

化粧品科学研究開発専門誌 フレグランスジャーナル

FRAGRANCE JOURNAL

Research & Development for Cosmetics, Toiletries & Allied Industries

2021

8

August

特集

サンケアに対応した製品開発

過酷環境に应答する日焼け止め製剤

表皮ケラチノサイトとメラニン産生亢進抑制メカニズム

植物の手カラを使った光ケア化粧品の開発

新規ビタミンC誘導体によるサンケアアプローチ

バイオレットライト・ブルーライト対策素材の開発

サンケア日焼け止め処方の新規シリコーン系分散剤の開発

最新研究

ビタミンDの最適化:植物幹細胞由来新規成分でD-Skinへ

微細藻類オーランチオキトリウム由来の新規美容成分の開発



微細藻類オーランチオキトリウム由来の 新規美容成分の開発

阪田 泰子*¹ 石川 英明*² 坪井 誠*³

1. はじめに

日本における30代以上の女性の約70%がシワに悩んでいるという回答もあり¹⁾、シワの予防や改善作用を持つ化粧品は、女性から強く望まれている。また、男性のシワ改善スキンケア製品もオールインワン製品の形で活性化してきている。近年、新規効能取得のための抗シワ製品評価ガイドライン²⁾に即した試験実施の結果から、シワ改善関連の効能が許可されるようになり、有効成分を配合した製品が市場に出されている。我々は、微細藻類の活性成分研究を続ける中で、食品として摂取可能な成分で、安全性が高いにもかかわらず、極めて生理活性の高い成分の同定に成功し、この成分の様々な生理活性の検討を続けた。

そこで我々は、いつまでも若々しくありたいという願いに寄り添うべく、シワの改善や緩和効果が見られる素材成分として、微細藻類由来の生理活性成分に、新たな美容成分としての機能性を見つけ出すことに成功した。

2. 微細藻類「オーランチオキトリウム」が産生する奇数脂肪酸トリグリセリド

私たちヒトを含む哺乳類は様々な脂肪酸を合成し、その機能を利用している。ヒトの表皮からはトリグリセリドが皮脂として分泌され、脂肪酸に分解される。脂肪酸の中には、紫外線などで過酸化反応により、加齢臭物質をつくるものが知られている。分岐型脂肪酸は常在菌以外の微生物が皮膚で増殖するのを防ぐとされている³⁾。油脂であるトリグリセリドも、その分解物である脂肪

酸も、皮膚上での様々な作用を示す可能性がある。皮脂は、ヒトの皮膚にとっては、皮脂膜となって皮膚の乾燥を防ぐ重要な物質である。

海洋生物における食物連鎖のピラミッドの最底辺に位置する微細藻類の「オーランチオキトリウム (*Aurantiochytrium*)」は、細胞内の油滴と呼ばれる区画に脂肪酸を蓄積させ、好適な条件下では乾燥重量あたり50%以上の高い油脂含有率を誇り、その中にはドコサヘキサエン酸 [docosahexaenoic acid (DHA), 22:6, n-3]、エイコサペンタエン酸 [eicosapentaenoic acid (EPA), 20:5, n-3]、ドコサペンタエン酸 [docosapentaenoic acid (DPA), 22:5, n-6] などの高度不飽和脂肪酸と飽和脂肪酸であるパルミチン酸 (C16:0)、奇数脂肪酸のペンタデカン酸 (C15:0) を含む⁴⁾。青魚に含まれるDHA、EPAやDPAは、オーランチオキトリウムなどを食べることで体内に貯蔵され、生物濃縮されたものである⁵⁾。

我々は、オーランチオキトリウムの産生する油脂に含まれる奇数脂肪酸を中心とした飽和脂肪酸で構成されたトリグリセリド群に極めて高い生理活性を見つけ出し、この物質群をペンタデシル® (PENTADECYL®) と命名し、化粧品添加原料成分として開発した。

ペンタデシルの主な成分の構造式を図1に示す。

3. ペンタデシル塗布によるヒトモニター試験

小ジワのある健常女性を対象に、ペンタデシルが目尻の小ジワに与える影響について、化粧品機能評価法ガイドライン「新規効能取得のための抗シワ製品評価ガイドライン」²⁾に基づきヒトモニター試験を実施した。試験に先立ち試験計画の倫理性は試験責任者から倫理審査委員会に諮問され、承認された内容にて行った(承認番号: IF20-057)。

3-1. 試験方法

試験品は、ペンタデシルが1%となるようスクワラン液に溶解したプレミックス品を0.1%配合した化粧品(配合化粧水)及びペンタデシル無配合化粧水とした。

“Development of new antiwrinkle agent, isolated from culturing the microalgae *Aurantiochytrium* sp.”

*¹ Yasuko Sakata, *² Hideaki Ishikawa, *³ Makoto Tsuboi

Sea Act Co., Ltd., 株式会社シー・アクト

*¹*²*³ 本社

〒100-0005 東京都千代田区丸の内2-2-1 岸本ビル11F

*² 新川崎研究所

〒212-0032 神奈川県川崎市幸区新川崎7-7 かわさき新産業創
造センターAIRBIC A38号室

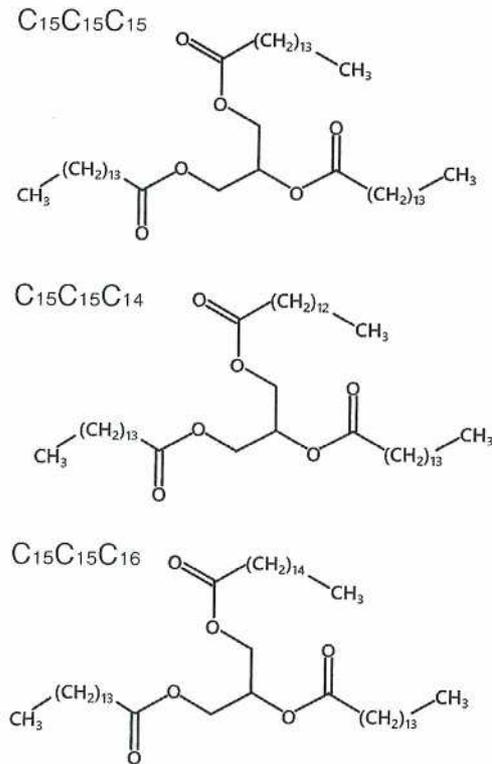


図1 ペンタデシルの主な成分

表1 試験品の成分組成

原料	(%)	
	配合化粧水	無配合化粧水
ペンタデシル	0.001	0.0
スクワラン	0.099	0.1
ヤシ油脂肪酸 PEG-7 グリセリン	0.8	0.8
ペンチレングリコール	2.0	2.0
1,3-ブチレングリコール	10.0	10.0
フェノキシエタノール	0.4	0.4
精製水	86.7	86.7

試験品の成分組成を表1に示す。

被験者は、左右の目尻にシワグレード標準の1~3を有する健常人25名(32~58歳, 平均年齢46歳)とし, 試験に先立ち同意書を取得した。

試験デザインは, 二重盲検無作為化比較試験(同一被験者によるハーフフェイス比較試験)とし, 無作為割付けにより片側を配合化粧水塗布部位, もう片側を無配合化粧水塗布部位とし, 被験者により各試験品を左右の半顔に4週間塗布した。

目尻のシワの測定は専門家による目視評価及びレプリカ解析とした。目視評価は, シワグレード標準をもとに被験者の左右の目尻のシワの程度を評価した。レプリ

カ解析は, SILFLO 剤にて左右の目尻のレプリカを採取し, 解析評価はレプリカ解析システム(㈱アサヒテクノラボ製)を用いて2次元画像解析した。

測定は, 洗顔後, 恒温恒湿室(室温20℃, 湿度50%)にて15分以上馴化した後に行った。

3-2. 結果: 小ジワに対するペンタデシルの有用性

3-2-1. 目視評価

塗布前及び塗布4週間後のシワグレード推移を図2Aに, その変化量を図2Bに示す。

ペンタデシル配合化粧水4週間塗布では, 塗布前と比較し有意な差をもってシワグレードを改善させた。4週間塗布後のシワグレード変化量についても, ペンタデシル配合化粧水は無配合化粧水と比較し有意な差が認められた。なお, 全症例にて有害事象の発生は認められなかった。

3-2-2. レプリカ評価

塗布前及び塗布4週間後の「最大シワ最大深さ」推移を図3Aに, その変化量を図3Bに示す。

ペンタデシル配合化粧水4週間塗布では, 塗布前と比較し「最大シワ最大深さ」推移の減少が見られ, シワ改善傾向を示したが, 無配合化粧水では, 塗布前と比較し有意な差での増加が認められた。この推移を変化量で比較した場合, ペンタデシル配合化粧水塗布により「最大シワ最大深さ」は, 無配合化粧水と比較し優位な差での改善が認められた。

3-2-3. 小括

目視評価とレプリカによる機器評価の両方において, ペンタデシル配合化粧水群は無配合化粧水群と比較し有意にシワを改善し, かつ有害事象も認められなかったことから, 有用性が示された。

このことは乾燥による小ジワに悩む女性にとり, ポテンシャルを有する成分であることが示唆された。

4. ペンタデシルによるシワ改善作用機序

ヒト正常皮膚細胞において作用機序の検討を行った。

4-1. ヒト角化細胞3次元培養表皮モデルでの作用検討

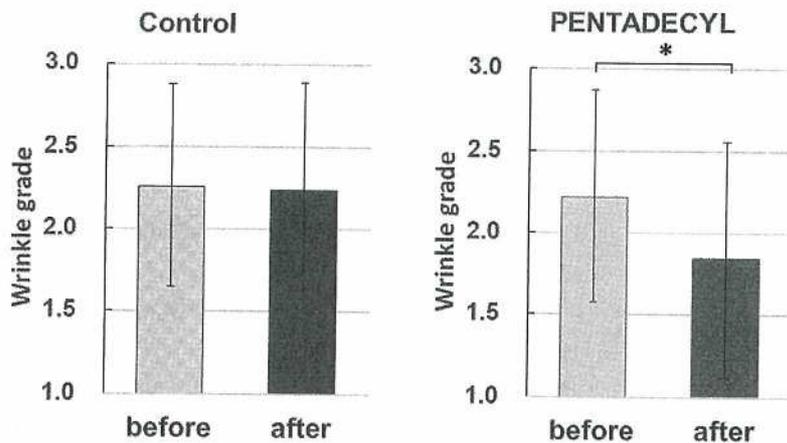
ペンタデシルが経表皮水分蒸散量 (TEWL) 及び保湿やバリア機能に関与するフィラグリンタンパク質発現に及ぼす影響について検討した。

4-1-1. 試験方法

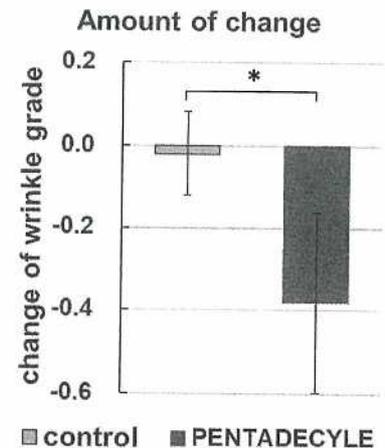
1) 培養及び経表皮水分蒸散量 (TEWL) の測定

角層が幼弱な3次元培養表皮モデル (LabCyte EPI-MODEL24 6D, ㈱ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング製) を専用培地で24時間培養した後, TEWLを測定した (Day 1)。BSO含有培地に培地交換し, ペンタデシルをトリ2-エチルヘキサン酸グリセリルにて0.001%に調整した試料を塗布, 24時間培養し TEWLを測定した (Day 2)。測定後, 新たに試料を添加・塗布し, そ

A 塗布前及び塗布4週間後のシワグレード推移



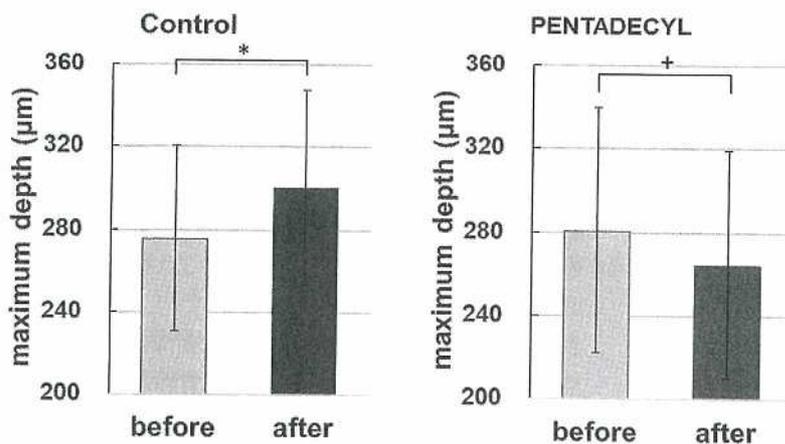
B 変化量



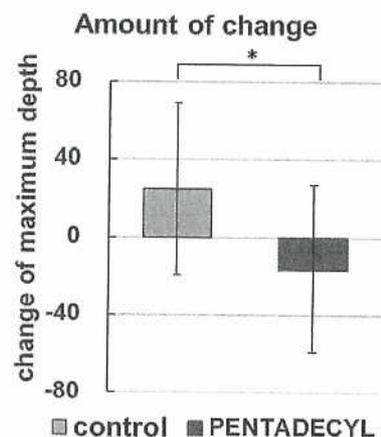
mean ± SD (n=25), *p < 0.05

図2 シワグレード

A 塗布前及び塗布4週間後の最大シワ最大深さ推移



B 変化量



mean ± SD (n=25), *p < 0.05, +p = 0.07

図3 最大シワ最大深さ

の後、24時間培養を継続し、試料を除去後、TEWLを測定した。測定は指定日数まで繰り返した (Day 3~)。

2) フィラグリンタンパク発現の免疫染色

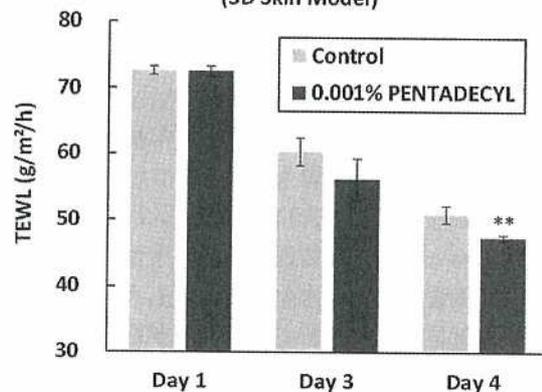
ペンタデシル試料処理後、5日間培養したものにおいて、フィラグリンタンパク質発現を観察した。回収した表皮モデルの切片を作製、固定後、抗フィラグリン抗体を一晩反応させ、抗マウス IgG Alexafluoro 488 を2時間反応させた。その後、Hoechst33342にて核染色を行い、蛍光顕微鏡下のフィラグリン由来シグナル (緑色) 及び細胞核由来シグナル (青色) の蛍光を観察した。

4-1-2. 結果

3次元培養表皮モデルを用いた TEWL 値への影響を図4に示す。

ペンタデシル 0.001% 塗布、3日間培養 (Day 4) は、

Effect of PENTADECYL on TEWL (3D Skin Model)



mean ± SD (n=4), **p < 0.01 (vs control)

図4 3次元培養表皮モデルを用いた TEWL 値への影響

コントロールに対して有意水準1%における有意な差をもってTEWL値を低下させた。

フィラグリンタンパク発現への影響は、ペンタデシル0.001%塗布、5日間培養した(Day 6)組織において、フィラグリンタンパク質発現が増加する傾向が見られた(図省略)。

これらのことから、ペンタデシルは皮膚表面の表皮のバリア機能による水分保持と保湿性や柔軟性を維持したことが示唆される。

4-2. 正常ヒト表皮角化細胞における作用検討

表皮においては、角層水分量や経表皮水分蒸散量(TEWL)がシワ形成に関連すると報告されていることから、それらの機能に関連する遺伝子の発現量に及ぼす

ペンタデシルの影響について、正常ヒト表皮角化細胞(NHEK)を用い検討した。遺伝子はインボクリン、トランスグルタミナーゼ1、クローディン1、フィラグリンとした。ペンタデシルはエタノールに懸濁、加温により溶解した後、NHEKの試験培地に添加し、24時間培養後にリアルタイムPCR法を用いた遺伝子発現量の定量解析を行った。

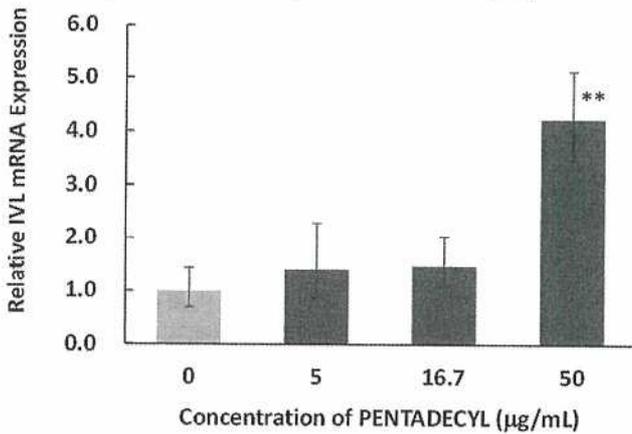
また、細胞賦活作用についても、NHEKの試験培地に添加し、24時間培養後にMTTアッセイにおける吸光度の測定を行った。

4-2-1. 結果

各遺伝子の発現量の結果を図5A~Dに示す(A:インボクリン, B:トランスグルタミナーゼ1, C:クロー

A インボクリン

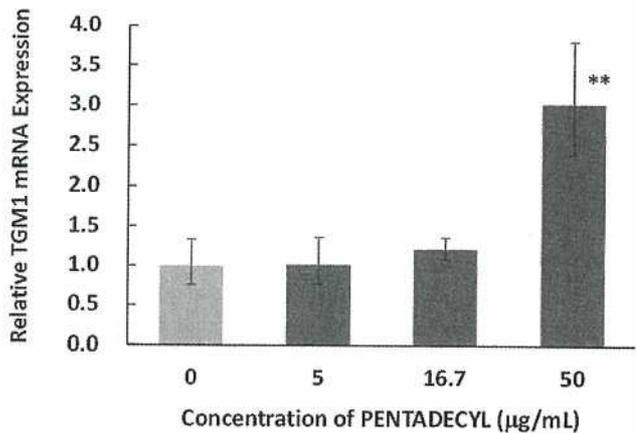
Effect of PENTADECYL on IVL mRNA Expression
(Normal Human Epidermal Keratinocytes)



mean ± SD (n=3), **p < 0.01 (vs no treatment control)

B トランスグルタミナーゼ1

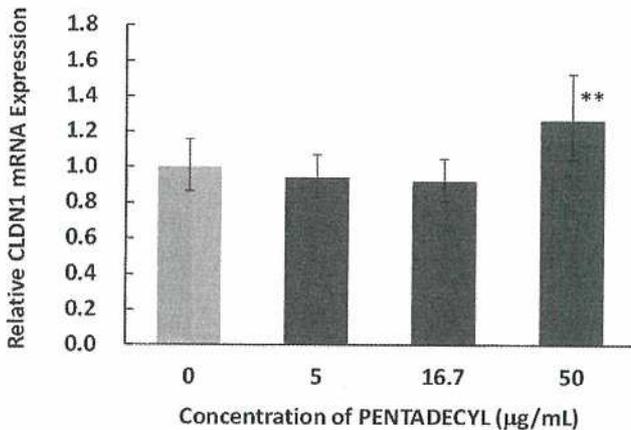
Effect of PENTADECYL on TGM1 mRNA Expression
(Normal Human Epidermal Keratinocytes)



mean ± SD (n=3), **p < 0.01 (vs no treatment control)

C クローディン1

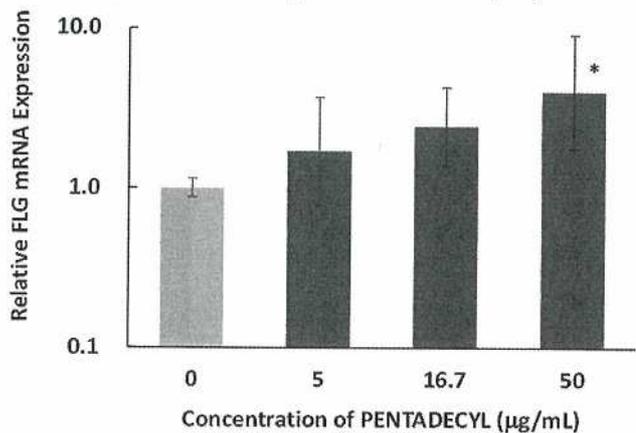
Effect of PENTADECYL on CLDN1 mRNA Expression
(Normal Human Epidermal Keratinocytes)



mean ± SD (n=3), **p < 0.01 (vs no treatment control)

D フィラグリン

Effect of PENTADECYL on FLG mRNA Expression
(Normal Human Epidermal Keratinocytes)



mean ± SD (n=3), *p < 0.05 (vs no treatment control)

図5 遺伝子発現量への影響

デイン 1, D:フィラグリン)。

インボクリン, トランスグルタミナーゼ 1, クローデイン 1 及びフィラグリンでは, ペンタデシル 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 処理濃度でコントロールに対して, 有意水準 1% における有意な差をもって発現量を増加させた。ペンタデシルは, 表皮角化細胞の保湿性やバリア機能に対して影響を与えることが示された。

細胞賦活作用の結果を図 6 に示す。ペンタデシル 1.67 ~ 16.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 処理濃度でコントロールに対して, 有意水準 1% における有意な差をもって吸光度を増加させた。ペンタデシルは表皮角化細胞に対して細胞賦活作用を示すことが示された。

4-3. 正常ヒト真皮線維芽細胞における作用検討

真皮の I 型コラーゲンは加齢により減少しシワの原因として考えられていることから, ペンタデシルが I 型コラーゲン産生作用に及ぼす影響について, 正常ヒト真皮線維芽細胞 (HNDF) を用いて検討した。

4-3-1. 結果

I 型コラーゲン産生促進作用を図 7 に示す。

ペンタデシルは, 濃度依存的に I 型コラーゲン産生促進作用を示し, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上の濃度でコントロールに対して, 有意水準 1% における有意な差をもって I 型コラーゲン産生促進作用が認められた。

5. 考察

化粧品機能評価法ガイドライン (抗シワ製品評価) に基づくヒトモニター試験により, ペンタデシル 0.001% 配合化粧水を目尻へ 4 週間塗布した結果, 小ジワ改善への有用性が認められ, その作用機序について, 正常ヒト皮膚細胞を用いて検討を行った。

シワ形成過程には, 表皮の角層水分量や経表皮水分蒸

散量 (TEWL) が関連する。角層水分量は角質層の脂質や保湿因子 (NMF) が関係し, それ以外に水分蒸散を防ぐ皮膚バリア機能として隣り合う細胞と細胞との隙間を接着し, 細胞間隙を通過する物質の移動を調整する密着結合 (タイトジャンクション) が重要な役割を担っているとされる⁶⁾。タイトジャンクション形成に関連する遺伝子としてクローデイン遺伝子があり, その発現調節が健全な角層構造の維持に寄与し, シワ形成との関連が報告されている。また, 皮膚バリア機能は, 膜状構造物であるコーニファイドエンベロープ (Cornified Envelope: CE) を構成するタンパク質前駆体であるインボクリン (Involucrin: IVL) や CE の形成に必要な架橋酵素であるトランスグルタミナーゼ 1 (Transglutaminase-1: TGM1) などが関与している⁶⁾。これら関連する遺伝子や前駆体の発現量やタンパク発現を測定した。

ヒト角化細胞 3 次元培養表皮モデルでの TEWL 及びフィラグリンタンパク質発現増加作用, 正常ヒト表皮角化細胞でのインボクリン, トランスグルタミナーゼ 1, クローデイン 1, フィラグリンの発現量増加作用及び細胞賦活作用, 正常ヒト真皮線維芽細胞での I 型コラーゲン産生促進作用の結果から, ペンタデシルは, 表皮細胞形成過程における経表皮水分蒸散量 (TEWL) やフィラグリンタンパク質発現に作用し, 表皮のバリア機能による水分保持と保湿性や柔軟性を維持することで, ヒト目尻の小ジワ改善作用が得られた可能性が示唆された。

さらに, 奇数脂肪酸による β -酸化代謝系の 1 つである補充反応⁷⁾⁸⁾により, ペンタデカン酸から代謝されたプロピオニル-CoA がスクシニル-CoA に代謝され, TCA サイクルに補充され, 緊急時のエネルギー産生を促すことで細胞賦活化に繋がり, 細胞が元気になることが期待

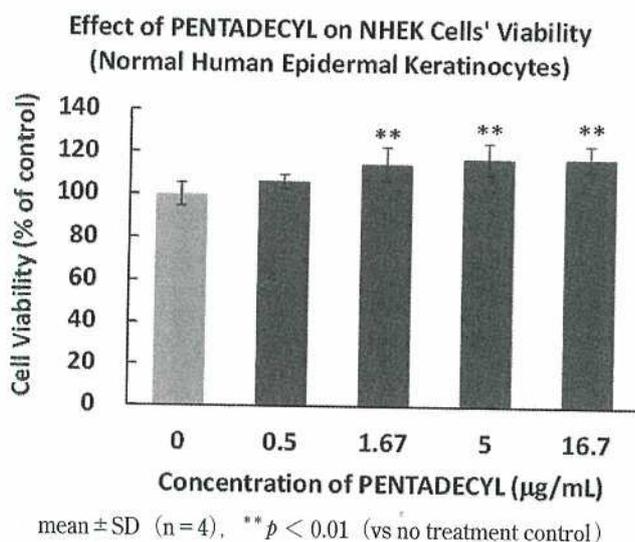


図 6 細胞賦活作用

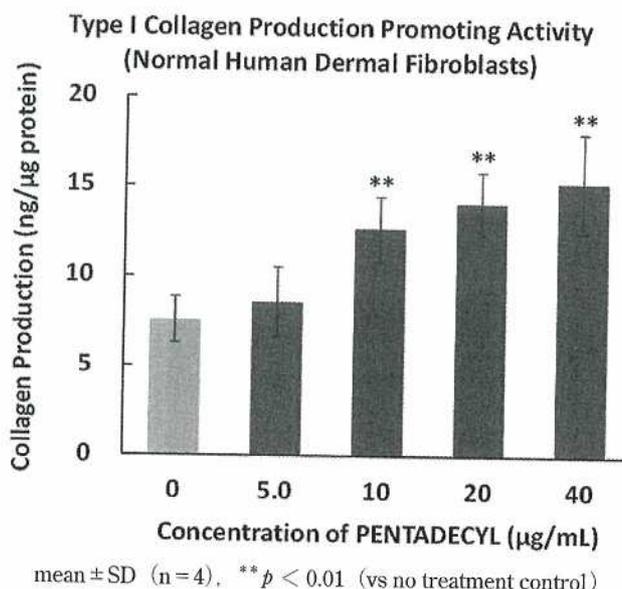


図 7 I 型コラーゲン産生促進作用

された。

これらのことは乾燥による小ジワに悩む女性にとり、ポテンシャルを有する成分であると考えられる。

6. おわりに

微細藻類オーランチオキトリウムが細胞内に産生する油脂の中に新たな美容成分を見つけ出し、化粧品添加物原料として開発した。その成分は、主にペンタデカン酸を含有する飽和脂肪酸により構成されるトリグリセライドの物質群（ペンタデシル[®]）であり、今回、化粧品機能評価法ガイドライン（抗シワ製品評価）に基づくヒトモニター試験により、極微量の目尻への塗布にて、小ジワ改善の有用性が認められた。さらに、正常ヒト皮膚由来の細胞での機能性評価試験において、コラーゲン産生、天然保湿因子のフィラグリンの増加、角質層のコーニファイドエンベロープを構成するインボルクリン産生やタンパク架橋などの支援、タイトジャンクションの強化など、幅広い肌のバリア機能と保湿性を高める作用があることを明らかとした。これらのことから、年齢を重ねるにつれて悩みが増す目尻のシワを緩和する化粧品原料の1つとしてペンタデシル[®]の活用が期待される。

参 考 文 献

- 1) 肌の老化に関する意識とアンチエイジング : https://www.po-holdings.co.jp/csr/culture/bunken/report/pdf/081104_hadanorouka.pdf (2019年4月30日)
- 2) 抗老化機能評価専門委員会（日本化粧品学会編集事務局）、日本化粧品学会誌、**30**（4）、316～332（2006）
- 3) 林 琴美 他、日本家政学会 70 回大会研究発表要旨集、P-167（2018）
- 4) K. Kaya et al., *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **75**, 2246～2248（2011）
- 5) 齋藤洋昭, 化学と生物, **34**, 107～113（1996）
- 6) 岡野由利, 日本化粧品技術者会誌, **50**（2）, 91～97（2016）
- 7) T. Kasumov et al., *Arch Biochem Biophys*, **463**（1）, 110～117（2007）
- 8) O. Owen, S. Kalhan, R. Hanson, *Biol. Chem.*, **277**（34）, 30409～30412（2002）

FRAGRANCE JOURNAL 投稿規定

本誌の出版理念である中立・公正に基づいて、化粧品、トイレットリー、美容業界をはじめ、大学・研究機関など幅広い学際分野からの発表を募るもので、投稿資格に制限はありません。

原稿の審査・掲載

先に 400 字程度の要旨または素案を提出していただき、掲載の採否は編集部により決定します。許可した場合、執筆要領を送付します。掲載号については原則として編集部が決定します。実験データに関しては、国際的な代替法の開発を促進する 3Rs 宣言のポリシーを考慮するものとして下さい。

著作権

原稿の編集著作権は当社に帰属し、本誌に掲載された論文及び記事の複製権（印刷・複写）・翻訳権・譲渡権・公衆送信権（複写の FAX 送信及びデジタル送信）は当社が保有します。

論文及び記事を転載する場合あるいは図表を転用する場合は、当社の転載許可を得て下さい。その際、図表のキャプションの最後に右肩付きで文献ナンバーを明記し、参考文献に明記して下さい。

校正

編集方針に従い、原稿の修正、加筆、削除を求める場合があります。著者校正は原則として 1 回とします。写真・図版類をカラーとする場合、製版、印刷の実費を頂戴いたします。

掲載料

投稿原稿の場合は無料です。

フレグランスジャーナル社 TEL 03-3264-0125 E-mail: uno@fragrance-j.co.jp（担当：宇野）

編集後記

♥…サンケアをすることは、肌を紫外線から守ることであり、化粧品と社会問題を考えるきっかけにもなる。子供たちへのUVケア教育や容器の海洋プラスチック問題など人類が抱える地球問題に化粧品がどこまで寄り添えるか。全業界に言えることだが、開発者が作り出した製品が、市場にならび、消費者の選択意識や社会問題を考える提起にもつながる。消費者の新価値観における商品開発も試される。(I)

◆…東京五輪2020が本当にやってきた。賛否両論ある中、選手たちの堂々たる戦う姿や笑顔に、やはり勇気もらい励まされる。そして、世界は本当に広い。各国の顔や衣装をこんなにもまじまじと見られ場面はないだろう。子どもはというと、選手たちの投げる姿や泳ぐ姿を真似し、自分にもできそうという気持ちを、可能性が無限にある今だからこそ持つようである。後半戦も全力で応援したい。(S)

♣…前号の編集後記で「いつになったら私がコロナワ

クチンを打てるのだろうか」と書いたが、その後状況が変わり、すでに2回のワクチン接種が完了した。予約していた知り合いのクリニック(練馬区はかかりつけ医での個別接種が可能)には、「もしキャンセルとかで空きができたらいつでも行けるから連絡してください」と頼んでいたら、その数日後に連絡が来て翌日打つことになった。さあ、接種も終わったし、いつでも行けると思ったが、肝心のインドネシアが……。(Y)

♠…コロナ禍により毎年楽しみに参加してきた9月の秋田のウルトラマラソンも2年連続の中止である。それなのにオリンピック・パラリンピックは開催。どうも腑に落ちない。実際になって無観客での開催が決まったが、運営側も参加する選手も様々な対応にドタバタだっただろうと想像する。非常事態宣言下だから何でもありということだろう。観戦は基本動画配信のみ。開催が引き金になったように新型コロナの爆発的な感染拡大。記憶に残る大会になるのは間違いない。(U)

次号(9月号)のお知らせ

特集 皮膚における血管研究 p.48 参照
日々粧進 黒白秀之(黒白洋蘭園代表取締役社長)
連載 中国市場に挑む!(楊建中)

新刊のご案内

aromatopia No.166 (アロマセラピーと自然療法の専門誌)

特集 メンタルヘルスにアプローチする植物療法

生活スタイルが急速に変化している今日、ストレスなどでうつ傾向の症状を患うケースが増えているといわれています。心身が疲弊してしまったとき、植物の力を借りてストレスマネジメントを心掛けることで、気持ちや行動にプラスの変化が現れ、精神面の健康維持や回復につながる可能性があります。本特集では、メンタルヘルスに対する植物療法の可能性について、新たな知見を含めて探ってみます。

メンタルヘルスの最新の事情と植物療法に期待されること / メンタルヘルスとアロマセラピー 一五行の観点による精油選び / 精神医学とメンタルヘルスにおける植物療法の可能性 / メンタルヘルスとジェモセラピー / <コラム> 心の平和を取り戻すフラワーエッセンス ほか



B5判 98頁
定価1,925円
(本体1,750円+税10%)

化粧品科学研究開発専門誌(月刊)

FRAGRANCE JOURNAL
(フレグランス ジャーナル)

定価 3,300 円(本体 3,000 円+税 10%)

年間購読 定価 37,400 円(税 10%) 送料共

2021 年(令和 3 年) 8 月 15 日発行

2021 年 8 月号 (Vol.49, No.8) 通巻 494

発行人……宇野浩一(編集長)

編集部……上野 靖・萩原英彦・春原明佳・井山里織・永井裕子

発行所……©フレグランスジャーナル社

102-0072 東京都千代田区飯田橋 3-11-19 ウメビル 3 F

TEL 03-3264-0125(代) FAX 03-3264-0148

振替口座 00150-6-169545 番

ホームページ: <https://www.fragrance-j.co.jp>

印刷・製本: 日本印刷



FRAGRANCE JOURNAL LTD. Ume Bldg., 3-11-19 Iidabashi, Chiyoda-ku, Tokyo 102-0072, Japan

禁転載: 本誌掲載記事・論文などの複写・複製・転訳を小社の許諾なく行うことを禁じます。
落丁、乱丁などの場合はお取り替えます。