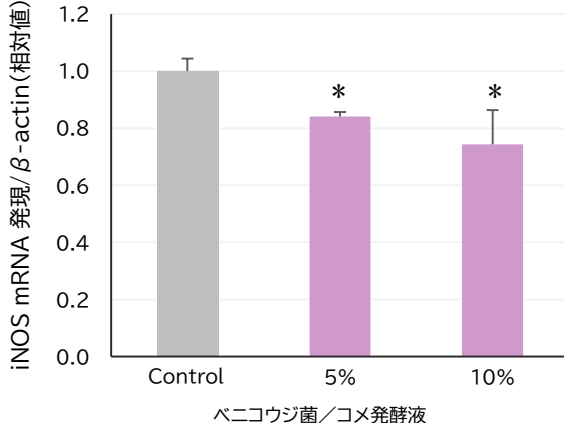
*: P<0.05, **: P<0.01 (Controlとの比較)

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。

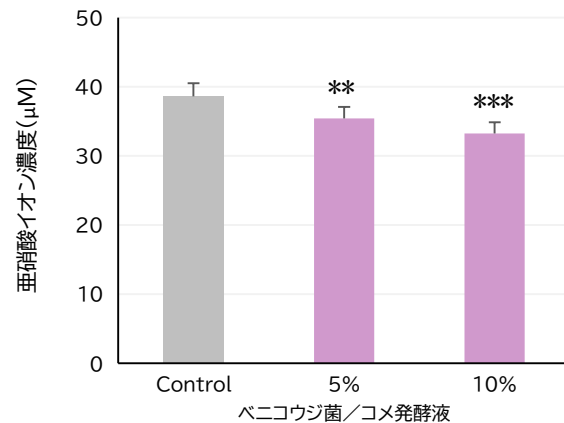
結果として、ペニコウジ菌/コメ発酵液の濃度依存的なiNOSの遺伝子発現量とNO産生量の抑制が確認された。ペニコウジ菌/コメ発酵液は、炎症によりもたらされる肌荒れを抑制することが期待される。

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)

(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。

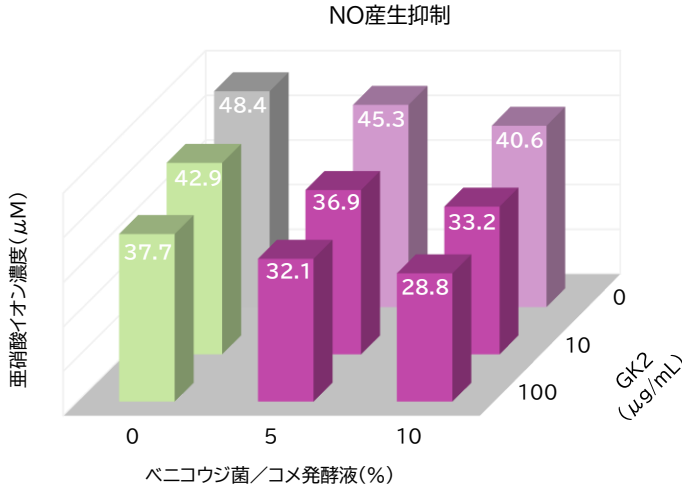
本試験では、抗炎症作用が報告されているグリチルリチン酸ジカリウム(GK2)との併用により、NO産生抑制作用の相乗効果を評価した。

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

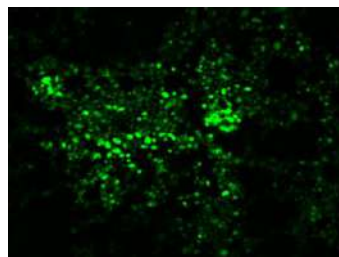
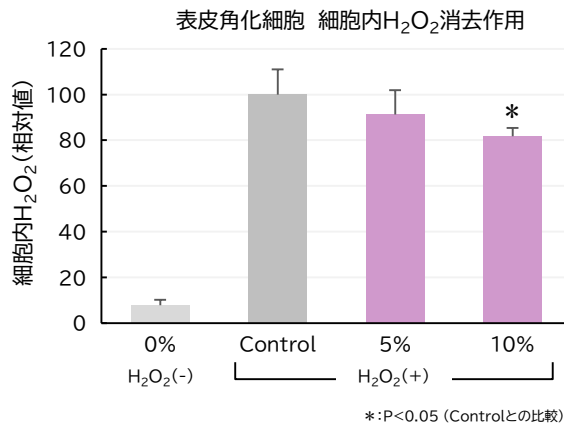
(2) 抗酸化作用~活性酸素の消去・細胞保護効果~

1. 活性酸素種(ROS)の消去能~表皮角化細胞での効果~

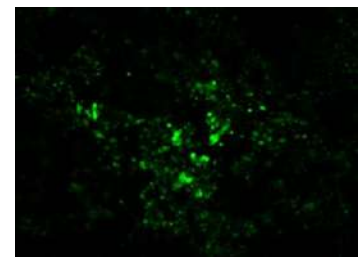
まず本試験では、正常ヒト表皮角化細胞(NHEK)を用いてペニコウジ菌/コメ発酵液による活性酸素の消去能を評価した。

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

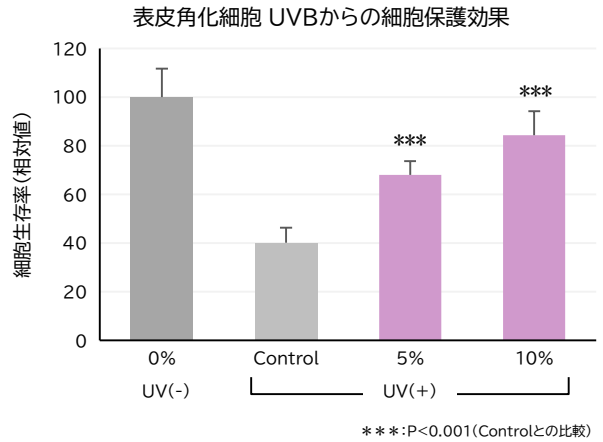
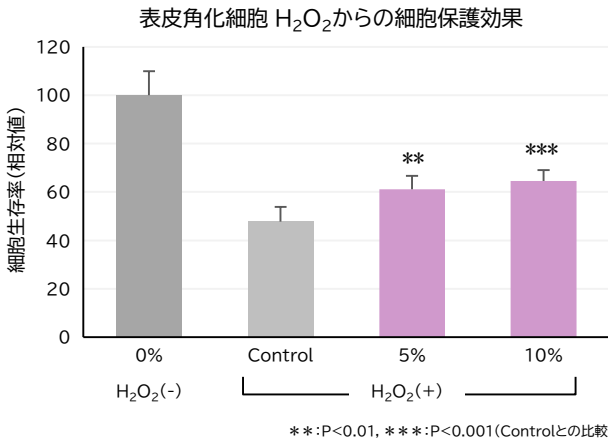


10% ペニコウジ菌/コメ発酵液

(2) 抗酸化作用～活性酸素の消去・細胞保護効果～

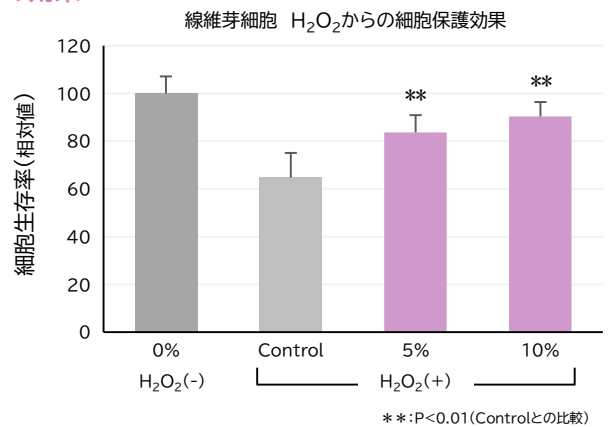
2. 活性酸素種(ROS)、UVからの細胞保護効果 ～表皮角化細胞での効果～

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)



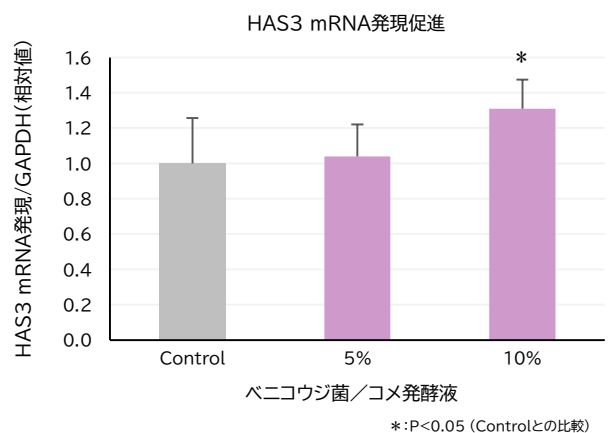
3. 活性酸素種(ROS)からの細胞保護効果～真皮線維芽細胞での効果～

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。

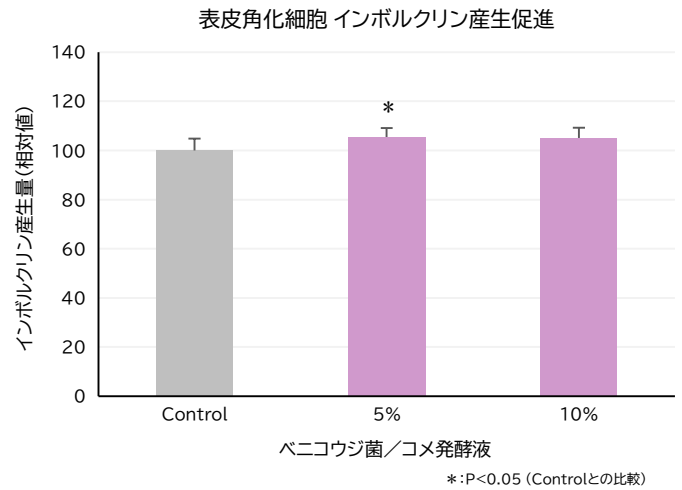
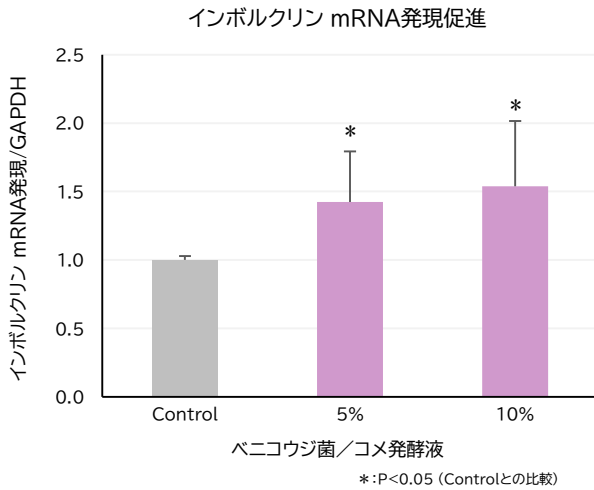


試験データ

RICETECT®

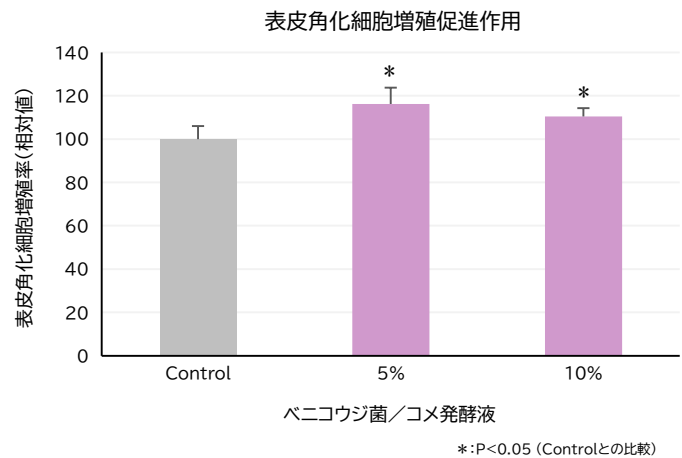
(4)バリア機能改善 ~インボルクリン産生促進作用~

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



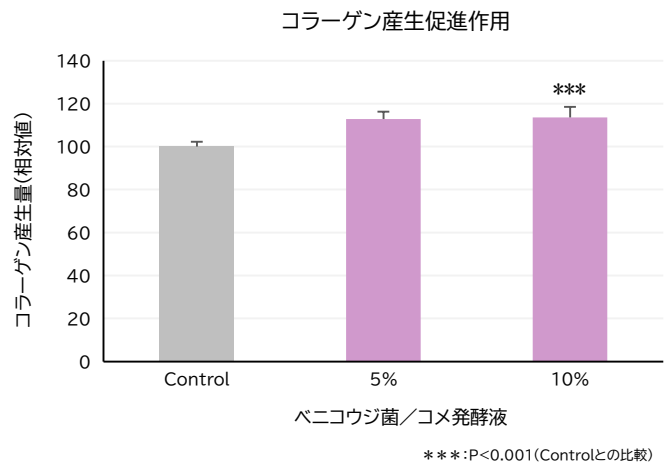
(5)ターンオーバー機能改善 ~細胞増殖促進作用~

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。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、有意な細胞賦活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

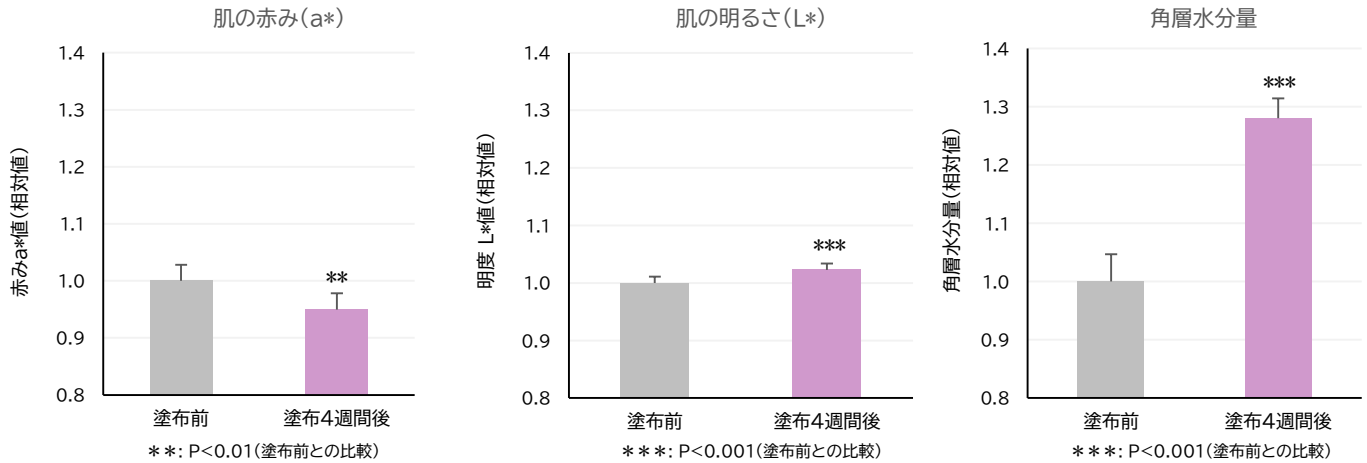
<試験方法>

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、使用前の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。

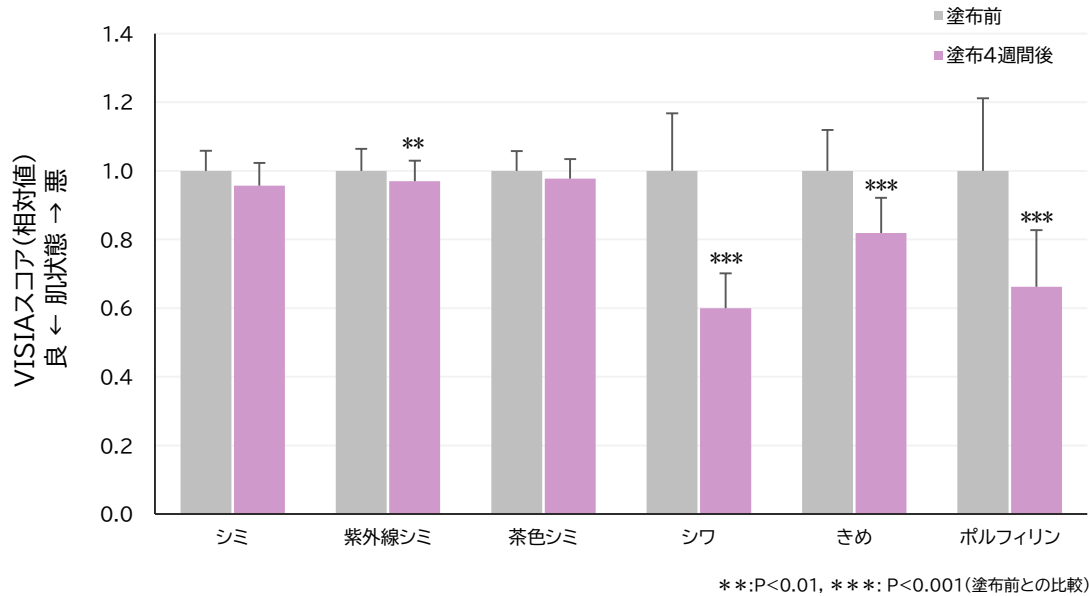
1. VISIA及びコルネオメーターによる皮膚状態の変化の解析

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。



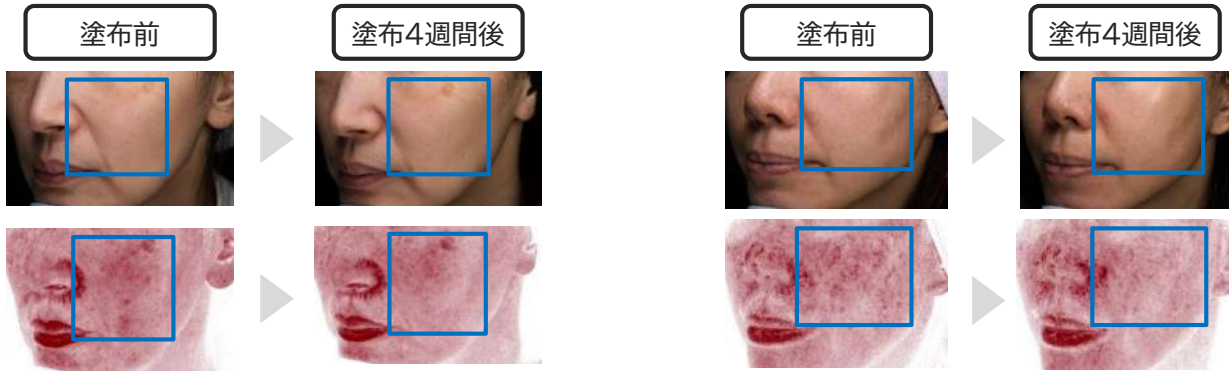
VISIAによる皮膚状態の解析



(7)RICETECT配合化粧品でのヒト試験データ

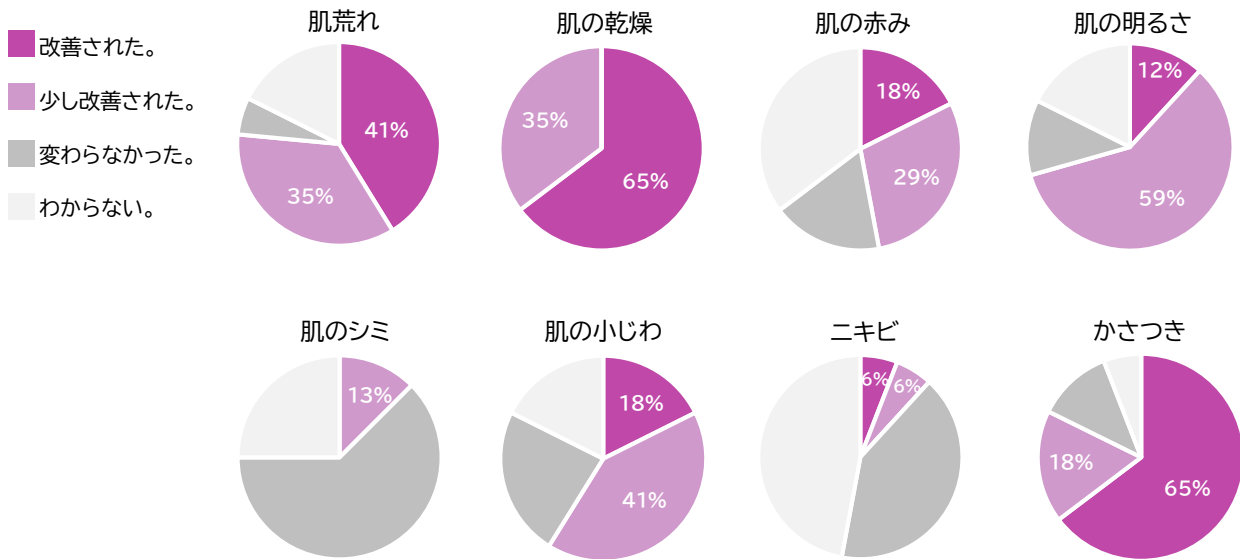
2. VISIAによる肌の赤み改善の塗布前後比較

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(濃度:25%)
皮膚刺激性試験(代替法 OECD TG439)	無刺激性(濃度:25%)
眼刺激性試験(代替法 OECD TG492)	無刺激性(濃度:25%)
光毒性試験(代替法 OECD TG495)	陰性(濃度:25%)
ヒトパッチテスト(24時間閉塞 20名)	安全品(濃度:25%)
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(濃度:25%)

(濃度:ベニコウジ菌/コメ発酵液として)

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、
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®	
	表示名称	INCI名	組成%
化粧品	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 Lysate Filtrate	95
	パンチレングリコール	Pentylene Glycol	5

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

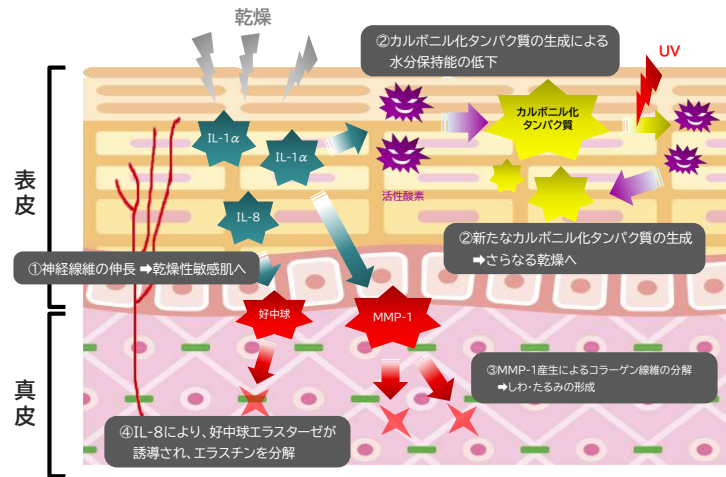
肌は乾燥状態に曝されると皮膚の表面でカルボニル化タンパクや活性酸素が増加し、皮膚に様々なダメージを与え老化を進めます。下図はその乾燥による皮膚ダメージの一部を示したものです。

<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-1α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-1α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-1α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。

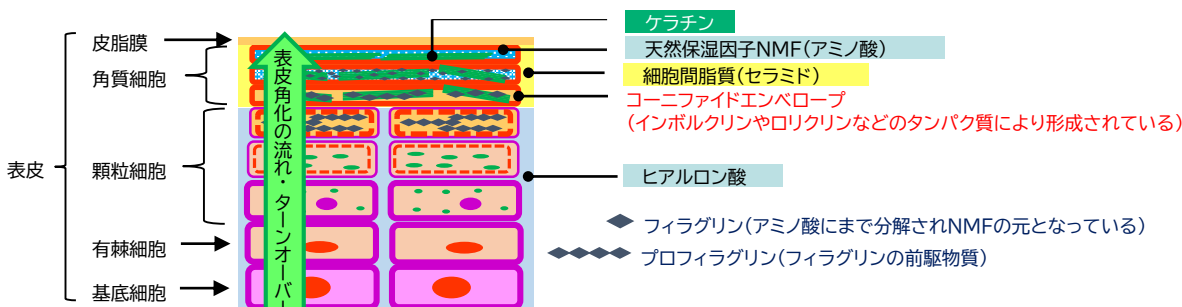
一方、細胞の内側ではケラチン線維が発達して細胞の強度を増し、外部からの圧力や刺激に対抗するとともに、内部に蓄えたアミノ酸などの天然保湿因子(Natural Moisturizing Factor: NMF)が水分を抱きかかえ角質層のうるおいを保ちます。

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、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、その間に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。



試験データ

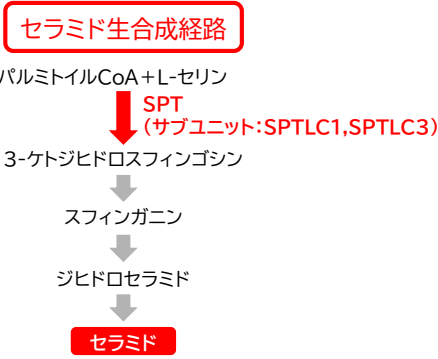
YUKIME®

(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~

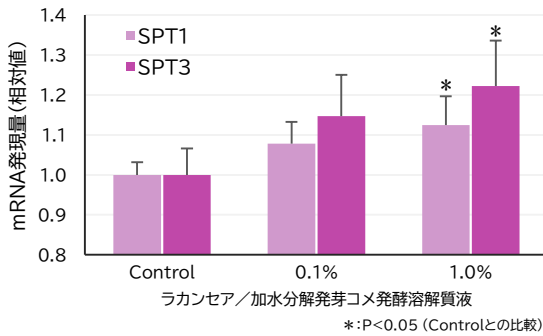
1. セラミド産生促進作用

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)

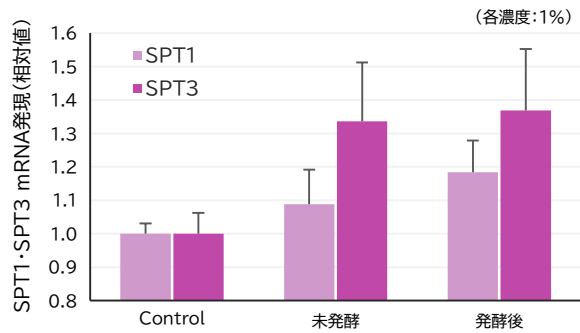
またラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液は、SPT1,SPT3mRNAの発現を濃度依存的に促進し(B)、さらにセラミド産生量を増加させること(C)が認められた。このことからラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液は、表皮角化細胞のセラミド産生能を促進し、セラミド量を増加させることにより角層細胞間のラメラ構造を補強して肌のバリア機能や水分保持力を向上させる効果が期待される。



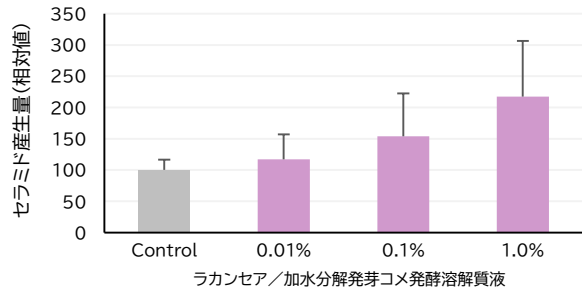
(B)SPT1,SPT3遺伝子発現



(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

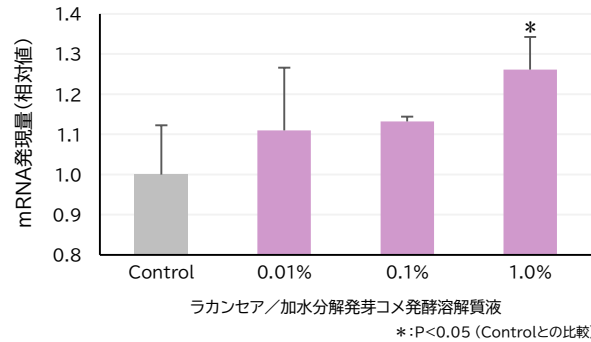


2. アクアポリン3(AQP3)遺伝子発現促進作用

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。

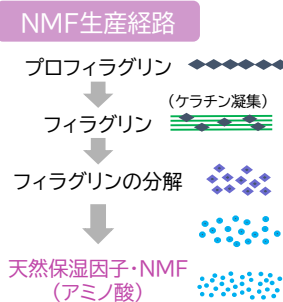
AQP3遺伝子発現



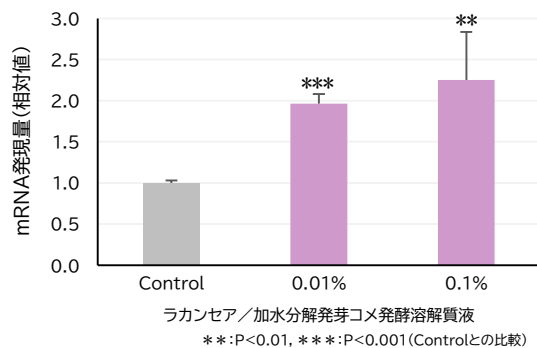
3. プロフィラグリン産生促進作用

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。



プロフィラグリン遺伝子発現

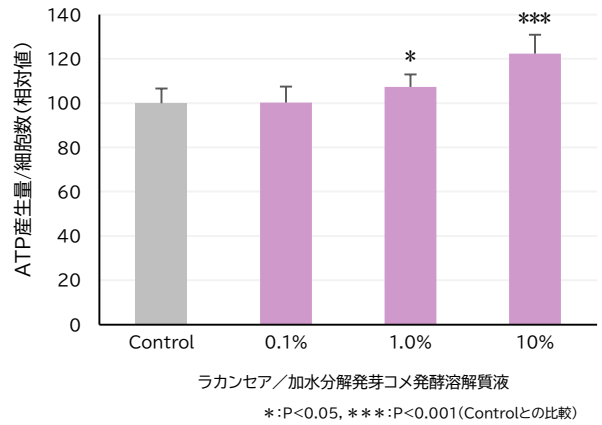


(1)表皮(角化細胞)への作用 ~バリア機能・水分保持機能・新陳代謝機能改善効果~

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

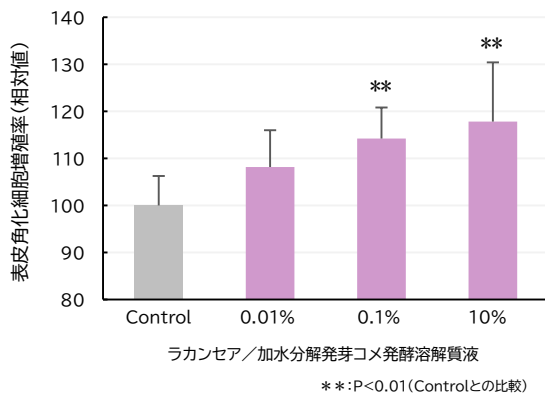
表皮角化細胞におけるATP産生促進作用



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、細胞賦活作用があり、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。

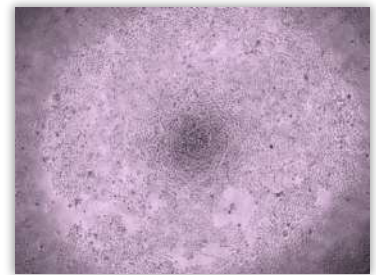
表皮角化細胞における細胞増殖促進作用



Control



ラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液

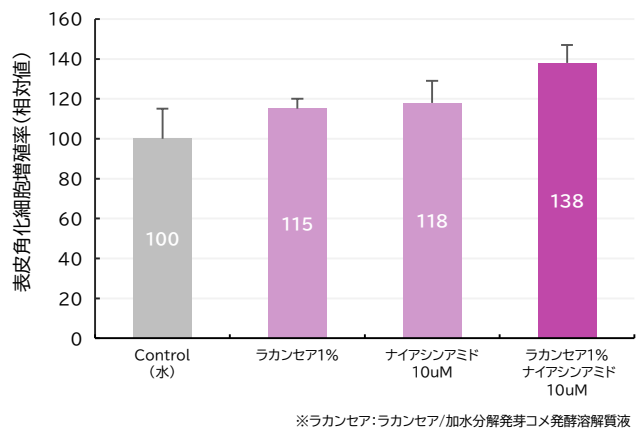


▲ 正常ヒト表皮角化細胞の培養48h後のプレートのwell撮影写真。
ラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液は、表皮角化細胞の増殖を促進することが確認された。

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



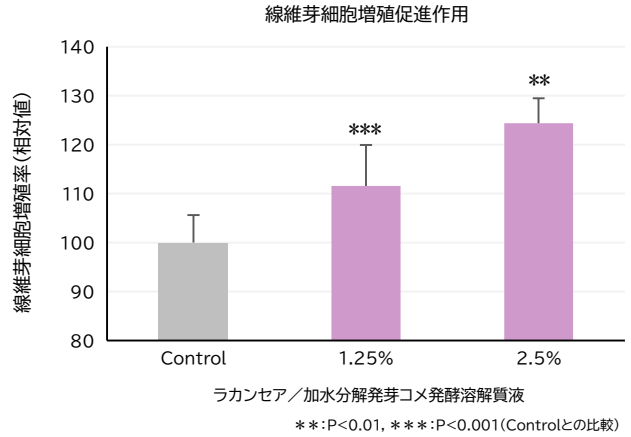
試験データ

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

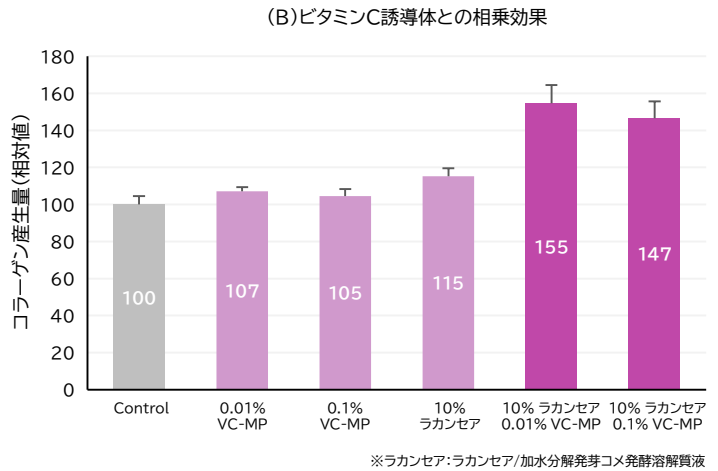
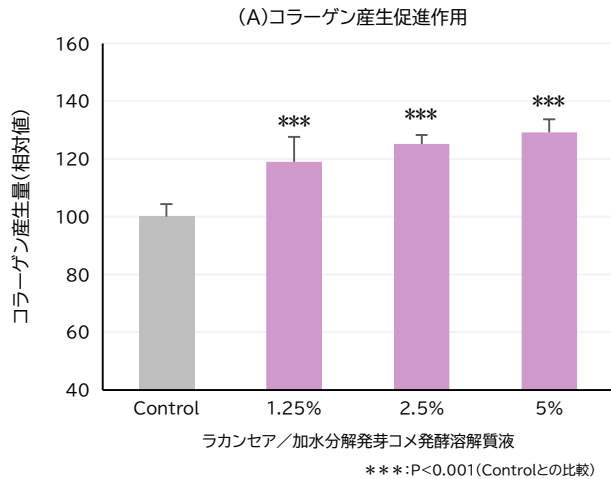
正常ヒト線維芽細胞を用いた細胞増殖試験の結果、ラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液は、植物由来成分でありながら有意に高い活性が認められた。このことからラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液は、線維芽細胞の増殖を促進することにより、細胞から作られるコラーゲンやエラスチン、ヒアルロン酸などの成分の産生も促進し、肌の老化防止効果が期待される。



2. コラーゲン産生促進作用

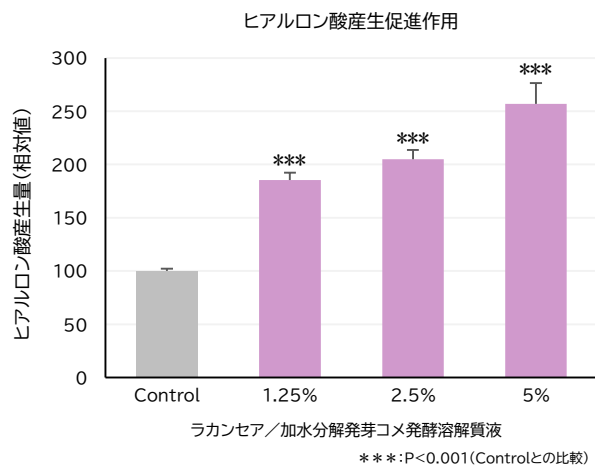
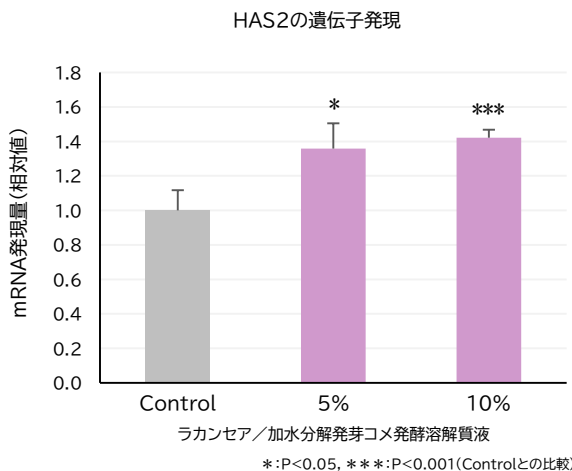
正常ヒト線維芽細胞を用いたコラーゲン産生試験の結果、ラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液は、有意なコラーゲン産生促進作用を有することが認められた(A)。さらにラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液と併用してアスコルビン酸リン酸エステルマグネシウム塩(VC-MP)存在下において、それぞれでコラーゲン生成促進作用の増強が認められた(B)。ラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液、VC-MPそれぞれ単独でのコラーゲン産生促進作用の足し合わせよりも併用した場合の方が高かったことから相乗効果が確認された。

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。

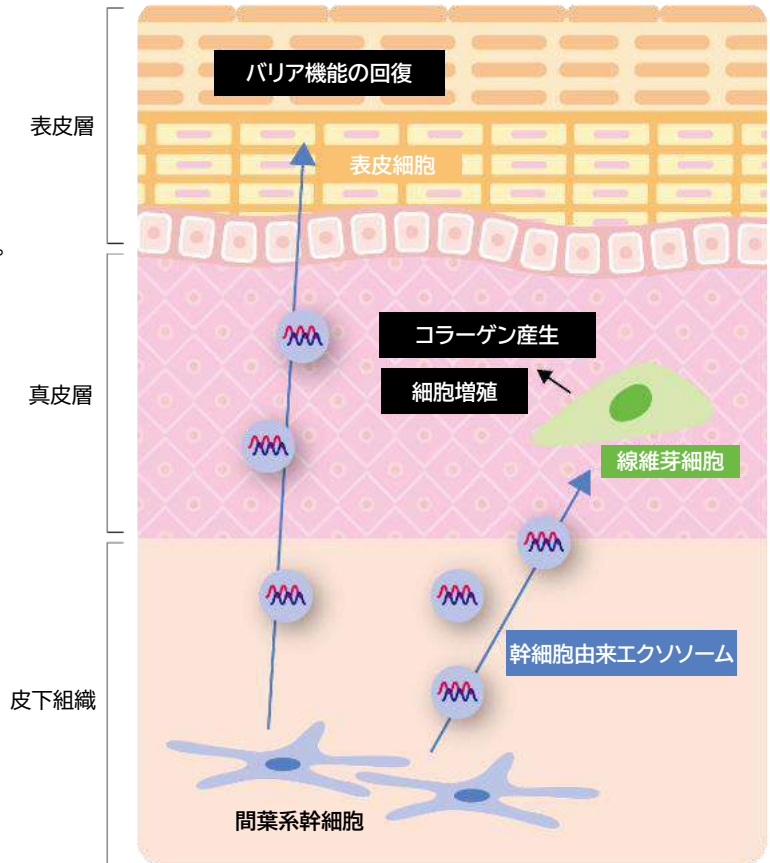
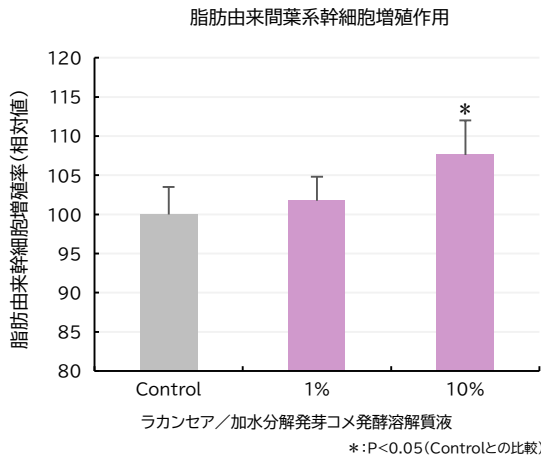


(3) 脂肪由来間葉系幹細胞への作用 ~幹細胞増殖・エクソソーム産生促進作用~

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。

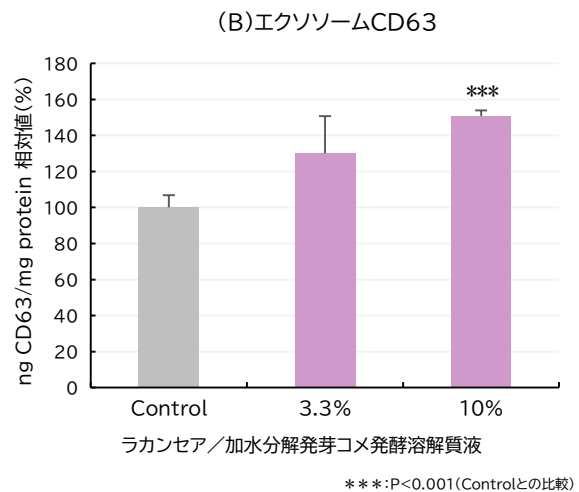
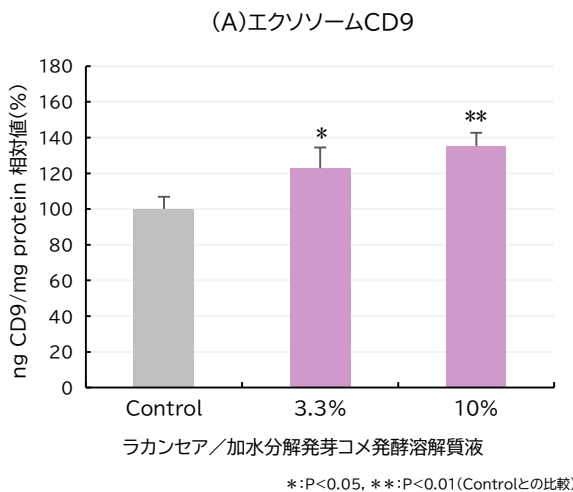
1. 脂肪由来間葉系幹細胞の増殖能

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、ラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解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) 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。

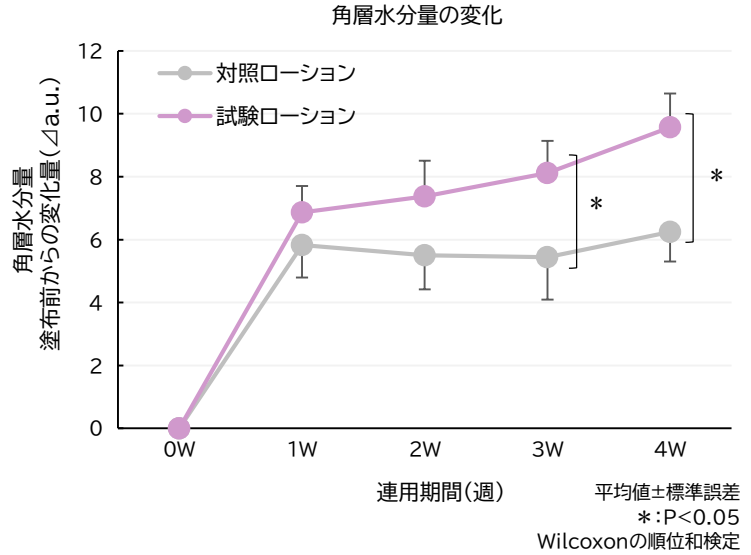
被験者は朝晩の1日2回の塗布を4週間連用し、使用前から使用後4週間に渡り、1週間おきに測定を行った。測定日の朝は塗布を控え、測定はマイルドな洗浄剤で両腕の被検部位を洗浄し、室温20～22℃、湿度40～45%の恒温室にて20分間の馴化後、Corneometer CM825を用いて角層水分量を測定した。被験部内5点を測定し、最大値と最小値を除く3点の平均値を採用した。

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験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。

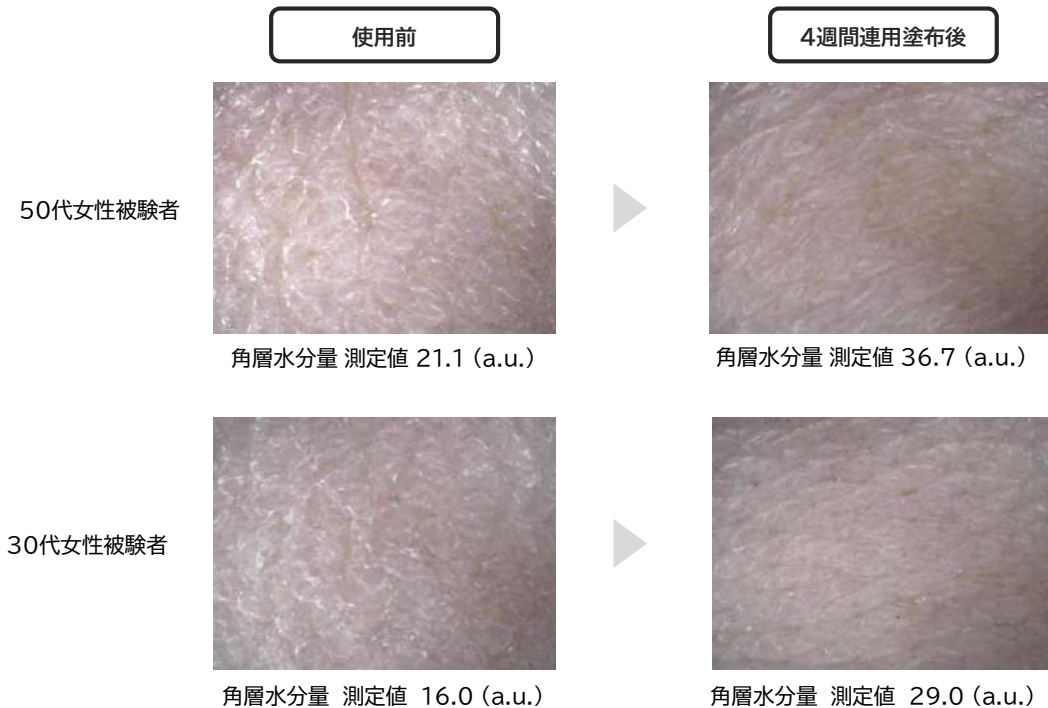
この結果から、YUKIMEは、肌の保湿力を向上する効果のあることが明らかとなった。



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使用前と4週間連用後の肌状態を同一被験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



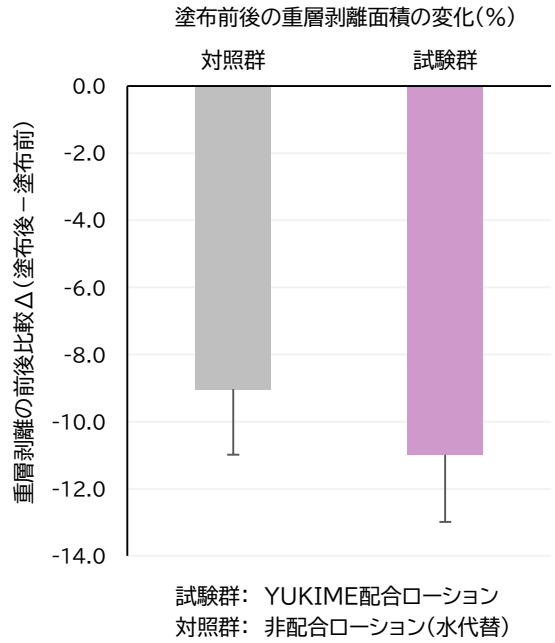
(4)YUKIME配合ローションでのヒト試験結果～角質層の健全化～

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。

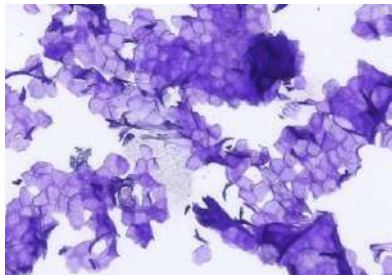
ヒト連用塗布試験の結果、試験群では対照群と比べて塗布前後による重層剥離面積の減少の変化量が大きかった。この結果から、YUKIMEは、肌のターンオーバーを改善し、角層を健全な状態に導くことが期待される。



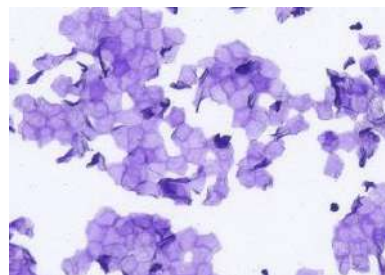
■角層重層剥離状態の変化

使用前 4週間連用塗布後

40代女性被験者

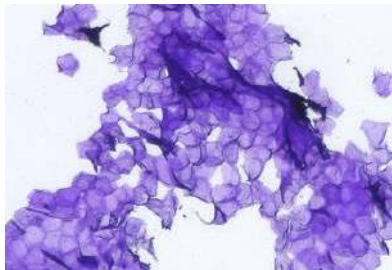


角層水分量 測定値 23.2 (a.u.)

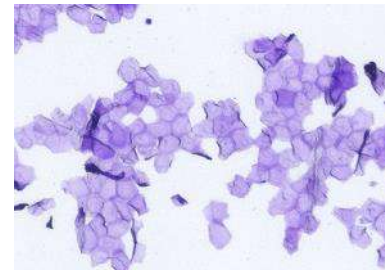


角層水分量 測定値 39.3 (a.u.)

50代女性被験者



角層水分量 測定値 21.1(a.u.)



角層水分量 測定値 36.7 (a.u.)

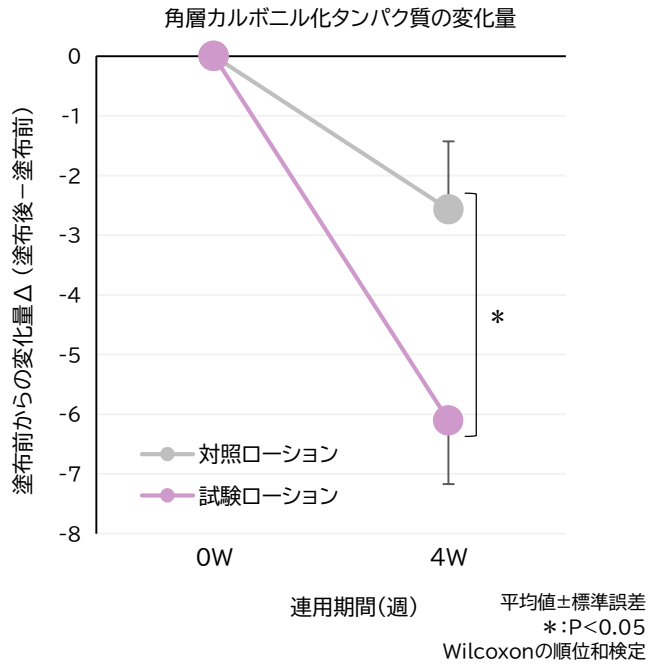
(4) YUKIME配合ローションでのヒト試験結果～水分保持能改善・肌の黄ぐすみ低減・肌の透明度向上～

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～

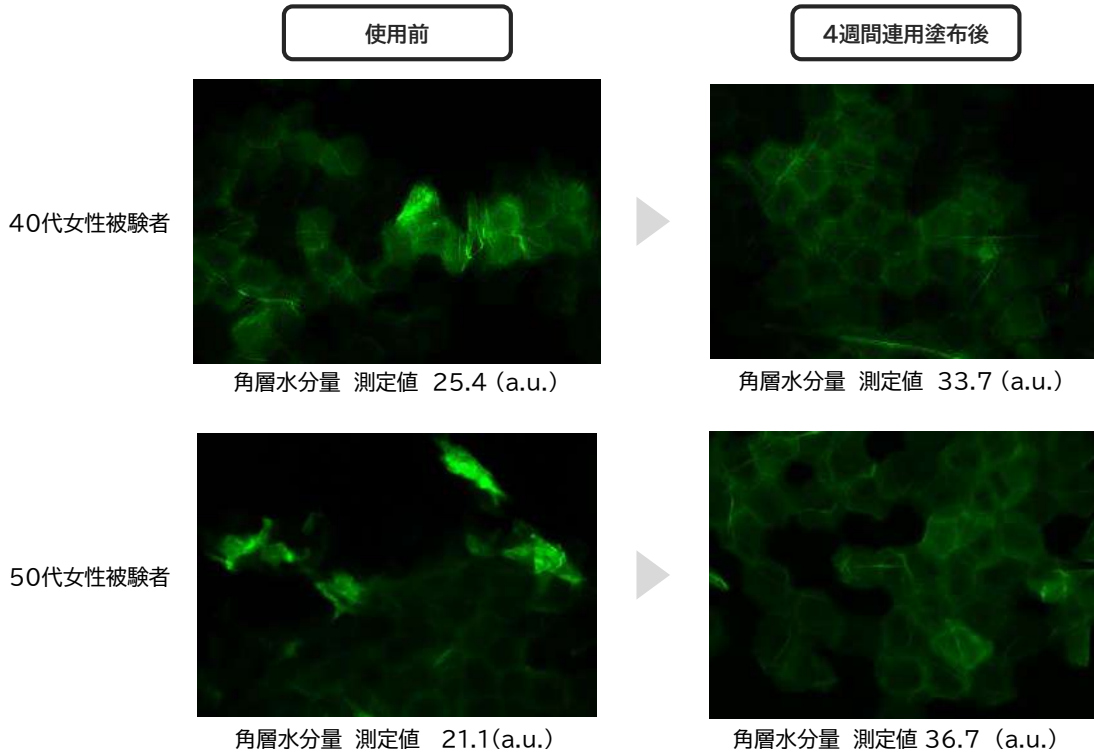
カルボニル化タンパク質は過酸化脂質の最終産物であるアルデヒド類のタンパク質への酸化修飾によって生成するが、その主な発生意因は乾燥であると言われている。また、カルボニル化タンパク質は保湿機能を低下させ、肌の黄ぐすみや透明度の低下を引き起こす。

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

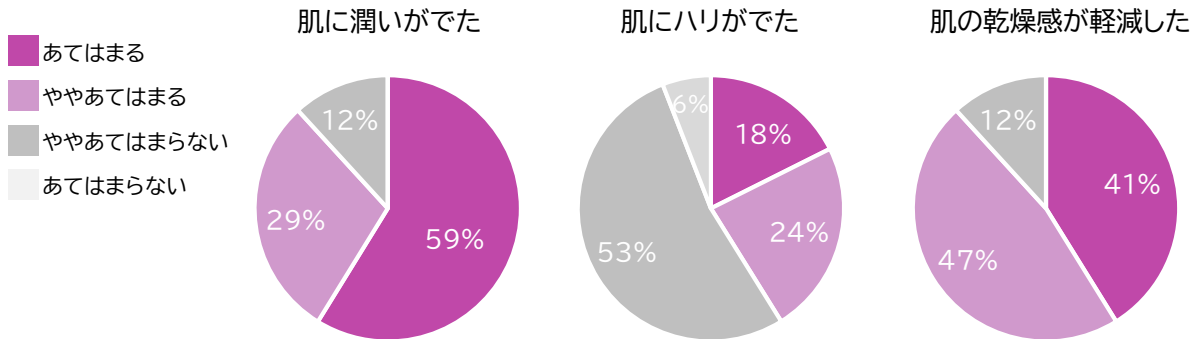


(4)YUKIME配合ローションでのヒト試験結果 ~体感アンケート~

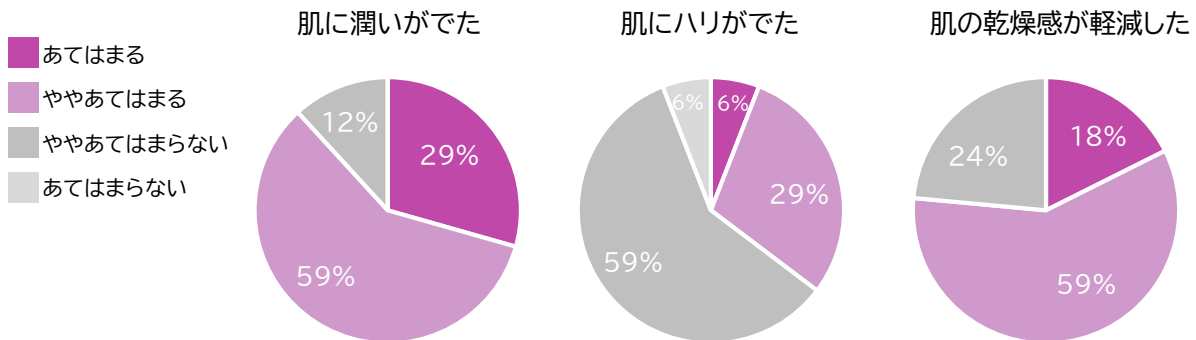
5. 試験ローション・対照ローション4週間連用塗布後のアンケートによる肌状態の実感結果

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(濃度:200%)
皮膚刺激性試験(代替法 OECD TG439)	無刺激性(濃度:200%)
眼刺激性試験(代替法 OECD TG492)	無刺激性(濃度:200%)
光毒性試験(代替法 OECD TG 432)	陰性(濃度:200%)
ヒトパッチテスト(24時間閉塞 20名)	安全品(濃度:200%)
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(濃度:200%)

(濃度:ラカンセア/加水分解発芽コメ発酵溶解質液として)

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の特許原料です。

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	組成%
	乳酸桿菌／センチフォリアバラ花エキス発酵液	Lactobacillus/Rosa Centifolia Flower Extract Ferment Filtrate	94.4
	プロパンジオール	Propanediol	5
	フェノキシエタノール	Phenoxyethanol	0.6

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)

イントロダクション

LACTIBIO® ROSE

紫外線による肌ダメージ(光老化)

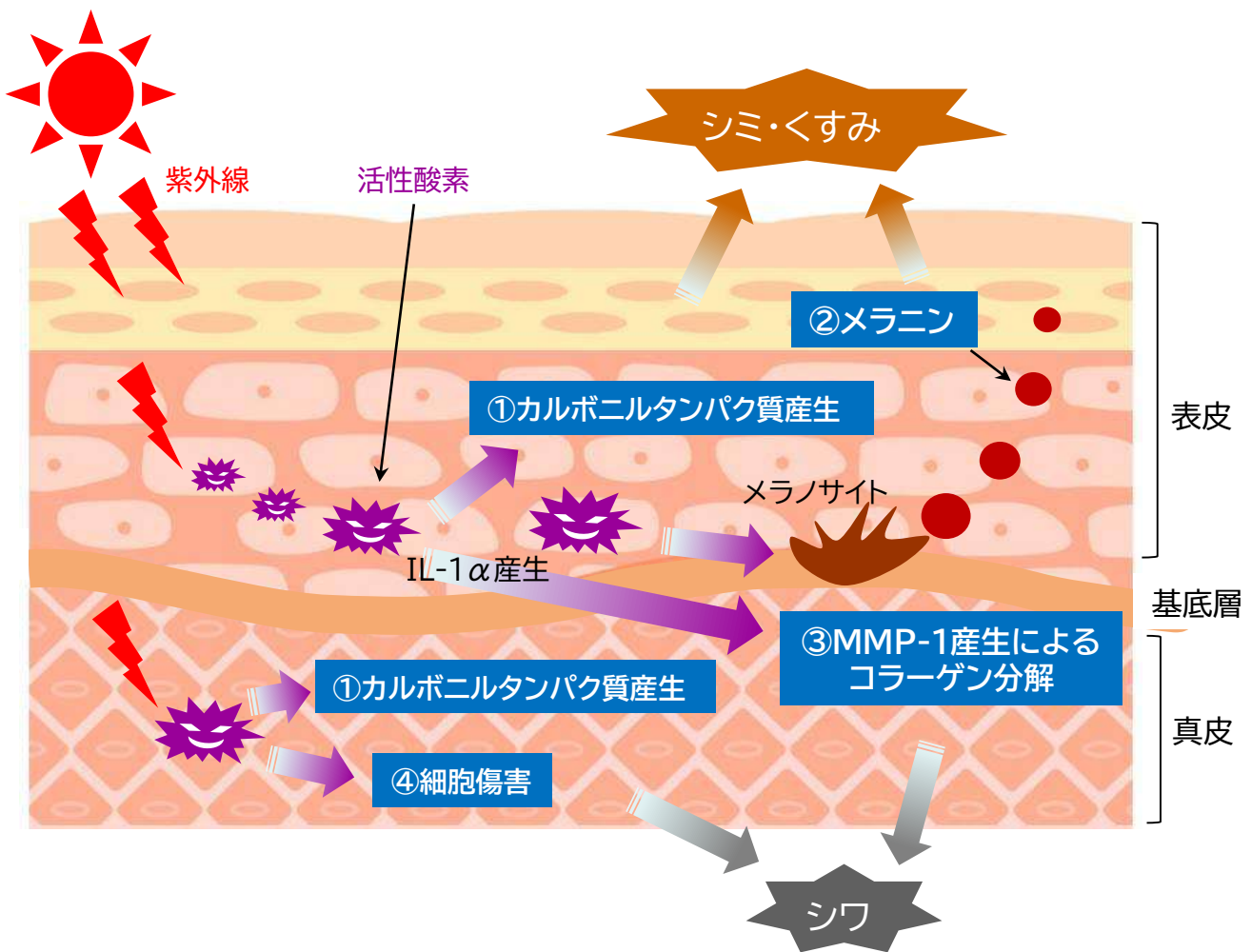
太陽光の中の紫外線に曝されると皮膚の表面で活性酸素が発生し、皮膚に様々なダメージを与え老化を進めます。下図はその紫外線による皮膚ダメージの一部を示したものです。

<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。



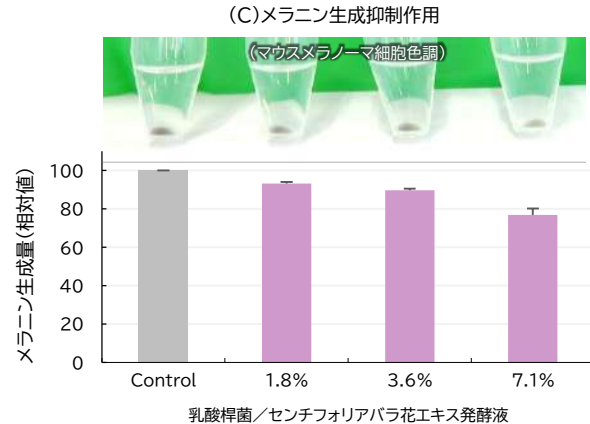
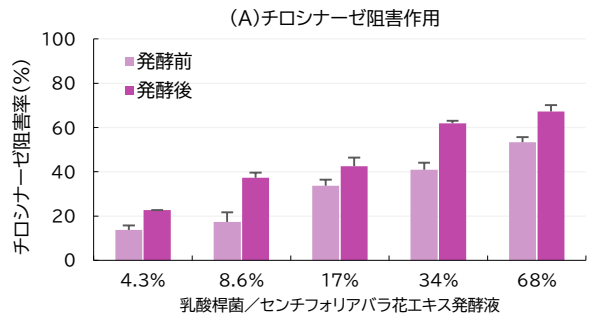
試験データ

LACTIBIO® ROSE

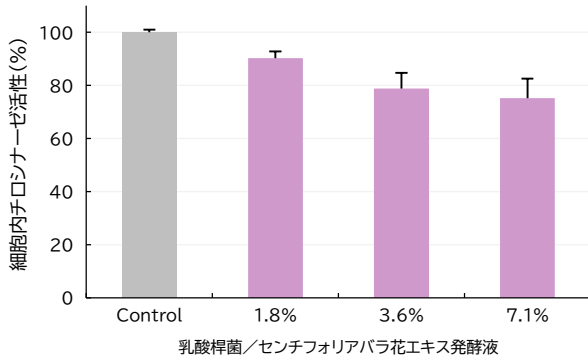
(1)美白作用

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

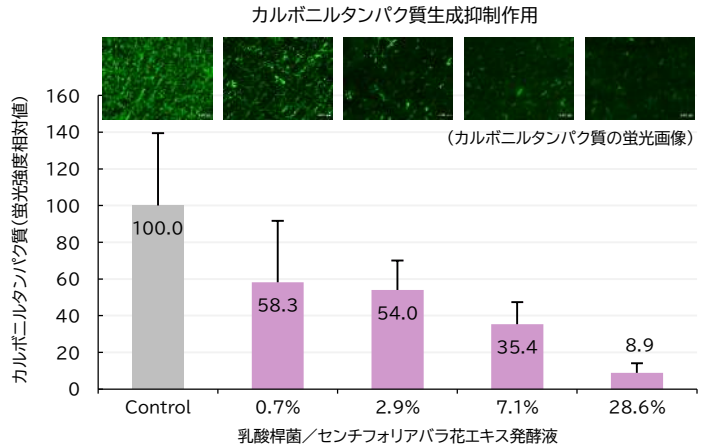


(2)黄ぐすみ防止(カルボニルタンパク質生成阻害作用)

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。

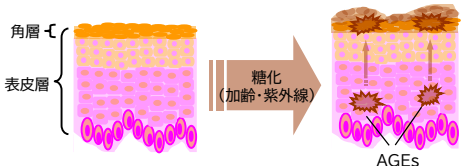


3)黄ぐすみ・老化防止(AGEs生成抑制作用)

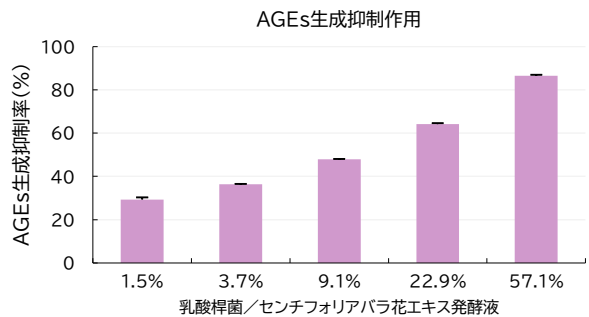
加齢により角層セラチンおよび真皮コラーゲンの糖化が進むと終末糖化産物(AGEs)が形成される。AGEs=「老化物質」とも言われ、肌でAGEsが形成されるとタルミ、シワなどの老化現象をもたらす。また、表皮細胞で形成されたAGEsは、角化とともに角層まで持ち込まれ、その結果として皮膚の透明感を低下させるといわれている(「第27回 IFSCC Congress」(2009国際化粧品技術者会連盟))。ここでは乳酸桿菌／センチフォリアバラ花エキス発酵液の存在下において、グルコースとHSA(ヒト血清アルブミン)の糖化反応系によりAGEs生成抑制作用を評価した。AGEs生成量の測定は蛍光強度測定により実施し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

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)

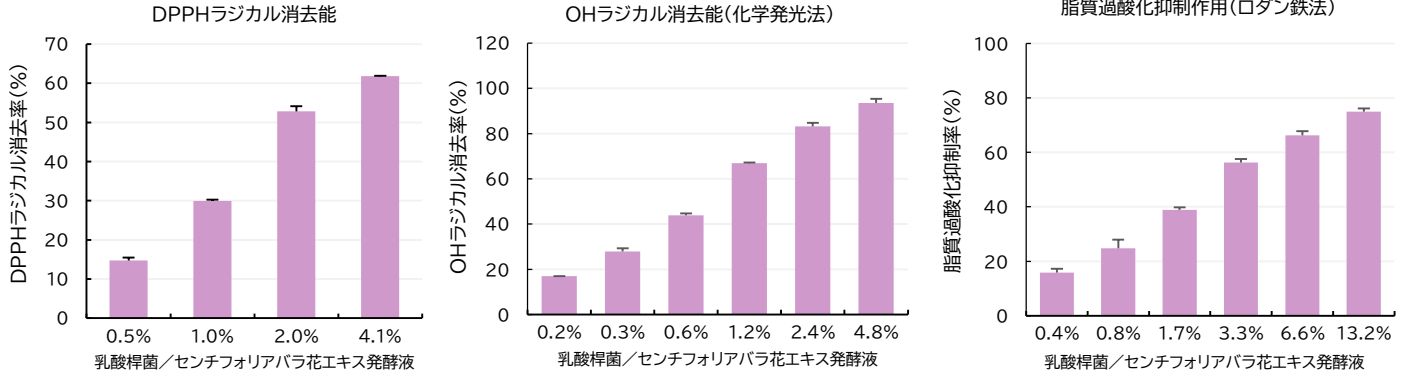


試験データ

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。



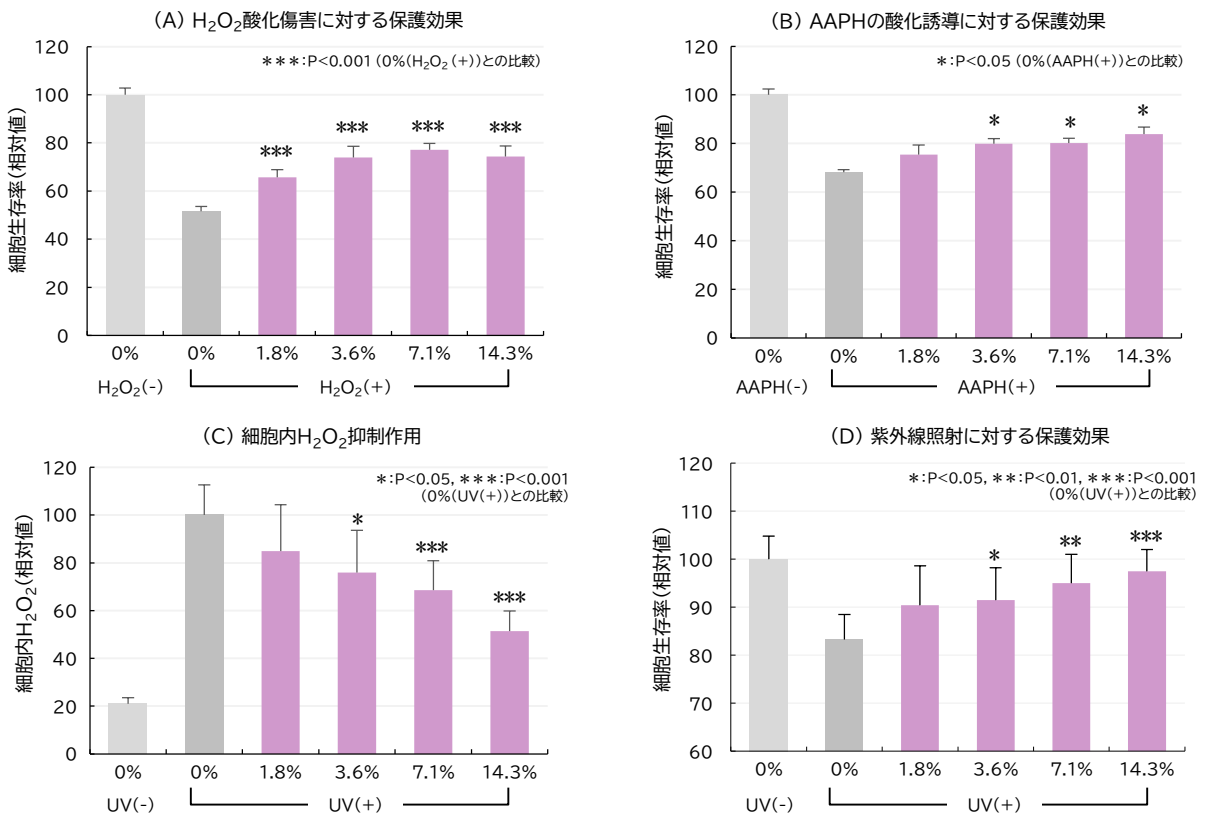
(5)紫外線照射に対する保護効果(細胞における抗酸化作用)

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。

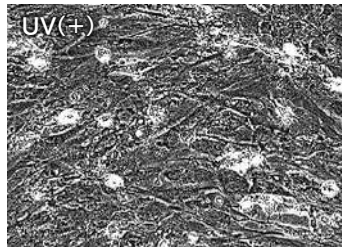
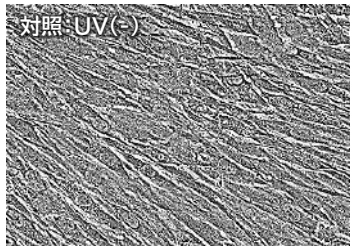
下図(A、B)に示すように乳酸桿菌／センチフォリアバラ花エキス発酵液は、過酸化水素およびAAPHペルオキシラジカルどちらの酸化傷害に対しても抑制し、細胞保護効果のあることが確認された。さらに、紫外線照射により誘導される酸化ストレスに対する抗酸化能を評価した。紫外線により線維芽細胞内の過酸化水素は増加し、その結果として細胞は酸化傷害を受け生存率の低下を来す(C、D)。乳酸桿菌／センチフォリアバラ花エキス発酵液は、この紫外線による過酸化水素の発生を抑え、酸化傷害による細胞生存率の低下を抑制することが確認された。このことは線維芽細胞の顕微鏡画像からも確認され、紫外線により細胞が破壊されるが、乳酸桿菌／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

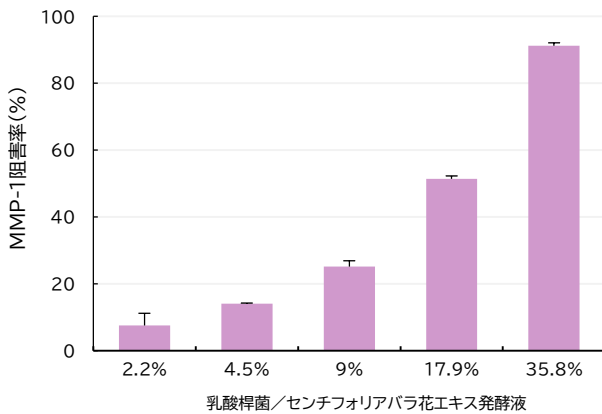
(細胞の破壊が抑えられ形を維持している)

(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)

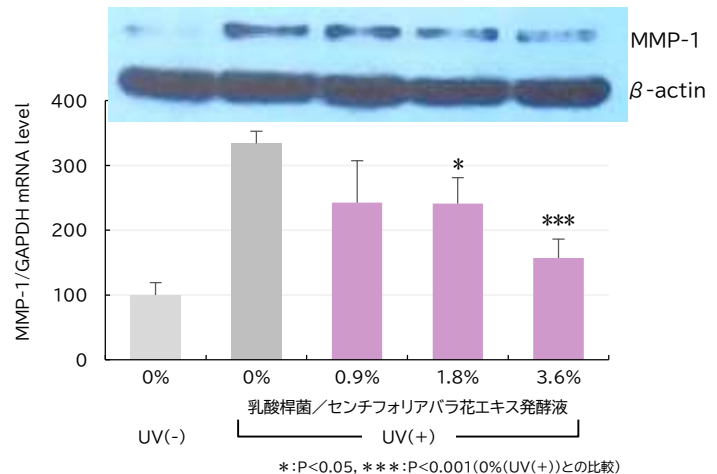
皮膚が紫外線に曝されると角層においてサイトカインIL-1 α の産生が進む。さらにIL-1 α は、線維芽細胞のI型コラーゲン分解酵素MMP-1の遺伝子発現および産生を促進し、その結果コラーゲンの分解が進む。これが紫外線によるシワ形成のメカニズムの1つである。本試験では、乳酸桿菌/センチフォリアバラ花エキス発酵液の紫外線による皮膚コラーゲンダメージへの影響を調べることを目的として、(A)IL-1 α により誘導した線維芽細胞のMMP-1に対する阻害作用、(B)紫外線によるMMP-1のmRNA発現およびタンパクレベルの発現抑制作用について評価した。

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

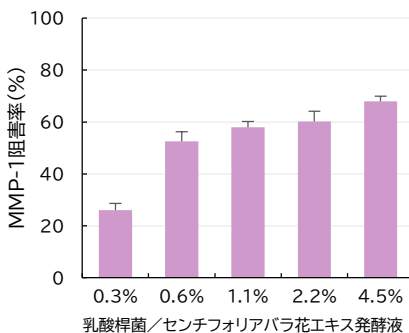


(7)抗シワ作用(コラゲナーゼ、ヒアルロニダーゼ及びエラスターゼ阻害作用)

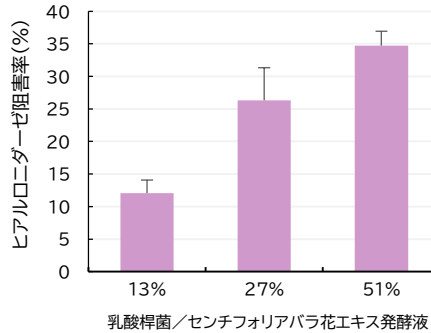
真皮には、I型コラーゲン、エラスチン、ヒアルロン酸などの細胞外マトリックスとよばれる成分があり、これら成分により肌のハリや弾力、瑞々しさが保たれシワができにくい肌状態が維持される。これら細胞外マトリックス成分は線維芽細胞により合成されるが、一方で線維芽細胞が産生する酵素により分解される。これら細胞外マトリックス成分の合成分解のバランスの変化が、皮膚のシワやたるみの原因のひとつとして考えられている。本試験では、乳酸桿菌/センチフォリアバラ花エキス発酵液の抗シワ作用を評価するために細胞外マトリックス成分の分解酵素阻害作用について調べた。

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。

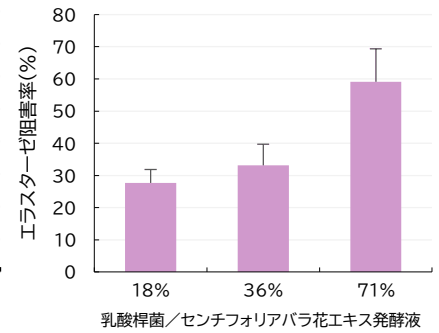
MMP-1 (I型コラゲナーゼ)阻害作用



ヒアルロニダーゼ阻害作用



エラスターゼ阻害作用



試験データ

LACTIBIO® ROSE

(8)LACTIBIO ROSE配合ローションでの保湿効果

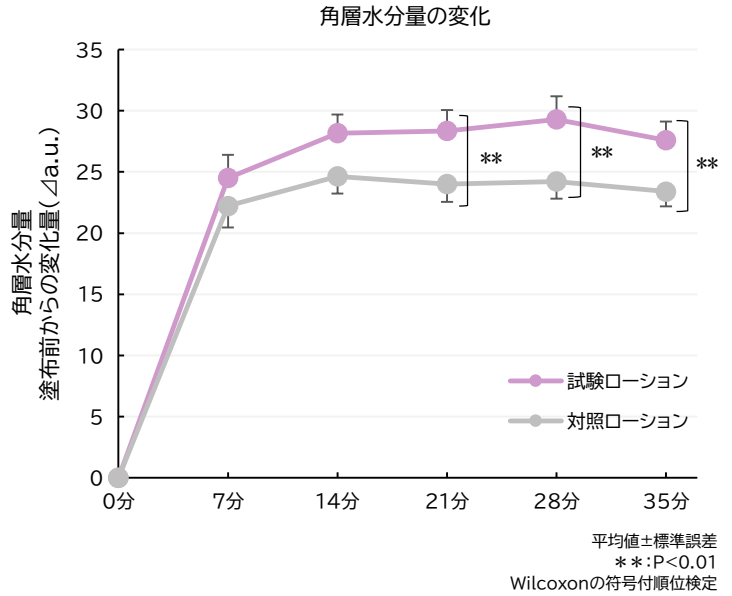
成人男女13名(女性6名、男性7名)を被験者、また前腕内側部を被検部位として実施した。

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。



安全性試験データ

安全性試験	結果
Ames試験	陰性(濃度:200%)
皮膚刺激性試験(代替法 OECD TG439)	無刺激性(濃度:200%)
眼刺激性試験(代替法 OECD TG 492)	無刺激性(濃度:200%)
光毒性試験(代替法 OECD TG 432)	陰性(濃度:200%)
ヒトパッチテスト(24時間閉塞 20名)	安全品(濃度:200%)
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(濃度:200%)

(濃度:乳酸桿菌/センチフォリアバラ花エキス発酵液として)

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。



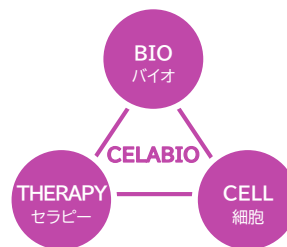
CELABIO®の特徴

- 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』
優れた細胞賦活作用やコラーゲン、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。
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(線維芽細胞賦活)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	組成%	
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	0.8	
水	Water	98.4	
フェノキシエタノール	Phenoxyethanol	0.6	
エタノール	Alcohol	0.2	

*)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)	液の接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®

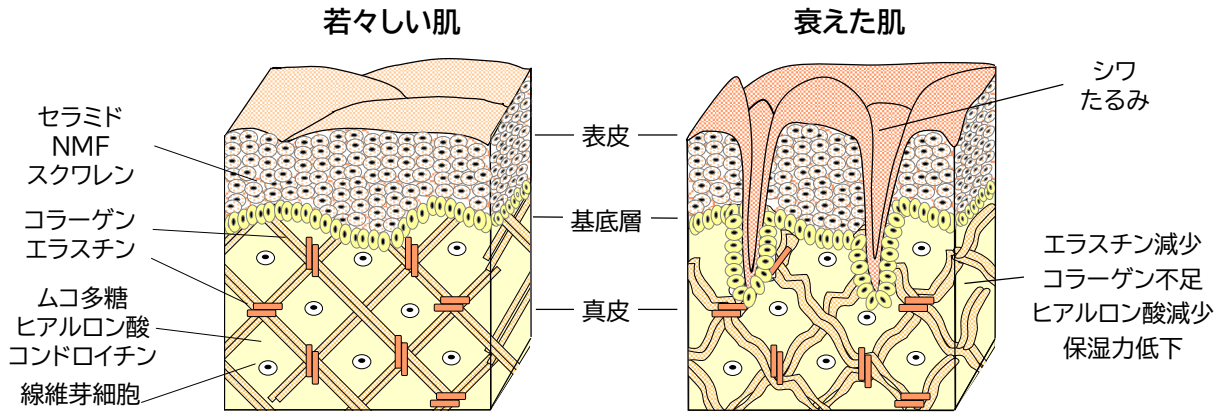
皮膚の真皮と表皮にはたらきかける

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。

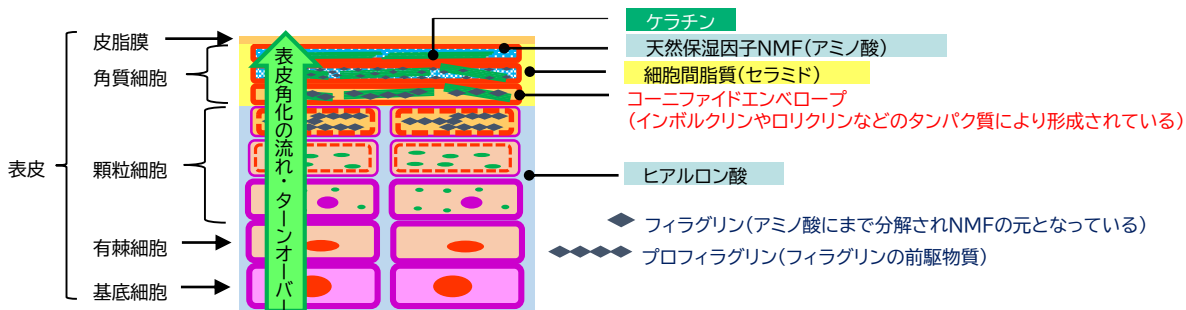


バリア機能・水分保持機能改善効果

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)、フィラグリン(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®

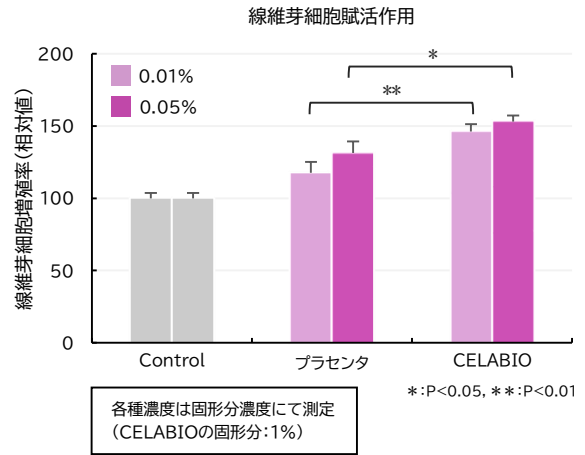
(1) 真皮(線維芽細胞)への作用 ~抗シワ・ハリ改善~

1. 細胞賦活作用(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、細胞賦活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。



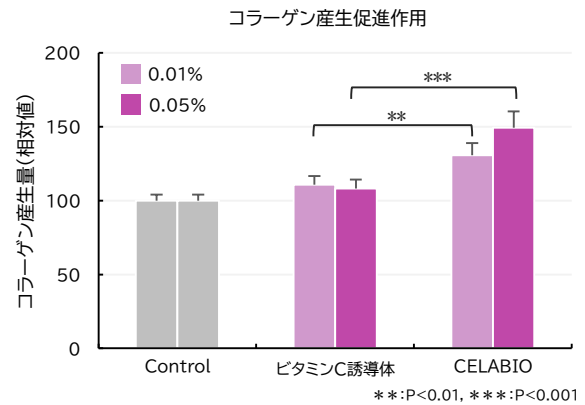
▲ 線維芽細胞培養プレートのwell撮影写真。CELABIOはプラセンタよりも細胞増殖を促すことが確認された。



2. コラーゲン産生促進作用(ビタミンC誘導体との比較)

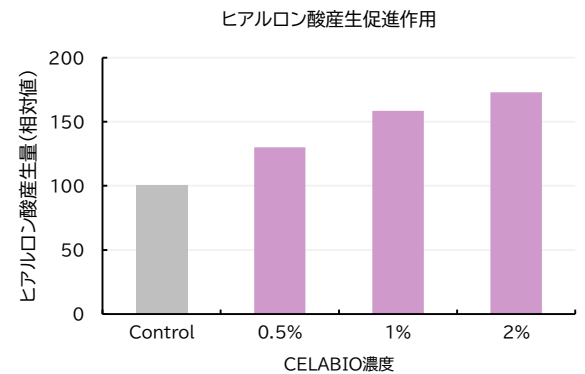
正常ヒト線維芽細胞を用いたコラーゲン産生試験の結果、CELABIOは高いコラーゲン産生促進作用を有することで知られているビタミンC誘導体(リン酸アスコルビルMg)より高いコラーゲン産生促進作用が認められた。このことから、CELABIOは線維芽細胞のコラーゲン産生能を高め、シワやたるみなどを改善する効果が期待される。

各種濃度は固形分濃度にて測定 (CELABIOの固形分:1%)



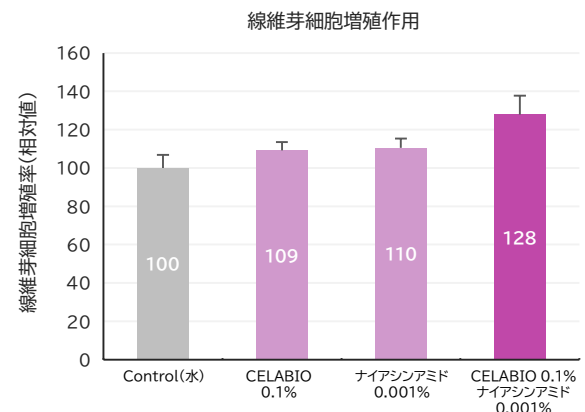
3. ヒアルロン酸産生促進作用

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

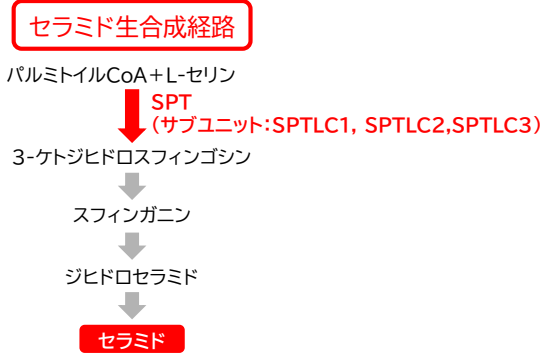
シワ改善の成分であり、医薬部外品の有効成分としても承認されているナイアシンアミドとの併用による線維芽細胞増殖能に関する評価を行った。その結果、CELABIOおよびナイアシンアミドの単独添加時における細胞増殖率がControl比9%増、10%増であるのに対して、併用した場合の増殖率が28%増となった。つまり、それぞれの単独添加時増殖率の加算値(19%)よりも併用時増殖率(28%)の方が約1.5倍高くなったことから、CELABIOとナイアシンアミドを併用することによって、線維芽細胞の増殖能が相乗的に向上することが期待できる。



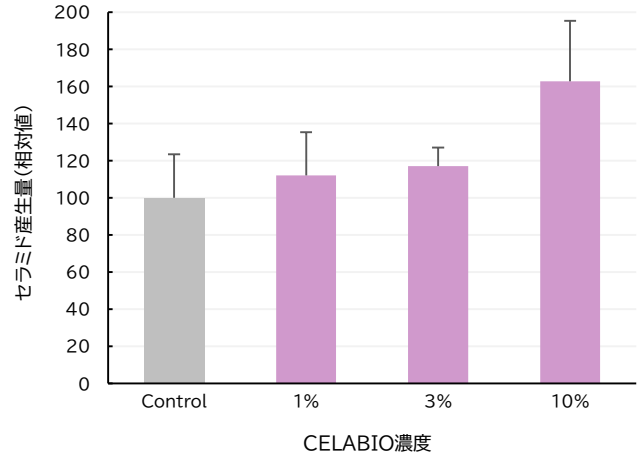
(2)表皮(角化細胞)への作用 ~バリア機能・水分保持機能改善~

1. セラミド産生促進作用

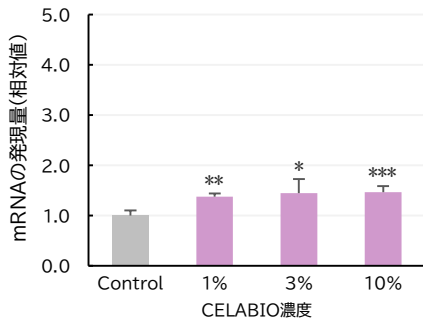
セラミドは角層細胞間脂質成分としてラメラ構造を形成する。正常ヒト表皮角化細胞を用いたセラミド産生試験の結果、CELABIOは、セラミド生合成の関連酵素であるセリンパルミトイルトランスフェラーゼ(SPT)mRNAの発現を促進し、さらにセラミド産生量を増加させることが認められた。このことからCELABIOは、表皮角化細胞のセラミド産生能を促進し、セラミド量を増加させることにより角層細胞間のラメラ構造を補強して肌のバリア機能や水分保持力を向上させる効果が期待される。



セラミド産生促進作用

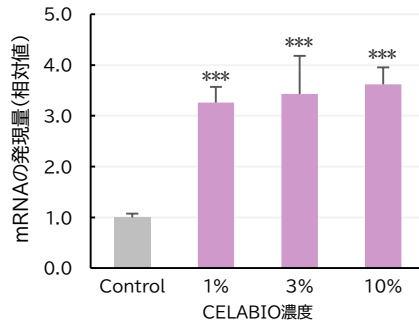


SPTLC1 遺伝子発現効果



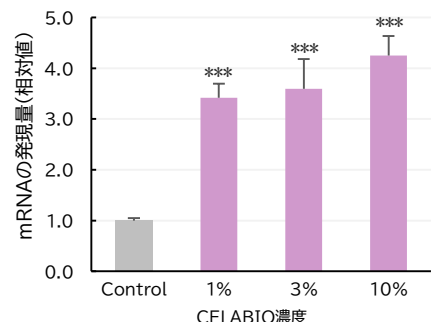
*:P<0.05, **:P<0.01, ***:P<0.001(Controlとの比較)

SPTLC2 遺伝子発現効果



***:P<0.001(Controlとの比較)

SPTLC3 遺伝子発現効果

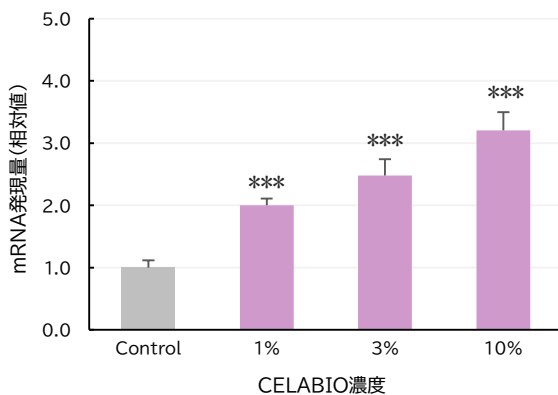


***:P<0.001(Controlとの比較)

2. インボルクリン産生促進作用

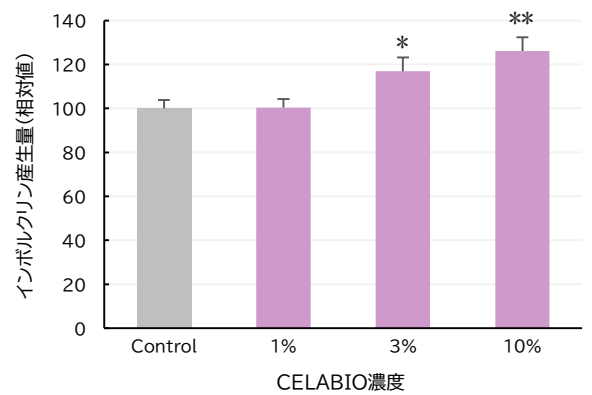
インボルクリンは、肌のバリア機能を担う角層細胞の外壁であるコーニファイドエンベロップ(CE)を形成するタンパク質である。CEを土台にしてセラミドを含む細胞間脂質はラメラ構造を形成し、肌のバリア機能を担っている。正常ヒト表皮角化細胞を用いたインボルクリン産生試験の結果、CELABIOはインボルクリンmRNAの発現を促進し、さらにインボルクリン産生量を増加させることが認められた。このことからCELABIOは、表皮角化細胞のインボルクリン産生能を促進しインボルクリン量を増加させることにより、肌のバリア機能を向上させる効果が期待される。

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)

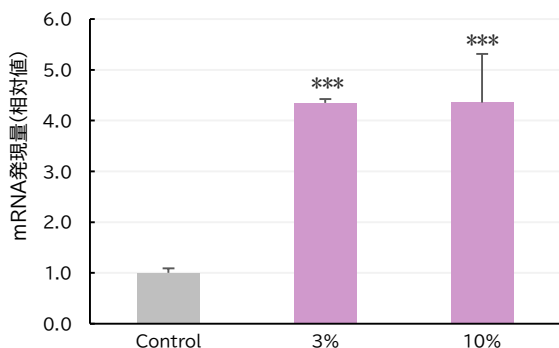
(2)表皮(角化細胞)への作用 ~バリア機能・水分保持機能改善~

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。

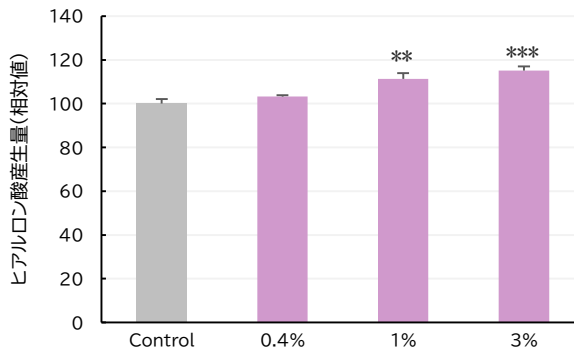
このことからCELABIOは、表皮角化細胞のヒアルロン酸産生能を促進し、ヒアルロン酸量を増加させることにより、肌の水分保持機能を向上させる効果が期待される。

HAS3遺伝子発現促進



***:P<0.001(Controlとの比較)

ヒアルロン酸産生促進作用

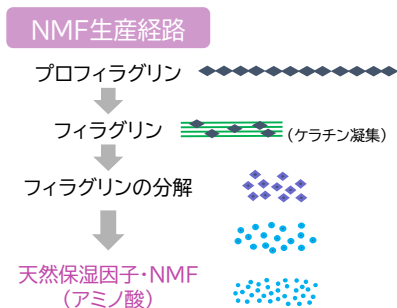


** :P<0.01, ***:P<0.001(Controlとの比較)

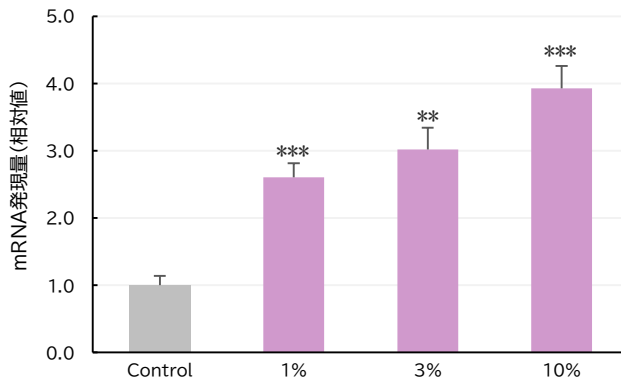
4. フィラグリン産生促進作用

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。



フィラグリン遺伝子発現促進



** :P<0.01, ***:P<0.001(Controlとの比較)

試験データ

CELABIO®

(3)-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。

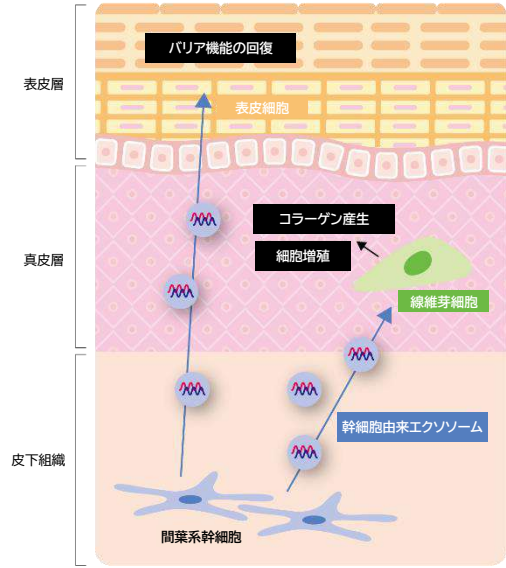
皮下組織に存在する脂肪幹細胞は自己複製能及び多分化能を持つ間葉系幹細胞の一種である。脂肪由来間葉系幹細胞から分泌されるエクソソームが皮膚に存在する細胞に取り込まれると、その細胞の機能を制御する。表皮細胞においてはバリア機能の回復、また真皮線維芽細胞においては細胞の増殖およびコラーゲンの産生を促進するといった様々な機能を発揮する。さらに、脂肪由来間葉系幹細胞から分泌されるエクソソームが細胞の老化抑制作用も有することが報告されている。従って、脂肪由来間葉系幹細胞を活性化させることによって、エクソソームが多く分泌され、エクソソームを介する抗シワやたるみ改善及び老化抑制といった若返りのアンチエイジング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

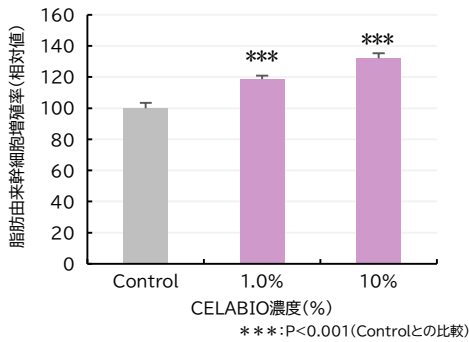
脂肪由来間葉系幹細胞を用いた細胞増殖試験の結果、CELABIOは濃度依存的に細胞増殖を促進させることが示された。

2. エクソソームの産生促進作用

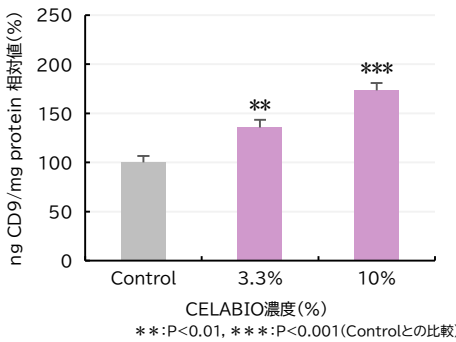
脂肪由来間葉系幹細胞をCELABIO添加培地で培養した後、その培養上清を回収した。培養上清中のエクソソーム特異的のマーカであるCD9及びCD63を用いて評価した。その結果、CELABIOは濃度依存的にエクソソーム産生を促進させることが確認された。(A, B)



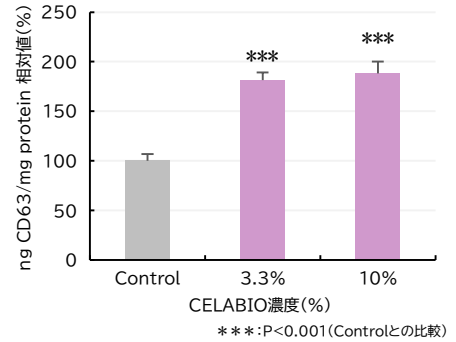
脂肪由来間葉系幹細胞増殖作用



(A)エクソソームCD9



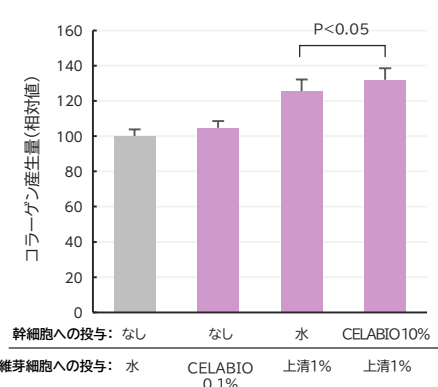
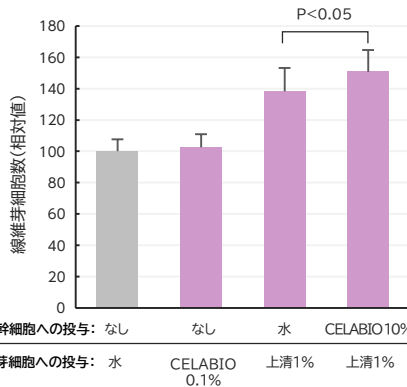
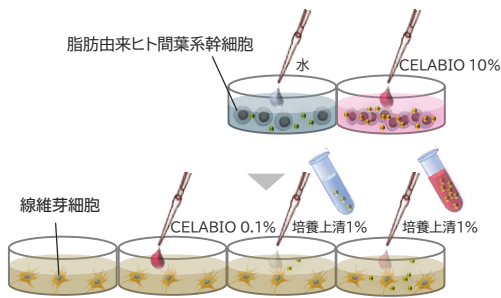
(B)エクソソームCD63



(3)-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

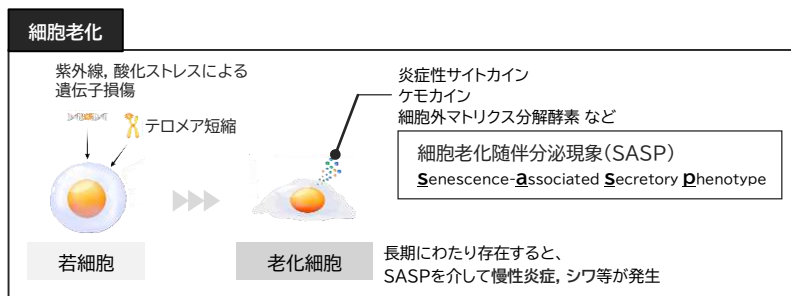
脂肪由来間葉系幹細胞をCELABIO添加培地で培養した後、その培養上清を回収した。得られたエクソソーム含有脂肪由来幹細胞の培養上清を正常ヒト真皮線維芽細胞へ添加し、細胞増殖及びコラーゲン産生に関する促進効果について評価した。なお、CELABIO未添加の脂肪由来幹細胞培養上清に関しても正常ヒト真皮線維芽細胞へ添加し、同様の評価を行った。結果については幹細胞培養上清未添加時の細胞数(Control)を100とした場合の相対値で示した。

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。



(3)-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

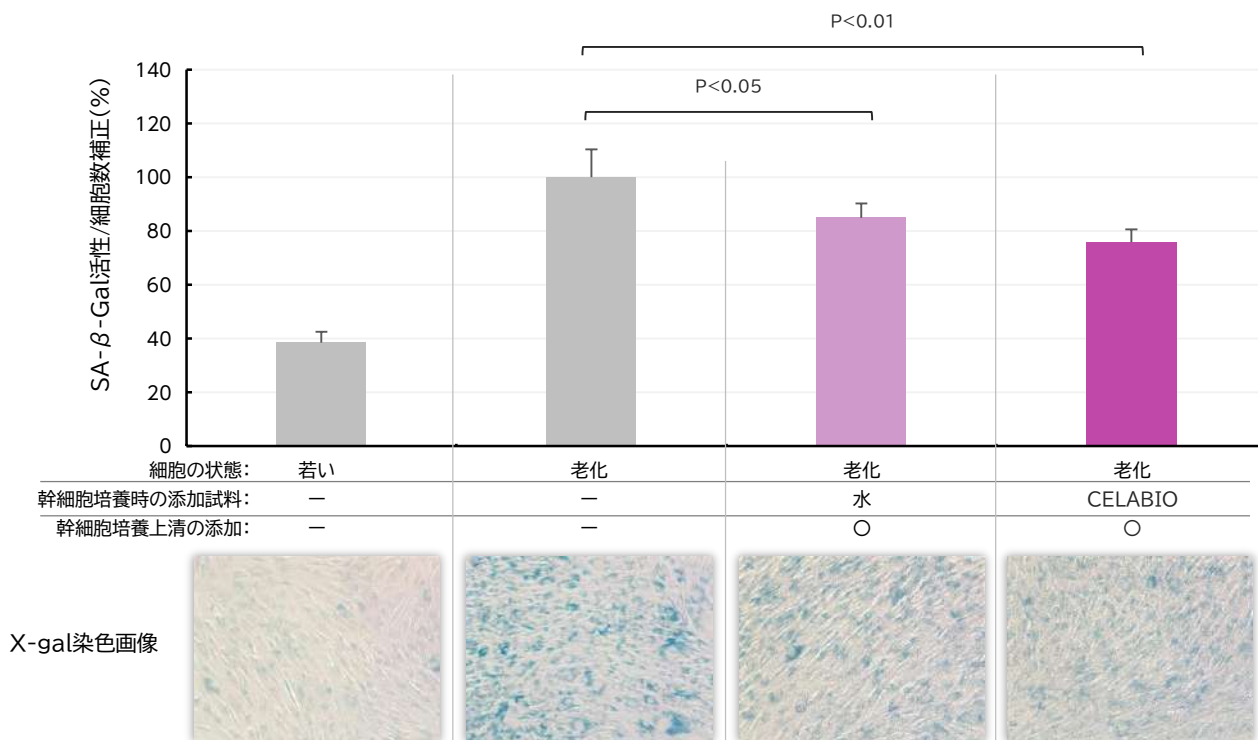
年齢を重ねるとシワやたるみと言った美容に関する悩みがふえつつある。これらの悩みに細胞レベルの老化「老化細胞(Senescent cell)」の存在も原因の一つである。加齢や各内因性・外因性ストレスによって誘導される細胞老化は、細胞の肥大化、扁平化、細胞の機能低下等特徴を持つ。老化細胞は皮膚に蓄積されると炎症性サイトカインやコラーゲン分解酵素といった老化促進物質(SASP因子)を分泌し、細胞機能の低下が更に引き起こされる。結果として、コラーゲンを作り出す力の低下やコラーゲン分解の促進、慢性炎症及びその周辺への炎症連鎖応答等を生じ、シワ・たるみといった肌の老化が進めると考えられる。従って、細胞の老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



(3)-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。

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

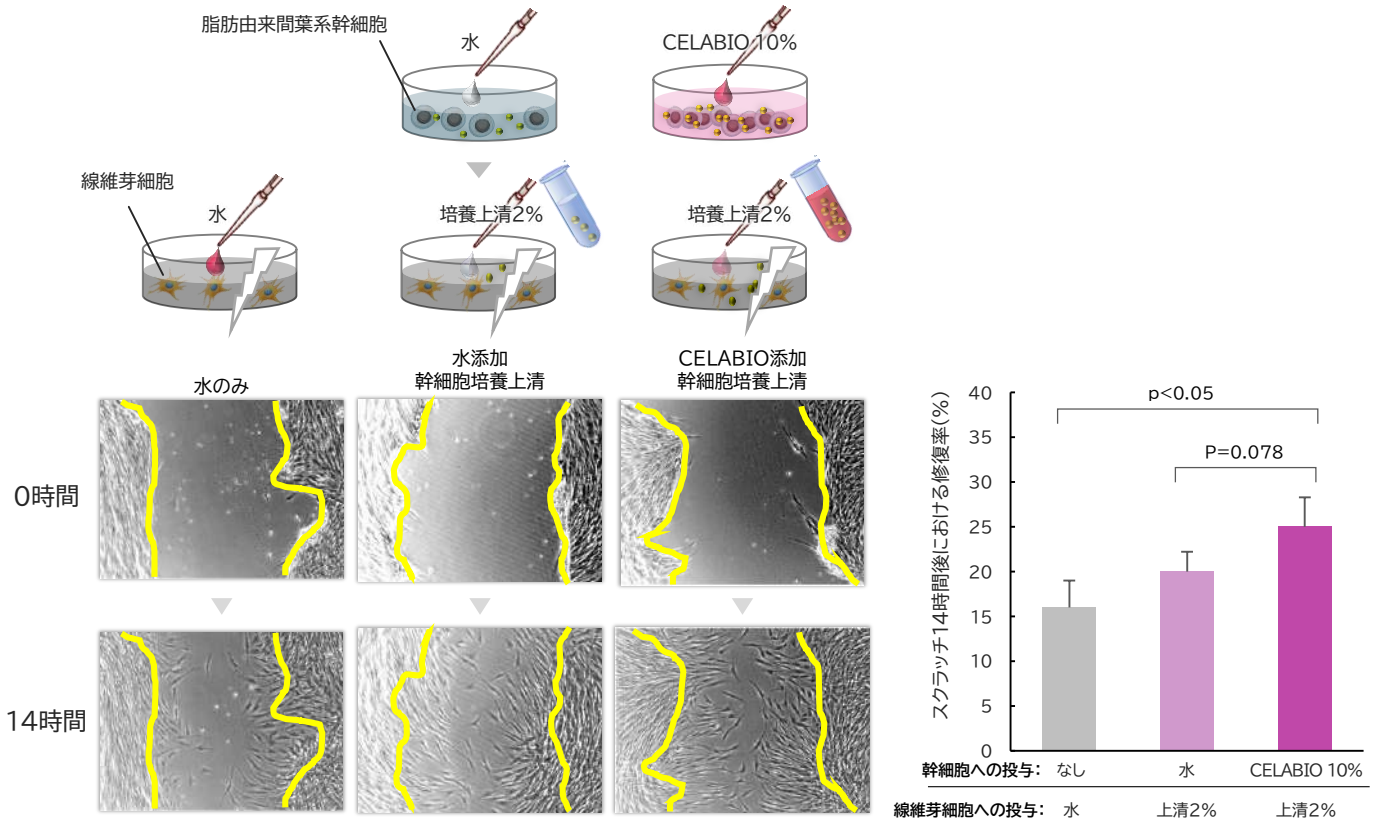
その結果、水のみを与えた線維芽細胞と比べて幹細胞培養上清を添加した場合は、より短時間での細胞修復作用が確認された。さらにその効果は、エクソソームをより多く含有したCELABIO投与の幹細胞培養上清を添加した場合において顕著であった。

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®

(3)-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



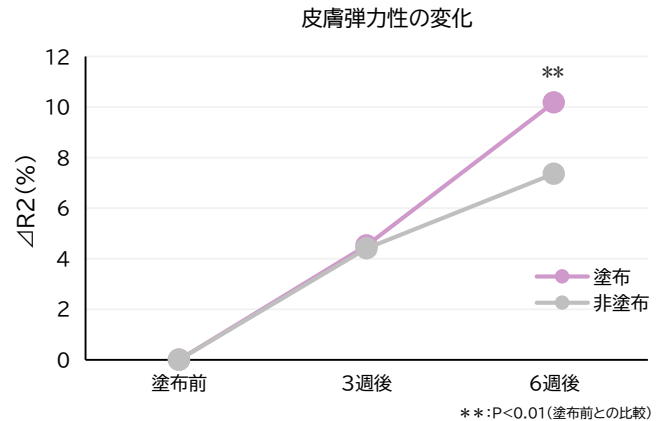
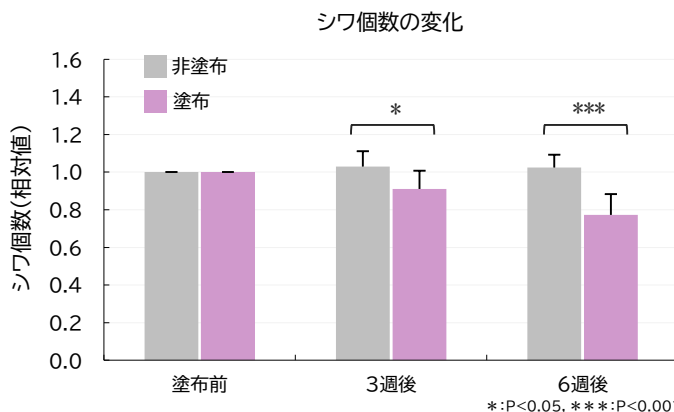
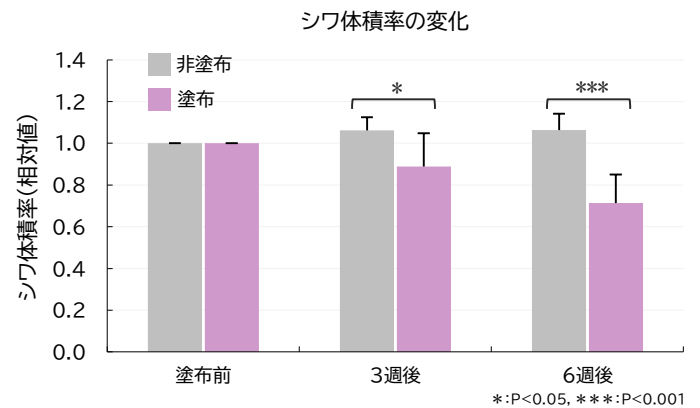
(4)CELABIOの臨床試験①(外部試験機関にて実施)

<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。

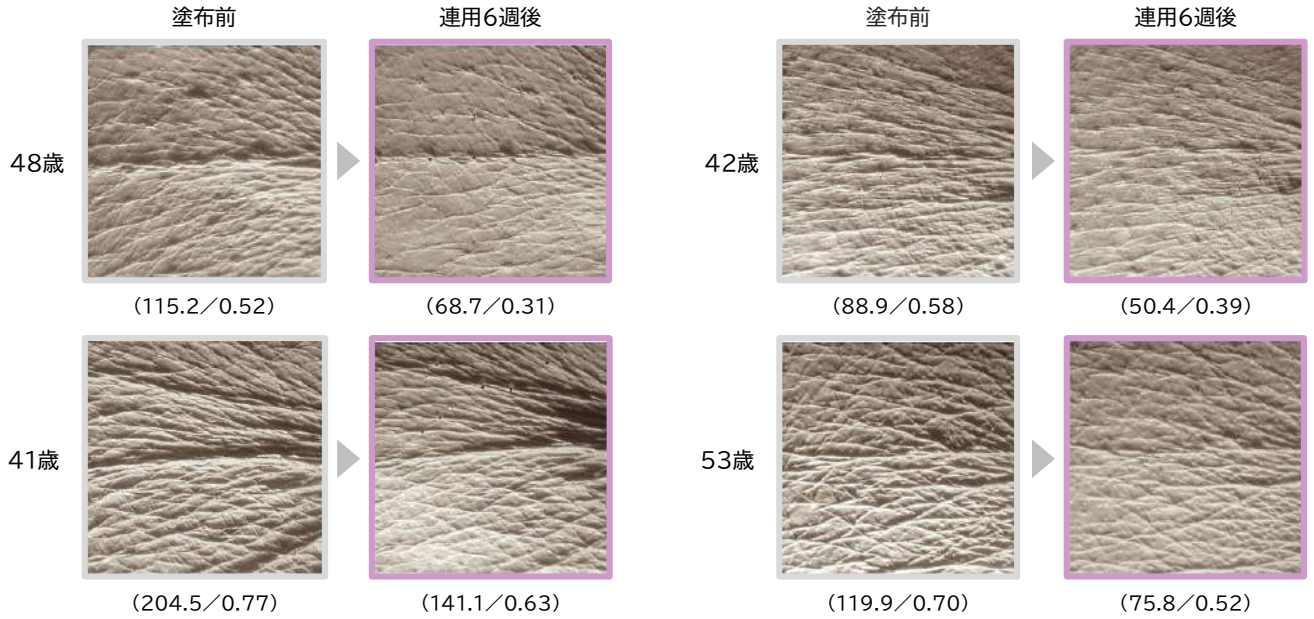


試験データ

CELABIO®

(4)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)



(5)CELABIOの臨床試験②(皮膚科クリニックにて実施)

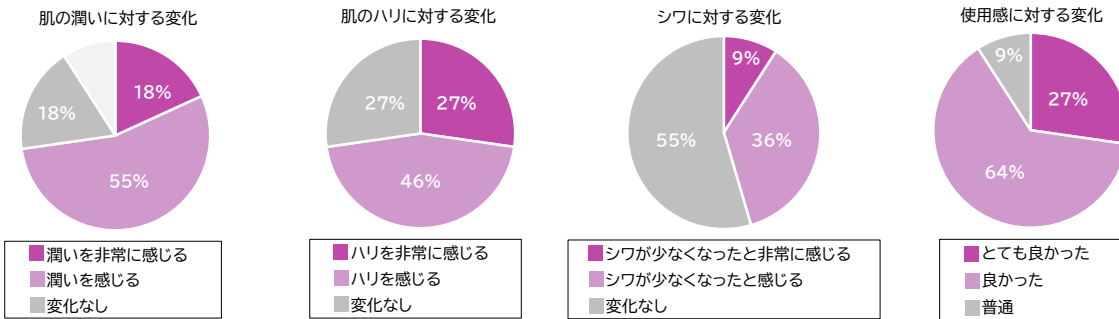
<試験方法>

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。

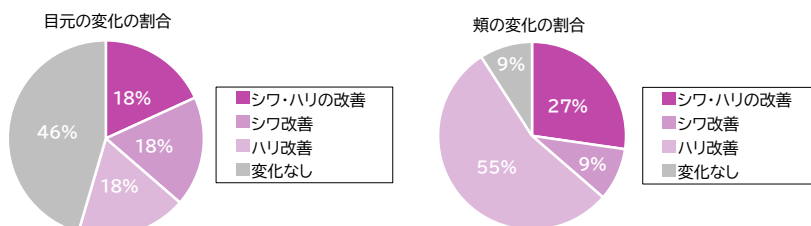
<結果>

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



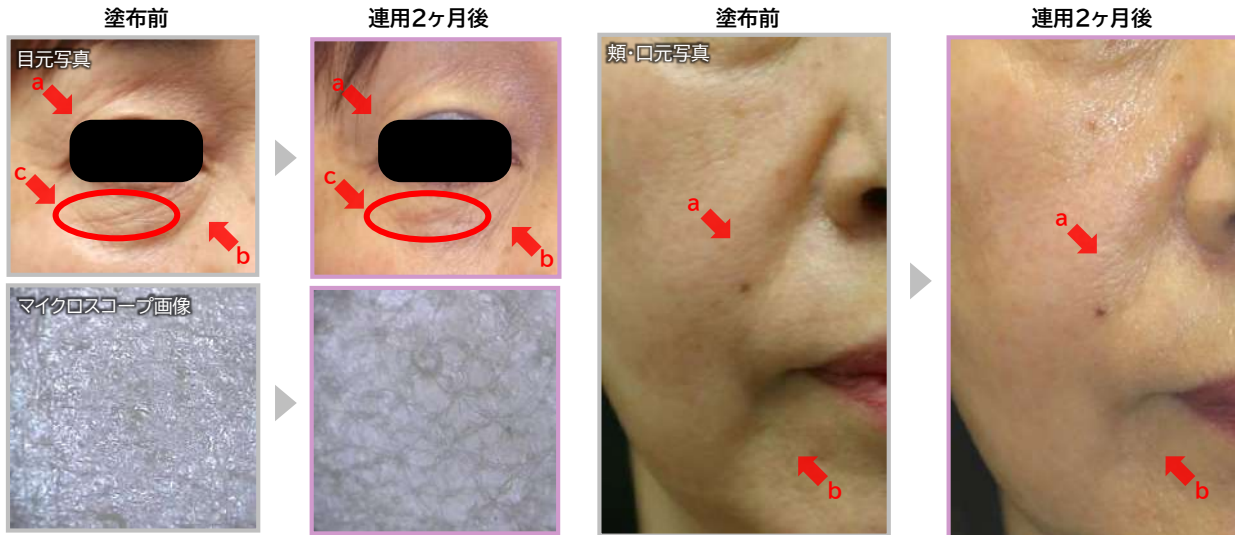
■肌状態評価結果(変化の割合)



(5)CELABIOの臨床試験②(皮膚科クリニックにて実施)

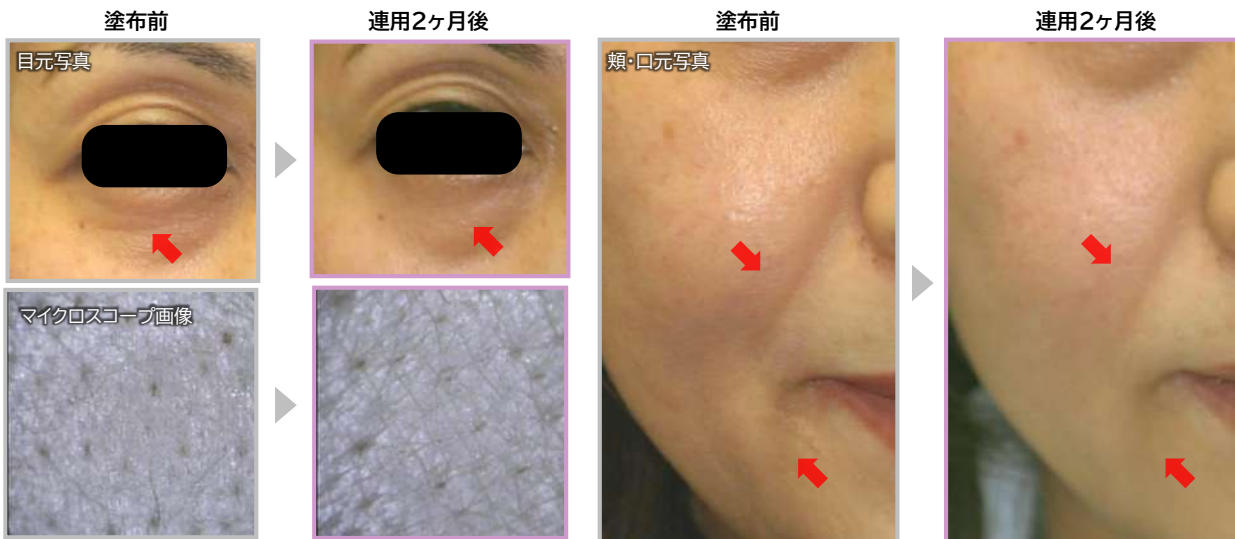
■肌状態評価結果(改善例:50代後半 女性)

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、使用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(濃度:50%)
ヒト光パッチテスト(43名)	光毒性は認められず(濃度:50%)

(濃度:CELABIOとして)

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 [®]	
化粧品	表示名称	INCI名	組成%
	アスペルギルス培養物*	Aspergillus Ferment	94.7
	ペンチレングリコール	Pentylene Glycol	5.0
	フェノキシエタノール	Phenoxyethanol	0.3

*)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

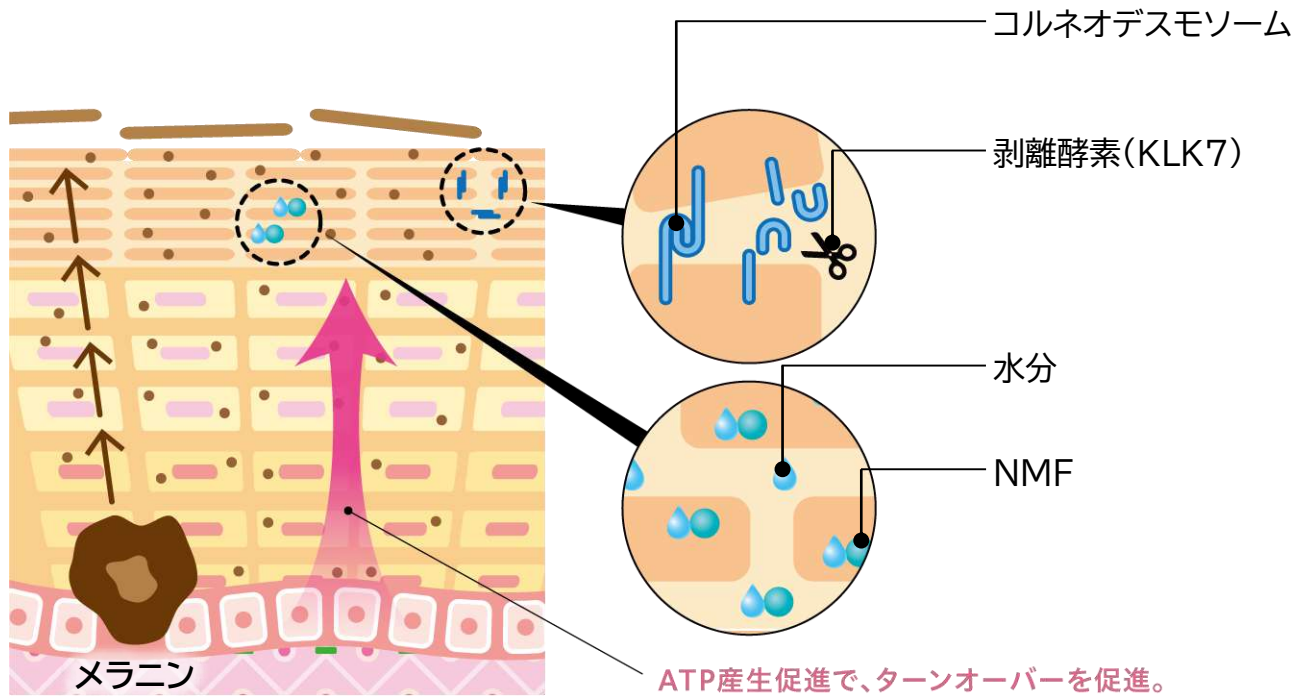
肌麹水®

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によって乱れます。それによって肌のごわつきや紫外線シミが生じます。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

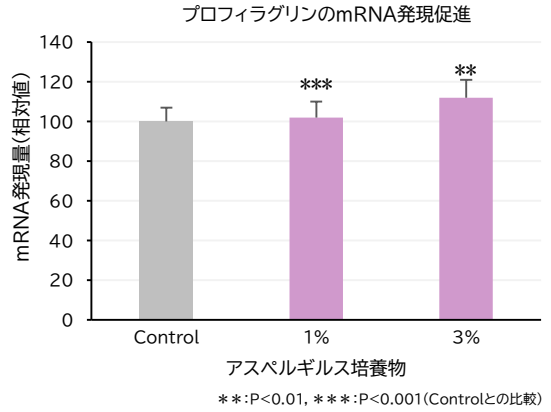
肌翹水®

(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。

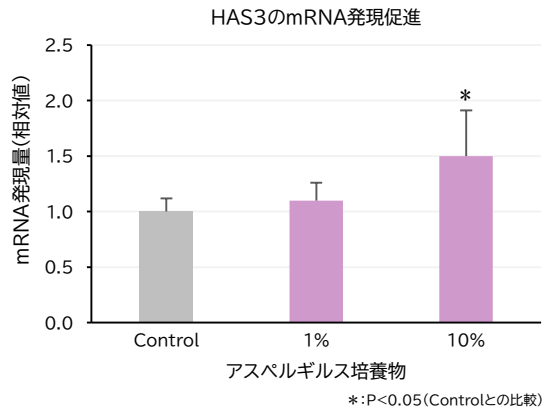
正常ヒト表皮角化細胞を用いたプロフィラグリン遺伝子発現評価試験の結果、アスペルギルス培養物はプロフィラグリンmRNAの発現を促進することが認められた。このことからアスペルギルス培養物は、NMFの元であるプロフィラグリン産生能を促進し、肌の代謝と共に角層中の水分保持機能を向上させる効果が期待される。



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。

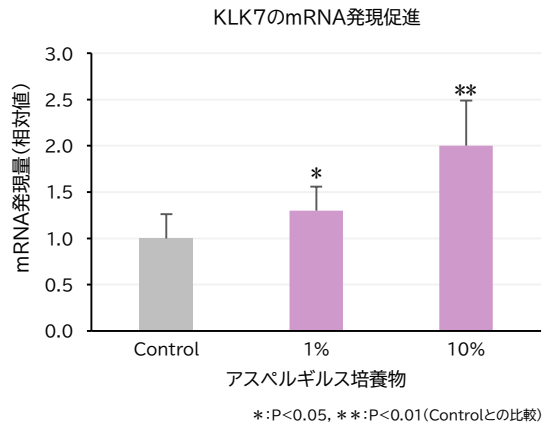
正常ヒト表皮角化細胞を用いたヒアルロン酸産生試験の結果、アスペルギルス培養物はHAS3mRNAの発現を促進することが認められた。このことからアスペルギルス培養物は、表皮角化細胞のヒアルロン酸産生能を促進し、ヒアルロン酸量を増加させることにより、肌の水分保持機能を向上させる効果が期待される。



3. KLK7活性促進作用

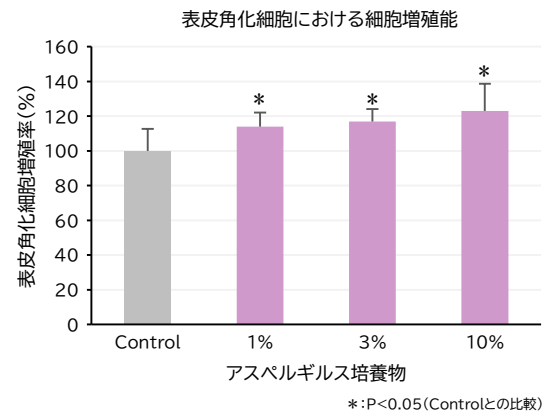
加齢や低湿度環境などの影響によって角層の水分量が減少すると、コルネオデスモソームを分解する剥離酵素(KLK7)の働きが弱くなり、コルネオデスモソームが正常に分解されなくなる。結果として、剥がれ落ちるべき角質細胞が正常に剥離できなくなり、残存した状態によって、角質肥厚(過角化)等を生じる。従って、剥離酵素の活性を促進することは古い角質のスムーズな排出を導くと考えられる。

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

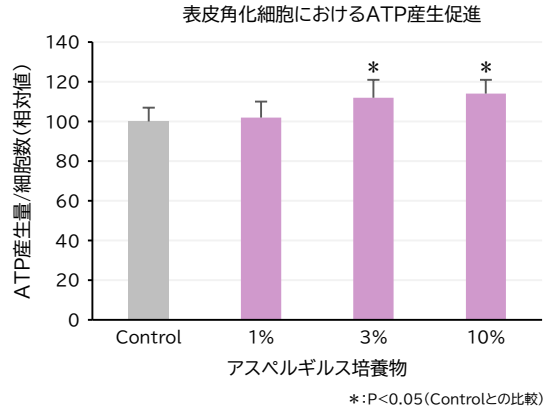
皮膚の外側に存在する表皮は、基底層、有棘層、顆粒層、角層からなり、基底層で分裂した表皮角化細胞は、分化・成熟を経て上層に移行し、角層まで達した後、脱落し、ターンオーバーを繰り返して表皮を形成している。この表皮角化細胞の新陳代謝機能が衰えると小じわ、くすみ、色素沈着、肌荒れ等の皮膚症状を呈する。正常ヒト表皮角化細胞を用いた細胞増殖試験の結果、アスペルギルス培養物には細胞賦活作用があることが認められた。このことからアスペルギルス培養物は、皮膚の新陳代謝機能を回復させることが期待される。



(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

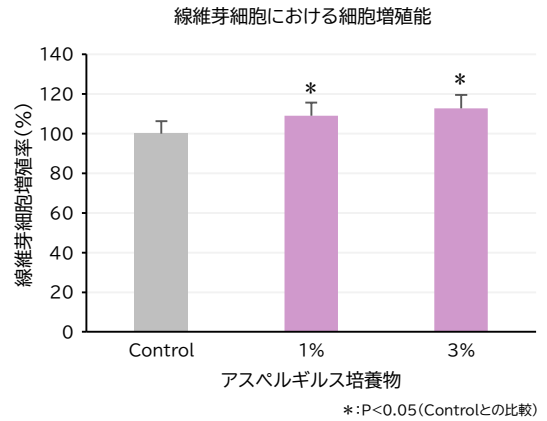
環境の外的因子の影響や加齢により、表皮細胞の活動や増殖能が低下すると、表皮のターンオーバー速度が遅延するため、表皮の菲薄化や角質層肥厚などの分化不全が引き起こされる。その結果、皮膚の保湿機能や弾力性が低下し、角質の異常剥離が起こり、シワ、くすみ、きめの消失、弾力性の低下等の変化が生じる。そこで、角化細胞の増殖を促進することができれば、皮膚のターンオーバーが促進され、肌の新陳代謝機能の回復が期待される。細胞増殖を促進するためには、細胞分裂に必要な生体エネルギーであるATPの産生量を上げることが重要である。実際に、機能の低下した細胞や老化した細胞では、ATP産生量は正常細胞より減少する。そのため、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~

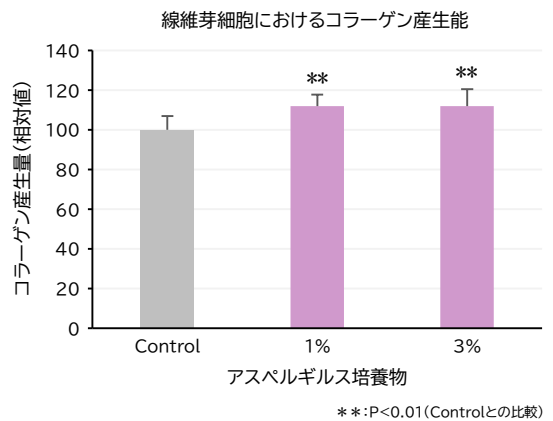
1. 線維芽細胞賦活作用

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賦活作用が確認できた。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。

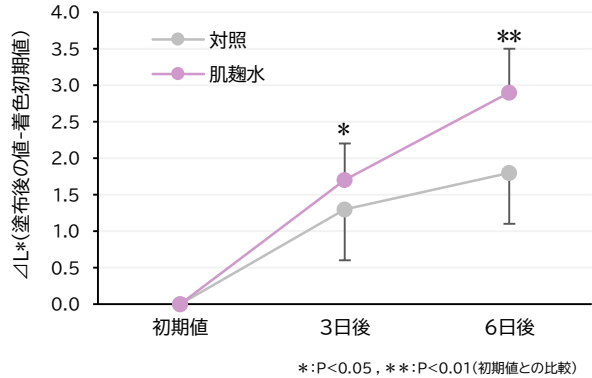


(3)肌麹水でのヒト試験データ ~ターンオーバー促進試験~

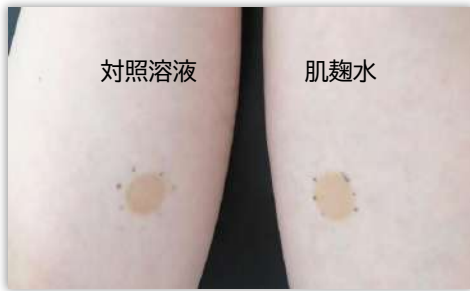
1. ターンオーバー促進作用(肌麹水原液)

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ラ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%ペ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。

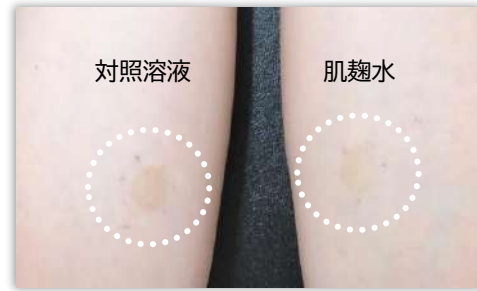
△L*値の経時変化



使用前(初期値)



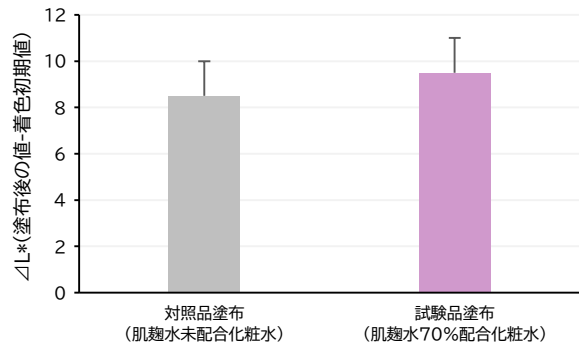
使用后(6日後)



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。

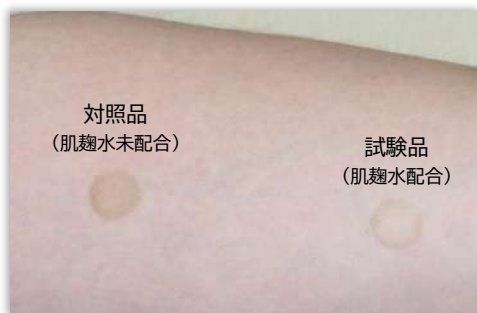
塗布前後におけるL*の変化量



使用前(初期値)



使用后(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~

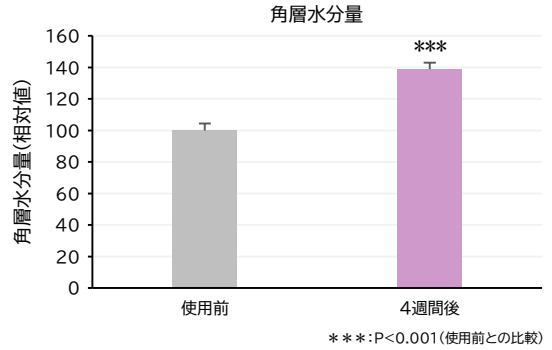
<試験方法>

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

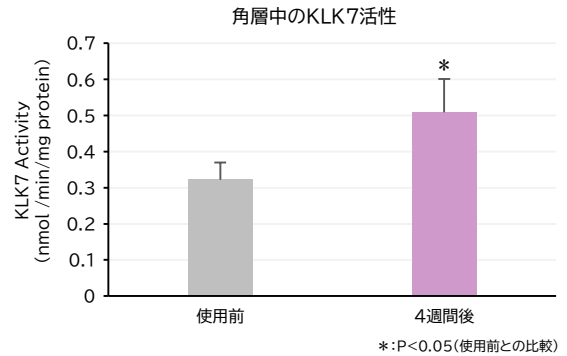
コルネオメーターCM825による角層水分量の評価を行った。各試験品の塗布前と塗布4週間後に片顔の測定を行った。測定の結果、角層水分量が試験品塗布前と比較すると有意に高くなった。この結果より、肌翹水配合化粧品により肌の保湿力を向上させることが確認できた。



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。

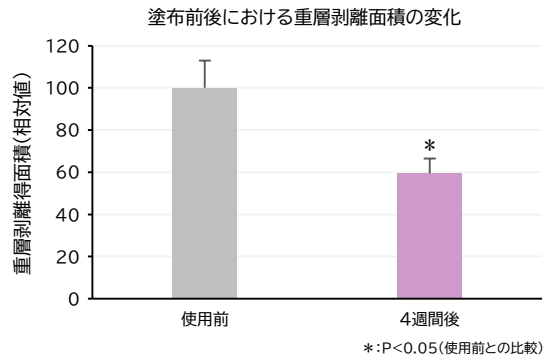
KLK7酵素活性は1mL当たりの1分間に遊離する1nmolのAMC量を1mUとして表す。1mU=1nmol AMC/min/mL測定の結果、試験品の塗布によって、KLK7活性が試験品塗布前と比較すると有意に高くなった。この結果より、乾燥により低下したKLK7活性が肌翹水配合化粧品の塗布によって、回復することが示された。KLK7活性の改善はターンオーバー低下により生じた角層剥離の遅れを促進することが期待される。



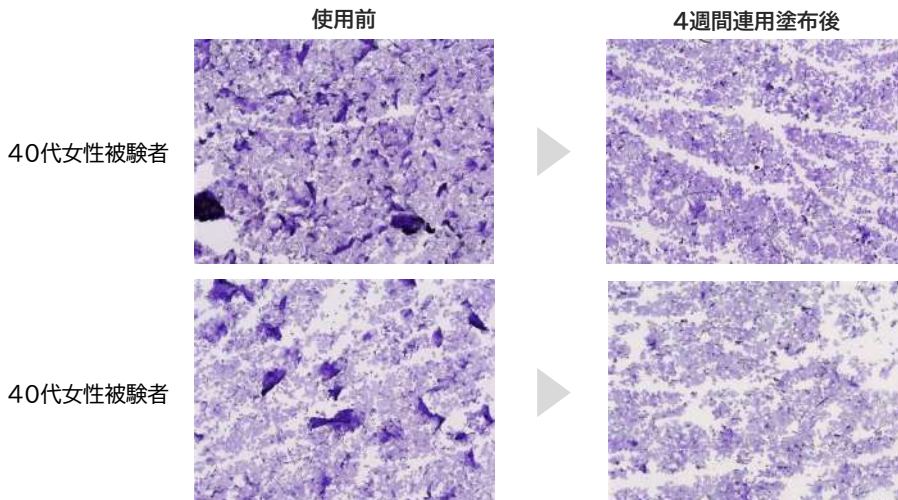
3. 重層剥離度の確認

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。



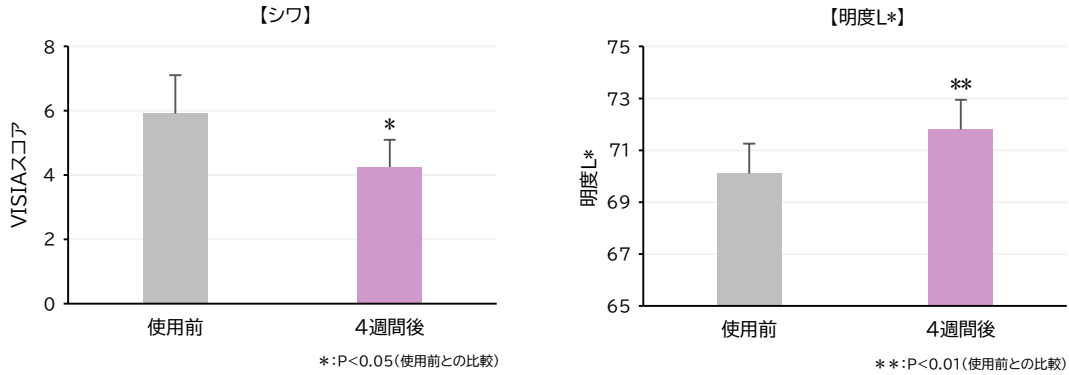
■角層重層剥離状態の変化



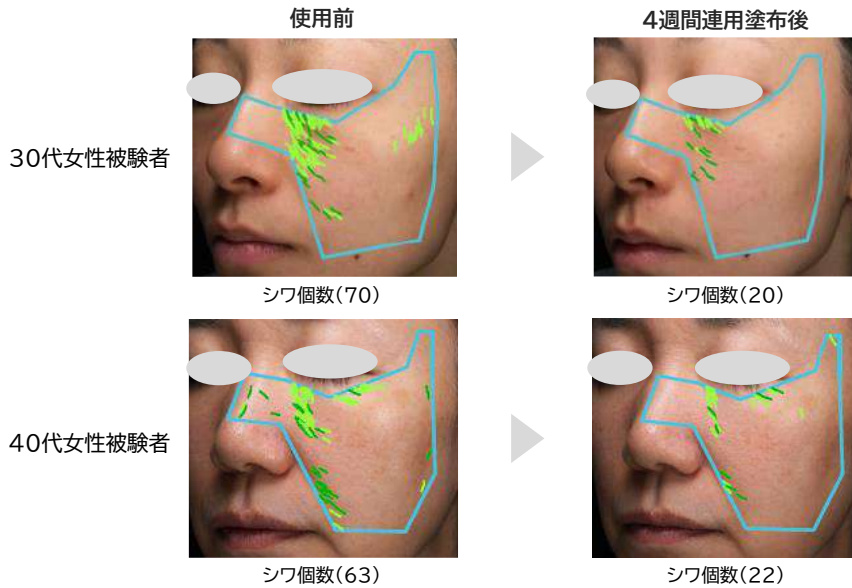
(4)肌翹水配合化粧品でのヒト試験結果 ~肌翹水配合化粧品連用試験~

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、使用前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*値についても使用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)



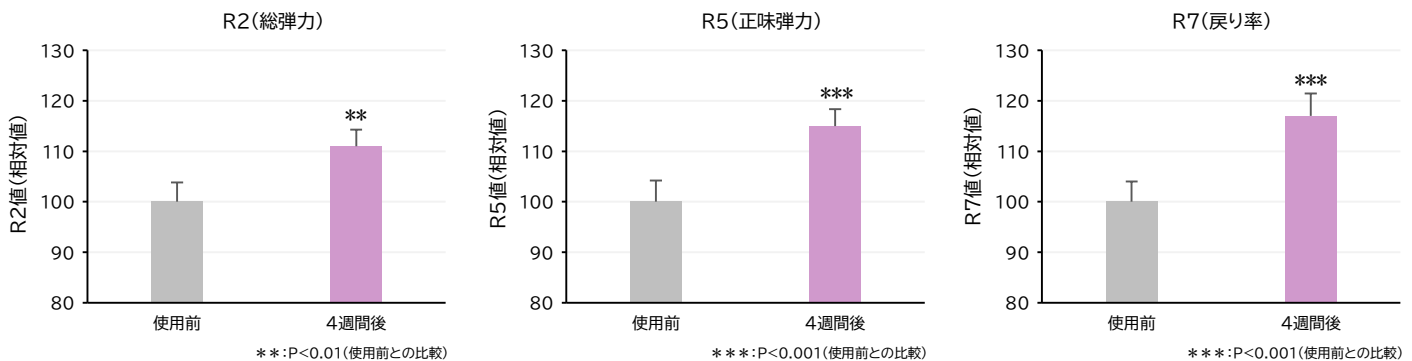
5. 肌弾力の測定

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

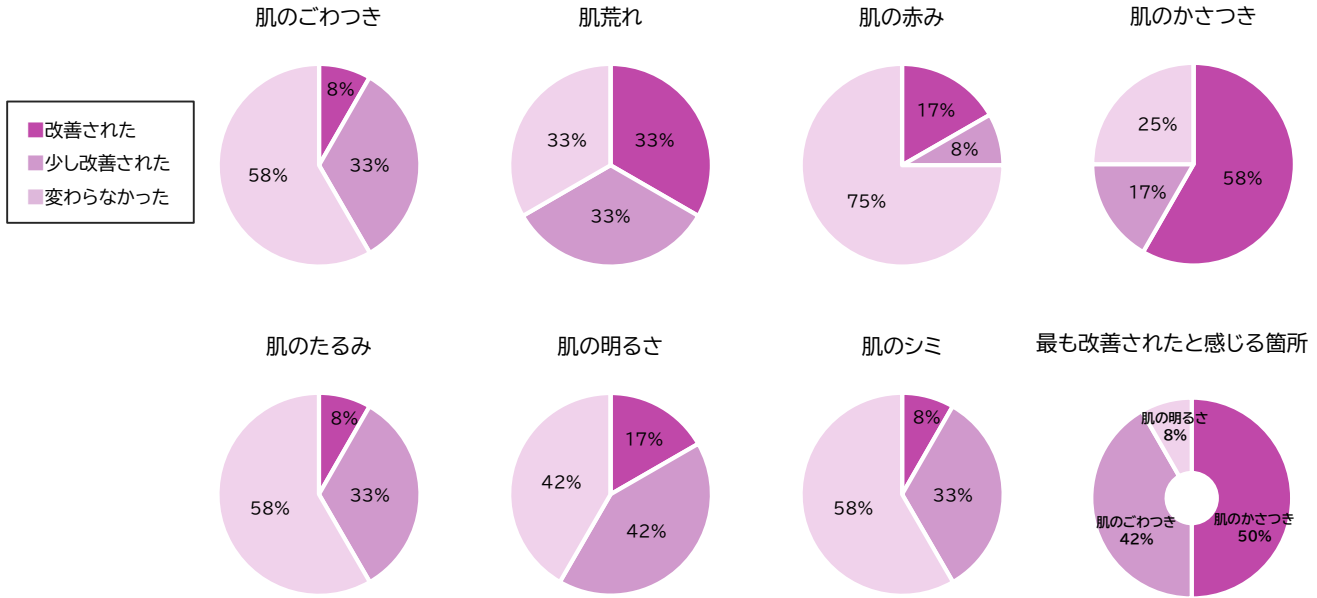
測定結果では、試験品の塗布によって、肌弾力が試験品塗布前と比較すると有意に高くなった。この結果より、肌翹水配合化粧品は肌弾力の向上が期待される。



(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あり、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(濃度:200%)
皮膚刺激性試験(代替法 OECD TG439)	無刺激性(濃度:200%)
眼刺激性試験(代替法 OECD TG492)	無刺激性(濃度:200%)
光毒性試験(代替法 OECD TG495)	陰性(濃度:200%)
ヒトパッチテスト(24時間閉塞 20名)	安全品(濃度:200%)
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(濃度:200%)

(濃度:アスベルギルス培養物として)



株式会社東洋発酵

www.toyohakko.com

