

エイチ・ホルスタイン株式会社

Full Protection原料

- | | |
|--------------------------|--------------------------------------|
| • Depolluphane EpiPlus : | Full Protection |
| • InfraGuard/KeraGuard : | 近赤外、ブルーライトダメージ抑制、
アンチポリューション、毛髪保護 |
| • MossCellTec No.1 : | 寒暖差、保湿、細胞核 |
| • Alpine Rose Active : | 細胞へのウィルス吸着防止。老化細胞除去 |
| • CM-Glucan Forte : | 免疫バランスの調整 |
| • NEOCLAIR PRO : | 抗酸化、ビタミンD、カテキン、
メラニン抑制、アンチポリューション |
| • RoyalEpigen P5 : | エピジェネティクス |
| • Black BeeOme : | 失われた微生物叢の回復。Microbiome |
| • PAUSEILE : | 肌バリア、セラミド産生 |

Urban Lifestyle

How environmental factors affect our skin

It goes under your skin



POLLUTION

サイズが小さい (毛穴の20分の1ほど小さい)ため、PMは容易に皮膚内に入り込む

PMはシワや変色、乾燥、アクネ、乾癬、早期の老化を引き起こす

BLUE LIGHT

電子画面やLEDの青い波長はサーカディアンリズムを制御するホルモンであるメラトニンを阻害する。ブルーライトは皮膚内で活性酸素種（ROS）を産生することで酸化ダメージを与えて肌老化を招く

STRESS

慢性のメンタルストレスはグルココルチコイドを増加させる。これらのホルモンは肌細胞の分化を阻害し、肌バリア機能を破壊する。この結果、感染や治癒障害を招く。

肌における Particulate Matter (PM) の影響

Particulate pollutants can be up to **20 times smaller** than skin pores.



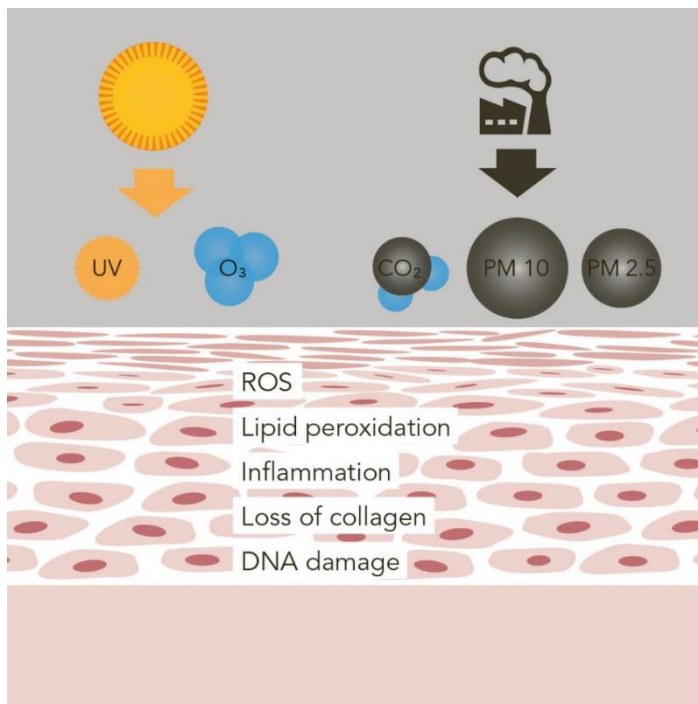
Human skin pore with particulate matter



- Premature aging
- Fine line and wrinkles
- Discolorations
- Dryness
- Acne
- Psoriasis

- サイズが小さいため, PMは皮膚の毛穴に容易に浸透しうる
- 皮膚表面上に膜を形成することによって PMは落屑や細胞新生を阻害し, 荒れた肌や毛穴閉塞を招く

肌における汚染物質の影響



• UV, オゾン, CO₂, 重金属は皮膚内で酸化反応を引き起こし, フリーラジカルがコラーゲンの減少とDNAダメージを引き起こす

• ROSによる脂質過酸化は肌バリア機能障害や炎症を引き起こす

- Active原料には次のことが必要:
- Particulate matterから肌を保護
 - 肌細胞を解毒
 - 酸化ストレスから保護

Sensitive Skin (敏感肌)



敏感肌には3種類存在:

- I. バリア機能の低下と皮膚の過度の剥離
- II. 肌内の炎症性変化
- III. 刺激性をもった環境因子への皮膚の過剰反応

→ Type III が健康的な人に最もよく見られる敏感肌

外的因子が不快な肌を生み出す



- 敏感肌はよく見られる炎症のサインや不快感によって特定される
- 日常的な刺激への過剰な反応
- 敏感肌は締め付けやかゆみ、熱さや痛みを感じ得る
- 主な原因: 感覚的な応答が非常に強い

プロテクション用原料

- 汚染物質、UV、近赤外、ブルーライト、Microbiome、エピジェネティクス、気温や湿度

肌バリア機能向上

- **PAUSEILE**：モーリシャス島由来のバチルス発酵物。角化膜構成成分（フィラグリン、セラチン等）の発現を向上させ、セラミドも産生させることで肌バリア改善と肌水分を向上させて肌を明るくする。
- **MossCellTec No.1**：細胞核の着目。気温や湿度といった環境変化へ肌を適応させる保湿原料。

汚染物質からの保護

- **Depolluphane EpiPlus**：1つで総合的なプロテクトが可能な原料。3種の天然多糖コンプレックスで肌表面を被膜して汚染物質の肌への吸着や侵入を防ぐ。またコショウソウ芽エキスでデトックス。さらにはアーティチョークエキスで汚染物質や外的攻撃による後天的なエピジェネティクス変化を防止。
- **NEOCLAIR PRO**：緑茶中の抗酸化物質に着目した合成ペプチド。アンチポリューション効果だけでなく、抗酸化作用、メラニン抑制作用といった複数の作用でクリアな肌をつくる。
- **HerbaShield URB**：COSMOS認証原料。デトックスと抗酸化機能をもつクレソン、スギナ、セイヨウイラクサのエキスの混合物。水添レシチンで肌バリア機能を高めて総合的なアンチポリューション原料として利用可能。

デトックス

- **Detoxophan/SulforaWhite**：スルフォラファン含有コショウソウ芽エキス。NRF2活性化によるデトックス効果と美白効果。
- **Perfection Peptide P7**：NRF2活性化と細胞保護効果。UVによるランゲルハンス細胞のダメージも緩和する。

プロテクション用原料

- 汚染物質、UV、近赤外、ブルーライト、Microbiome、エピジェネティクス、気温や湿度

UV・ブルーライト・近赤外からの保護

- **InfraGuard**：ヒマワリ芽エキスとタラのエキスの相互作用によって近赤外やブルーライトによる肌内でのROS産生を抑制しこれらの光による肌ダメージを軽減させる。汚染物質によるタンパク質のカルボニル化も減少させる。
- **PUREOXIN**：植物性チオレドキシシン-1（TRX-1）。抗酸化システムへのアプローチでUVとIRによるダメージを軽減させる。メラニン含量も減らす効果があり、肌を明るく白く保つことが可能。
- **HerbaProtext NOX**：COSMOS認証原料。ザクロ、エゴマ、カカドゥプラムのエキスの混合物。抗光老化作用。UVやIRによるダメージ保護だけでなく、日焼けによるDNAダメージにも着目し、アフターサンケアにも応用可能。
- **Carotolino**：油溶性のニンジンエキス。ブルーライトによるダメージの保護によって健康で明るい肌へサポート。

プロテクション用原料

-汚染物質、UV、近赤外、ブルーライト、Microbiome、エピジェネティクス、気温や湿度

Microbiome

- ・ **Black BeeOme**：絶滅危惧種の黒ミツバチによるハチミツ発酵エキス。洗顔やストレスで失われた微生物叢を復活させ、肌状態を回復させる。
- ・ **Cranberry Pro**：有益な肌微生物のバイオフィルム形成を促進し、有害な微生物のバイオフィルムに関しては特異的に抑制するクランベリーのエキス。

ウィルス吸着防止

- ・ **Alpine Rose Active**：ウィルスの細胞への吸着を防止（ヘルペスウィルスでの試験データあり）。老化細胞除去。

敏感肌ケア

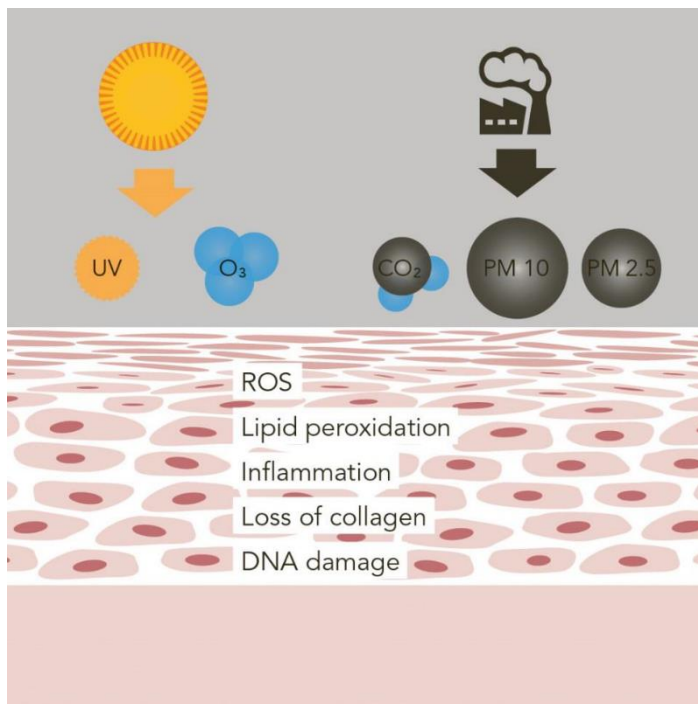
- ・ **Pinolumin**：スイスの松の木のエキス。敏感肌ケアと皮膚の赤みの減少。
- ・ **SensAmone P5**：熱や痛みのセンサーであるTRPV1をブロックするイソギンチャクの毒を模倣したペプチド。
- ・ **CBD Oil**: カンナビジオール (CBD)。痛みの緩和、抗炎症、抗酸化、抗シワ効果、リラックス効果が期待できる。



Depolluphane EpiPlus

Triple action to fight urban pollution

肌における汚染物質の影響



• UV, オゾン, CO₂, 重金属は皮膚内で酸化反応を引き起こし, フリーラジカルがコラーゲンの減少とDNAダメージを引き起こす

• ROSによる脂質過酸化は肌バリア機能障害や炎症を引き起こす

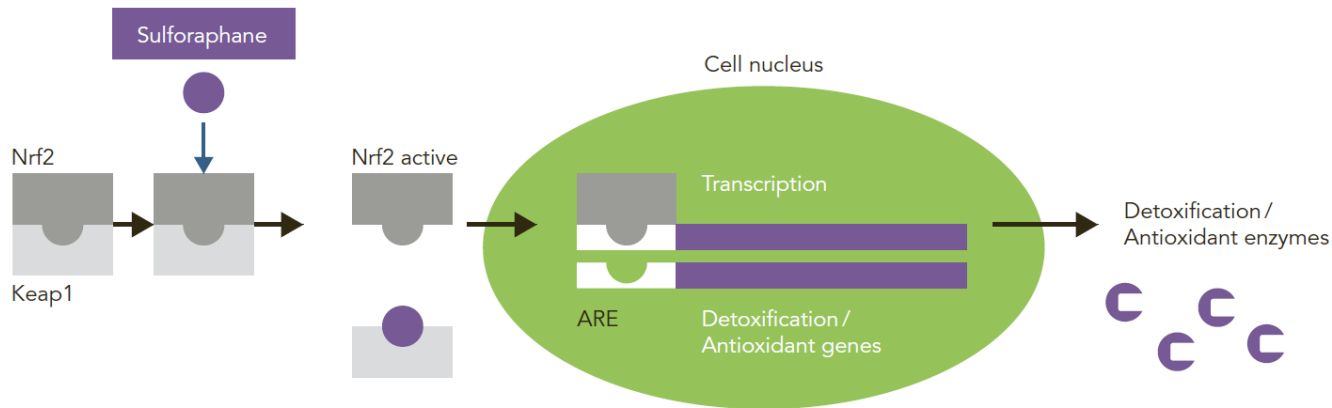
- Active原料には次のことが必要:
- Particulate matterから肌を保護
 - 肌細胞を解毒
 - 酸化ストレスから保護

Organic Cress Sprouts Activates the Detox Mechanism of the Skin



- アブラナ科 (Brassicaceae) 植物は非常にヘルシーであるとされる
- Garden cress はアブラナ科 (Brassicaceae) に属し、肌の解毒システムを活性化しうる強力な分子であるスルフォラファンを含有する

スルフォラファンがNrf2を活性化



Nrf2 : 転写因子, ARE (抗酸化剤応答配列) 依存的遺伝子発現の重要な調節因子

Keap1 : リプレッサー (抑制体)

ARE : 抗酸化剤応答配列, 抗酸化システムやフェーズII 解毒酵素をコーディングする遺伝子の制御プロモーター

→ 通常のコンディションの下では **Nrf2** はリプレッサーである **Keap1** によってブロックされている

→ **スルフォラファン** は **Nrf2/ Keap1** 複合体 を破壊することがわかっている

アーチチョークエキ스가エピゲノムを保護



- Depolluphane EpiPlus はさらにアーチチョークの葉由来のエキスも含んでいる
- アーチチョーク葉エキスは汚染物質による長期間の影響から肌細胞を保護することが分かっている

→ 様々な種類の汚染物質によって生じるエピジェネティック変化を防ぐ

→ Depolluphane EpiPlus の細胞保護効果を完全に仕上げる

肌を保するためのSmart Polysaccharide Complex



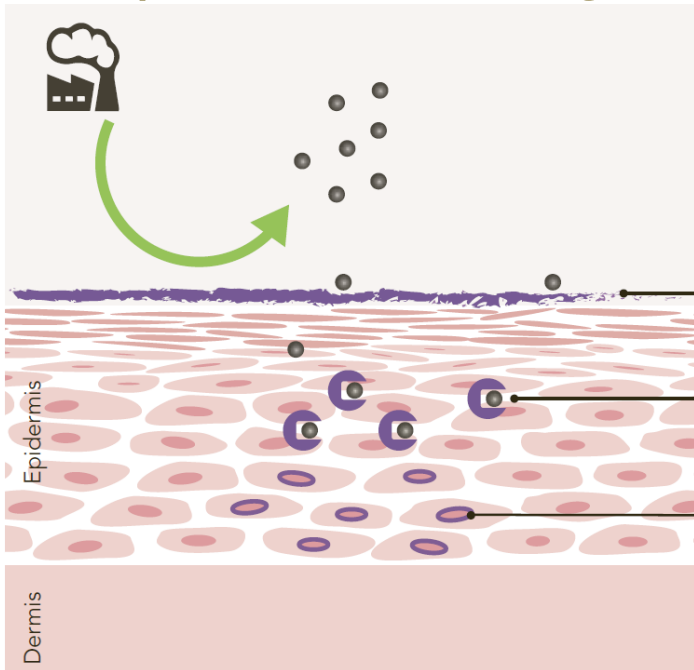
- オーガニックコショウソウ芽とアーチチョークのエキ스는複数の多糖混合物をベースとしたキャリア上にスプレーされた:

→ フィルム形成効果 → 望まない汚染物質への暴露から肌を保護

→ 生化学的活性が肌の免疫機能を高めて肌バリアの強化を補助する

Depolluphane EpiPlus

Triple Action to Fight Urban Pollution



1. 多糖コンプレックス
フィルム形成/肌バリア向上
2. コショウソウ芽エキス
解毒/抗酸化酵素活性化
3. アーティチョークエキス
エピジェネティック変化からの
DNAの保護

Depolluphane EpiPlus

全成分表示名称

マルトデキストリン	75%	
プルラン	15%	
カエサルピニアスピノサガム	5%	
水		3.2%
アーチチョーク葉エキス		1.0%
カルボキシメチル-β-グルカンNa	0.5%	
コショウソウ芽エキス	0.3%	

INCI (EU-PCPC)

Lepidium Sativum Sprout Extract (and) Cynara Scolymus (Artichoke) Leaf Extract (and) Pullulan (and) Sodium Carboxymethyl Betaglucan (and) Caesalpinia Spinosa Gum (and) Maltodextrin (and) Aqua/Water

推奨配合量： 1 – 2 %

酵素発現のモジュレーション

方法

- ヒトケラチノサイトは標準増殖培地中を80%満たすまで増殖させる
- 異なる濃度のコショウソウ芽エキスを添加して24時間細胞をインキュベート
- 細胞を採取してtotal RNAを抽出
- 解毒酵素の遺伝子発現を分析するためにReal time quantitative PCRを利用

酵素発現のモジュレーション

Concentration of cress sprout extract	Enzyme expression relative to control (%)	
	0.05 %	0.2 %
Detox enzymes		
NADPH:quinone reductase 1	75	214
Heme oxygenase 1	212	4182
Thioredoxin reductase 1	184	2316

酸化ストレスからの保護

方法

- 標準増殖培地中をヒトケラチノサイトで80%満たすまで増殖させる
- 0.05% コショウソウ芽エキスで24時間前処理
- 毒素であるtert-ブチルヒドロペルオキシドの濃度を上げて4時間インキュベーション

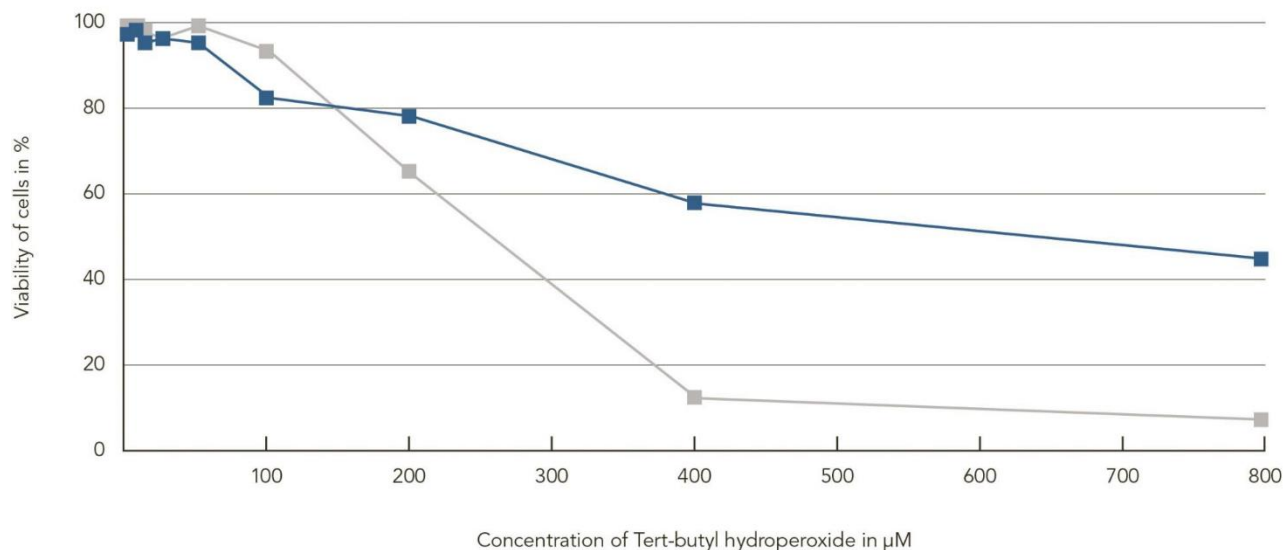
→ MTTアッセイで細胞のバイアビリティーを分析

Tert-Butyl Hydroperoxideからの保護

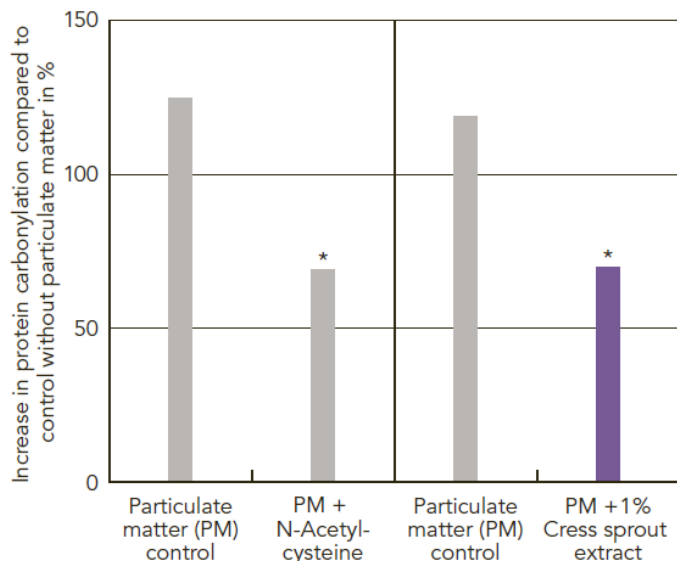


コショウソウ芽エキスの酸化ストレスからの保護効果によって細胞のバイアビリティをよりよく向上させる

■ Control ■ 0.05% Cress sprout extract



Particulate Matterからの保護



*p<0.05 versus particulate matter control

試験デザイン

正常真皮線維芽細胞をコショウソウ芽エキスで前処理（未処理をPMコントロールとする）し、その後 Particulate matter (PM)で処理。N-Acetyl-cysteineをポジティブコントロールとして使用

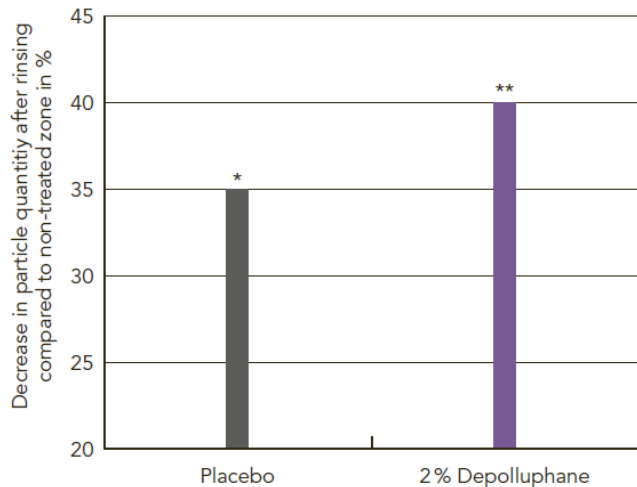
パラメーター

汚染による酸化ダメージのマーカーとしてのタンパクのカルボニル化



コショウソウ芽エキスで処理した細胞内ではカルボニル化タンパクが著しく低下

環境汚染物質からの保護



*p<0.0001 versus non-treated zone

**p<0.0001 versus non-treated zone and placebo

試料

クリーム + 2% コショウソウ芽エキス +
多糖複合体, プラセボ

被験者

21名 (女性, 20 – 44 歳)

使用

前腕への単回塗布, その20分後に環境汚
染物質 (平均 1 μm)を模倣したマイクロ粒
子の塗布。その後洗い流す。

パラメーター

写真 (video microscope) と粒子の定量



Depolluphane EpiPlusは環境汚染物質から肌を守り、肌洗浄時にそれらを除去する補助となる

環境汚染物質からの保護

2% Depolluphane

プラセボ



洗浄前

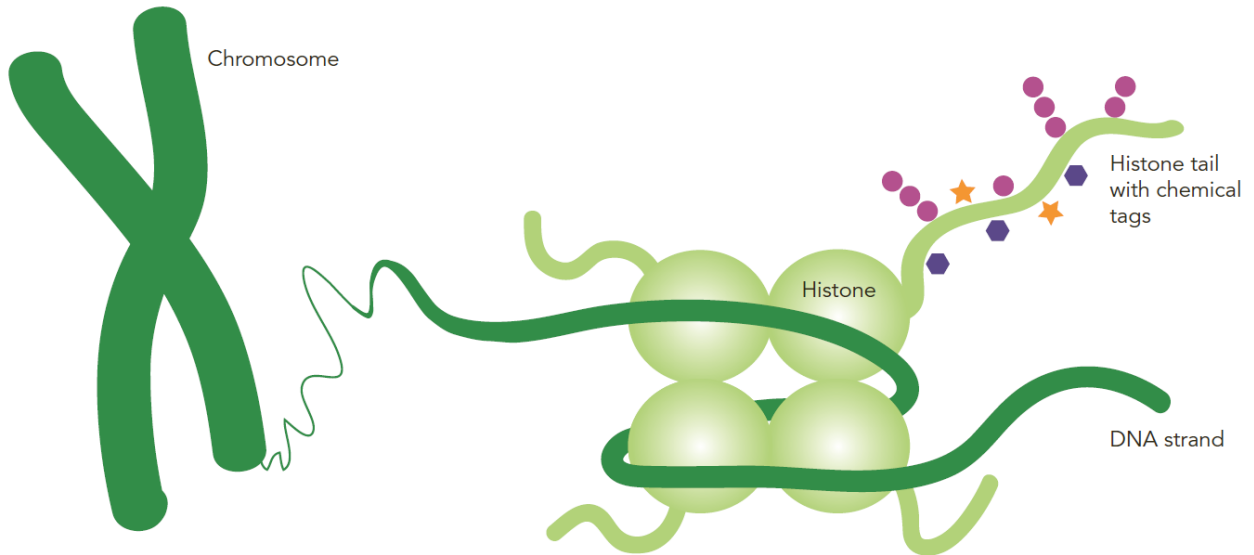


洗浄後



2面アプローチ:
Depolluphaneは大気
粒子の吸着から肌を
保護し、同様に酸化ス
トレスからも肌を保
護する

Epigenetic Histone Modifications



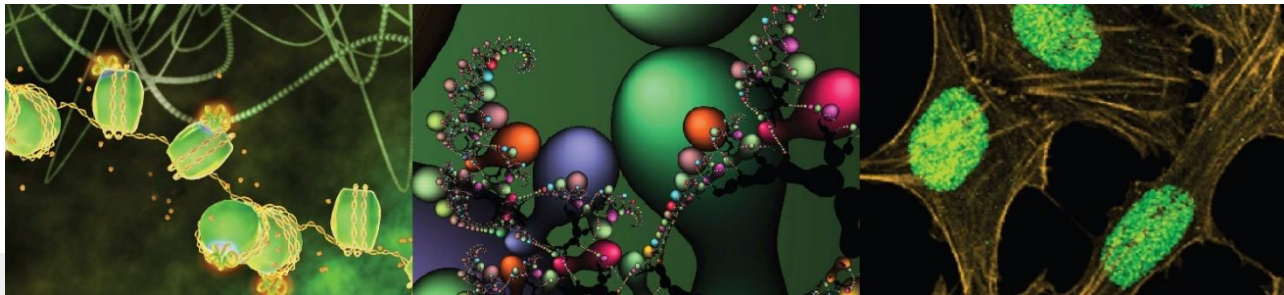
● Methylation ★ Phosphorylation ◆ Acetylation

Epigenetic Histone

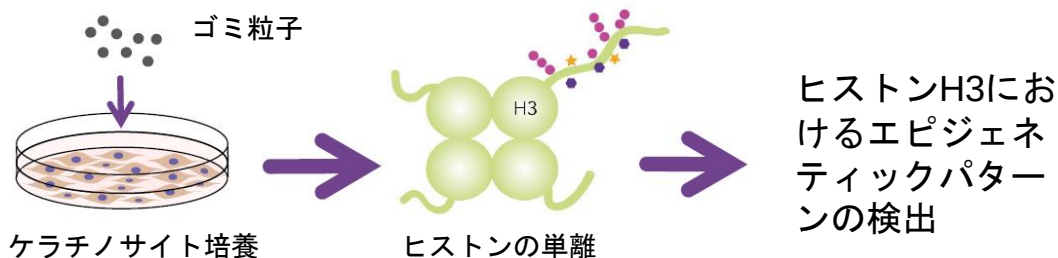
Modifications

エピジェネティクスとは、DNAの塩基配列によらない遺伝子発現制御に関わる機構で、遺伝子の発現やDNAの複製、組換えなど様々な生命現象に関与している。エピジェネティクスには、DNAのメチル化（メチレーション）、ヒストン修飾、クロマチン再構成、ノンコーディングRNAによる制御が関わっている。エピジェネティックな制御に変異が起こると、がんや神経変性疾患、発生学的異常を引き起こす可能性が示唆されている。

ヒストンは、DNA鎖が巻きつくコイルのような形状をした、染色体の主要なタンパク質成分。ヌクレオソームには4種類のコアヒストン（H2A, H2B, H3, H4）が含まれ、クロマチンの主要な構成要素になっている。コアヒストンのN末端は、細胞のシグナル刺激に応答してアセチル化/脱アセチル化、リン酸化、メチル化など様々な転写後修飾を受け、遺伝子発現に直接影響を与える。



肌細胞のエピゲノムにおける大気汚染の影響を試験するための新規アッセイ



細胞： 正常ヒト表皮ケラチノサイト (NHEK)

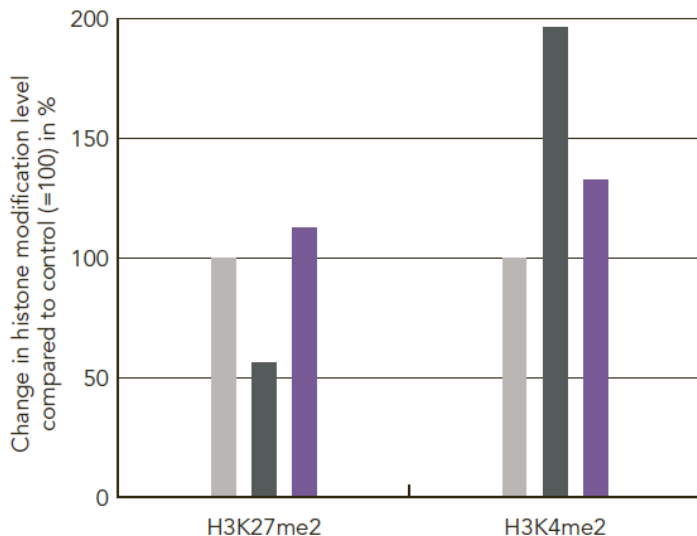
試料： 0.03 % アーチチョークエキス

試験デザイン： 細胞 +/- (コントロール) 都市のゴミ (urban dust) ; 0.03 % アーチチョークエキス存在下または非存在下で5週間 → 細胞からヒストンを単離

パラメーター： Histone H3 修飾 (Histone H3 Modification Multiplex Assay Kit EpiQuik™)

汚染物質によって生じるエピジェネティック変化を防ぐ

■ Control ■ Urban dust ■ Urban dust + 0.03 % artichoke extract



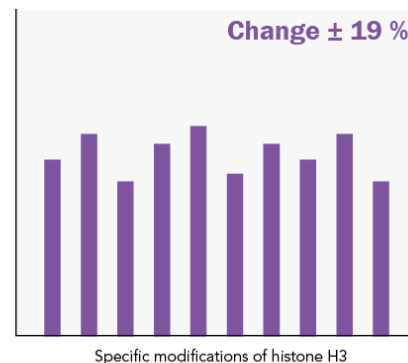
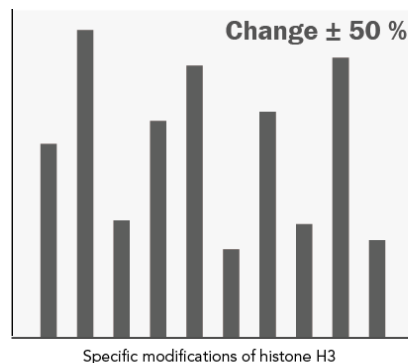
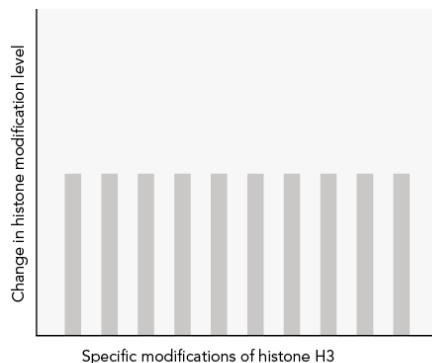
長期間都市のゴミを与えられた細胞はヒストン修飾パターンにおいてははっきりとわかる変化を示した:
 → 大気汚染への長期の暴露は肌細胞のエピゲノムにネガティブな影響を及ぼす
 → アーチチョークエキスを与えることでこのネガティブな影響が緩和された

その他の Histone H3 修飾

Control (=100%)

Urban dust

Urban dust + 0.03% artichoke extract



S-750 / © Mibelle Biochemistry

都市ゴミでの処理後:

$\pm 50\%$ の変化 → アーチチョークエキスによって $\pm 19 \%$ へ正常化（上のグラフ参照）

Benzo[a]pyreneでの処理後:

$\pm 45\%$ の変化 → アーチチョークエキスによって $\pm 11 \%$ へ正常化（データ未掲載）

Depolluphane EpiPlus

訴求点&用途&マーケティング上の利点



訴求点

- エピジェネティック変化から肌を保護
- Particulate matterから肌を保護
- 肌の解毒システムを活性化

用途

- Anti-pollution 製品
- Detox city creams
- 保護的デイクリームやファンデーション

マーケティング上の利点

- 3つの防御: シールドと解毒とエピジェネティック変化からのDNA保護
- 次世代抗酸化剤

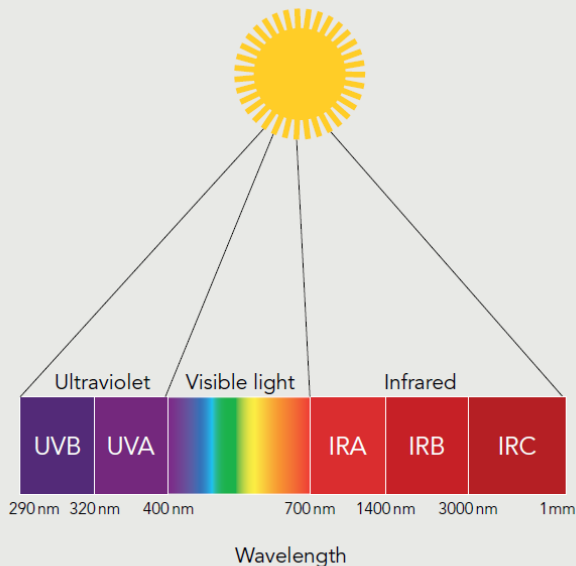


InfraGuard

Powerful protection against infrared and blue light



Infrared（赤外）－サンスクリーン剤でブロックされないフリーラジカルの源



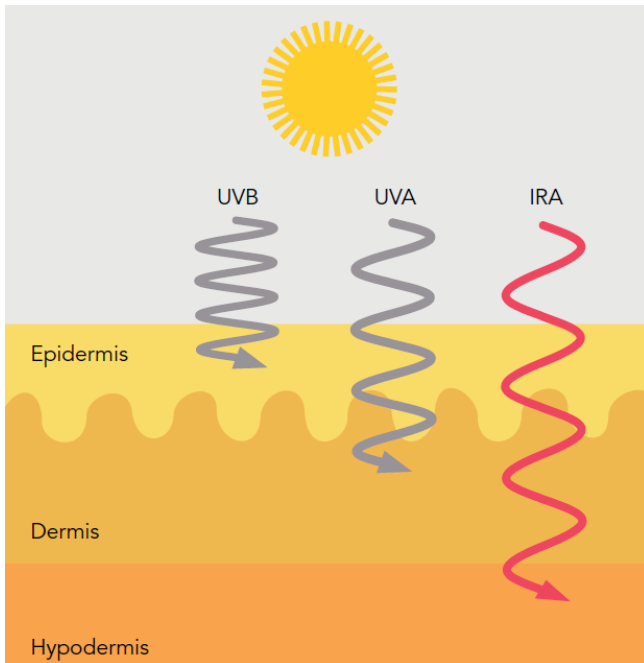
近年の研究では下記のことわかっている。

- IR, 特に近赤外 (near IR ; IRA)は真皮内でフリーラジカル産生を誘発し、肌の抗酸化能を低下させてしまう*
- フィルターもIR反射剤も含まないサンスクリーン製品ではIRにより引き起こされるフリーラジカル形成を防ぐことは出来ない**

*Schroeder et al., Infrared A Radiation Effects on the Skin, 2011

**Dupont et al., Beyond UV radiation: A skin under challenge, 2013

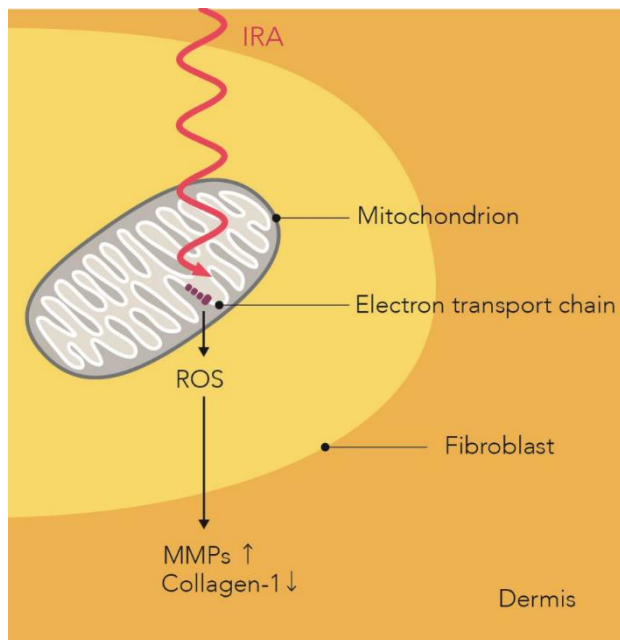
Near Infrared (近赤外 ; IRA) は肌深くに透過する



- 肌に届く日光照射: UV 7%, 可視光 39%, IR 54%**
- IR はヒトの目では見えないが熱として感じる事が可能
- IRA は肌深くまで浸透 (2/3は真皮に届く)

*Schroeder et al., Infrared A Radiation Effects on the Skin, 2011 **Dupont et al., Beyond UV radiation: A skin under challenge, 2013

肌細胞における IRA の影響



IRA はミトコンドリア中の **electron transport chain** (電子伝達鎖; ETC) によって吸収され, これらのオルガネラ内で主に活性酸素種 (Reactive Oxygen Species; ROS) の形成を招く (UVとは異なり, 細胞膜内でROSを産生する)

→ MMP-1 発現の上昇 → Collagen-1 の破壊

→ Collagen-1 の下方制御

→ 光老化: 肌のハリ, 弾力や密度の減少

ETC がダメージを受けて細胞がエネルギー (ATP) を産生できなくなる

ヒマワリ

－ エネルギー, 完全性, 長寿の象徴



- ヒマワリは太陽の方を向き, パワーや温かさや豊富な栄養, 太陽に起因する象徴である
- 中国ではヒマワリは長寿の象徴である
- インカ人はヒマワリの魔法は幾何学的な完全性に由来し、王家のエンブレムにも使用した

ヒマワリ

ー エネルギー, 完全性, 長寿の象徴



- 芽は植物の成長に必要な全ての栄養分を含んでいる
 - 芽は木質化されない
- 非常に栄養価が高く脆弱で動物にとって魅力的
- 芽は高濃度の保護成分 (病気, ダメージ, 病原菌, 過度なUV, 汚染や草食動物に対するもの)をもつ
- 化粧品用植物エキスとして理想的

ヒマワリの芽



Mibelle社のオーガニックヒマワリ芽エキ스는次のことが分かっている

- 線維芽細胞における H_2O_2 - による酸化ストレスからコラーゲンを保護 (gene array 分析, データは非公開)
- ミトコンドリアの一般的機能をサポート (主にストレスや老化に対抗するエネルギー産生) → 次のスライド

Tara Tannins, 強力な抗酸化剤



- *Caesalpinia spinosa* (tara) から抽出したタンニンは高い効能と安定性を持ち合わせた抗酸化剤である
- Tara はペルーのアンデス地方に由来する小さなLeguminous（マメ科）の木
- TaraのPod (鞘) は主な構成成分としてGallic acid（没食子酸）をもつ加水分解タンニンが非常に豊富である
- 感染症治療や治癒向上のための伝統医薬として利用されていた
- タンニンは抗菌作用と収斂作用を持ち、効果的な抗酸化剤かつ金属イオンキレート剤である

InfraGuard

組成

INCI（標準の液体タイプ）

Caesalpinia Spinosa Fruit Pod Extract / Caesalpinia Spinosa Fruit Extract 1.5%

Propylene Glycol
30%

Helianthus Annuus (Sunflower) Sprout Extract
0.39%

Sodium Benzoate
0.12%

Phenoxyethanol
1.0%

Water
ad 100%

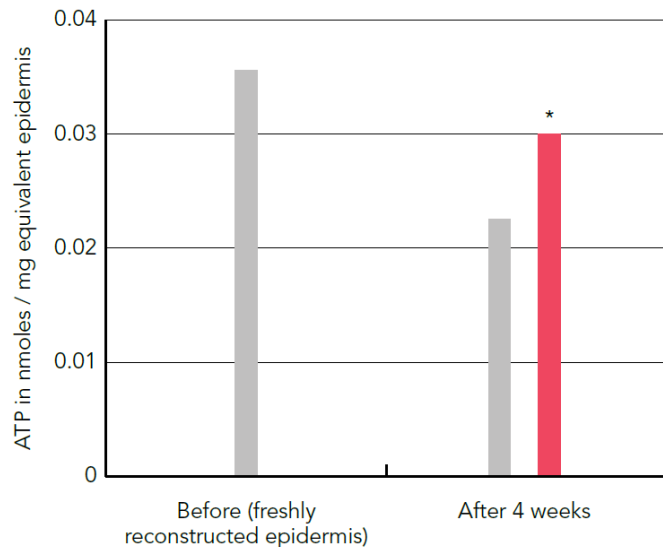
表示名称（標準の液体タイプ）

カエサルピニアスピノサ莢エキス, PG, ヒマワリ芽エキス, 安息香酸Na, フェノキシエタノール, 水

ヒマワリ芽エキスのミトコンドリアにおけるエネルギー供給効果



■ Control ■ Sunflower sprout extract

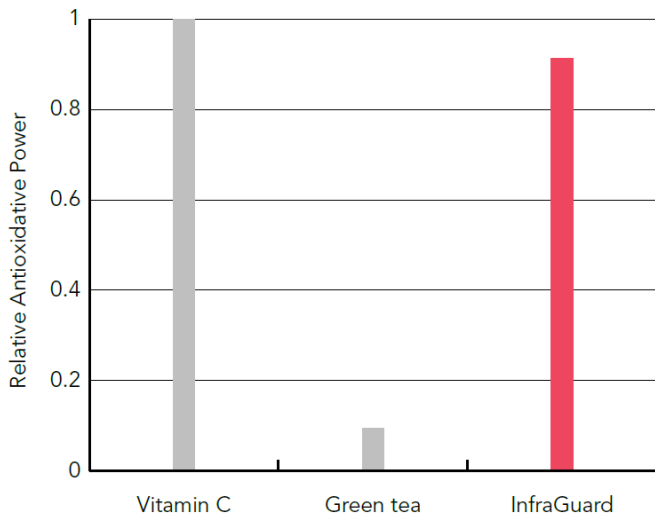


- 初代ヒトケラチノサイトを用いて表皮を再構築
- 表皮サンプルを+/- 2% ヒマワリ芽エキス含有の培地中で4週間培養
- ミトコンドリアによるATP産生測定: Biovision® assay kit (比色定量)



ヒマワリ芽エキスは老化に対抗するためのエネルギー産生能を細胞が維持するのを助ける

InfraGuard 高い抗酸化活性を示す



InfraGuardの抗酸化力

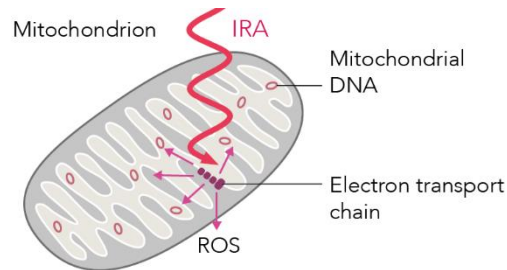
DPPH (diphenyl-picryl-hydrazyl, 安定なラジカル)を減少させる能力を測定するために電子スピン共鳴分光法を利用。InfraGuard (dry matters) をピュアなビタミンC と緑茶と比較した。



InfraGuard はビタミンCとほぼ同等の活性を示し（ただしビタミンCは不安定），緑茶よりも非常に効果的であった。
→ **InfraGuard** は効果的で安定な抗酸化剤

IR 照射後のミトコンドリアの完全性の保護

IR 照射はミトコンドリア内で強い酸化ストレスを引き起こす



→ Electron transport chain (ETC) の機能障害

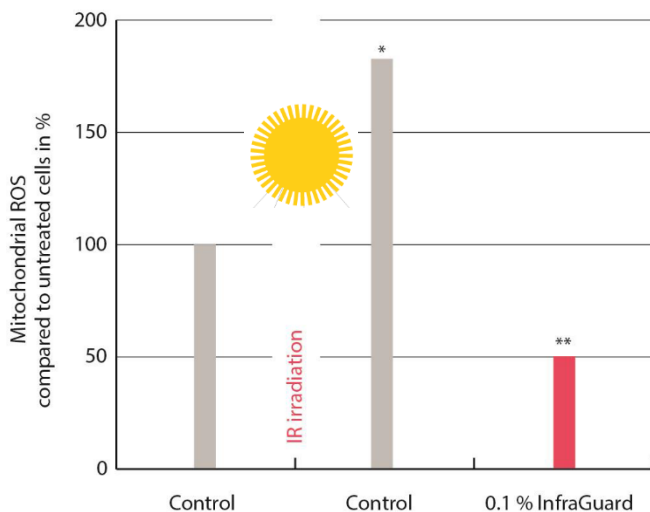
→ 細胞内 ROS が形成

→ 特にvulnerableなミトコンドリアDNAがダメージを受ける (ETCへの近接, ヒストンの欠如, 修復能が限定)

InfraGuardを用いた2つのin vitro試験では次の効果が確認された:

1. ミトコンドリア内のROS形成の阻害
2. ミトコンドリア内のDNA分解の防止

1. IRによるダメージ (ROS) からのミトコンドリアの保護



*p<0.05 versus unirradiated control
**p<0.01 versus irradiated control

試験デザイン

ヒト初代線維芽細胞を +/- 0.1 %
InfraGuard の条件下で1時間 IR照射 (140
W/cm², 33 °C)

パラメーター

蛍光色素を用いた生細胞中のミトコンド
リアROS産生に対するActive原料の抗酸化
能



→ IR照射後のミトコンドリア ROS 産生
の明らかな上昇 (+82.1 %)

→ **InfraGuard** stronglyはミトコンド
リア内でROSを強力に減少させた (IR未
照射の細胞と比較しても -50 %)

2. IRによるミトコンドリア中のDNA含量減少の阻害

試験デザイン

ヒト初代線維芽細胞を +/- 0.1 % InfraGuard 条件下で24時間インキュベートした後、IRを1時間照射 (140 W/cm², 33 °C)

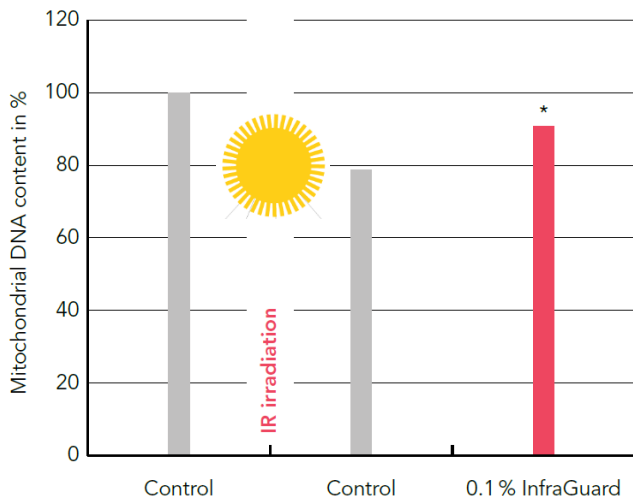
パラメーター

ミトコンドリアDNA含量 → ミトコンドリアDNAを蛍光色素で標識して画像測定 → 定量

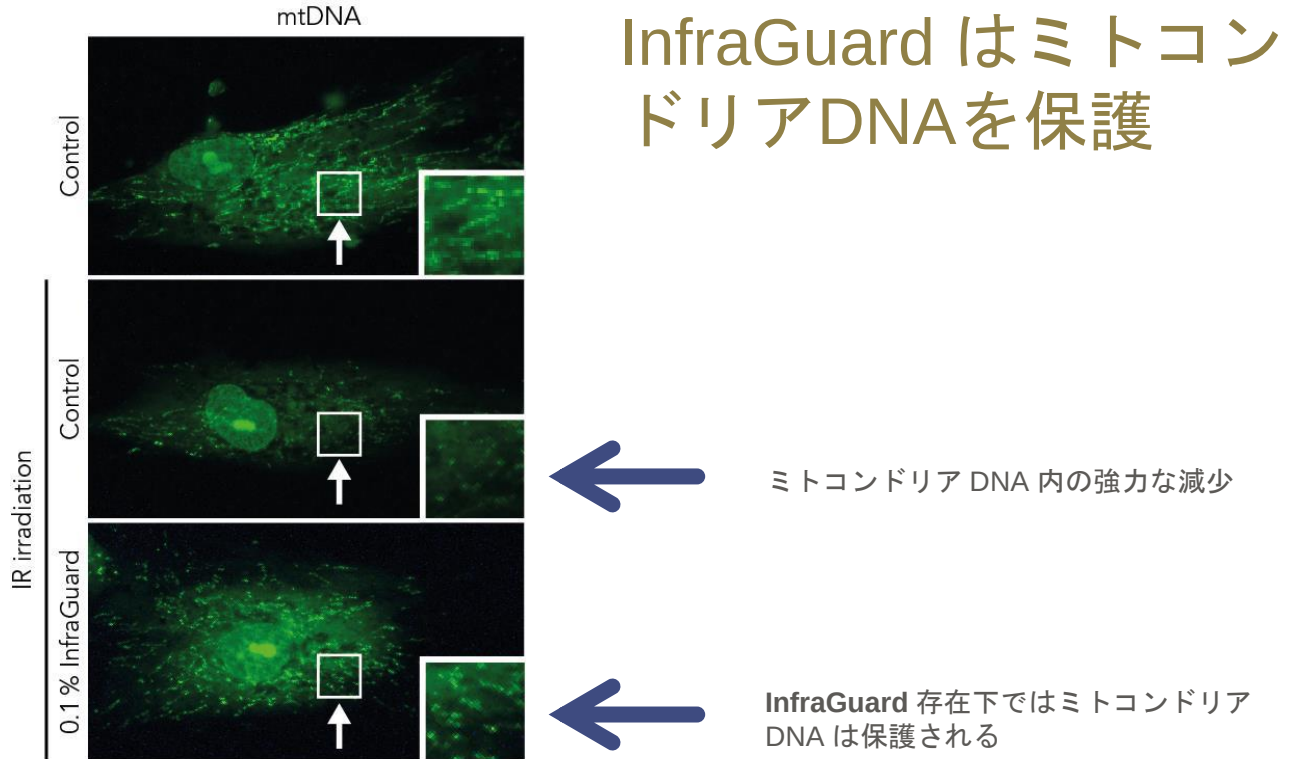


IR照射はミトコンドリアDNA含量の減少を招く (-21 %)

InfraGuard はこれらダメージをほぼ 60% 削減した

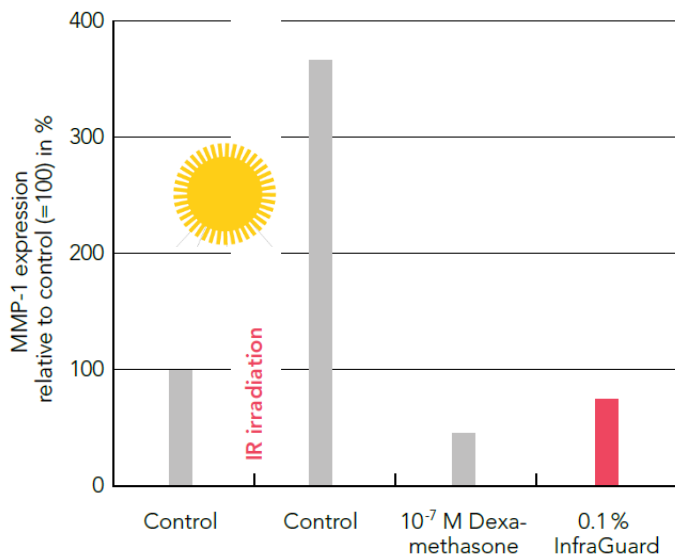


*p<0.0001 versus irradiated control



Small green spots: Mitochondrial DNA labelled using a fluorescent dye.
The oval structure in the middle is the cell nucleus with the chromosomes.

InfraGuard はIR照射後にもMMP-1レベルを抑制



細胞培養:

ヒト真皮線維芽細胞

試験デザイン

IR 照射(654 J/cm³) +/- 0.1%

InfraGuard

パラメーター:

MMP-1 遺伝子発現 (RT-qPCR)



IR 照射はMMP-1 発現を強力に上昇させる

InfraGuard によって線維芽細胞は保護され、未照射の細胞よりも MMP-1 産生が少ない状態となった

In Vivo 試験：IRによる光老化の防止

試料:

サンクリーム (SPF 30) + 2% InfraGuard, プラセボ

被験者: 32名 (白人, 女性26名, 男性6名; 36 – 61歳, 平均50.8歳), 日光に
曝され暖かく天候の良い地域で2-6週間夏休みを取得した方

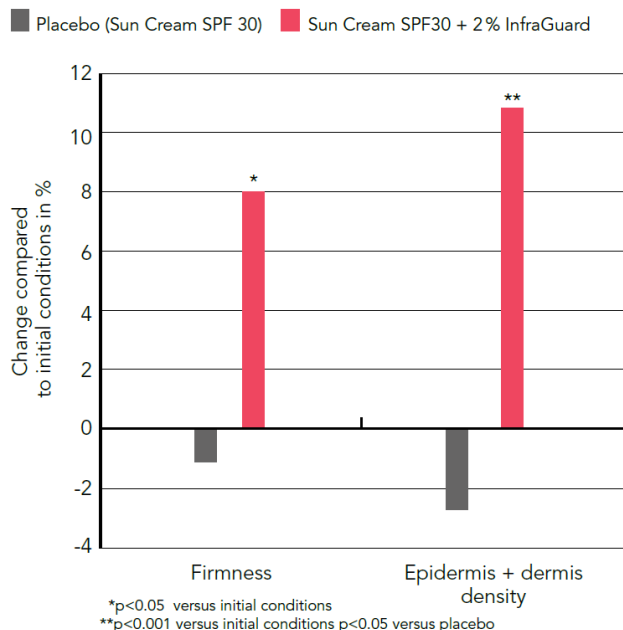
適用: 夏に海辺で休暇期間に少なくとも1日2度使用

地域: 前腕内側

パラメーター:

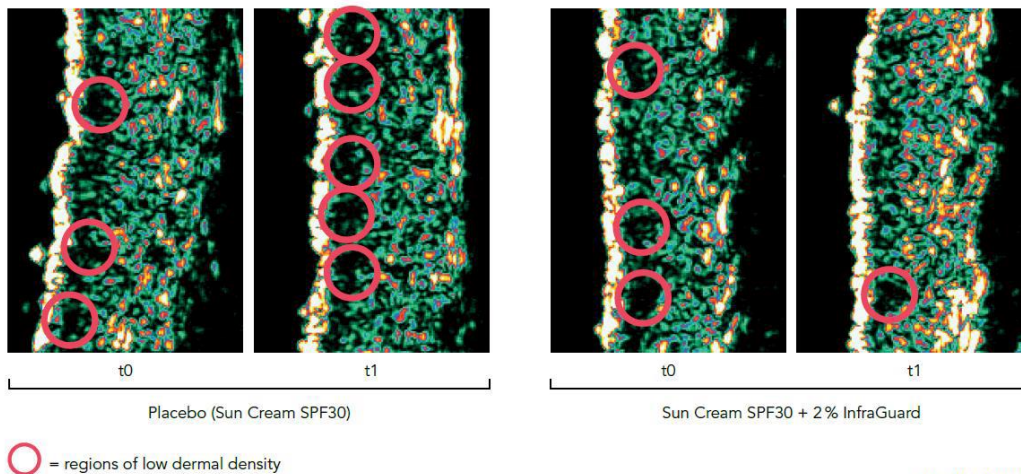
- 肌のハリ (reviscometer)
- 表皮 + 真皮密度 (ultrasonic measurements)

日光照射 (UV + IR) に対しての肌の質の向上



プラセボ (sun cream SPF30) を使用した前腕ではハリの減少が見られた。
SPF30 サンクリーム + 2% **InfraGuard** では肌のハリと密度の著しい上昇が見られた。

表皮 + 真皮 密度の向上

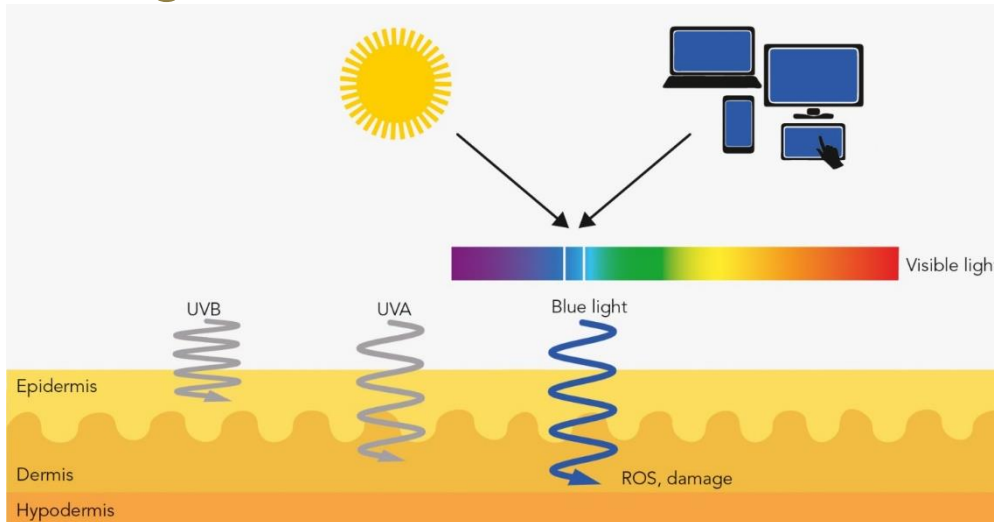


©ATA/© Mibelle Biochemistry

著音波イメージでは日光に曝された後に低密度を表す暗い部分が見られた (左側の写真, プラセボ, t1)。

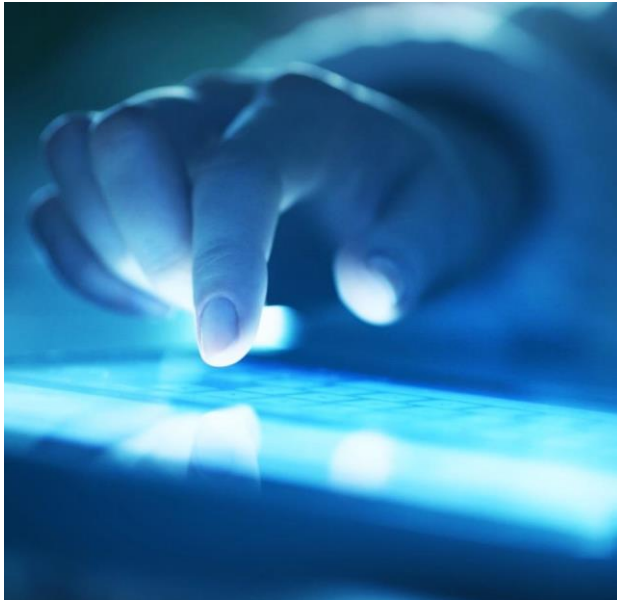
InfraGuard (右側の写真, t1) で処理した側では黒い部分がほとんど見られない。これはプラセボと比較して皮膚組織密度が向上したことを意味している。

Blue Light (ブルーライト) からの保護



- ブルーライトはHigh-energy visible light (高エネルギー可視光線：HEV) と呼ばれる
- HEV = 390 nm - 500 nm の波長
- ブルーライトの光源: the sun digital screens (TV, コンピューター, ノートパソコン, スマートフォンやタブレット) といった電子デバイス, 蛍光LED, lighting。

ブルーライトは睡眠に影響を与える

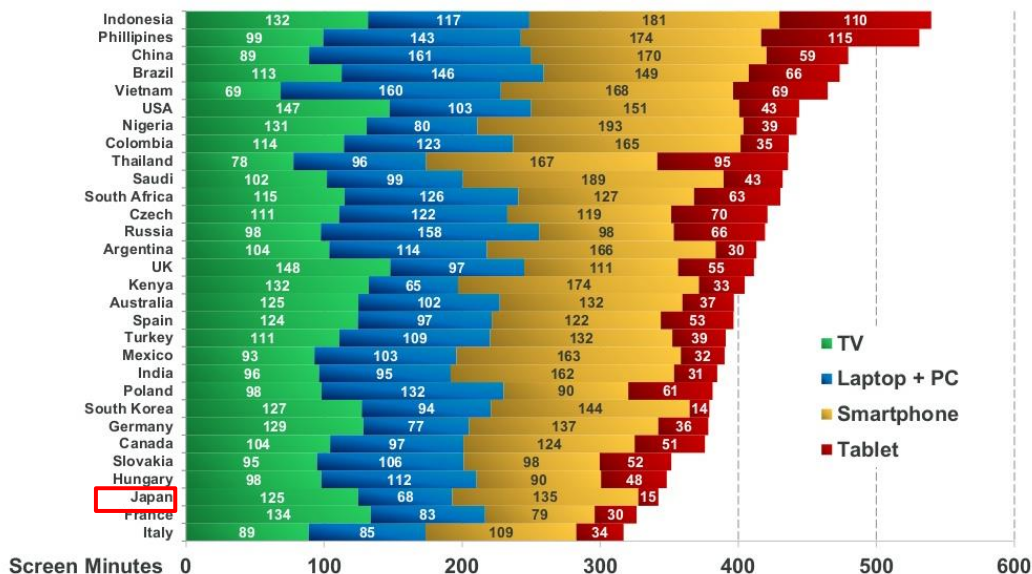


- 1960年代と比較すると人々の平均睡眠時間は2時間短くなった
- 理由の1つはブルーライトを高濃度で発する電子スクリーンやLEDランプに曝されることが増えたこと
- ブルーの波長はサーカディアンリズムを制御するホルモンであるメラトニンの阻害に最も効果的である

→ ブルーライトによってサーカディアンリズムが崩壊

→ 健康問題

Daily Distribution of Screen Minutes Across Countries (2014)



@KPCB

Source: Milward Brown AdReaction, 2014.
Note: Survey asked respondents "Roughly how long did you spend yesterday...watching television (not online) / using the internet on a laptop or PC / on a smartphone or tablet?" Survey respondents were age 16-44 across 30 countries who owned or had access to a TV and a smartphone and/or tablet. The population of the 30 countries surveyed in the study collectively represent ~70% of the world population.

96

ブルーライトからの保護

ブルーライトから目を保護する製品やコンピュータスクリーン用の製品が出てきているが、肌のための化粧品としての解決策も必要

Screen



Functional food



Lenses



Glasses



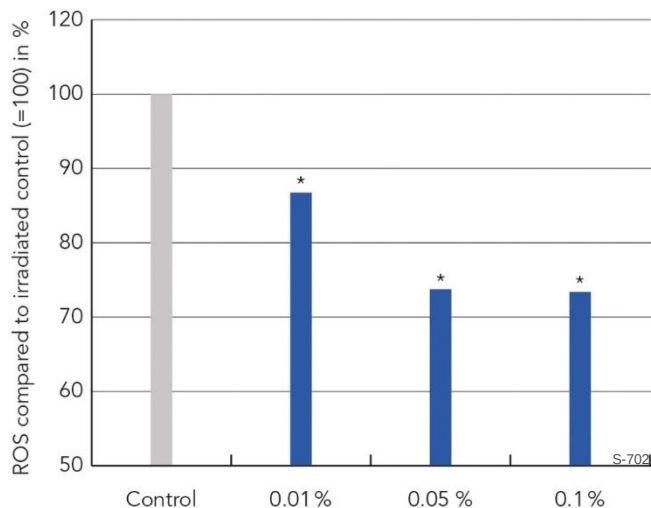
ブルーライトは我々の肌にどのように影響するのか？



- ブルーライトは肌内でReactive oxygen species (活性酸素種 : ROS) を生み出す
- ROS は肌の老化に関する酸化ダメージの要因である
- ブルーライト照射は肌バリアの修復を遅らせることが判明した (Denda & Fuziwara, 2008)

InfraGuard はブルーライトから線維芽細胞を保護

■ InfraGuard



*p<0.0001 versus irradiated control

試験デザイン

正常ヒト真皮線維芽細胞へHEV光を2時間照射 (48.2 J/cm², 420 – 500 nm)

+/- 0.1 % / 0.05 % / 0.01 % InfraGuard

パラメーター

蛍光性センサーを利用して生細胞中の細胞活性酸素種(ROS) 産生に対するActive原料の抗酸化能を測定

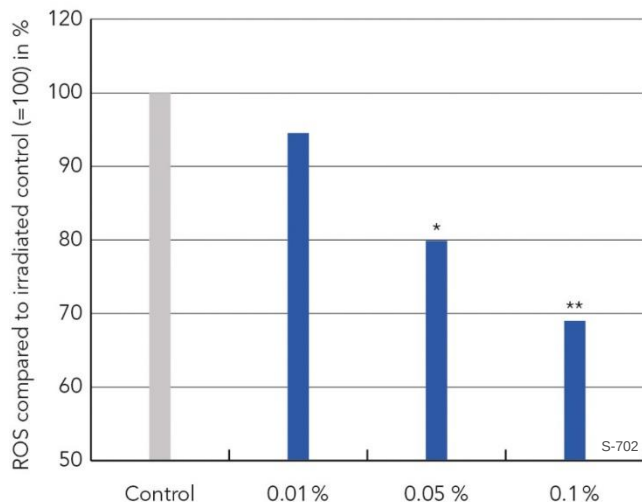


→ HEV光照射 後にROS産生が明らかに増加 (43-fold)

→ **InfraGuard** は照射した細胞内のROS産生を著しく抑制した

InfraGuard はブルーライトからケラチノサイトを保護

■ InfraGuard



*p<0.01 versus irradiated control

**p<0.0001 versus irradiated control

試験デザイン

正常ヒト表皮ケラチノサイトにHEV光を2時間照射 (48.2 J/cm², 420 – 500 nm)

+/- 0.1 % / 0.05 % / 0.01 % InfraGuard

パラメーター

蛍光性センサーを利用して生細胞中の細胞活性酸素種(ROS) 産生に対するActive原料の抗酸化能を測定



→ 照射 後にROS産生が明らかに増加 (62-fold)

→ **InfraGuard** は0.05%と0.1%濃度で照射細胞内のROS産生を著しく抑制した

肌における大気汚染の有害性



- 環境汚染物質は肌の老化に影響を与える
- 大気汚染物質はガスや微粒子 (particulate matter, PM) からなる
- PM は肌に浸透し炎症や肌の老化を引き起こすROSの産生要因となりうる

Anti-Pollution 効果: Particulate Matter (粒状物質) に対する保護

試験デザイン

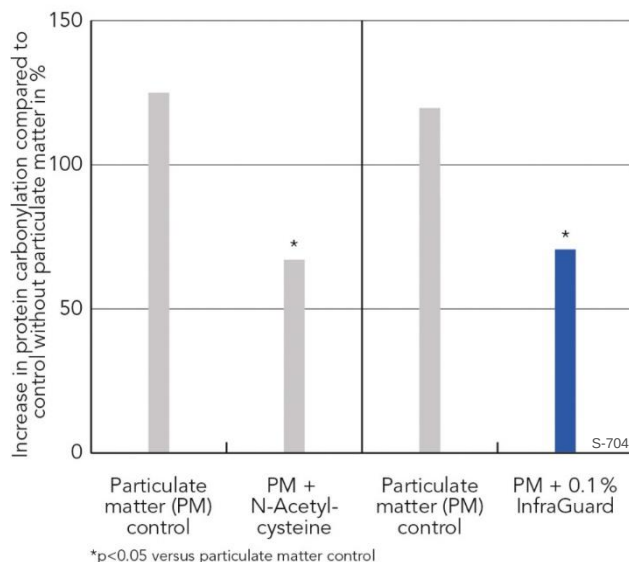
正常ヒト真皮線維芽細胞をInfraGuardと粒状物質 (PM)で処理したものと未処理 (PM control) を用意。N-Acetylcysteine をポジティブコントロールとした。

パラメーター

汚染物質による酸化ダメージのマーカーとしてタンパクのカルボニル化を測定



InfraGuardで処理した細胞ではカルボニル化タンパクが著しく抑制された



InfraGuard の訴求点・応用・マーケティング上の利点



応用

- サンケア
- ブルーライトプロテクト製品
- 先進的抗酸化処方
- エネルギー供給製品

訴求点

- ミトコンドリア DNAの保護
- IRとブルーライトによるフリーラジカル形成のブロック
- 光老化の阻害 – 深い肌の層においても
- 肌密度減少の防止



マーケティング上の利点

- 3 in 1: 近赤外, ブルーライト, ポリューション (汚染物質) 保護
- SPF処方へvalue/unique selling propositionを付加
- 都市汚染やデジタル汚染からの保護
- 臨床試験済み
- Innovation prize winner 2017



MossCellTec™ No. 1

Enhances cell nucleus function for resilient skin

Moss: First Plants on Earth



- およそ4億7千万年前、地球上に陸生植物が誕生した
- Mosses（コケ）が乾燥した陸上で最初に生育した
- コケは気候変化に素早く適応し、有史前から今日まで生き残っている

Moss Evolution



今日まで, Moss (コケ) は最初に休閑地に定着する。

干ばつへの抵抗性をもつために下記の必須特性をもつ:

- 水分バランスのための Aquaporins
- 乾燥耐性/早い再生のための Rehydrins
- DNA修復
- Stachyose等の水結合代謝物
- 不凍タンパク質や抗凍結剤: コケは南極の永久凍土層においても1500年後に再び生えて成長した

持続的かつ再現性ある方法によるピュアなコケの入手: MossCellTec™



下記の理由によりコケを持続的に収集することは困難である:

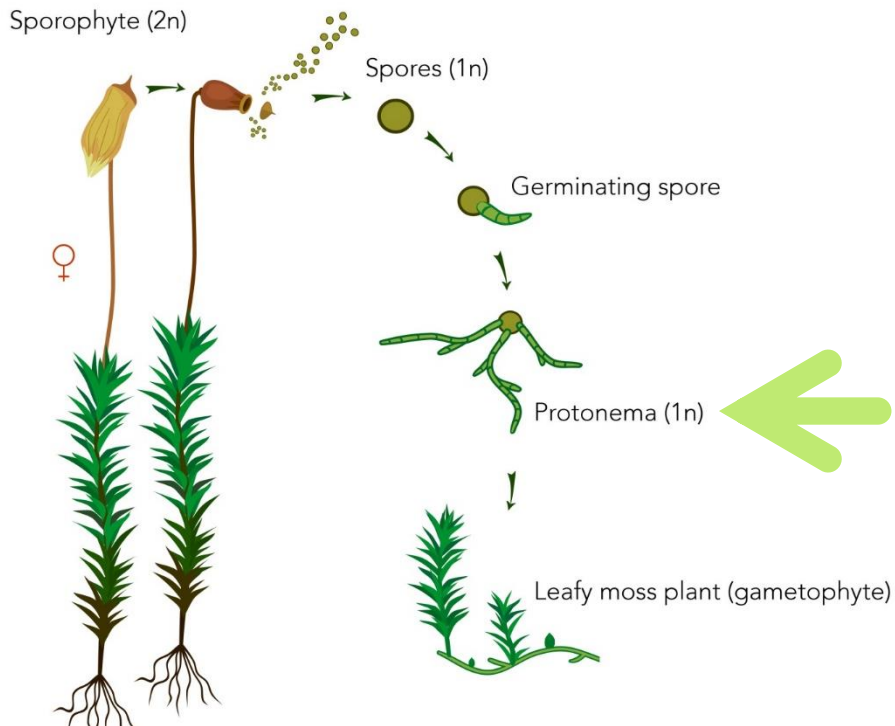
- 成長が遅い
- 多くの種は保護されている
- 種の特が困難 → 混合された種
- 毒素が蓄積されている → 精製が必要

MossCellTec™ は再現性と持続性両方を兼ね備えた方法によってはじめてコケのラージスケールの製造を可能にした画期的な技術である（少量の植物素材が必要となるが水や土壌の浪費が不要）

MossCellTec™: *Physcomitrella patens* (ヒメツリガネゴケ)

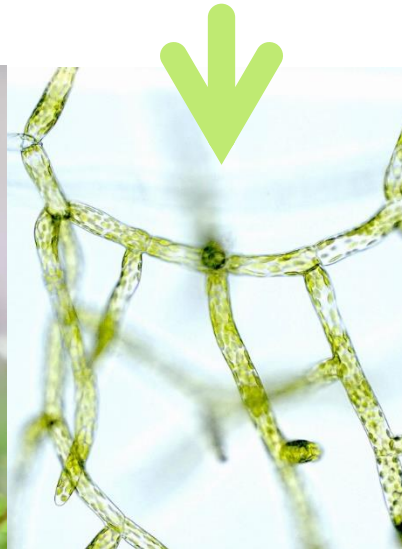


孢子からコケ植物へ

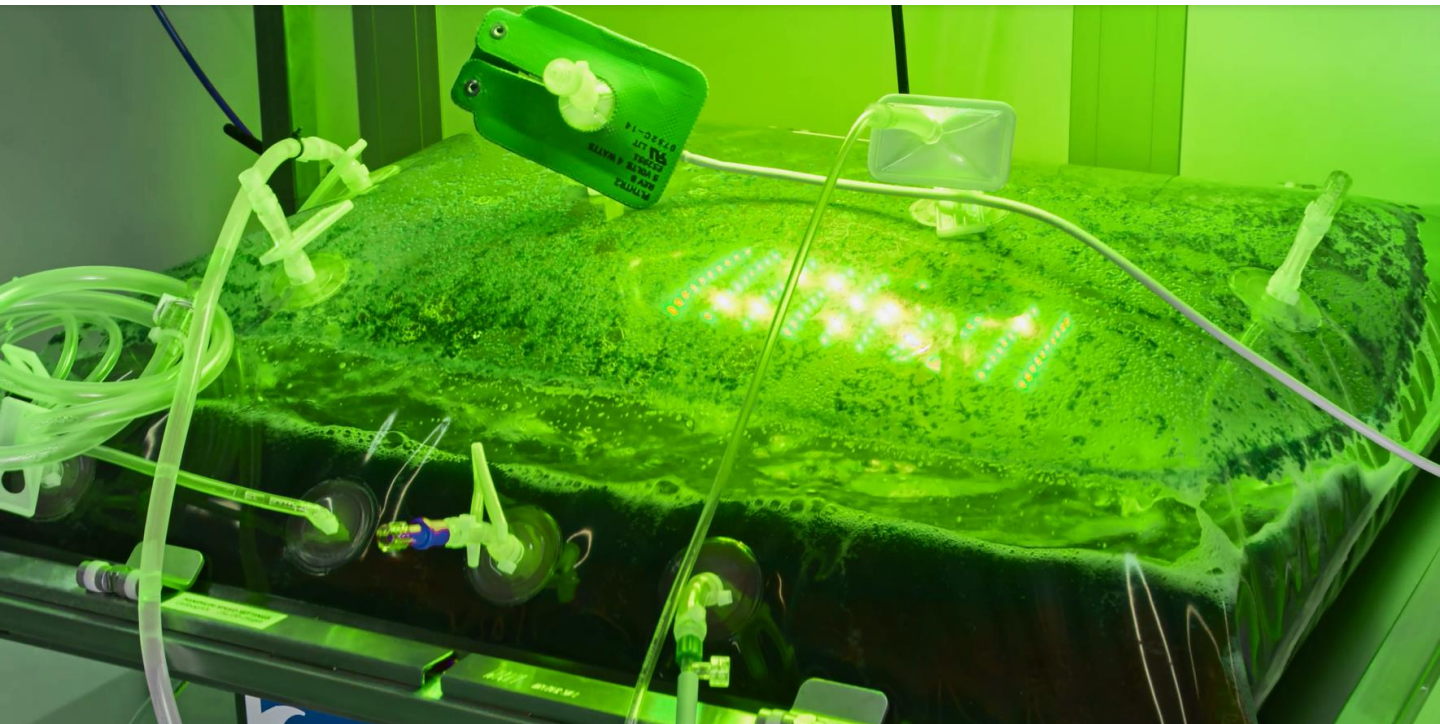


Moss Protonema (コケ原糸体)

- 胞子はコケのように種子を持たない植物が再生する方法
- 胞子の発芽後に糸状の細胞の鎖 (=protonema; 原糸体) がカプセルから生じる
→ 葉状の配偶体に発達



MossCellTec™: コケ原系体の培養



Marketing Benefits of MossCellTec™



- 市場初のコケ細胞培養アクティブ成分
- コケをベースとしたSustainable（持続可能な）化粧品アクティブ原料
- コケは地球上でも最も古い植物に属し、葉から水を取り込む
- コケはアクアポリン、抗凍結分子、蘇生メカニズムをもつため寒さや乾燥といった極限環境に対する抵抗力を持つ

MossCellTec™ No. 1 組成

3.3 % *Physcomitrella patens* 原系体培養液を製造に使用

INCI (EU-Declaration / PCPC-Declaration)

Phytol (and) Isomalt (and) Aqua/Water

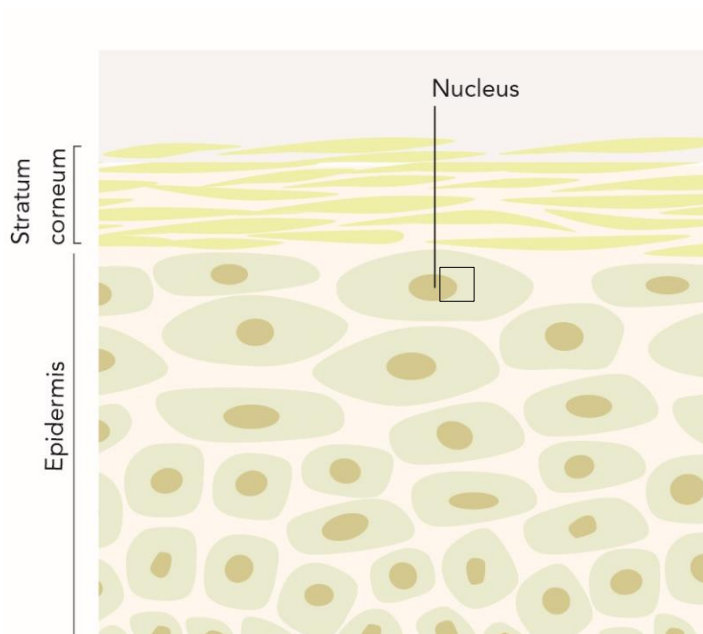
全成分表示名称

フィトール、イソマルト、水

推奨配合量: 2 %

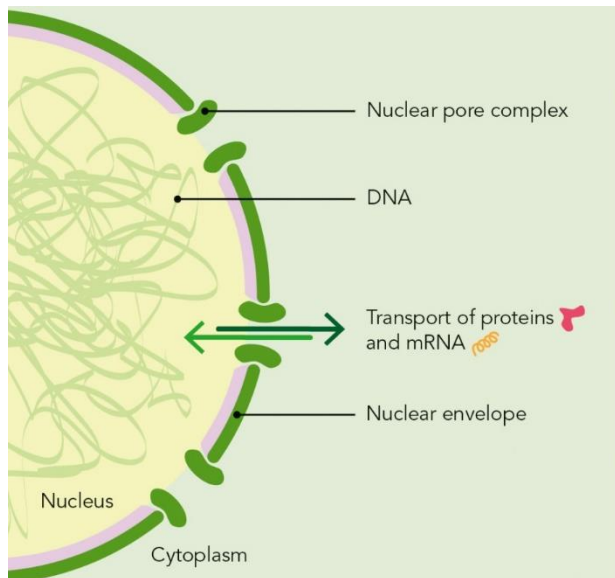


肌細胞の細胞核



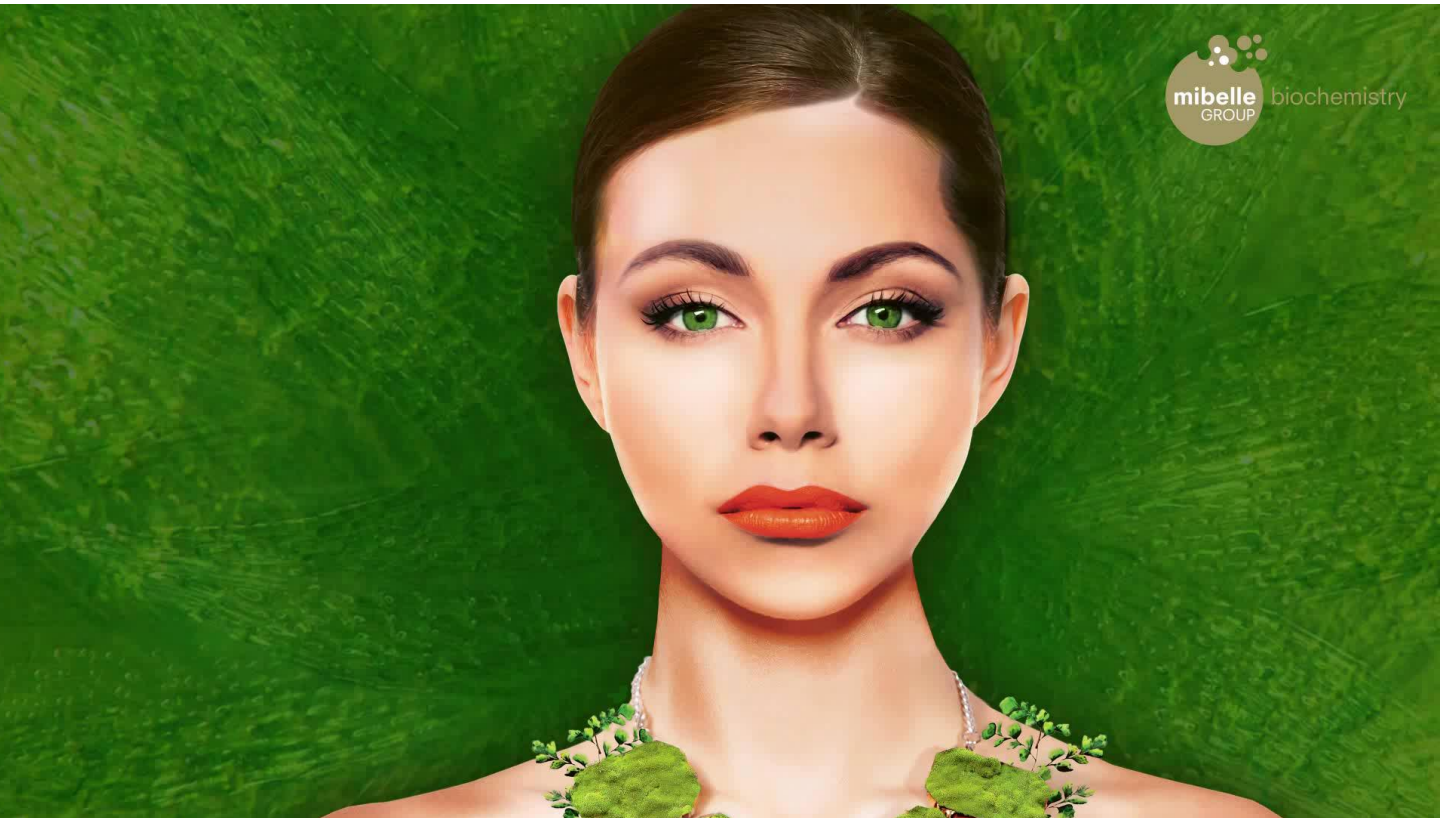
- Organelle（オルガネラ；細胞小器官）は 全ての真核細胞に存在する
- 主な機能はDNAの保管であり、細胞におけるすべての活動のブループリントとして保存する
- 近年、保存機能とは別の核の機能が解明され、細胞の老化過程にも関与している

The Nuclear Pore Complex (NPC ; 核膜孔複合体)を通じての核内外の輸送

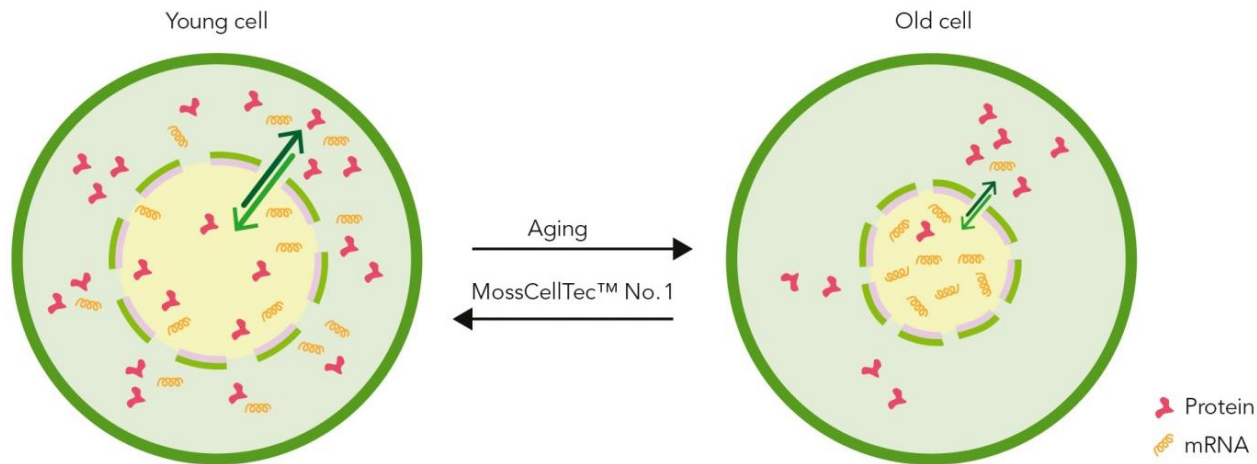


- 核膜孔複合体: 制御された分子交換を担う。(小さな分子の受動拡散、核内外への大きな分子の活発な輸送)
- 1つの細胞につき5,000ほどの核膜孔複合体が存在
- それぞれ 1,000 分子/秒の輸送が可能

→ 毎秒核内外に5百万分子ほどが輸送されている



老化した細胞では各内外への輸送能が衰える



順調な細胞内外への輸送
 耐久性がありうまく構造化されて包まれている
 →新たな代謝を素早く生み出す
 →環境変化に素早く適応する

包み込みの安定性が損なわれる
 細胞核内外へのタンパクとmRNAの輸送が減少
 →老化が進む
 →環境変化に順応しにくくなる

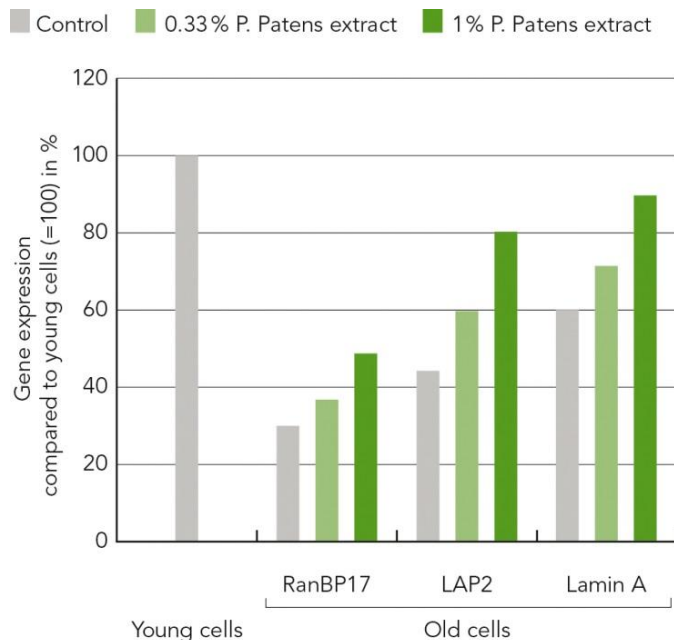


細胞核の健康マーカーの保護

試験デザイン

- 細胞: 若い被験者（女性、20歳）と大人の被験者（女性、55歳）からの正常ヒト表皮ケラチノサイト
- 試料: 0.33% と 1% *Physcomitrella patens* extract
- 処置: 試料を24時間インキュベート
- パラメーター: 核構造に関与する遺伝子と核孔を通じての輸送に関与する遺伝子の発現

細胞核健康マーカーの保護



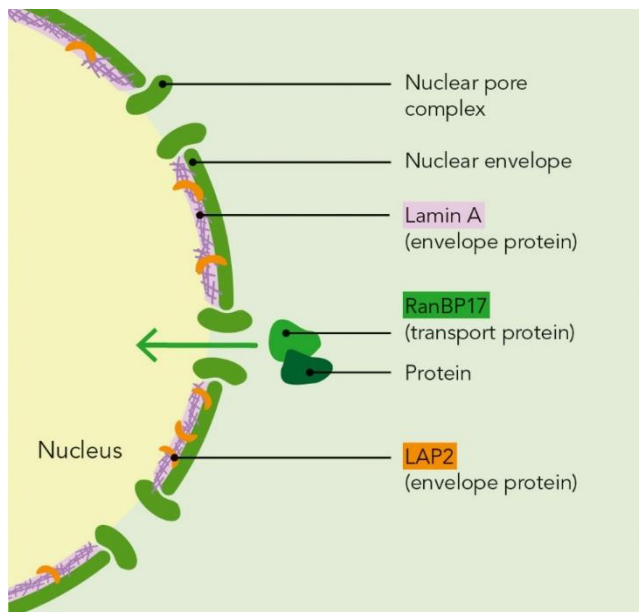
1. RanBP17, LAP2 や Lamin Aといった3つの遺伝子は老化したケラチノサイトでは若いケラチノサイトと比較して24時間後の発現が減少した

2. 上記3つの遺伝子全ての発現が *Physcomitrella patens* extractの処理によって濃度依存的に向上した



細胞核遺伝子の活性化効果。老化にかかわらず細胞核の構造と活性を保護・活性化

The Nuclear Pore Complex（核膜孔複合体）の輸送能力



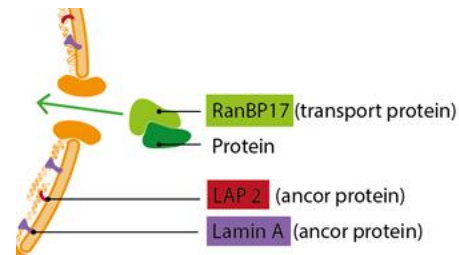
ケラチノサイトの細胞培養実験において核輸送に重要な遺伝子がMossCellTec™ No. 1で刺激されることがわかった:

Lamin A – nuclear envelope protein
RanBP17 – nuclear transport protein
LAP2 – nuclear envelope protein

- 細胞内外への素早い輸送
- 新たなタンパク質の素早い産生
- 環境変化への素早い順応

核と老化

RanBP17



RanBP17 (=RAN binding protein 17)

- 核孔関連輸送受容体はタンパクの核内への取り込みを担っている
- 老化したヒト細胞では発現が下方制御されることが分かっている (neurons, iN, fibroblasts)
- 老化した脳細胞や線維芽細胞では減少する (Mertens et al., 2015)
- 核の細胞質中の区画が減少する

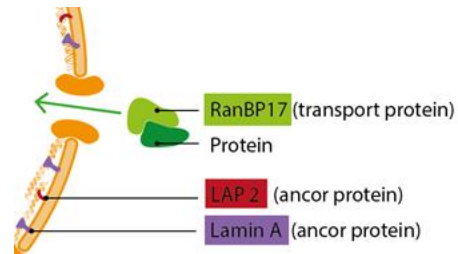
→ 老化、老化に関連した脳障害

Cell Stem Cell, 2015 Dec 3;17(6):705-18. doi: 10.1016/j.stem.2015.09.001. Epub 2015 Oct 8.

Directly Reprogrammed Human Neurons Retain Aging-Associated Transcriptomic Signatures and Reveal Age-Related Nucleocytoplasmic Defects.

Mertens J¹, Paquola AC¹, Ku M², Hatch E³, Bohnke L¹, Ladievardi S¹, McGrath S¹, Campbell B¹, Lee H¹, Herdy JR¹, Gonçalves JT¹, Toda T¹, Kim Y¹, Winkler J⁴, Yao J⁵, Hetzer MW², Gage FH².

核と老化 LAP2



LAP2

- LAP2 は核膜内側のタンパクで構造の完全性にとって重要なタンパク
- LAP2 はLaminとクロマチンタンパクへ結合する

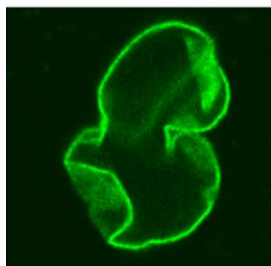
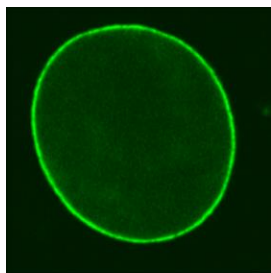
→ LAP2 は老化肌では減少することが分かっている

Progeria (早老症)



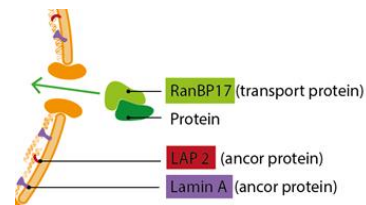
- Adalia Rose 10歳.
- Children suffering from 'progeria (早老症)' に苦しんでいる子供たちは健康的に生まれ、人生の最初の10-24か月間は健康的な状態にいる
- 非常に早期に老化のサインが現れる。すぐに彼らは高齢の人の外見をもつようになる
- 彼女はTwitterで 370,000人以上のフォロワーを持ち、Facebookでは6百万人のファンを持つ

誤って処理された Lamin A はProgeriaの原因となる – そしてそれは老化のサイン



Lamin A

- 核膜内側のタンパク質
- Laminaに関連
- 誤って処理されたLamin Aを誘導する変異は**progeria**（早老症）の原因となる（通常よりも急速に老化してしまう遺伝的疾患）→ 核が丸い形状を持たない
- 誤って処理されたLamin Aは正常な老人でも高レベルで検出される



- Lamin A は天然の老化マーカーであり、老化の原因でさえある
- 細胞核は老化過程において重要である



肌バリアの質の強化

試験デザイン

細胞: 正常ヒト表皮ケラチノサイト

試料: 1% *Physcomitrella patens* extract

パラメーター: 肌バリア機能、表皮マトリクスや水分に関与する遺伝子の発現

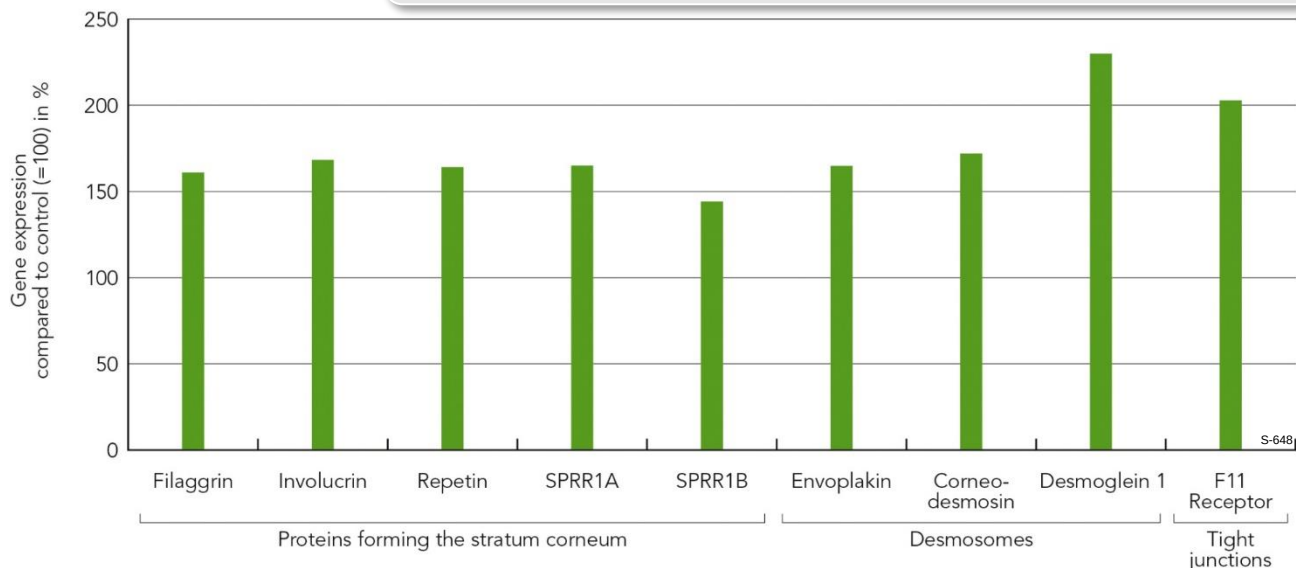
肌バリアの質の強化



P. patens は2つの重要なグループの発現を向上させた:

1. 角質層の形成に関与する遺伝子
2. デスモソームのような細胞とタイトジャンクション間のジャンクションを形成するタンパク質をコードする遺伝子

■ 1% *P. Patens* extract





気候ストレスへの順応性の向上

再建された皮膚を高温多湿、寒冷乾燥環境に置き、その後に遺伝子発現分析と染色を実施した

皮膚モデル
試料

3D ヒト再建皮膚モデル
+/- 1% MossCellTec™ No. 1

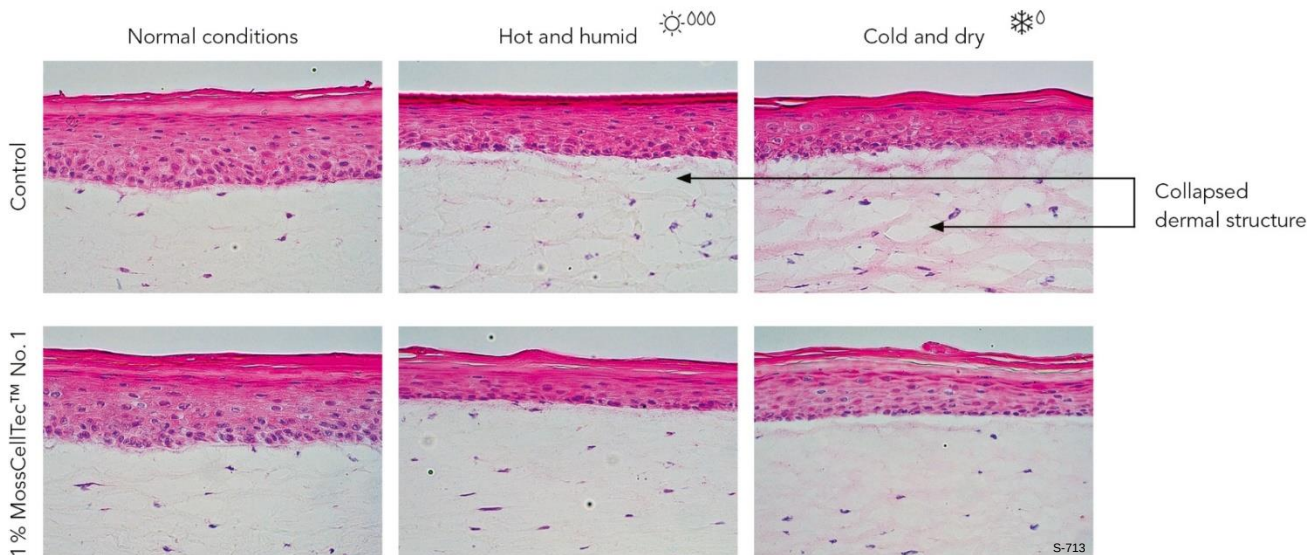
条件

Hot / humid	☀ ⁰⁰⁰	40°C, 80% relative humidity	3 x 30 分 (36 時間以内)
Cold / dry	❄ ⁰	10°C, 40% relative humidity	3 x 15 分 (36 時間以内)

Readout:

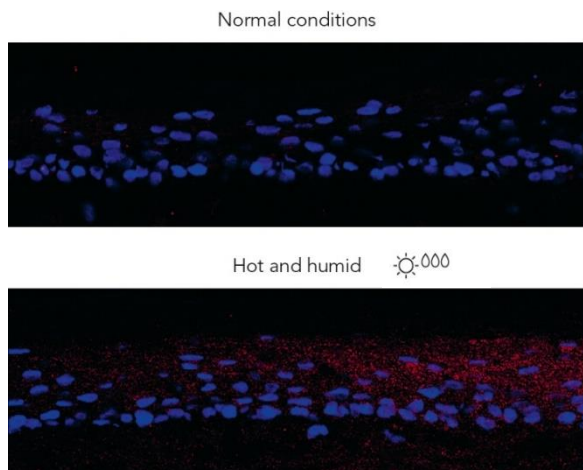
- Hematoxylin-eosin染色 → 真皮/表皮構造
- ストレスマーカー LCE1Aの免疫染色

環境変化への肌の適応



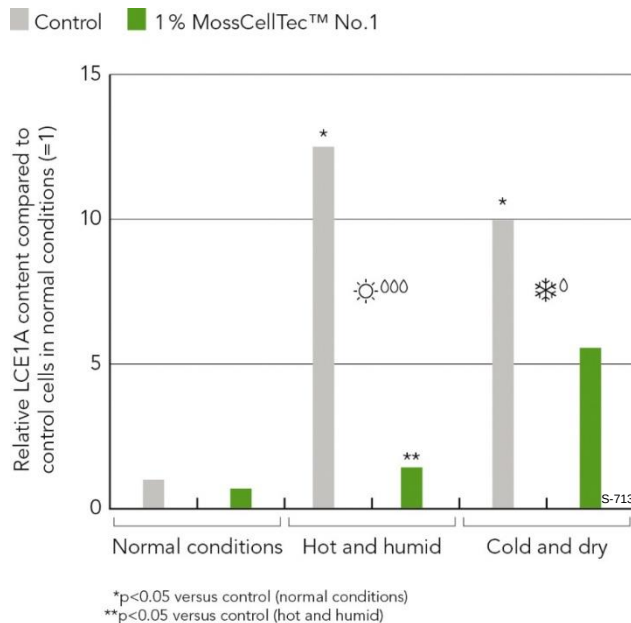
高温多湿と寒冷乾燥環境は真皮のコラーゲンネットワークに著しい可視的変化をもたらす
 → MossCellTec™ No. 1での処理はこのダメージから肌を保護する

環境変化への肌の適応



blue = cell nuclei (DAPI)

red = LCE1A



高温多湿と寒冷乾燥環境は LCE1A ストレスマーカーの上方制御をまねく → MossCellTec™ No. 1での処理はこのストレス反応から肌を保護する

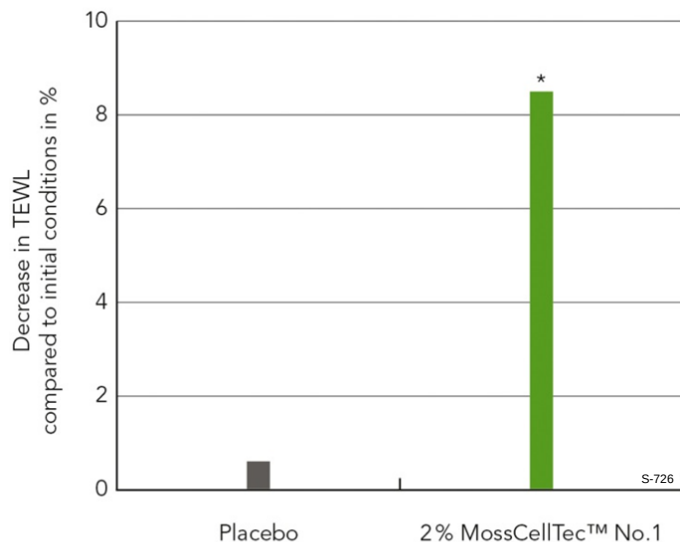


Reinforcement of the Skin Barrier Quality

試験デザイン

- 被験者:** 15 (女性, 37.4 - 64.7歳, 平均 52.7歳), TEWL
14 (女性, 37.4 - 65.4歳, 平均 53.7歳), シワの深さ
- 試料:** MossCellTec™ No. 1を2%配合したクリーム, プラセボ
- 製品使用:** 1日2回前腕の内側に塗布。28日間
- パラメーター:** TEWL (tewameter)
シワの深さ (PRIMOS)

肌バリアの改善

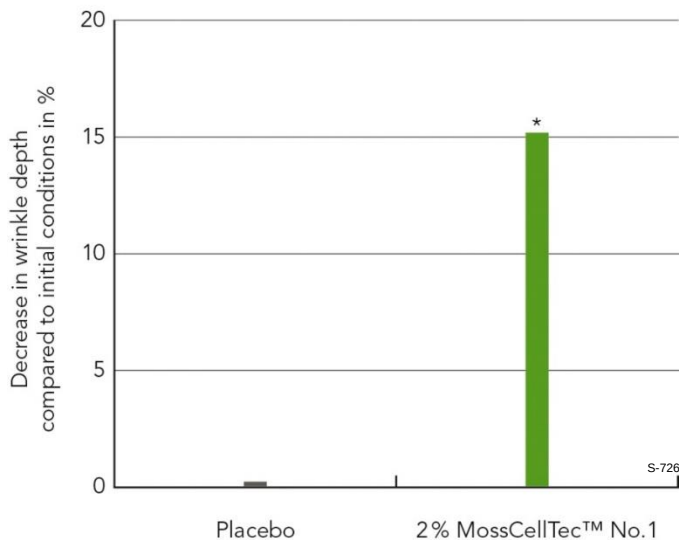


*p<0.05 versus initial conditions and placebo



MossCellTec™ No. 1 はプラセボと比較しておよそ 8% **TEWL** を減少させた (被験者の 73 % で改善, max = 20 %)

シワの深さの改善



*p<0.05 versus initial conditions



MossCellTec™ No. 1 はプラセボと比較してシワの深さを15%減少させた



MossCellTec™ No. 1 は異なる環境への肌順応性を改善

試料: クリーム + 2% MossCellTec™ No. 1, プラセボ

被験者: 23 (女性, 39歳 – 53歳, 平均: 45.4歳)

製品使用: 1日2回を14日間。顔面の半分。プラセボは顔面のもう半分に塗布

被験者には1日のうち2-5時間を外で過ごしてもらう。試験は夏の韓国ソウルにて実施。

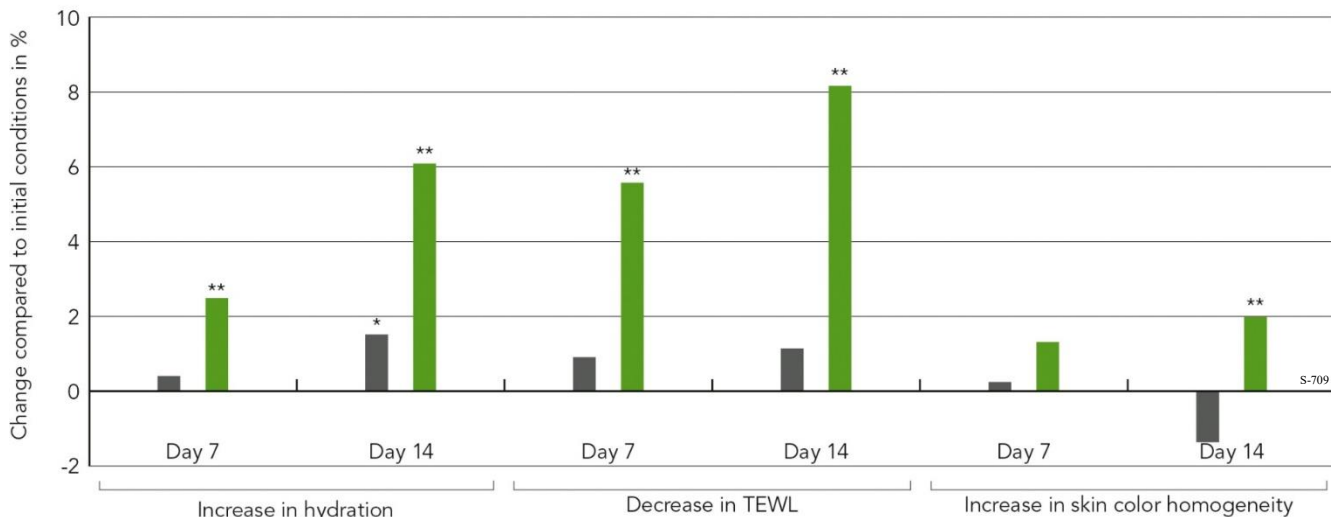
被験者の肌は外の暑さ・湿気と屋内の冷房との間の急激な変化に順応しなければならない。

パラメーター:

- 肌水分 (頬, corneometer)
- TEWL (頬, vapometer)
- 肌の色の均一性 (画像分析 / 標準偏差, VISIA CR®)

MossCellTec™ No. 1 は異なる環境への肌 順応性を改善

■ Placebo ■ 2% MossCellTec™ No.1



*p<0.05 versus initial conditions

**p<0.05 versus initial conditions and placebo

MossCellTec™ No. 1 は著しく改善:

肌水分

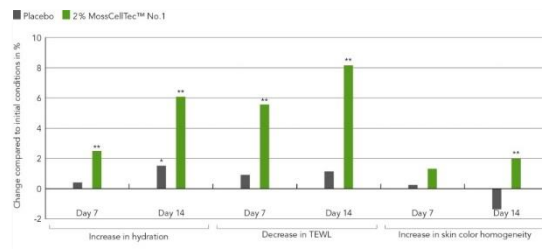
- 6 % (up to +17.5 %)以上向上
- 被験者の100%でポジティブな効果

TEWL

- 8 % (up to + 20 %)以上で改善
- 被験者の91%でポジティブな効果

肌の均質性

- 肌の均質性が視覚的に改善
- 画像（次のスライド）では明らかに肌の色の不均質が減少したことがわかる



→ MossCellTec™ No. 1 は肌が環境変化へ素早く順応する助けになる

MossCellTec™ No. 1 は異なる環境への肌の適応力を向上させる

Before



After 2 weeks

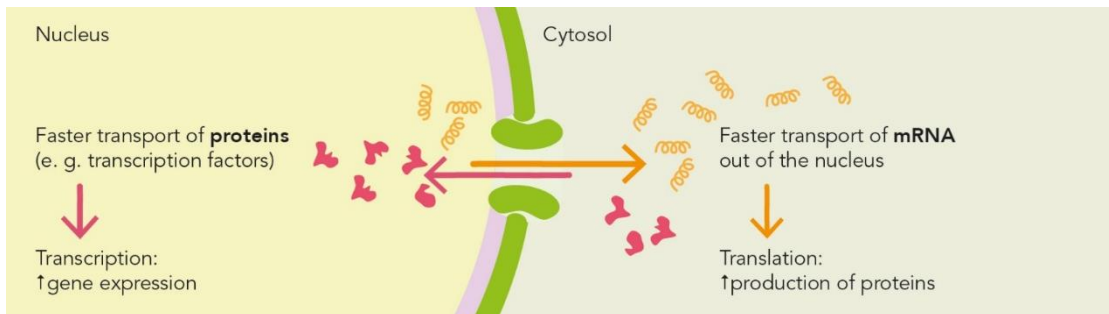


Volunteer 22

S-709/ © Mibelle Biochemistry

→ たった2週間で肌トーンの均質性が向上し毛穴が目立たなくなった

MossCellTec™ No. 1 の利点



MossCellTec™ No.1は核膜孔複合体を回復させ、老化した細胞中の核内外への分子輸送を改善する

→ 細胞が環境の影響や変化により早く適応することが可能となる

核輸送の向上によって MossCellTec™ は遺伝子発現の刺激を通じて機能するその他全てのアンチエイジングアクティブ成分の活性をサポートする

→ アンチエイジングコンセプトの主要なアクチベーターである

MossCellTec™ No. 1



- 肌を環境の変化に適応させることが可能
- ストレスフルな環境下でも肌の水分を向上させる
- 肌を洗練して完璧な肌ツヤ、肌色をつくり上げる
- 細胞核の健康を維持して若い肌を確保する
- 外からの攻撃に対する肌の抵抗力を強化する

MossCellTec™ No. 1

応用とマーケティング上の利点



COSMOS
APPROVED



応用

- アンチエイジング製品
- 全天候型製品
- プロテクションまたはリペア製品
- 保湿スキンケア

マーケティング上の利点

- バイオテクノロジーを利用して再現性かつ持続可能な方法で製造したコケを応用した化粧品市場初のアクティブ原料
- 細胞核の健康に着目した新しいアンチエイジングコンセプト
- 未防腐
- COSMOS認証

MossCellTec™ No. 1

Three Gold Innovation Prizes

in-cosmetics®
global



Innovation Zone
Best Ingredient
Award 2018

GOLD

in-cosmetics®
north america



Innovation Zone
Best Ingredient
Award 2018

GOLD

- Gold Award Innovation Zone Best Ingredient Award in-cosmetics Global 2018
- Gold Award BSB Innovation Prize 2018
- Gold Award Innovation Zone Best Ingredient Award in-cosmetics North America 2018
- 3rd Prize SEPAWA Innovation Award 2018



**Innovation Prize
Cosmetics 2018**

1. Prize Category Most Innovative Raw Material



**SEPAWA
INNOVATION
AWARD
2018**

3rd Prize



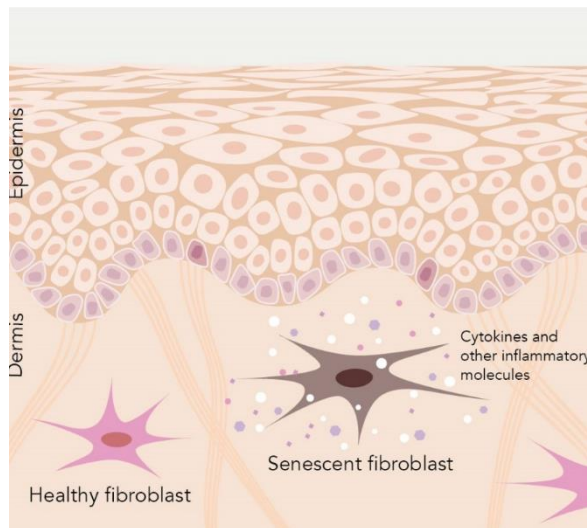
Alpine Rose Active

Clearing age-promoting cells

エイチ・ホルスタイン株式会社 Tel: 03-5213-5541 email: info@holstein.co.jp



Senolytics（老化細胞除去） 新たなアンチエイジングコンセプト

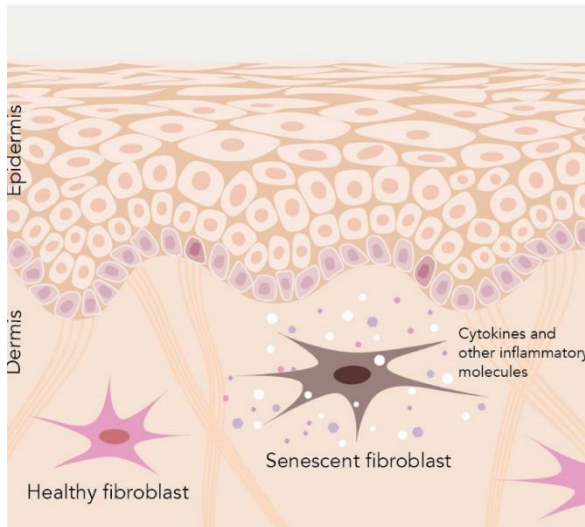


- 真皮内の線維芽細胞は結合組織を形成するためのコラーゲン産生の役割を担っている
- 人が老化した場合やUV、汚染物質といった過剰な酸化ストレスを受けるとこれら線維芽細胞は老化する
- **Senescent cells**（老化細胞）はもはや分化はしないが死んだ状態ともかけ離れているため“**zombie cells**（ゾンビ細胞）”とも呼ばれる
- 老化細胞はアポトーシス（細胞死）を促進する細胞内経路をブロックして自身の排除を回避する

エイチ・ホルスタイン株式会社 Tel: 03-5213-5541 email: info@holstein.co.jp

Senolytics:

老化促進細胞を除去して肌をきれいにする



- これら“ゾンビ細胞”は炎症を促進するシグナル分子を分泌し周囲の細胞へ影響を与えて老化させる。
- 若い組織では老化細胞は通常免疫システムによって取り除かれる。老化肌やストレスを多く受けた肌では老化細胞が蓄積されていく。

- 慢性的な炎症
- コラーゲン分解の促進によって老化過程が悪化させられる
- 肌弾力の欠乏

エイチ・ホルスタイン株式会社 Tel: 03-5213-5541 email: info@holstein.co.jp

Alpine Rose

最も象徴的なスイスアルプス植物の1つ



- Alpine rose (*Rhododendron ferrugineum*) は最も代表的かつ象徴的なスイスアルプス植物の1つである。
- Alpine rosesはアルプスだけでなくジュラ山脈、ピレネー山脈、アペニン山脈や2,800mまでの高地や酸性で栄養の乏しい土壌で生育する常緑低木である。
- 非常にたくましい植物で100年以上生きることが可能

エイチ・ホルスタイン株式会社 Tel: 03-5213-5541 email: info@holstein.co.jp

Alpine Rose

最も象徴的なスイスアルプス植物の1つ



- Alpine roseの栽培は非常に難しいため, Mibelle Biochemistry社はスイスアルプスで**sustainable wildcrafting** (サスティナブルな野草摘み) によって貴重な葉を収穫している有機農家と協力している。
- これによって急な温度勾配や非常に強力なUV暴露を伴う自然環境因子によるストレスを受けた植物からの葉の抽出を可能にする。
- ストレスを受けた植物は温室で生育された植物と比較してより高濃度の**保護性二次代謝物** (アダプトゲン) を合成することが分かっている。

エイダーホルステイン株式会社 Tel: 03-5213-5541 email: info@holstein.co.jp

Alpine Rose Active 組成

全成分表示名称

ロドデンドロンフェルギネウムエキス、グリセリン、水

INCI (EU-Declaration / PCPC-Declaration)

Rhododendron Ferrugineum Extract (and) Glycerin (and) Aqua / Water

COSMOS approved*, Ecocert certified**

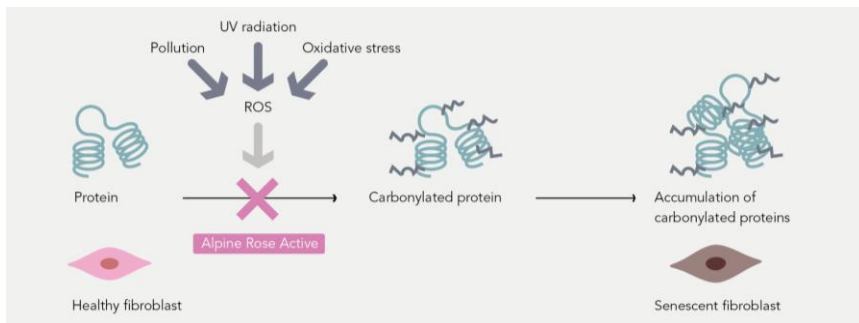
推奨配合量: 1 – 3%

* Raw material approved by ECOCERT GREENLIFE in accordance with the COSMOS Standard

** Raw material certified by Ecocert Greenlife according to the Ecocert Standard for Natural and Organic Cosmetics available at www.ecocert.com/cosmetics

エイチ・ホルスタイン株式会社 Tel: 03-5213-5541 email: info@holstein.co.jp

タンパクのカルボニル化 - 細胞老化のマーカー



UV、赤外線、放射線、たばこの煙、汚染物質といった環境ストレス因子は活性酸素種（reactive oxygen species ; ROS）を産生させてタンパク質や脂質を酸化させる。

結果: **タンパク質のカルボニル化**；最も有害なタンパク構造の非可逆的修飾の1つ

- カルボニル化タンパクのクロスリンク
- 蓄積、細胞毒性効果
- **細胞老化の促進による老化の加速**

エイチ・ホルスタイン株式会社 Tel: 03-5213-5541 email: info@holstein.co.jp



UV照射によるタンパク質カルボニル化からの保護

被験者: 12名 (女性, 白人, 40 – 54歳)

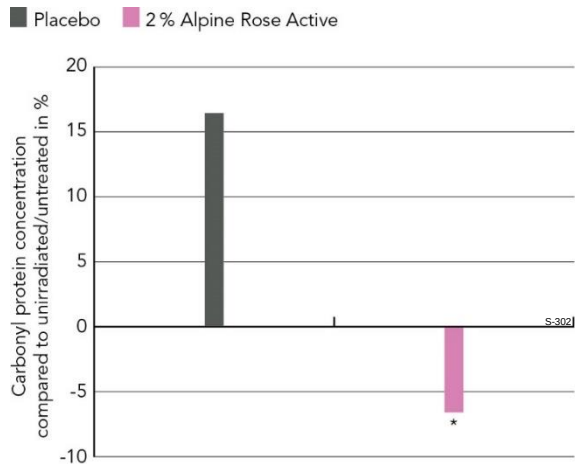
試料: 2 % Alpine Rose Active配合クリーム, placebo

塗布: 1日2回, 14日間, 前腕内側
最後の塗布の後に10 J/cm² UVA光照射

パラメーター: Suction blister技術: Suction blisters (吸引水ほう) を作り、suction blister fluids (吸引水ほう液) を集め、カルボニル化タンパク質含量を酸化ストレスのマーカーとしてELISA Kitで分析

エイチ・ホルスタイン株式会社 Tel: 03-5213-5541 email: info@holstein.co.jp

UV照射によるタンパク質カルボニル化からの保護



カルボニル化タンパク含量はAlpine Rose Activeを塗布した部位の吸引水ほう液にて著しく減少した

- UVAによる酸化ストレスによって生じるダメージからの保護効果
- Alpine Rose Activeは光老化から肌を保護する

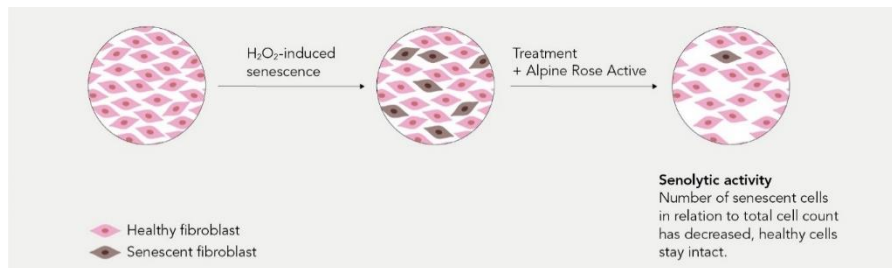
*p<0.05 versus placebo

エイチ・ホルスタイン株式会社 Tel: 03-5213-5541 email: info@holstein.co.jp



Alpine Rose ActiveのSenolytic（老化細胞除去）活性

試験デザイン



細胞株:

正常ヒト真皮線維芽細胞

試料:
(control)

1 % Alpine Rose Active, Navitoclax (老化細胞除去薬として知られる), 未処理

前処理:
胞の混合

H₂O₂ で細胞にストレスを与える → 老化誘導 → 老化線維芽細胞と健康な線維芽細胞を細胞培養

処理:

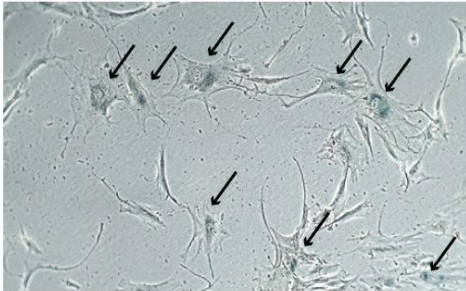
試料を添加して48時間インキュベーション

パラメーター: 総細胞数と老化細胞数 (β-gal-positive) で処理効果 (senolytic activity) を明らかにした
エイチ・ホルスタイン株式会社 Tel: 03-5213-5541 email: info@holstein.co.jp

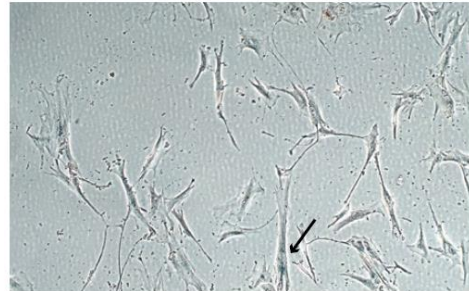
Alpine Rose ActiveのSenolytic（老化細胞除去）活性

→ 矢印は老化細胞を指す

Control

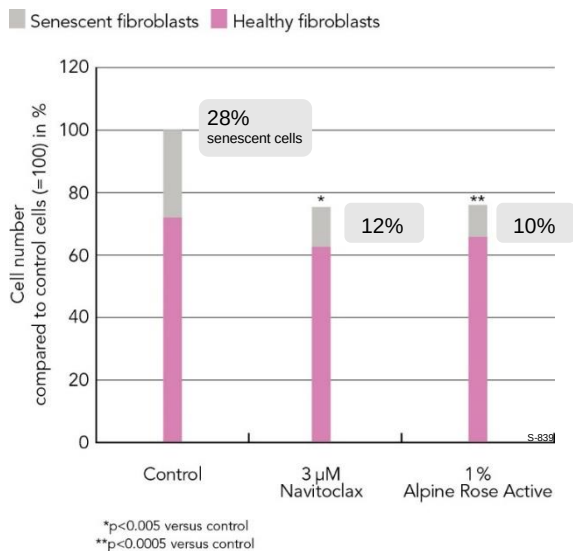


1% Alpine
Rose Active



エイチ・ホルスタイン株式会社 Tel: 03-5213-5541 email: info@holstein.co.jp

Alpine Rose ActiveのSenolytic（老化細胞除去）活性



Alpine Rose Activeは健康な線維芽細胞数には影響を与えずに老化線維芽細胞数のみを著しく減少させた
→ Alpine Rose Activeは培養細胞中の老化細胞数を64%減少させた

エイチ・ホルスタイン株式会社 Tel: 03-5213-5541 email: info@holstein.co.jp



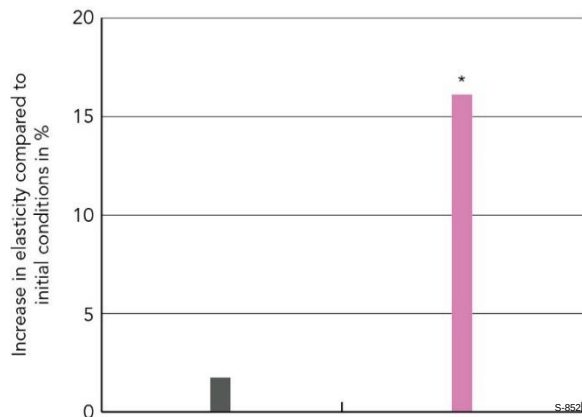
肌弾力と赤みの改善

- 被験者:** 44名 (女性, 40 – 65歳) 頬に赤みがある。2グループに分ける
- 試料:** 2 % Alpine Rose Active配合クリーム, placebo
- 塗布:** 1グループは2 % Alpine Rose Active配合クリームを塗布し、もう一方のグループは
プラセボクリームを塗布。顔全体に1日2回、28日間
- パラメーター:** Skin elasticity (Cutometer)
Skin redness (Spectrocolorimeter, macrophotographs)

エイチ・ホルスタイン株式会社 Tel: 03-5213-5541 email: info@holstein.co.jp

Skin Elasticityの改善

■ Placebo ■ 2% Alpine Rose Active



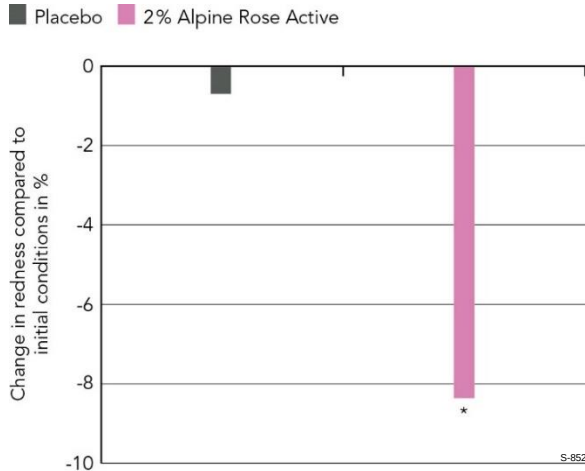
*p<0.05 versus initial conditions and placebo



Skin elasticityは28日後に16.1%と著しく向上した

エイチ・ホルスタイン株式会社 Tel: 03-5213-5541 email: info@holstein.co.jp

Skin Rednessの改善



Redness は14日後に8.4%と著しく減少した

* $p < 0.05$ versus initial conditions and placebo

エイチ・ホルスタイン株式会社 Tel: 03-5213-5541 email: info@holstein.co.jp

肌の赤みの視覚的改善

Before



After 2 weeks



S-852

エイチ・ホルスタイン株式会社 Tel: 03-5213-5541 email: info@holstein.co.jp

Alpine Rose Active

Anti-Viral Effect against *Herpes simplex virus I*

製品

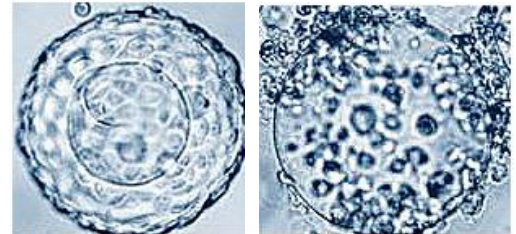
Alpine Rose Active

細胞株

Vero cell cultures (epithelial kidney cells)

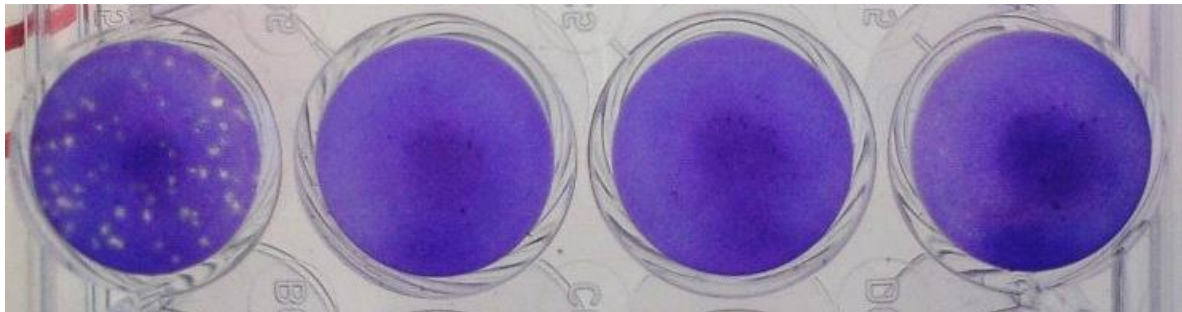
試験デザイン

- 1.Vero cellsを低密度でまく
- 2.Herpes simplex virus type I (HSV-1) に異なる濃度のAlpine Rose Activeを添加してプレインキュベーション
- 3.プレインキュベートしたウィルスを細胞単層へ添加
- 4.生細胞、非感染細胞をcristall violetで染色
- 5.Plaques（溶菌斑）をカウント



Vero cells before (left) and after infection with viruses

Alpine Rose Active Anti-Viral Effect against *Herpes simplex virus I*



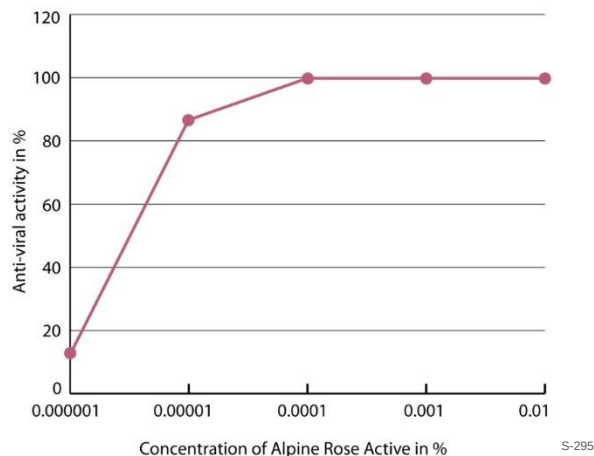
ウィルスだけのControl
→ plaques

植物エキ스로前処理したウィルスを添加した培養細胞
→ anti-viral effect



Anti-viral activity (%)

Alpine Rose Active Anti-Viral Effect against *Herpes simplex virus I*

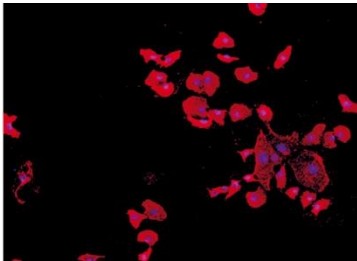


抗ウイルス活性の検出:
*Herpes simplex virus I*でのPlaque assay

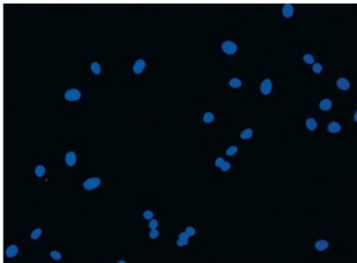


0.1 µg/ml でウイルス活性を強力に阻害
(細胞毒性なし)

Mechanism: Inhibition of Virus Adhesion



ウイルス（HSV-1）と共に
インキュベートした細胞。
ウイルスは細胞表面に吸着
（コントロール）



0.02% Alpine Rose Activeで
前処理したウイルス（HSV-
1）と共にインキュベート
した細胞。
→細胞への吸着なし

ウイルス：赤（HSV-1 Cy3染色）
細胞核：青（DAPI染色）



訴求

- 老化細胞の除去
- 肌の赤みの抑制と肌弾力の向上
- 肌の深層の若返り
- 酸化ストレスから肌タンパクを保護
- *Herpes simplex virus I* に対する抗ウィルス効果（その他ウィルスの肌への吸着防止効果も期待できる）

応用

- Anti-aging formulas
- Photo-aging prevention
- Sun care products
- Protective skin care

エイチ・ホルスタイン株式会社 Tel: 03-5213-5541 email: info@holstein.co.jp

Alpine Rose Active マーケティング上の利点



- 化粧品市場初の老化細胞除去活性
- 新規のアンチエイジングコンセプト
- COSMOS承認とECOCERT認証
- ワイルドクラフト, スイス由来
- 2nd Prize at the BSB Innovation Award in the category Natural Products – Raw Materials



エイチ・ホルスタイン株式会社 Tel: 03-5213-5541 email: info@holstein.co.jp



CM-Glucan Forte

Personal trainer to strengthen sensitive skin

The Hygiene Hypothesis 衛生仮説



都市部の子供たちは地方の子供たちと比べてアレルギー疾患 (アトピー性皮膚炎, 花粉症, 湿疹, ぜんそく) を患いやすい

→ 過度の個人の衛生状態に基づく

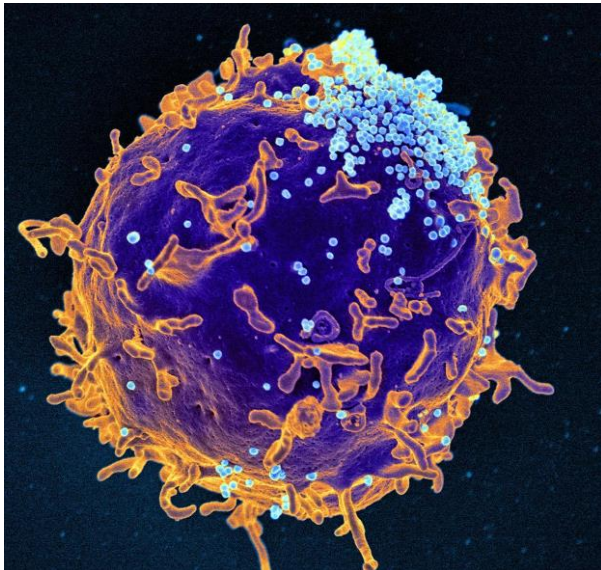
(1989, David Strachan)

免疫システムとアレルギー



- アレルギーは過敏性疾患である。免疫システムは各種物質 (アレルゲン, 花粉, 食品, 昆虫刺傷, 薬物) と反応する。
- 免疫システムはイムノグロブリンE (IgE) 抗体を産生することによってアレルゲンと過剰反応する。
- 抗体はアレルギー反応の原因となるヒスタミンや他の化学物質を放出するマスト (肥満) 細胞に結合する。

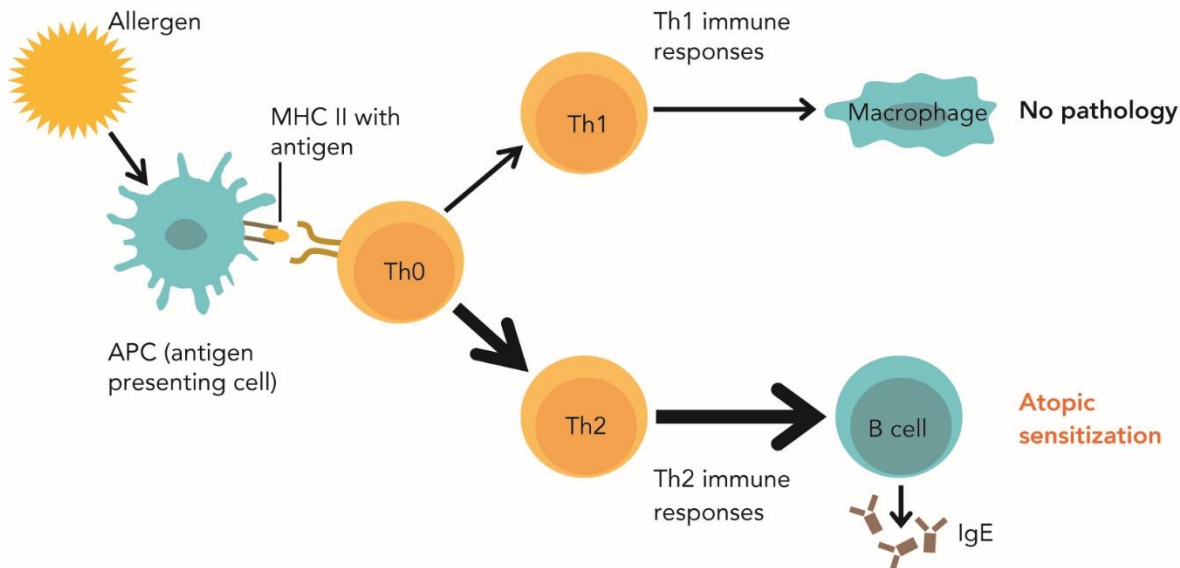
T Helper Cells - 免疫システムにおける重要細胞



- リンパ球 (白血球) の一種
- 骨髄で分化し、胸腺で成熟する (これがT細胞と呼ばれる理由である).
- Powerful activators of effector cells エフェクター細胞 (マクロファージ, 細胞傷害性T細胞とB細胞) の強力なアクティベーターであるが、病原体を直接殺したり取り込むことはしない。
- 主な2つのサブタイプ: Th1 と Th2 細胞

アレルギー: Th2 経路の過剰反応

Hygiene hypothesis (衛生仮説): 幼少時代に微生物にあまりさらされていない場合、Th2において増加がみられ、Th1において減少がみられる。



Atopic Dermatitis (AD) : アトピー性皮膚炎

アトピー性皮膚炎とは？

- アトピー性皮膚炎 (AD) は慢性炎症性皮膚疾患である
- 傷ついた皮膚バリア → TEWLの上昇
- Itch-scratch-itch cycle（かゆみ-かく-かゆみのサイクル）：かゆみを解くために肌をひかく苦しみ → 肌バリアは更に破壊され、シグナリング経路は炎症を起こすように活性化される。
- 微生物とアレルゲンが容易に侵入 → 更なる炎症へ



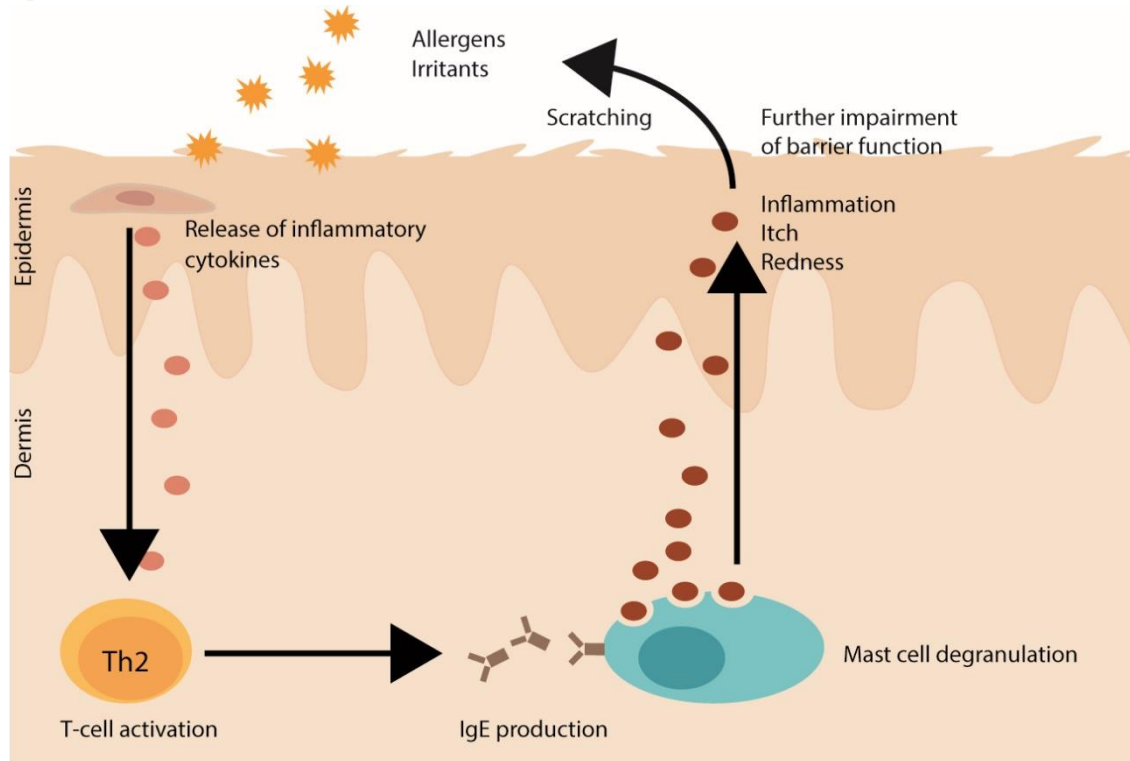
Atopic Dermatitis (AD) : アトピー性皮膚炎

AD の症状

- 強烈なかゆみ
- 乾燥, ひび割れたうろこ状の肌
- 肌の肥厚化(苔癬化)
- 肌の炎症
- しばしば重複感染に繋がる (e.g. *Staphylococcus aureus*)



Atopic Dermatitis



CM-Glucan Forte:並外れた免疫向上アクティ ブ

全成分表示名称：カルボキシメチル- β -グルカンMg



CM-Glucan Forte はパン酵母由来の多糖
 β -グルカンを素原料としている。

β -グルカンは並外れた免疫向上能力をも
つ。

パン酵母由来の β -(1-3)-グルカンは1980
年代から最も研究されている免疫刺激
剤のうちの1つです。

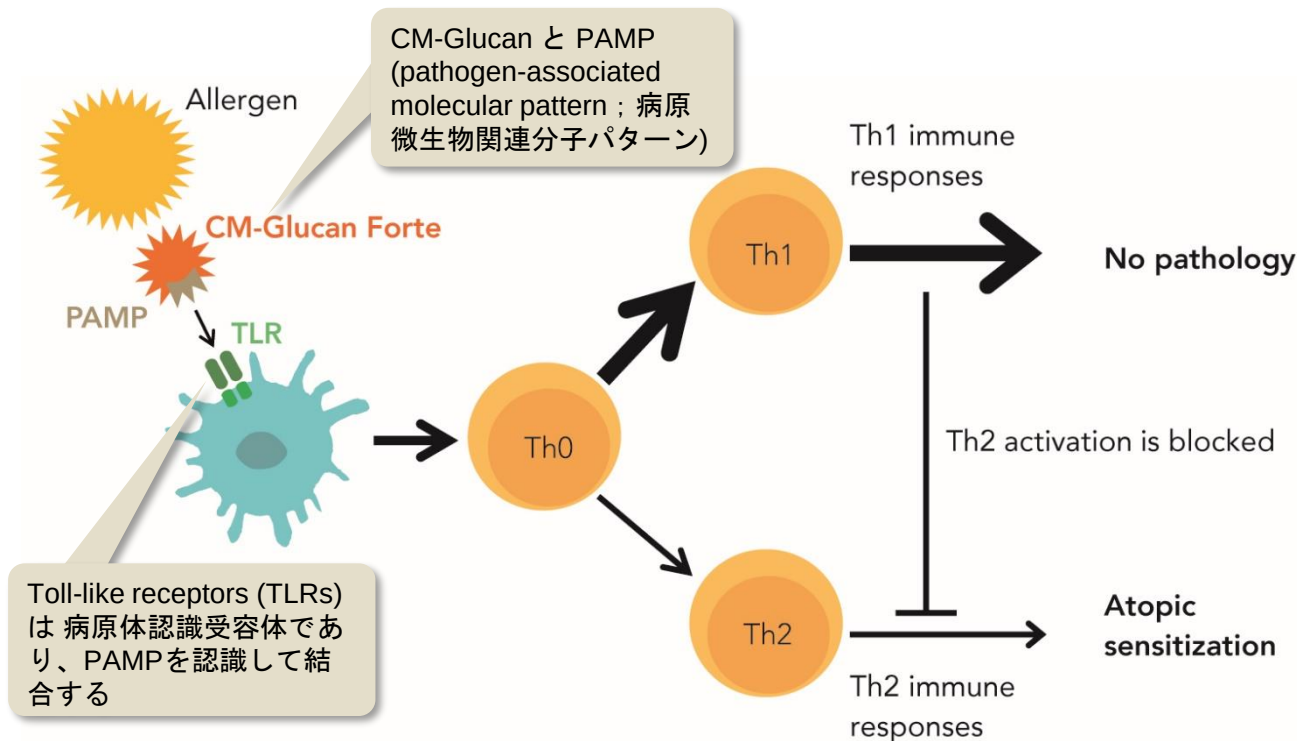
パン酵母 Beta-Glucan Immune Trainerとして活動



近年の科学的発見では酵母の β -グルカンはTh1応答を強化し、アレルギー特異的Th2経路を抑制することによって“immune trainer（免疫のトレーナー）”として作用する可能性があることがわかっている。

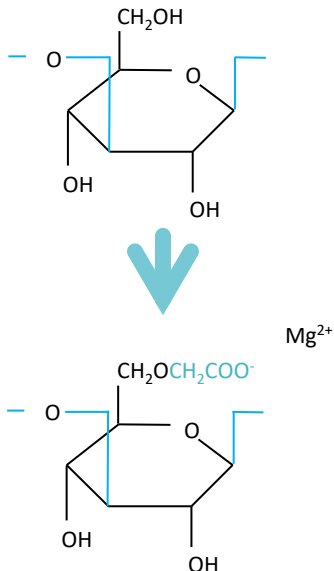
→ 酵母の β -グルカンはTh1/ Th2 システムのバランスを取り戻しIgE抗体の産生を減らす可能性がある。

免疫応答における Th1 Arm の強化



Glucan → CM-Glucan Forte

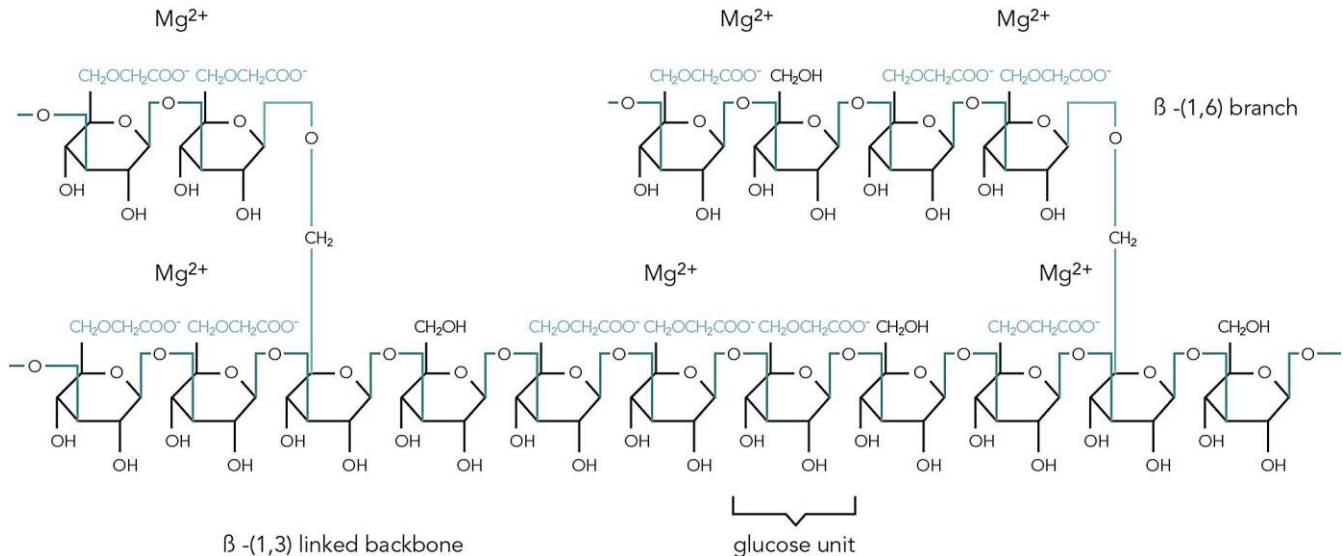
全成分表示名称：カルボキシメチル-β-グルカンMg



- パン酵母の細胞壁からの β-グルカンの抽出
- カルボキシメチル化 (置換度：0.75) → 水溶性
- Helical（ヘリカル）構造は生物学的機能を維持するようには修飾されていない
- 二価のマグネシウムイオンは巨大分子の三次元構造を決定して安定化させる

CM-Glucan Forte Molecule

Carboxymethyl $\beta(1,3)$ -(1,6) Glucan



試験 1-6

Allergens
Irritants

1. 樹状細胞
によるアレ
ルゲンの取
り込み

2. 樹状細胞活
性化

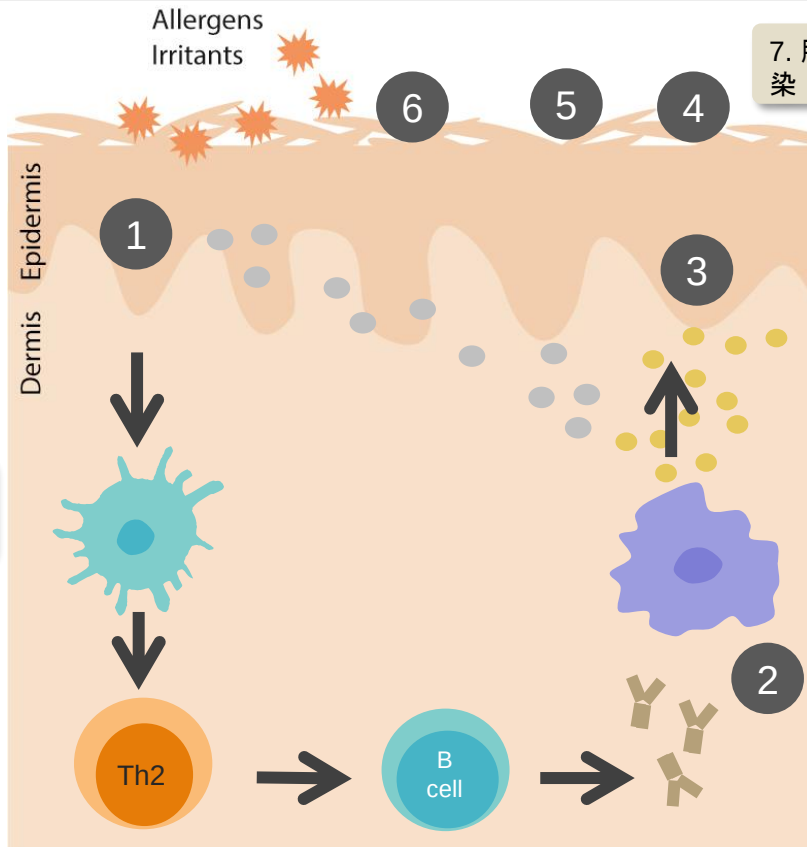
3. T 細胞
活性化

7. 肌バリア破壊, 重複感
染

6. 急性かつ慢性炎
症のメディエー
ターの放出

5. マスト細胞刺
激

4. IgE 抗体の放
出



1. CM-Glucan Forte の抗炎症作用の評価

IL-1 α (Interleukin 1- α)

- 炎症の発生, 熱や敗血症の促進を担う
- 上皮細胞により分泌されうる



Reconstructed human oral epithelium (RHOE):
ポリカーボネート膜上で
のヒト口腔ケラチノサイ
トの3D培養

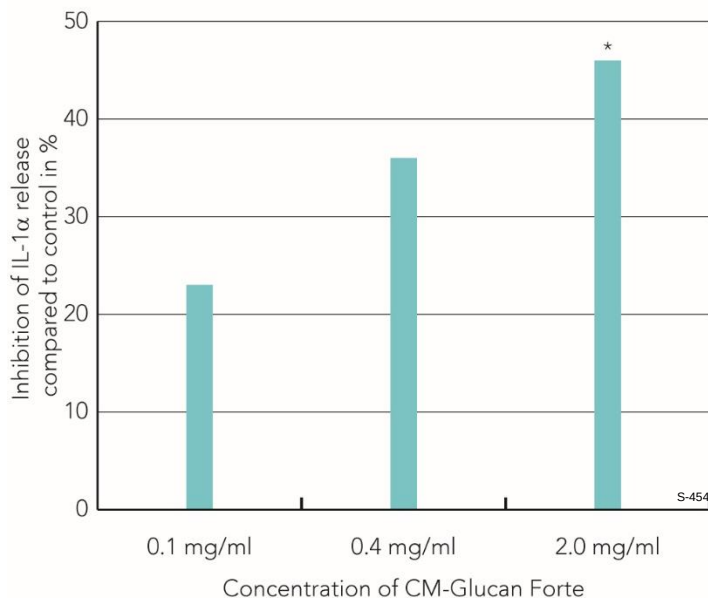
試験デザイン

- Reconstructed human oral epithelium (RHOE ; 再構築ヒト口腔上皮)で試験
- CM-Glucan Forteを局所的に添加した上皮を6時間プレインキュベートする
- RHOE を 0.2% SDS (炎症の誘導) と CM-Glucan Forte でインキュベーション

試験物質: 0.1, 0.4 or 2.0 mg/ml CM-Glucan Forte

試験パラメーター: IL-1 α の放出

1. CM-Glucan Forte の抗炎症作用



*p<0.01 versus control



CM-Glucan Forte は IL-1α
の放出を 46% 減少させる

2. CM-Glucan はB細胞中の IgE 放出を抑制

- IgE は寄生虫病を制御するために重要である
- 過剰な IgE はアレルギーの原因となる
- アトピーに悩む患者は血清 IgE レベルが上昇している
- IgE は最も強力な炎症反応を引き起こす能力をもつ

試験デザイン

Anti-CD40/IL-4-activated B
cells

+ 0.8 mg/ml CM-Glucan Forte



CM-Glucan Forte は IgE の放出
を 26% 抑制する

S-428

3. アトピー性皮膚炎モデルにおけるIL-8放出での CM-Glucan Forte の効果

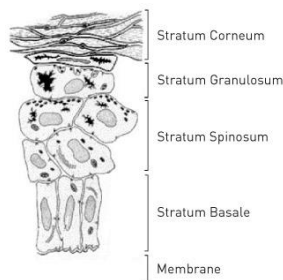
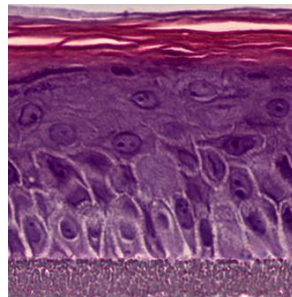
試験デザイン

IL-4/IL-13/IL-22/TNF- α (アトピー性皮膚の慢性期に典型的なサイトカイン混合物)によって活性化された Reconstructed human epidermises (RHEs ; 再構築ヒト表皮)
+ 0.5 mg/ml CM-Glucan Forte

試験パラメーター

Interleukin-8 (IL-8, 局所的炎症の主要パラメーター)の発現

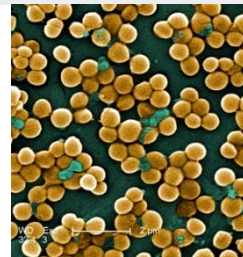
IL-8 は乾癬皮膚のケラチノサイトによって強力に発現させられケラチノサイトの増加を誘導する



CM-Glucan Forte は IL-8 の放出を53% 減少させる

S-428

4. 肌感染の制御



S-428

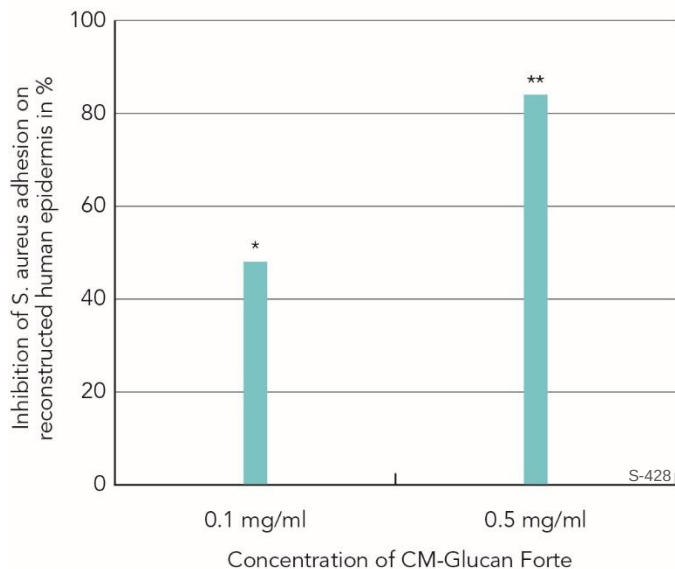
肌バリアがダメージを受けた時（アトピー性の皮膚において）*Staphylococcus aureus* が組織に乾癬可能となる

→ ニキビ, 膿疱疹, フルンケル（できもの）, 膿瘍

試験デザイン

1. Reconstructed human epidermises (RHEs : 再構築ヒト表皮) を CM-Glucan Forte で前処理し、放射線ラベルした (^3H -adenine) *Staphylococcus aureus* bacteriaバクテリアを感染させた
2. RHEsを洗浄。シンチレーション計測で残った *S. aureus* を検出

4. 肌感染の制御



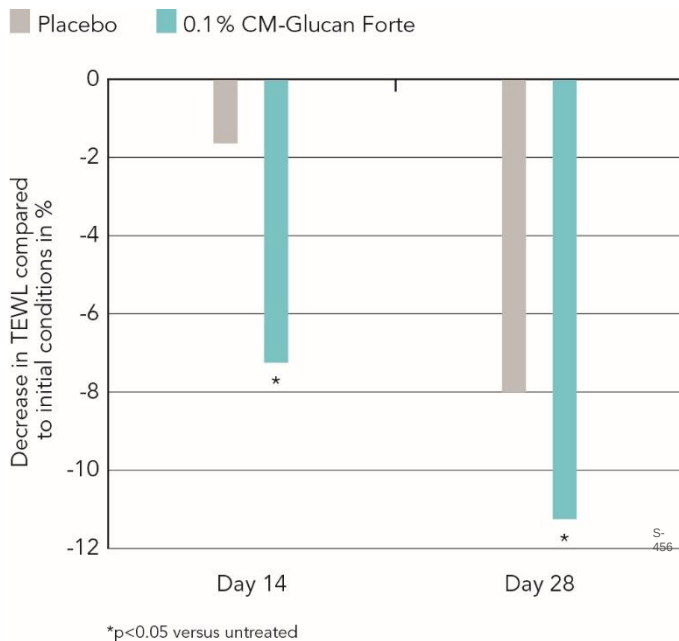
* $p < 0.05$ versus control

** $p < 0.001$ versus control



CM-Glucan Forte はアトピー性皮膚における感染に関与する *Staphylococcus aureus* を減少させる

5. CM-Glucan Forte は肌バリアを強化する



被験者: 20名 (14 女性, 6 男性), 27- 61歳

過去にADを患ったが試験期間中は症状のない者

製品: Emulsion + 0.1 % CM-Glucan Forte, プラセボ

使用:

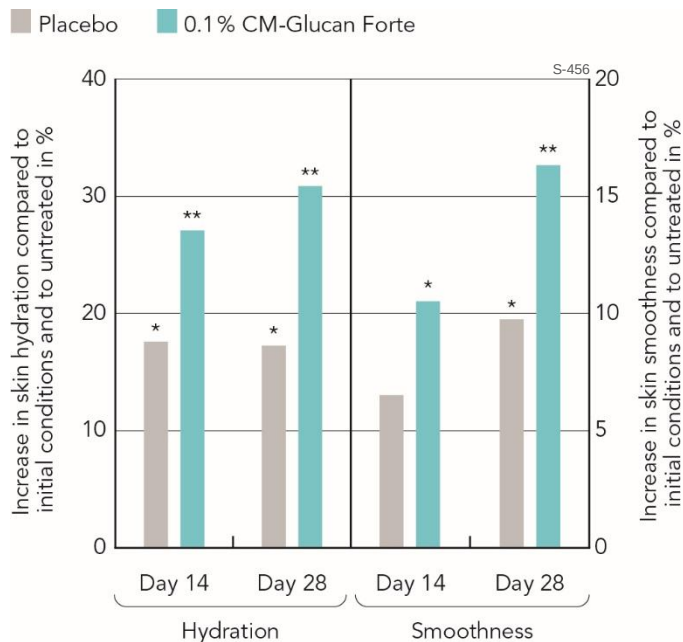
1日2回, 28日間, 前腕内側

パラメーター: 肌の水分 (コルネオメーター), 荒さ (PRIMOS), TEWL (tewameter)



CM-Glucan Forte はTEWLを減少させる
→ 肌のバリア機能を強化

5. CM-Glucan Forte は肌バリアを強化



*p<0.05 versus untreated

**p<0.05 versus untreated and placebo



CM-Glucan Forte は水分と滑らかさを向上させる

6. CM-Glucan Forte は皮膚炎の6症状の軽減を補助

皮膚炎に苦しむ10名に対して臨床試験を実施

試験製品:

Emulsion containing 0.04 % of CM-Glucan Forte

使用:

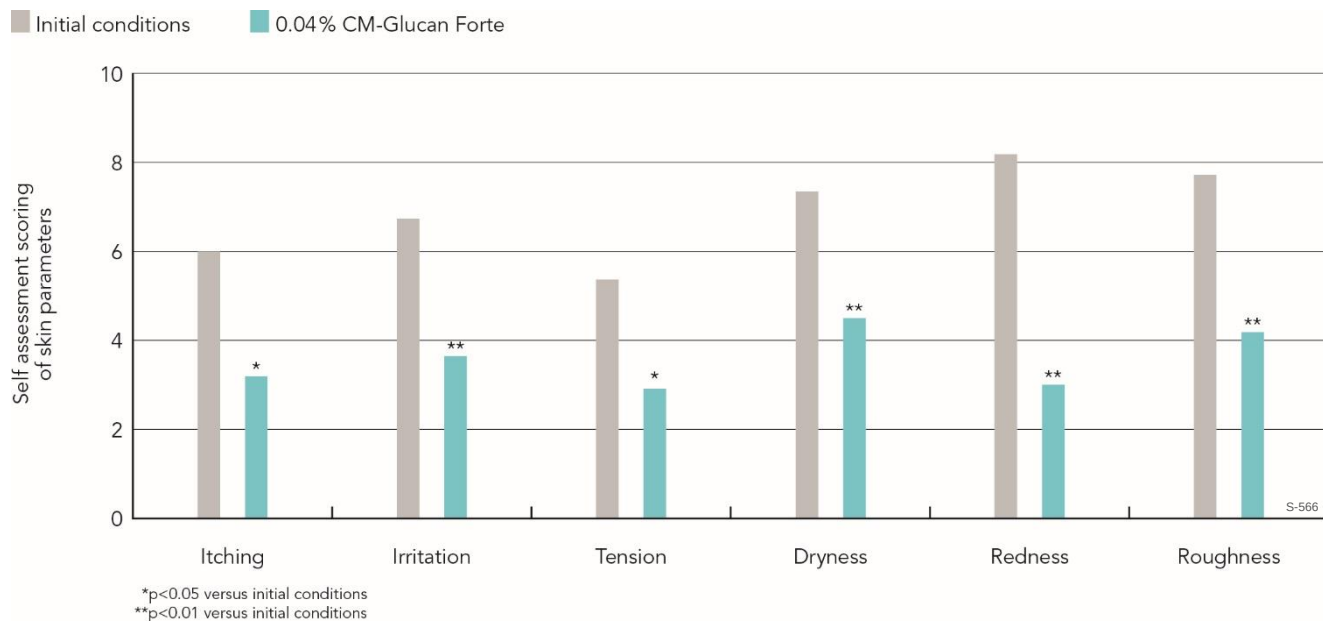
Eczema patchにて 1日2回を7日間

結果:

CM-Glucan Forte はアトピー性皮膚炎の6症状の軽減を示した。

- + 肌を即時に楽にする: 80%
- + 肌全体の状態が改善: 70%
- + “General well-being（一般的な幸福度）”の向上: 70 %

6. CM-Glucan Forteは皮膚炎の6症状の軽減を補助



CM-Glucan Forte

訴求点



- 肌の免疫システムのバランスを取り戻す
- 炎症を起こした肌を沈静化
- 敏感肌、かゆみを沈静化
- 1週間以内に肌の不快感を軽減

CM-Glucan Forte 応用



- 炎症を起こした肌や頭皮
- アトピー性状態になりやすい肌
- 敏感肌ケア

CM-Glucan Forte

マーケティング上の利点



- Th1/ Th2 活性のバランスを整える初めての化粧品原料
- 純粋な単一物質
- 皮膚科学活性を持つ化粧品原料
- アトピー性皮膚炎の6症状を軽減するアクティブ原料
- 試験により多段階カスケード反応における活性を証明済み
- 特許取得済み製造プロセス
- Host society award 受賞 (IFSCC 2015)



ANTIOXIDANT
BOOSTER

BRIGHTNESS

DARK SPOTS

ネオクレア プロ
NEOCLAIR PRO™
COME TO THE CLEAR SIDE

Biomimetic design (生体模倣デザイン)



- ✓ Nature's eyesを通じて
デザインを描く
- ✓ 生物学的活性や構造
を模倣



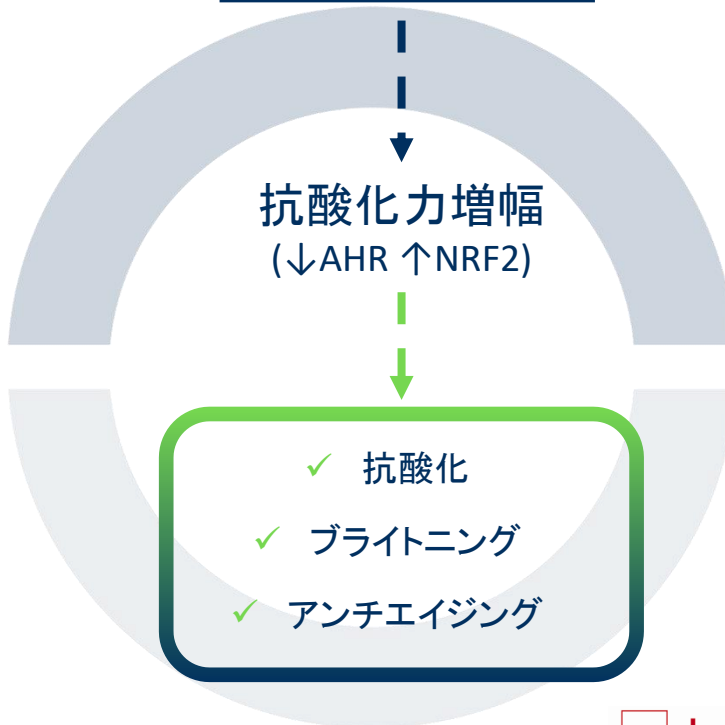
ペプチドデザインと合成における専門
技術



Asian inspiration



Green tea (EGCG)

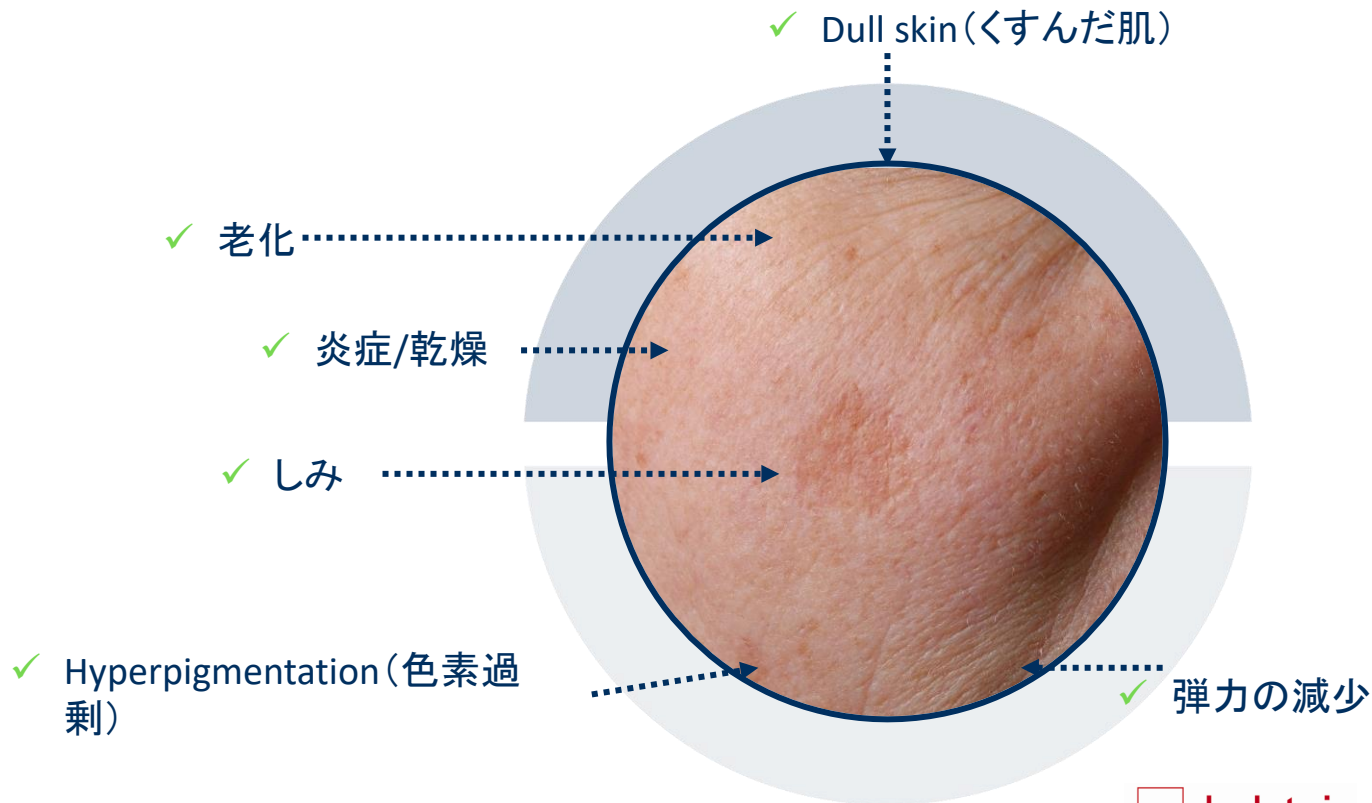


解毒された肌は透き通っている



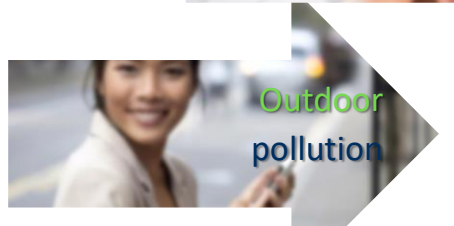
Green tea は伝統的に肌を清潔にするために利用されている

あなたの肌には非常に多くの毒素が存在する?





Those responsible



- ✓ 酸化: タンパク質, DNA
- ✓ 過酸化: 脂質
- ✓ 糖化: コラーゲン、エラスチン繊維、DNA...
- ✓ 低下したバリア機能

Neoclair Pro™, come to the **clear** side



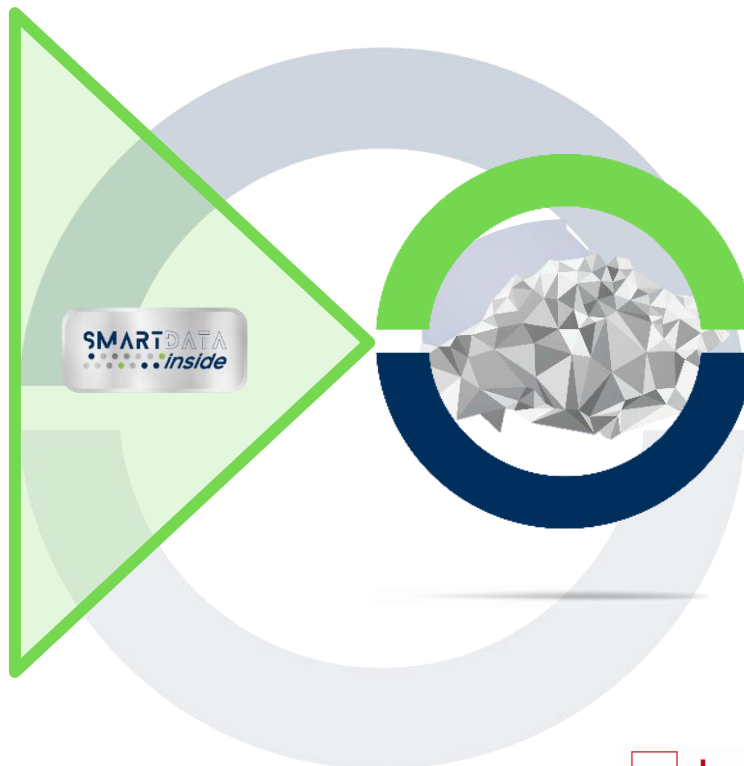
ネオクレア プロ
NEOCLAIR PRO™
COME TO THE CLEAR SIDE

- ✓ 抗酸化
- ✓ 抗酸化力増幅
- ✓ アンチエイジング
- ✓ ブライトニング
- ✓ アンチポリューション(屋外、屋内、内部)
- ✓ 抗炎症

ペプチドのデザイン: 探索



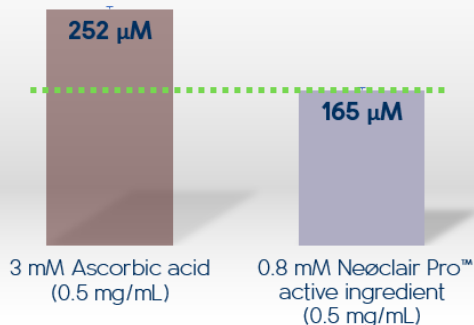
- ✓ 抗酸化
- ✓ 抗酸化力増幅
(↓AHR ↑NRF2)
- ✓ 抗シミ
- ✓ アンチエイジング
- ✓ アンチポリューション
(outdoor/indoor/internal)



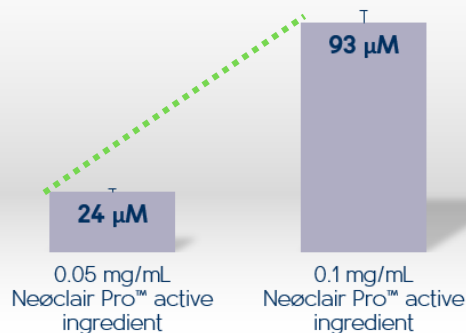
✓ 抗酸化能



Antioxidant power
(Trolox equivalents, μM)



Antioxidant power
(Trolox equivalents, μM)

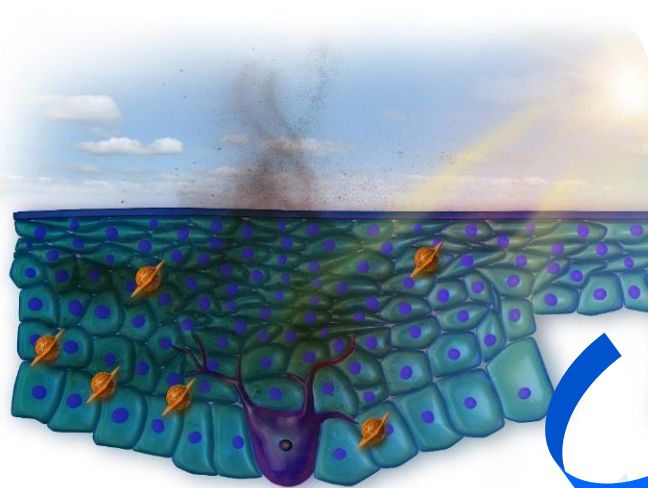


165 μM
vitamin E アナ
ログ抗酸化能

- ABTS脱色アッセイを用いてのTEAC (Trolox 等価抗酸化能)
- In tube
- λ_{abs} 734 nm

Trolox® は Vitamin Eの水溶性アナログ

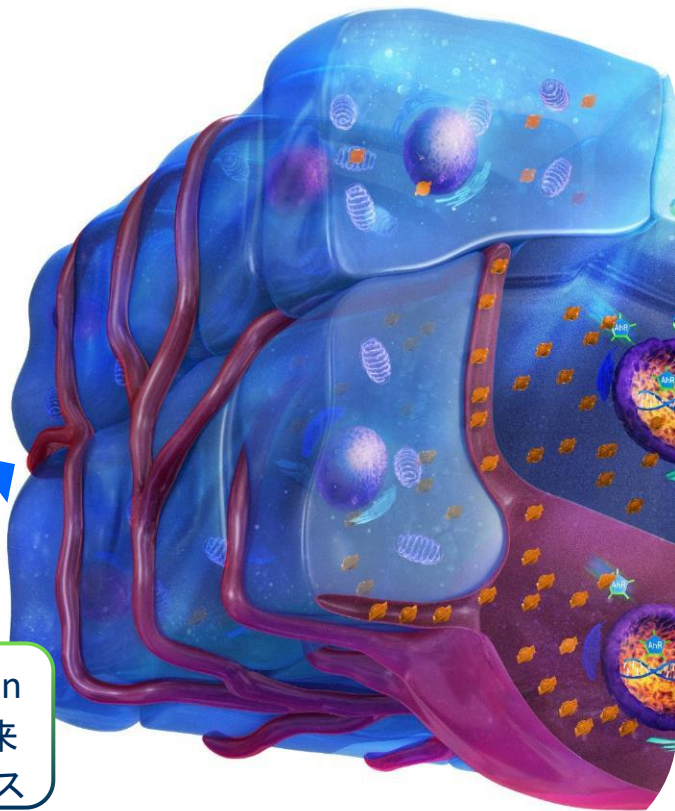
我々の肌での汚染物質



Outdoor/indoor
pollution/UV

- ✓ 合成煙
- ✓ 重金属
- ✓ 炭化水素

Internal pollution
✓ 代謝過程に由来
する酸化ストレス

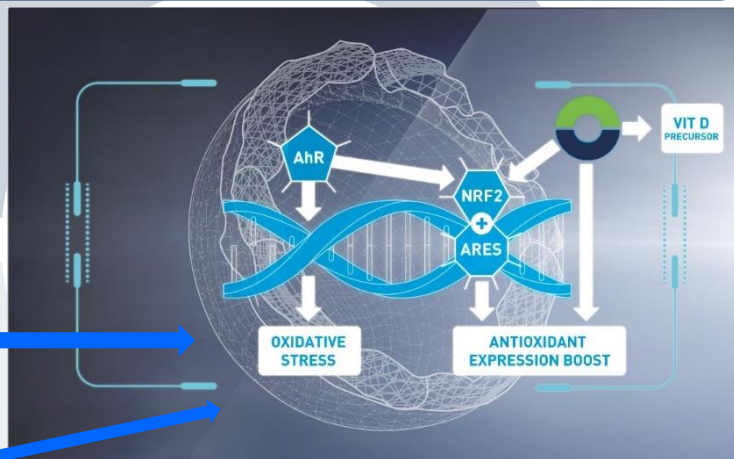


抗酸化能増幅



AHR

- ✓ アリル炭化水素受容体
- ✓ ↑酸化ストレス, 炎症, ECM分解, 脂質過酸化, 糖化, メラニン形成



ARES

- ✓ 抗酸化応答配列

NRF2

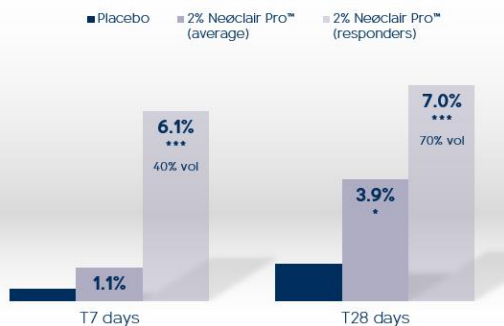
- ✓ 赤血球系転写因子2関連転写因子2
- ✓ 抗酸化シグナルのマスタースイッチ

クリアな肌へ



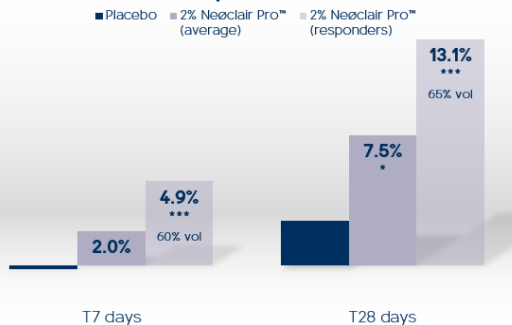
- ✓ Brighten
- ✓ Illuminate

Skin colour (ITA°, %)



***p<0.001 vs T0
*p<0.05 vs T0

Dark spots (ITA°, %)



***p<0.001 vs T0
*p<0.05 vs T0

28日間でシミ
部分の ITA°
が49%向上

- 20名アジア人女性被験者 (シミの ITA° 41-55)
- 年齢: 30-50歳
- 北京で 1/2h day 汚染にさらす
- 2% Neocclair Pro™ 配合クリーム
- 1日2回 28日間
- Colorimeter

28日後の肌における ΔITA°

+3.1 (70% vol)

+7.0 (up to)

28日後のシミ部分における ΔITA°

+4.0 (65% vol)

+12.3 (up to)

クリアな肌へ

1週間で28.2% メラニン減少

Dark spots melanin (%)

■ Placebo ■ 2% Neoclair Pro™ (average) ■ 2% Neoclair Pro™ (responders)



***p<0.001 vs T0

*p<0.05 vs T0

#p<0.1 vs T0

- 20名のアジア人女性(シミ部分の ITA[®] 41-55)
- 年齢: 30-50歳
- 北京で1/2h day 汚染にさらす
- 2% Neoclair Pro™ 配合クリーム
- 1日2回 28日間
- Mexameter®, Image-Pro



✓ Brighten
✓ Illuminate



Dark spots surface (%)

■ Placebo ■ 2% Neoclair Pro™ (average) ■ 2% Neoclair Pro™ (responders)



***p<0.001 vs T0

#p<0.1 vs T0

1か月でシミ部分の面積が49.2% 減少

クリアな肌へ

7日間でGloss(ツヤ)が43.7% 向上

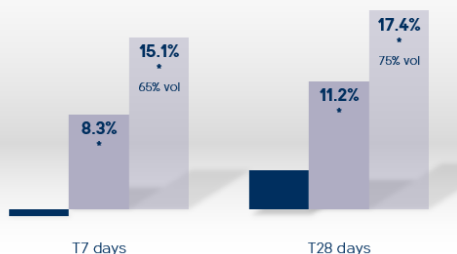
NEOCLAIR PRO™
COME TO THE CLEAR SIDE



- ✓ Illuminate
- ✓ Repair
- ✓ Antiaging

Skin gloss (%)

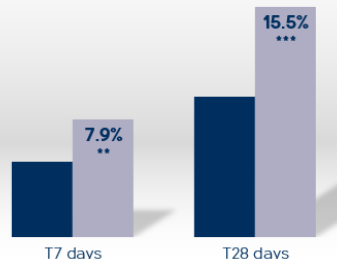
■ Placebo ■ 2% Neocclair Pro™ (average) ■ 2% Neocclair Pro™ (responders)



*p<0.05 vs T0

Overall elasticity (%)

■ Placebo ■ 2% Neocclair Pro™ (average)

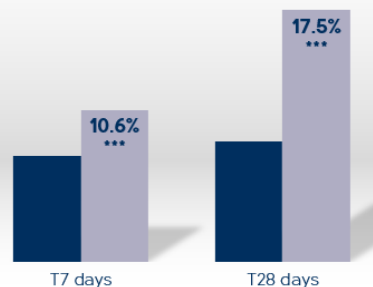


*** p<0.001 vs T0

** p<0.01 vs T0

Elastic recovery (%)

■ Placebo ■ 2% Neocclair Pro™ (average)



*** p<0.001 vs T0

- 20名のアジア人女性 (シミ部分の ITA[®] 41-55)
- 年齢: 30-50歳
- 北京で 1/2h day 汚染にさらす
- 2% Neocclair Pro™ 配合クリーム
- 1日2回 28日間
- Glossymeter, Cutometer[®]

28日間で弾性回復が56.2% 向上

クリアな肌へ

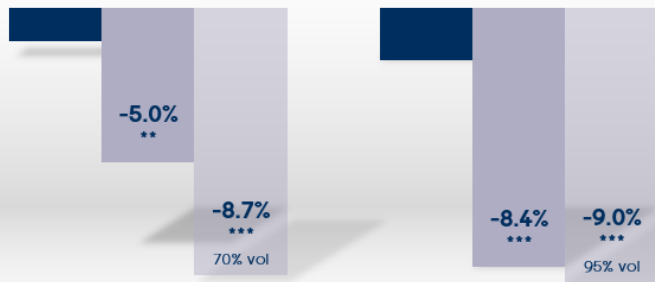


✓ Protect
✓ Antiaging



Lipid peroxidation (MDA, %)

■ Placebo ■ 2% Neoclair Pro™ (average) ■ 2% Neoclair Pro™ (responders)



T14 days

T28 days

*** p<0.001 vs T0

** p<0.01 vs T0

アンチエイジング & 抗炎症

1か月で脂質過酸化が 20.2% 減少

- 20名のアジア人女性 (シミ部分の ITA[®] 41-55)
- 年齢: 30-50歳
- 北京で 1/2h day 汚染にさらす
- 2% Neoclair Pro™ 配合クリーム
- 1日2回 28日間
- Skin stripping, Corneofix[®]

MDA は脂質過酸化によるRCS 副産物で炎症マーカー

クリアな肌へ

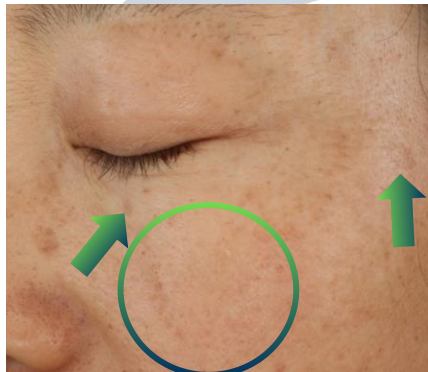
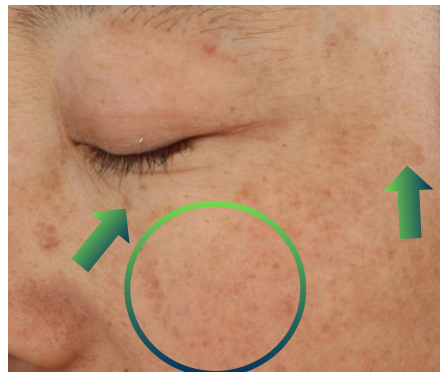
NEOCLAIR PRO™
COME TO THE CLEAR SIDE



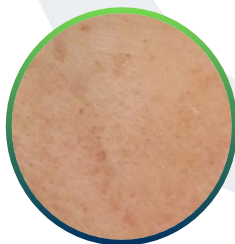
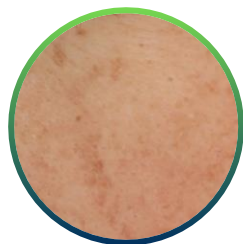
- ✓ Brighten
- ✓ Illuminate
- ✓ Protect

T0 days

T28 days



シミ部分のITA[®]: +19.6%
シミ部分のメラニン: -2.9%
+5.7% ITA[®]
+21.7% radiance (明るさ)
-16% 脂質過酸化 (MDA)



- 被験者2, 47歳
- 北京で 1/2h day 汚染にさらす
- 2% Neocclair Pro™ 配合クリーム
- 1日2回 28日間

クリアな肌へ

NEOCLAIR PRO™
COME TO THE CLEAR SIDE



- ✓ Brighten
- ✓ Illuminate
- ✓ Protect

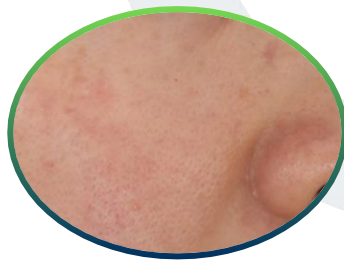
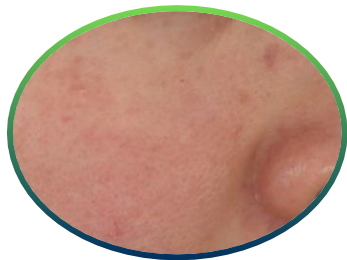
T0 days



T28 days



シミ部分のメラニン: -31.4%
+7.2% ITA[®]
+45.4% radiance (明るさ)
-20.2% 脂質過酸化 (MDA)



- 被験者 17, 33歳
- 北京で 1/2h day 汚染にさらす
- 2% Neoclair Pro™ 配合クリーム
- 1日2回 28日間

クリアな肌へ



- ✓ Brighten
- ✓ Illuminate
- ✓ Protect

T0 days



T7 days



T28 days



- 被験者 5, 50歳
- 北京で 1/2h day 汚染にさらす
- 2% Neoclair Pro™ 配合クリーム
- 1日2回 28日間

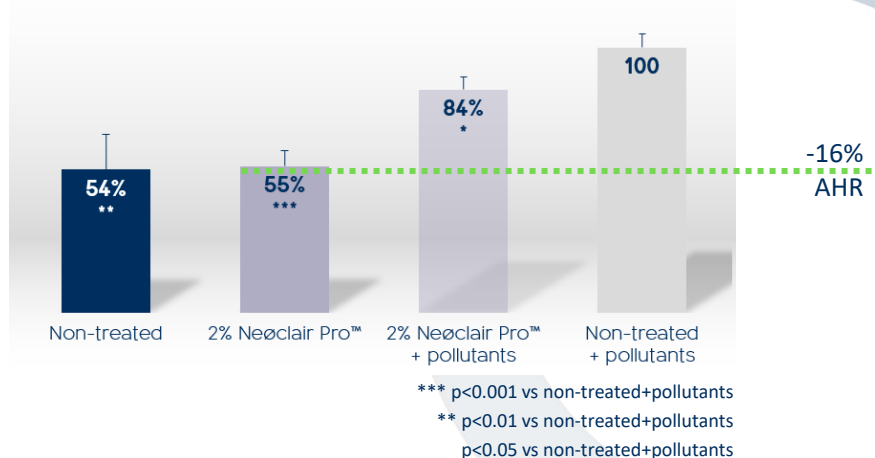
シミ部分のITA^o: +9.1%
シミ部分のメラニン: -11.3%
シミ部分の面積: -23.5%
+15.3% ITA^o

シミ部分のITA^o: +27.3%
シミ部分のメラニン: -17.6%
シミ部分の面積: -49.2%
+16.9% ITA^o
-14.3% 脂質過酸化 (MDA)

✓ アンチポリューション

屋外/屋内の汚染から保護

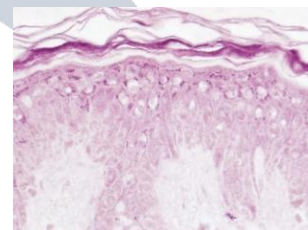
AHR vs non-treated polluted explants
(surface occupied by AHR, T5 days, %)



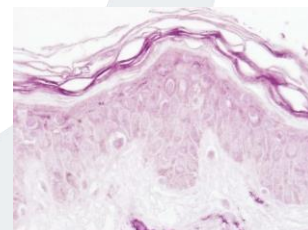
NEØCLAIR PRO™
COME TO THE CLEAR SIDE



Non-treated + pollutants
(AHR in red, T5 days)



2% Neøclair Pro™ + pollutants
(AHR in red, T5 days)



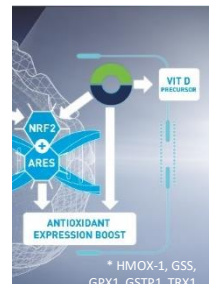
- ヒト皮膚外植片 (49 歳)
- 2% Neøclair Pro™ 配合クリーム(0, 1, 3, 4日)
- 重金属 + 炭化水素 (Pollubox®)
- Immunostaining + microscopy

AHR は汚染物質に結合し、酸化ストレス、炎症、ECM分解、脂質過酸化、糖化、メラニン形成を誘導する

- ✓ 抗酸化能増幅
- ✓ 保護

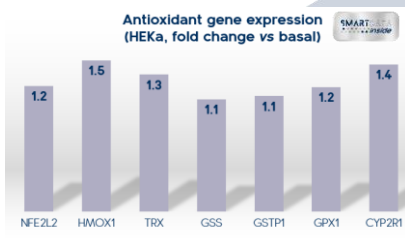


NEOCLAIR PRO™
COME TO THE CLEAR SIDE



qPCR (quantitative PCR), 0.05 mg/mL Neoclair Pro™:

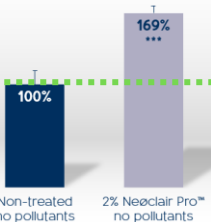
- NFE2L2 (Nuclear factor-like 2)
- HMOX1 (Heme oxygenase 1)
- TRX (Thioredoxin)
- GSS (Glutathione synthetase)
- GSTP1 (Glutathione S-transferase P)
- GPX1 (Glutathione peroxidase)
- CYP2R1 (Vitamin D 25-hydroxylase)



汚染(屋外、屋内、内因性)
からの 360° protection

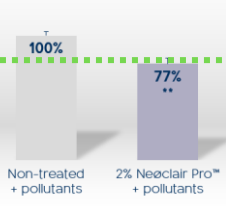
- ヒト皮膚外植片 (49 歳)
- 2% Neoclair Pro™ 配合クリーム(0, 1, 3, 4日)
- 重金属 + 炭化水素 (Pollubox®)
- 免疫染色法 + 顕微鏡

Antioxidant activation
(surface occupied by HO-1, T5 days, %)



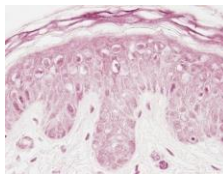
*** p<0.001 vs non-treated & no pollutants

Protection against pollution
(surface occupied by HO-1, T5 days, %)

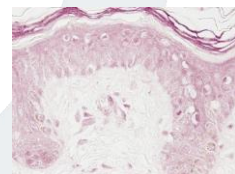


** p<0.01 vs non-treated + pollutants

Non-treated + pollutants
(HO-1 in red, T5 days)

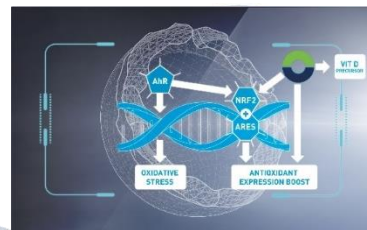


2% Neoclair Pro™ + pollutants
(HO-1 in red, T5 days)



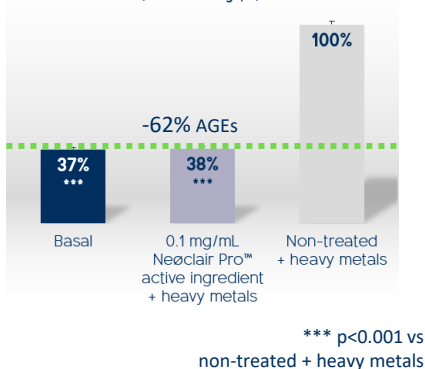
Less oxidative stress to challenge since it has first neutralized internal oxidative stress (internal pollution)

- ✓ アンチエイジング
- ✓ 抗炎症
- ✓ 保護



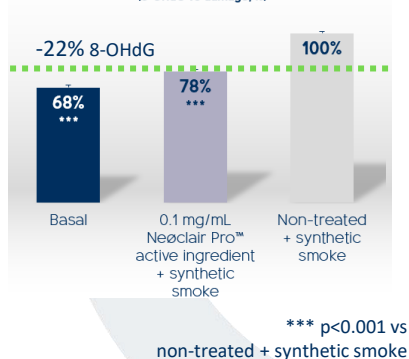
ECMファイバー、DNA、膜の完全性、皮膚構造を保護して炎症を調節する

Antiglycation protection
(AGEs vs damage, %)



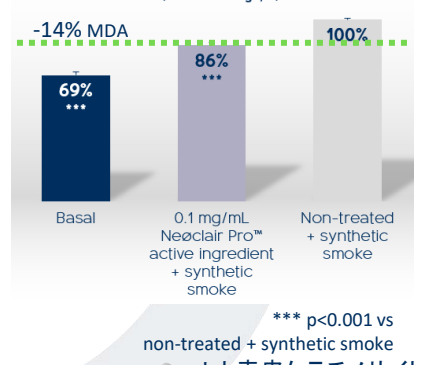
- ヒト表皮ケラチノサイト
- 重金属混合物 (Fe, Pb, Cr)
- Neoclair ProTM + 重金属で48時間
- ELISA

DNA protection against pollution
(8-OHdG vs damage, %)



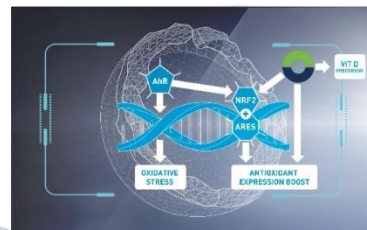
- ヒト表皮ケラチノサイト
- 人工煙
- Neoclair ProTM + 人工煙で48時間
- ELISA
- DNA酸化ダメージ用8-OHdGマーカー

Protection against lipoxidation
(MDA vs damage, %)

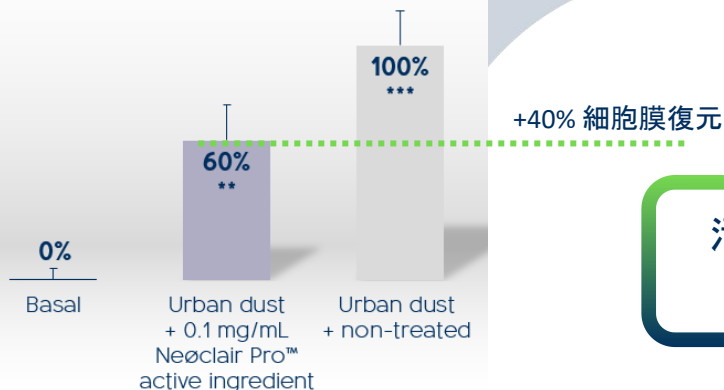


- ヒト表皮ケラチノサイト
- 人工煙
- Neoclair ProTM + 人工煙で48時間
- ELISA
- MDA は脂質過酸化によるRCS 副産物で炎症マーカー

- ✓ アンチエイジング
- ✓ 抗炎症
- ✓ 回復



Cell membrane damage
(membrane integrity after damage, %)



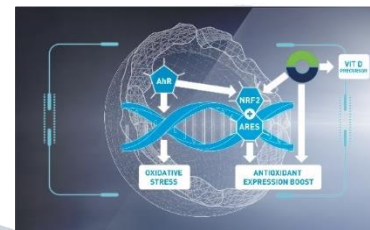
汚染物質によりダメージ
を受けた細胞の修復

*** p<0.001 vs basal

** p<0.01 vs basal

- 初代ヒトケラチノサイト
- 屋外のゴミ (72 h)
- Neoclair Pro™ powder (屋外のゴミは除去)で6h
- 免疫蛍光法 (propidium iodide; ヨウ化プロピジウム)

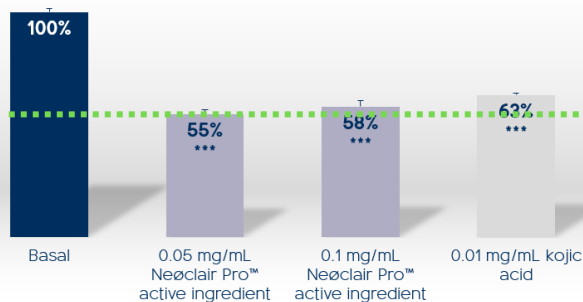
- ✓ ブライトニング
- ✓ シミ
- ✓ アンチエイジング



Brightening gene
expression
(HEKa, fold
change vs basal)



Brightening efficacy
(melanin content vs basal, %)



- qPCR, 0.05 mg/mL Neoclair Pro™ PMEL17 (Premelanosome protein)
- Melanin maturation modulator

Basal



0.001% コウジ酸



0.001% Neoclair Pro™



- ヒト表皮メラノサイト
- 11 日間
- λabs 450 nm



Welcome to the **clear** side



- ✓ Antioxidant
- ✓ Antioxidant amplifier
- ✓ 360° antipollution (outdoor, indoor, internal)



- ✓ Antiaging
- ✓ Brightening



- ✓ Dark spots
- ✓ Anti-inflammaging

Applications

NEOCLAIR PRO™
COME TO THE CLEAR SIDE

- 均一な肌のトーン
- シミを明るくする
- アンチエイジング & 予防化粧品
- 明るい肌の色

- 360° アンチポリューション 保護 & 修復
- 敏感肌やダメージ肌からの解放
- SPF 製品の補完的保護



Technical information



NEOCLAIR PRO™
COME TO THE CLEAR SIDE

○ 原料名: Neøclair Pro™ (ネオクレア プロ)

○ 生体模倣ペプチド

ANTIOXIDANT
BOOSTER

○ 推奨配合量: 2%

○ 全成分表示名称: 水、グリセリン、カプリリルグリコール、
アセチルテトラペプチド-2

DARK SPOTS

○ 形状: 液体

○ 防腐剤: なし

○ 溶解性: 水溶性



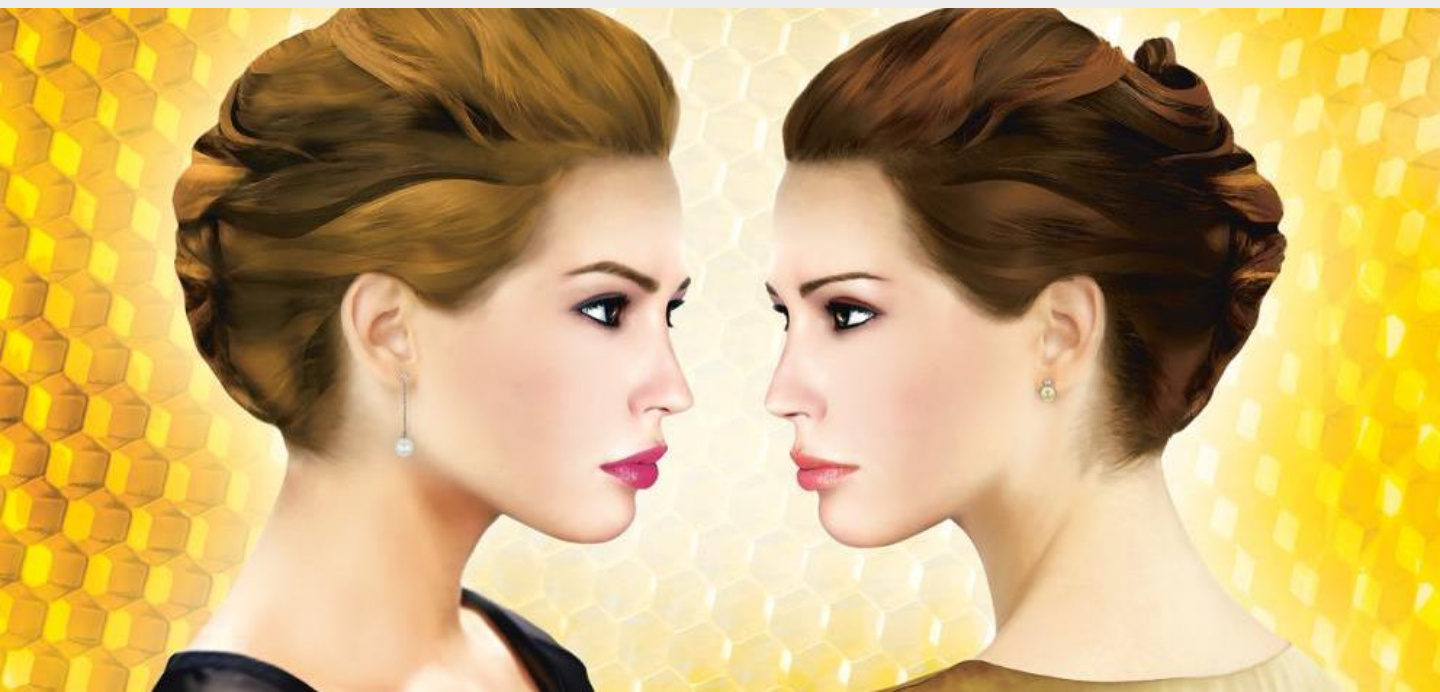


ANTIOXIDANT
BOOSTER

BRIGHTNESS

DARK SPOTS

ネオクレア プロ
NEOCLAIR PRO™
COME TO THE CLEAR SIDE



RoyalEpigen P5

エピジェネティック科学を通じた若返り

Epigenetics（エピジェネティクス）とは？

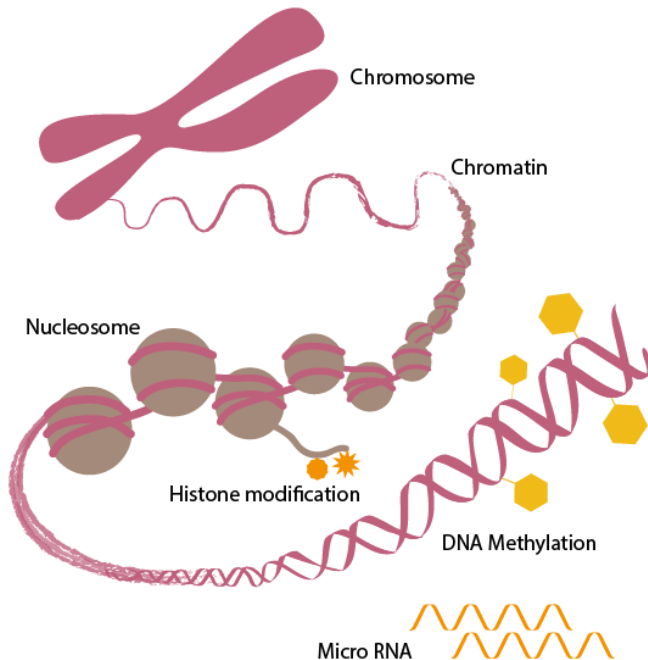
- 遺伝子学上同じでも一つの種内で異なる外観に変化する可能性がある
- 同一のゲノムを異なった読み取りや解釈を行なう可能性の裏にある科学を「エピジェネティクス」という

DNA はカラダの全てのパーツを組み立てるための命令を担っており、DNAはヒストンと呼ばれるタンパクの周りを包んでいる

エピゲノムは化学的なタグがDNAやヒストンに修飾されることで遺伝子発現を制御するゲノム上の構造によって表現することが可能である。

→ ある遺伝子を読み取り可能もしくは不能にする印

エピジェネティック制御メカニズム



エピジェネティックメカニズム

- ヒストン修飾
- DNAメチル化
- マイクロRNAs

→ 遺伝子発現をonまたはoffに/
発現向上もしくは抑制

エピゲノムはフレキシブル



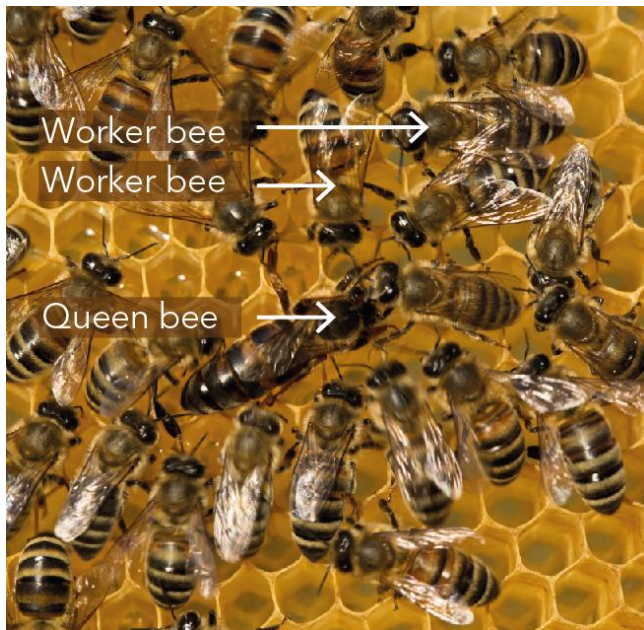
エピジェネティック修飾とは:

- 環境や外的要因（ダイエット等）による影響
- 可逆的
- 細胞分裂に伴い細胞から細胞へ移ることがある
- ある世代から次の世代へ引き継がれることもある

→ エピゲノムはフレキシブルである（反対に残りのゲノムは生命のために固定されたままである）

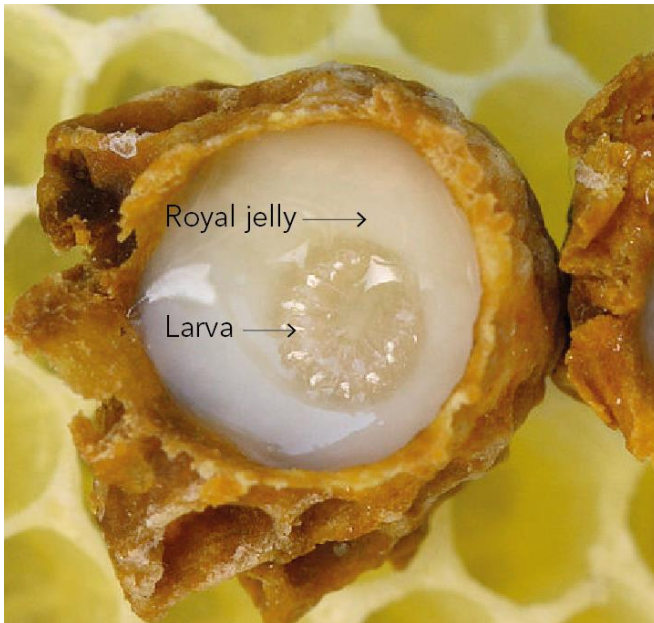
例: エピゲノムは同一の双子でさえわずかな違いを生じさせる

Bees（ハチ）におけるエピジェネティクス制御



- 全てのメスのミツバチは同一のDNAを共有。かれらは互いのクローンである。
- 異なるフェノタイプ
(働き蜂と女王蜂)
- フェノタイプにおけるエピジェネティックな変化は食性にのみ依存する

Royal Jelly は女王を作り出す



女王蜂の幼虫はピュアなローヤルゼリーを接種するのに対して、働き蜂は3日後のローヤルゼリー、花粉、ネクターを接種する

→ 女王蜂: 長寿 (働き蜂の寿命の10倍), カラダのサイズも大きく繁殖可能

→ ローヤルゼリー は幼虫のDNA中でエピジェネティック変化を引き起こして女王蜂の表現型をつくりだす

Royalactin（ロイヤラクチン），ローヤルゼリー中の女王蜂誘導物質

- ローヤルゼリー: 抗菌や抗生物質だけでなくタンパクや糖、脂肪酸、ビタミンBを含んだ混合物
- 2011年に日本の科学者が蜂の幼虫の進化におけるローヤルゼリーの効果は**Royalactin**と呼ばれるタンパクによるものであると発見
- Royalactin は **Epidermal growth factor (EGF)** 受容体や他のシグナル経路と相互作用する → エピジェネティック効果。EGF受容体の活性化は組織再生を促進する
- Royalactin はプロテアソーム（Proteasome）の活性化（ダメージを受けたタンパクの再生）とタンパクのNeosynthesisを通じてターンオーバーを向上させる



年齢と共に, EGF 活性は減少して創傷治癒能力は衰えていく

RoyalEpigen P5 - Royalactinをベースとした新規かつ生体模倣ペプチド

Challenge:

- Royalactin は分子が大きすぎるため肌に浸透しない!
- Royalactin タンパクは不安定で非常に早く分解してしまう

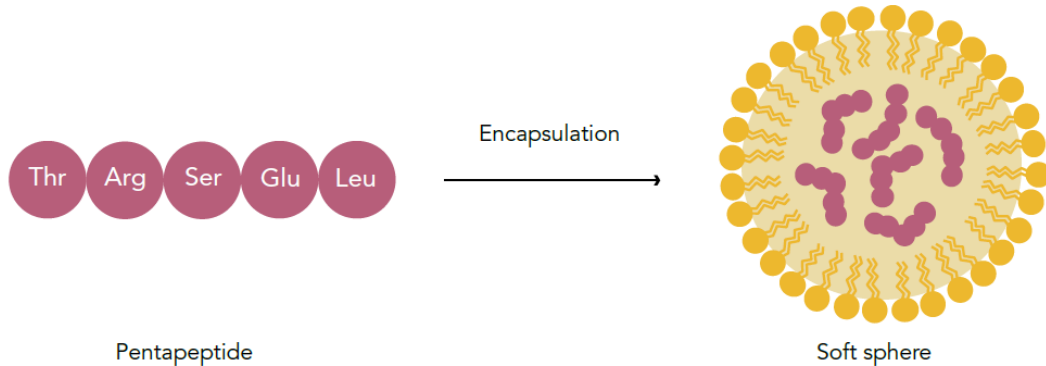
Solution:

- Mibelle Biochemistry は Royalactin の活性配列をコピーしたペプチドを開発 → RoyalEpigen P5
- アルギニンをベースとして高度に保護されたドメイン（EGFやTGF- α といったヒト成長因子のようにEGF受容体への異なるリガンドによってシェアされるドメイン）に一致した5アミノ酸

Result: “Queenmaker” royalactinをベースとしたペプチド – RoyalEpigen P5



生物学的に活性にするためのカプセル化



シア脂を用いたソフトな球状キャリアシステムに導入

- 肌への浸透を向上
- ケラチノサイトによる取り込みを向上
- 放出をコントロールしたデリバリー
- ペプチドは処方中で分解から保護される

RoyalEpigen P5 組成

RoyalPeptide P5 (TRSEL)	0.014%	
Glycerin		33%
Shea Butter	13%	
Hydrogenated Lecithin	2%	
Sensiva PA	1%	
Maltodextrin	0.03%	
Water		ad 100%

INCI (EU-Declaration / PCPC-Declaration)

Pentapeptide-48 (and) Hydrogenated Lecithin (and) Glycerin (and) Butyrospermum Parkii (Shea) Butter (and) Phenethyl Alcohol (and) Ethylhexylglycerin (and) Maltodextrin (and) Aqua/Water

全成分表示名称

ペンタペプチド-48, 水添レシチン, グリセリン, シア脂, フェネチルアルコール, エチルヘキシルグリセリン, マルトデキストリン, 水

組織再生の加速

細胞

正常ヒト表皮ケラチノサイト (NHEK)

試験品

RoyalEpigen P5 (0.011% と 0.033%)

EGF (ポジティブコントロール)

試験準備

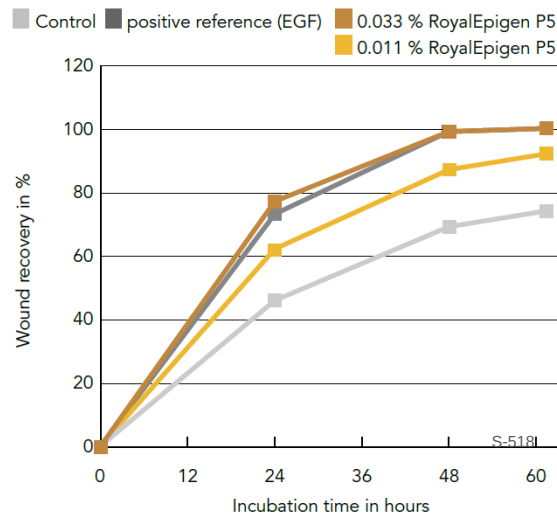
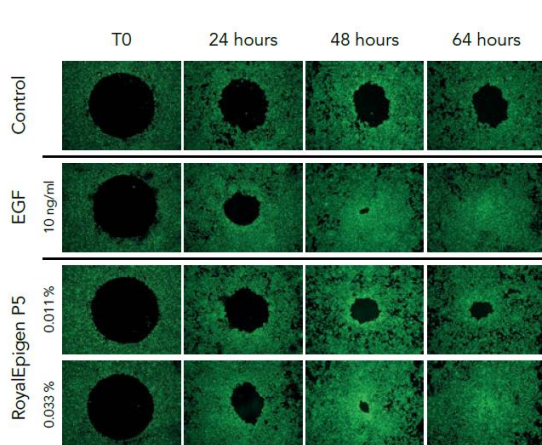
ストッパーをウェルの中心にセットしてウェルに細胞をまく
→ cell-free 領域 (= 人工的創傷部分)。完全に細胞が接着した後, ストッパーを取り除きテスト物質を培地中へ添加もしくは未添加する。

検出

染色したケラチノサイトを撮影

S-518

創傷部分の細胞遊走と増殖の向上

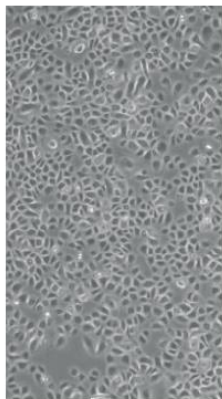


All values were statistically significant compared to control.

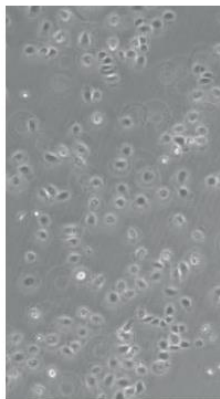


RoyalEpigen P5 stimulates cell migration and proliferation after tissue injury
→ skin recovers its integrity more quickly

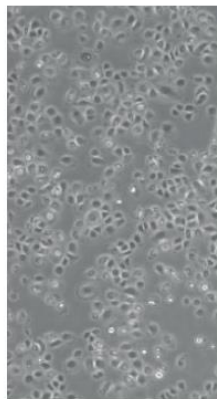
老化状態での細胞増殖の向上



Control
(classic medium)



Pro-aging
medium



Pro-aging medium
+ 0.008 %
RoyalEpigen P5

細胞

初代ヒトケラチノサイト

試験品

RoyalEpigen P5 (0.008%)

試験準備

ケラチノサイトを老化培地中で培養
+/- RoyalEpigen P5 (通常の培地中のコントロールも準備)

測定

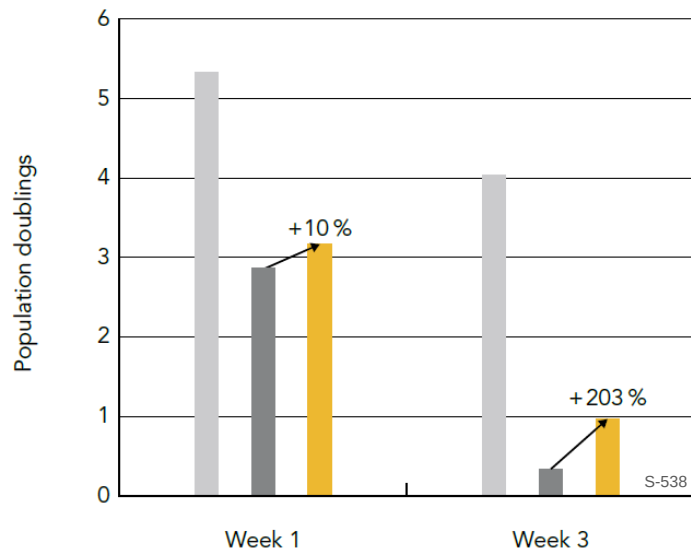
3回継代 (3週間) させて細胞数を増やして観察



RoyalEpigen P5 老化過程にかかわらず細胞増殖活性を維持させる

老化状態での細胞増殖の向上

■ Classic medium ■ Pro-aging medium ■ 0.008 % RoyalEpigen P5



RoyalEpigen P5 は老化した
ケラチノサイトの増殖を向
上させる

+10 % (1週間後)

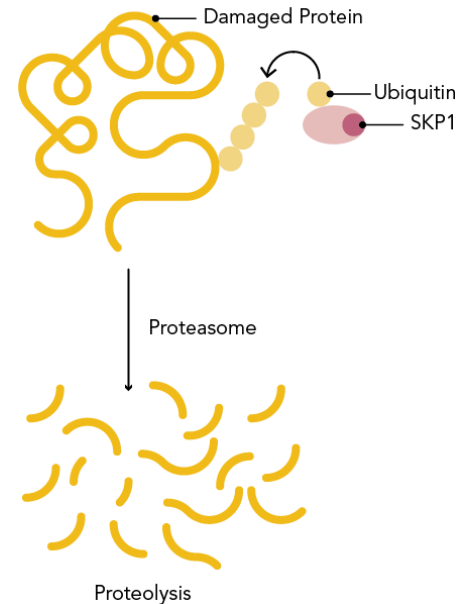
+23 % (2週間後)

+203 % (3週間)

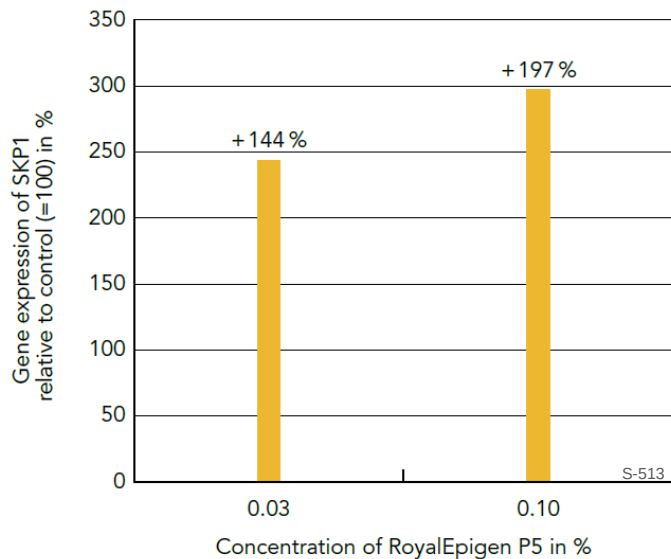
Royalactin はプロテアソームによって古いタンパクの除去を活性化

- SKP1 はタンパク質をコード (ユビキチンリガーゼの構成要素)
- 傷ついたタンパクにSKP1 タグ→ 細胞自身のクリーニング機能であるプロテアソームによる認識が可能となる
- 傷ついて酸化されたタンパクが分解される
- プロテアソームの活性は老化に伴い衰える

→ 酸化されたタンパクの蓄積は肌の色をくすませる。プロテアソーム機能を活性化することによりタンパクの廃棄除去を向上させることで老化効果を妨げる



SKP1 活性を通じてプロテアソーム刺激



細胞

正常ヒト表皮ケラチノサイト (NHEK).

試験品

RoyalEpigen P5 (0.03 % と 0.1 %)

24時間処置

測定

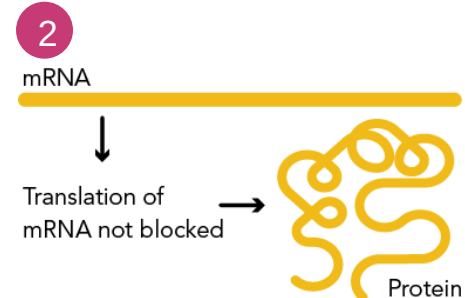
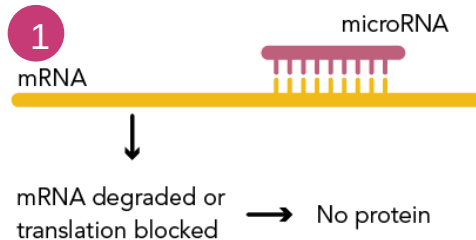
RT-qPCRによるSKP1 遺伝子発現



濃度依存的にSKP1 発現を向上

RoyalEpigen P5 はエピジェネティックメカニズムにおけるインパクトをもつ

- microRNAs (miRNAs) は小さい一本鎖のヌクレオチド鎖
 - miRNAs は転写後に遺伝子発現を制御 → エピジェネティックメカニズム
 - miRNAはmRNA分子内の相補配列とのベースペ어링を通じて機能する → コードされた遺伝子は発現が停止される（サイレンシング） → タンパクは産生されない (1)
- 肌の若さに重要なタンパクを標的とするmiRNAsの下方制御は老化した肌細胞に有益 (2).



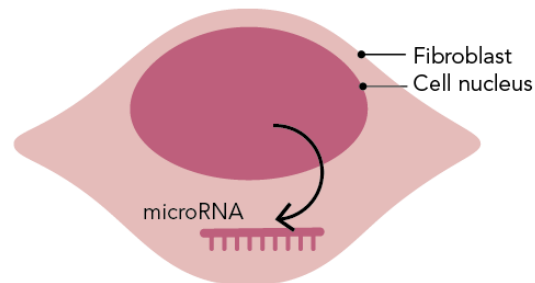
RoyalEpigen P5 はエピジェネティックメカニズムにおけるインパクトをもつ

試験デザイン

細胞種: 老化したヒト初代真皮線維芽細胞 (passage 18)

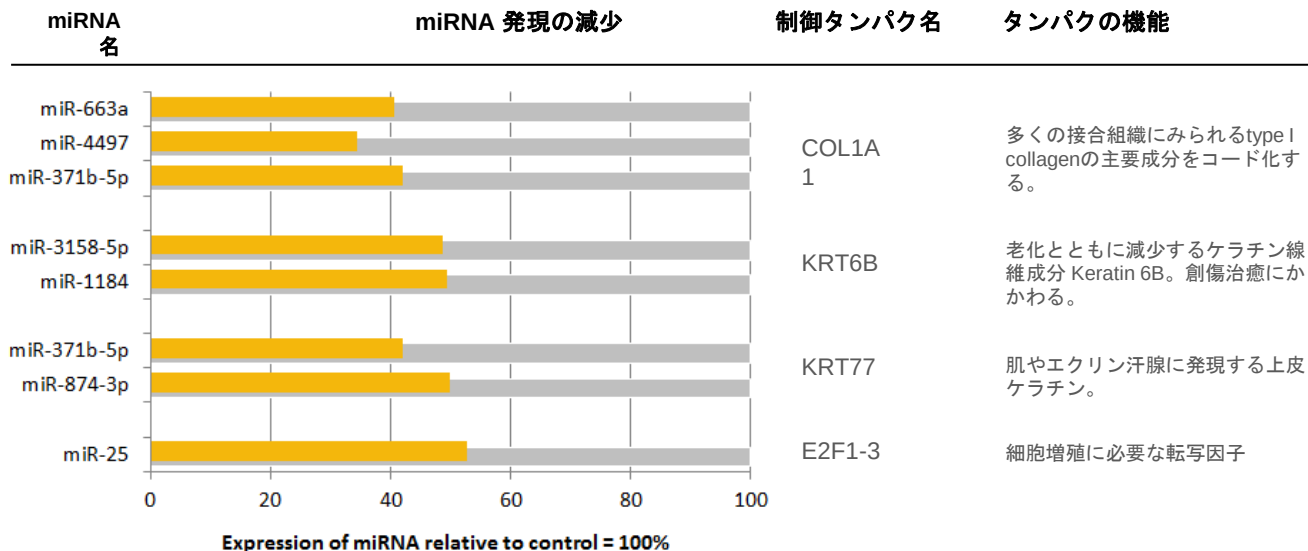
試料: 0.1% RoyalEpigen P5, コントロール (処理なしでの細胞培養)

分析: 線維芽細胞からの miRNA の抽出と単離。MicroRNA arrayを使用。



全microRNAsの発現レベルを測定し、著しくmiRNAsの発現が変化した標的タンパクを検出

RoyalEpigen P5 は重要な肌タンパクの産生を再活性化する



肌老化にかかわる複数の miRNAs が下方制御された
→ RoyalEpigen P5 は老化した肌細胞にポジティブなエピジェネティック効果をもつ

In Vivo 試験

試験品: クリーム + 2% RoyalEpigen P5, プラセボ

被験者: 20名 (白人, 女性, 40-60 歳), 肌のトーン/色が不均一

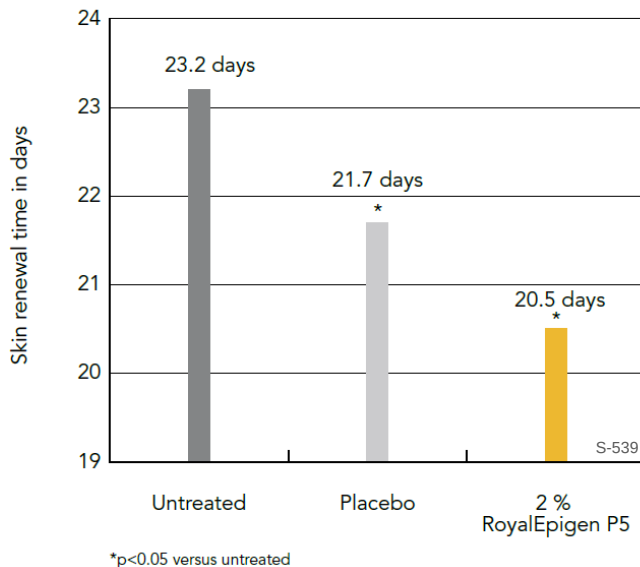
使用: 1日2回を28日間, 56日間 (28日後に1日空ける)

領域: 前腕内側 / 顔 (顔は肌のトーンを均一にする試験のみ)

パラメーター:

- 角質層の再生期間
- 肌の滑らかさ
- 肌のトーンの均一性

肌再生の向上



Day 1-28: 2% RoyalEpigen P5 含有クリームとプラセボクリームを通常通り使用

Day 28: 角質層を接着パッチを使用し 5% 塩化ダンシルを24時間染色して蛍光を評価

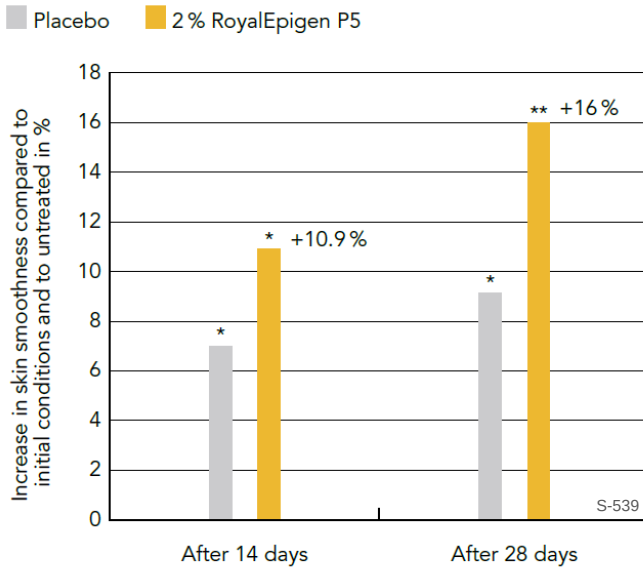
Day 29-56: 2% RoyalEpigen P5 含有クリームとプラセボを通常使用

Day 43-57: 肌再生の読み出しとして蛍光シグナル減少の通常評価



未処理と比較してほぼ 12% (3 日間), プラセボと比較して6% 肌再生期間を減少

滑らかにする効果



*p<0.05 versus untreated

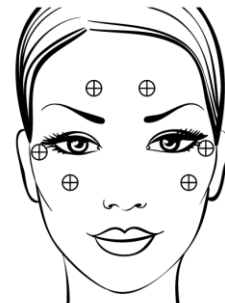
**p<0.05 versus untreated and placebo



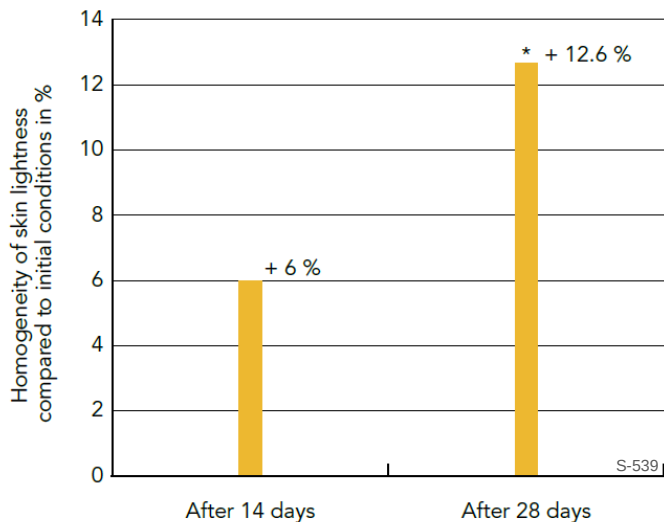
28日後に +16% 滑らかさが向上

被験者の100%で有意な効果が観察された

肌の均一性を向上



■ 2 % RoyalEpigen P5



*p<0.05 versus initial conditions

パラメーター
肌の明るさ L*
(顔面の 6 箇所を測定)
→ 6 L* 値の標準偏差
= 肌のトーンの均一性の測定
標準偏差↓ = 肌の均一性↑



RoyalEpigen P5 は顔の肌の均一性を著しく向上させる。
その効果は被験者の80%で観察された。

RoyalEpigen P5

訴求点



- より均一な肌に見せる
- 肌を滑らかにするための表皮再生を加速させる
- 細胞のクリーニング過程を活性化
- エピジェネティック科学の新たな発見を応用することにより細胞老化を遅らせる

RoyalEpigen P5 応用



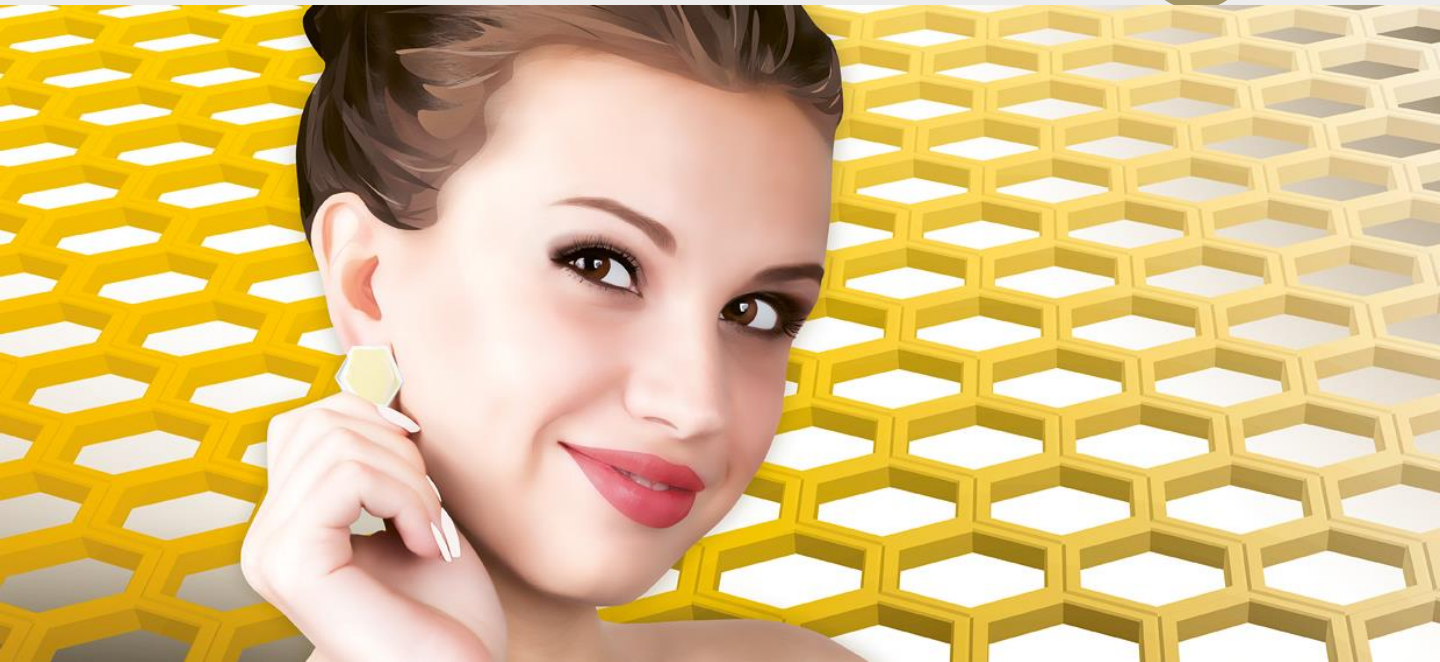
- 肌再生クリーム
- リペア美容液
- 輝度ブースター
- CC (Color Control) クリーム

推奨配合量 : 2 - 3 %

RoyalEpigen P5 マーケティング上の利点



- エピジェネティック科学に基づいた最新アンチエイジングコンセプト
- 進化したレベルでこの宝を取り出すことで化粧品においてローヤルゼリーのサクセスストーリーを継続させる
- 生体模倣ペプチドにより肌を若返らせる
- 均一かつ滑らかな肌のために細胞メカニズムを活性化
- 新たに発見されたローヤルゼリーペプチド Royalactinの機能を応用した初めてのアクティブ原料



Black BeeOme™ (ブラック ビーオーム)

Black bee honey ferment to
restore the skin's natural microflora

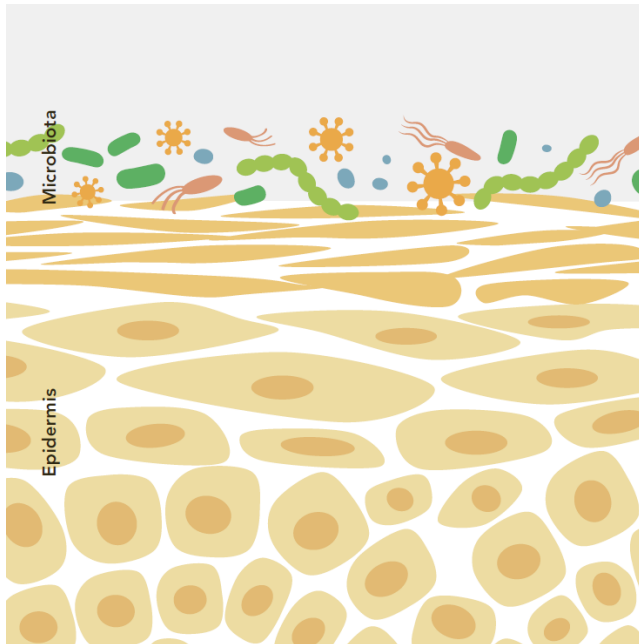


Skin Microbiome



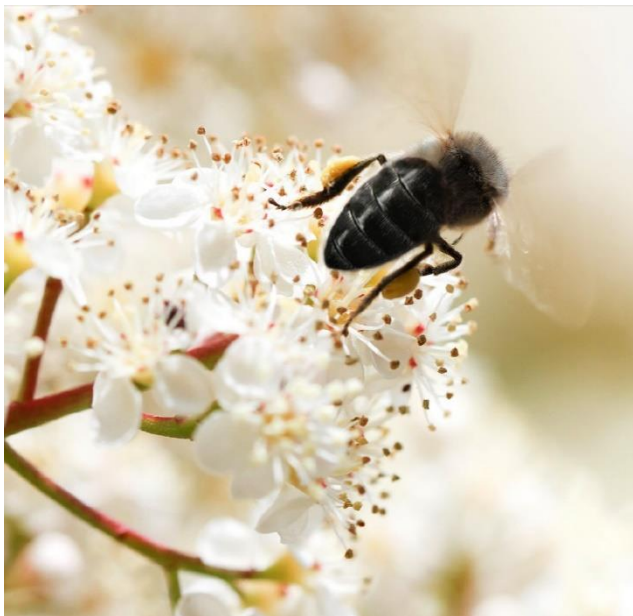
- 我々のからだのmicrobiome（微生物叢）は我々の健康や幸福にとって非常に重要なファクターである
- 肌の微生物叢は乾癬やアクネのような病気だけでなく、肌老化、バリア機能、肌の健康状態にまで影響を及ぼす
- 菌の量や種類は人によって異なるだけでなく、部位によっても異なる
→ 多様性は良いこととされ、必ずしも”良い”菌と”悪い”菌が存在するわけではない

Skin Microbiome



- 我々の肌のbiomeコンセプトにおいて、通常の下況下では個人の肌の微生物叢は良好で相互作用の必要性はない。
- しかしながら頻繁な洗浄、汚染物質、化粧品中の防腐剤や強力な日光照射は肌の微生物叢のバランスを崩す。

Black BeeOme™ と Skin Microbiome（肌微生物叢）



- ハチミツは古代から食品や化粧品で高い価値があるものとされてきた。
- Black BeeOme™ はレアな黒い蜂 *Apis mellifera mellifera*によって產生され、*Zymomonas mobilis*というバクテリアで発酵させた非常に貴重なハチミツのエリクサー（万能薬）である。
- Black BeeOme™ はストレスを受けた後でも肌の微生物叢を回復させ、健康で透き通ったきれいな肌へ導きます。

European Dark Bee (*Apis mellifera mellifera*)



Apis mellifera mellifera
The ancestor of our
honeybees.

Apis mellifera ligustica
The Italian bee, most
abundant honey bee in
the world.

- 最後の氷河期の後、Dark bee (クロバチ ; *Apis mellifera mellifera*) はアルプスの北部に定住した。
- その過程の中で在来種が進化した。スイスにおいてこの種がblack bee (*A. m. m. nigra*)である。
- ここ150年で“普通の”ミツバチがblack beeの生息地の多くを奪っていき、現在は保護されたごく少数のみが生きている。
- 多くの国で絶滅したか絶滅危惧の状況となっている。

Swiss Black Bee



近年のハイパフォーマンスなミツバチと比較してblack beeは

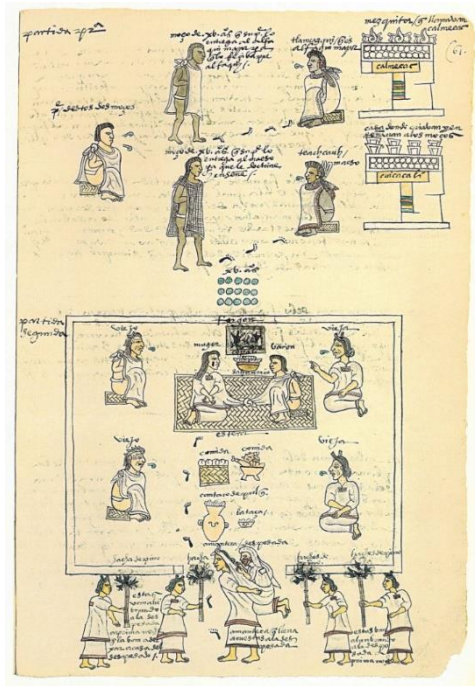
- 非常に穏やか
- 小さなコロニーで生きている
- 非常に 強靱である(著しい耐寒性)
- 働きバチや女王バチが高い長寿性をもつ
- 蜂を攻撃して世界の蜂の数の減少の一因となったダニであるVarroa（バロアダニ）への免疫を持つ可能性がある。

Swiss Black Bee



- スイスではblack beeは生態学的かつ経済的、文化的に重要視されている
- スイスの至る場所で少数の保護されたネイティブなblack beeが存在する。
- Black Beeが保護されているスイスの様々な渓谷からBlack BeeOme™を開発するためにハチミツを集めた。

発酵させたBlack Beeハチミツ



- Black BeeOme™ のために black bee由来のハチミツを *Zymomonas mobilis* で発酵させた。
- *Zymomonas mobilis* はエタノール産生菌でアステカ族によって1,000年以上Pulque（プルケ；酒）をつくるために利用されていた。
- *Zymomonas mobilis* は唯一複合糖類を無傷の状態にしたままハチミツ中のスクロース、グルコース、フルクトースを発酵させることができる。

→ ストレス後に肌の微生物叢を回復させる補助のための混合物

Black BeeOme™

成分構成

全成分表示名称

Black BeeOme™ (通常タイプ；液体):

(Honey + Zymomonas Ferment) Extract (申請中)、エタノール、水

Black BeeOme™ pwd (粉末タイプ, 2倍濃縮品):

(Honey + Zymomonas Ferment) Extract (申請中)、マルトデキストリン、水

※(Honey + Zymomonas Ferment) Extractの表示名称は「ハチミツエキス」と「ザイモモナス培養エキス」の2つに分離して使用も可能

推奨配合量: 1 – 2%



洗浄後の肌微生物叢の再コロニー化

荒い洗浄は肌の微生物叢へ有害な影響を及ぼす。肌の自然な微生物叢の再構築には非常に時間がかかる。→ Black BeeOme™がこの回復過程をサポートする能力を調査

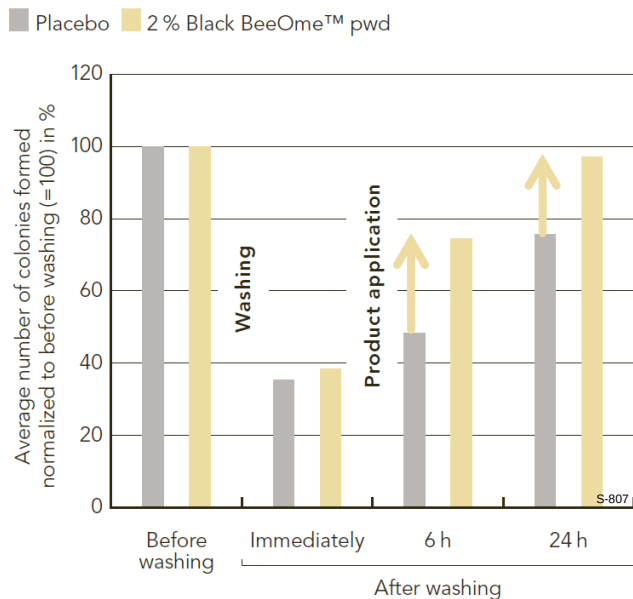
被験者: 7名 (男性3名, 女性4名), 17 - 38 歳

試料: 2 % Black BeeOme™ pwd, placebo

使用: 肌の微生物叢を剥がすためにエタノール/SDS混合液で肌を洗浄した後1回塗布

パラメーター: 接触板上の肌微生物叢コロニーの数

洗淨後の肌微生物叢の再コロニー化



- 荒い洗淨は肌の微生物叢へ有害な影響を与える
- Black BeeOme™ pwdを使用した場合は荒い洗淨の後の肌微生物叢の回復が早かった



洗浄ストレス後の肌パラメーターの回復

荒い洗浄は肌の微生物叢を破壊し肌機能へダメージを与える → 肌バリア機能の回復を強化するために肌の微生物叢を保護

被験者: 22名 (女性16名, 男性6名, 29 – 69 歳)

試料: Gel with 1 % Black BeeOme™ pwd, placebo

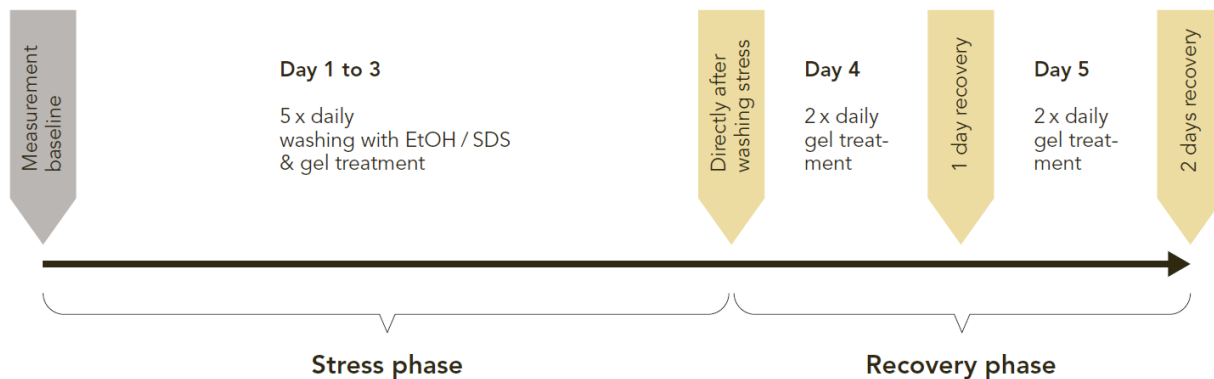
使用:

Day 1 - 3 (stress phase): 肌の微生物叢を剥がすためにエタノール/SDS混合液で肌を1日5回洗浄 & ゲルを塗布

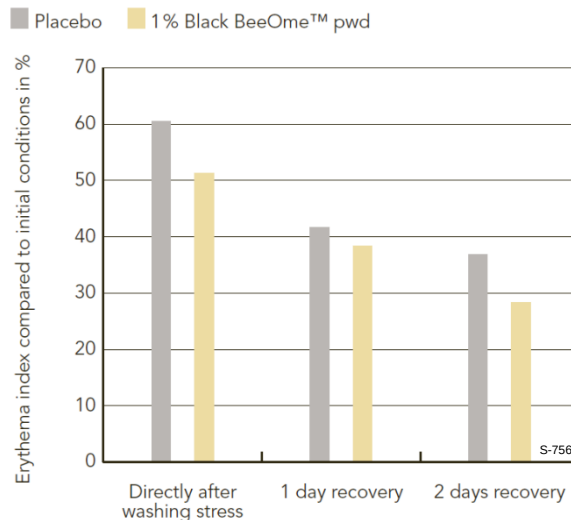
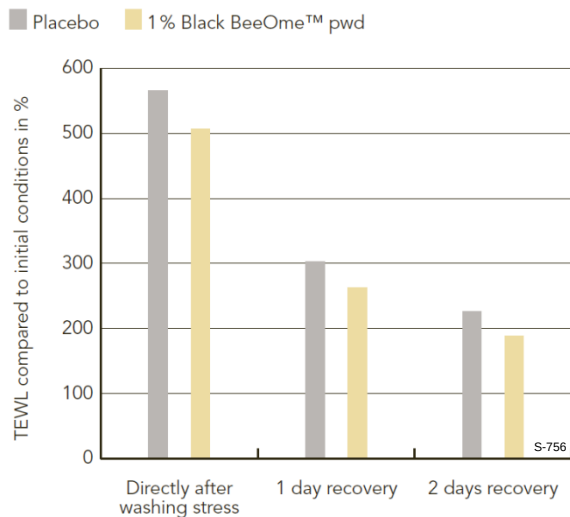
Day 4 - 5 (recovery phase): 1日2回試料を塗布

パラメーター: TEWL と erythema (紅斑)

洗滌ストレス後の肌パラメーターの回復



洗淨ストレス後の肌パラメーターの回復



1 % Black BeeOme™ pwd ではプラセボと比較して洗淨ストレス負荷後のTEWLと赤みが低く、回復も優れていた



不潔な肌の肌バリアと全体的な改善

バランスの良い肌微生物叢は透明できれいな肌外観をサポートする → ランダム化したプラセボ比較臨床試験によって不潔でオイリーな肌でのBlack BeeOme™ pwdの効果を調査した

被験者: 23名 (女性, 白人, 19 - 57 歳), 不潔、オイリー、トーンが不均一な肌

試料: Gel with 1 % Black BeeOme™ pwd, placebo

使用: 前腕と顔（片側）へ1日2回

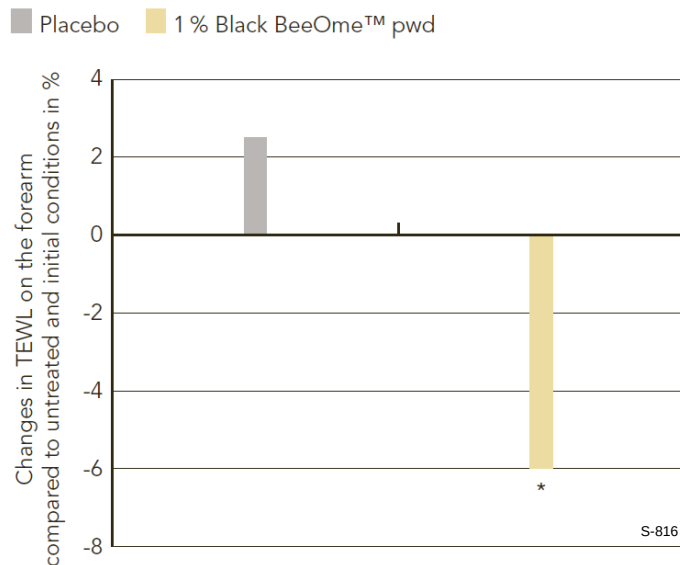
前腕は肌へストレスを与えるためnon-hydrating shower gelで1日1回洗浄

パラメーター: 前腕のTEWL (Tewameter)

顔面の皮脂 (sebumeter® SM 815)

顔の肌の均一性 (顔写真の肌色を臨床学的に評価)

2週間後のTEWLの改善



*p<0.01 versus initial conditions



1 % Black BeeOme™ pwd ではnon-hydrating shower gelで毎日前腕を洗っているにも関わらずプラセボと比較してTEWLの著しい改善が見られた

2週間後の皮脂産生と肌の均一性の改善

■ 1 % Black BeeOme™ pwd



1 % Black BeeOme™ pwdでは皮脂産生と肌の均一性が改善した

皮脂産生や肌の均一性の視覚的改善

Before



After 2 weeks



S-816/ © Mibelle Biochemistry



皮脂産生と肌の均一性の改善



シートマスクを用いた都市での不潔な肌の改善

肌微生物叢における汚染物質のネガティブな影響の結果により、大気汚染は不潔、オイリー、炎症性の肌の主因子として認識されている。

→ 都市での様々な肌パラメーターの改善におけるBlack BeeOme™の効果を調査

→ バンコクにて不潔かつオイリーな肌をもつ女性被験者へ臨床試験を実施

被験者: 22名 (女性, アジア人, 19 - 41 歳), べとついた清潔でない肌

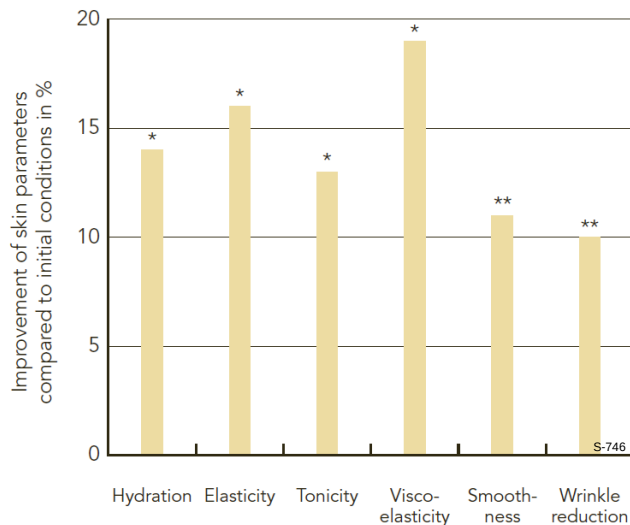
試料: 2 % Black BeeOme™配合のシートマスク

使用: 夜に1日1回、3日間使用

測定: *即時効果:* 1日目の最初の使用から15分後
3-day-効果: 3日間使用した翌日（4日目）の朝

シートマスクを用いた都市での不潔な肌の改善

■ 2 % Black BeeOme™



*p<0.05 versus initial conditions

**p<0.0001 versus initial conditions

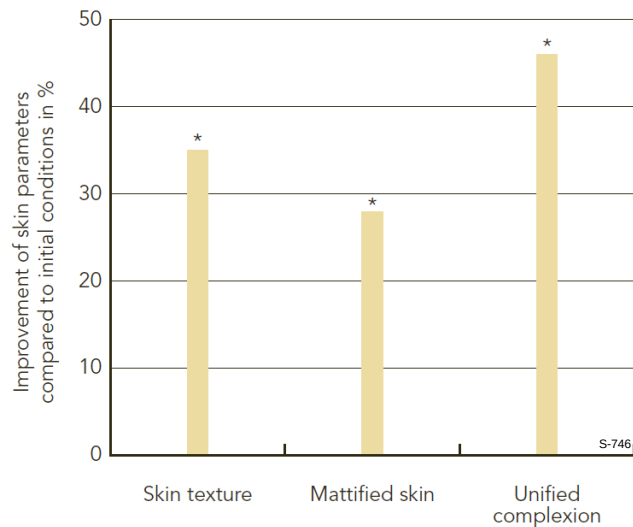


即時効果 15 min:

Hydration, elasticity, tonicity, visco-elasticityでの著しい向上とsmoothnessの著しい改善、シワの減少

シートマスクを用いた都市での不潔な肌の改善

■ 2 % Black BeeOme™



*p<0.001 versus initial conditions

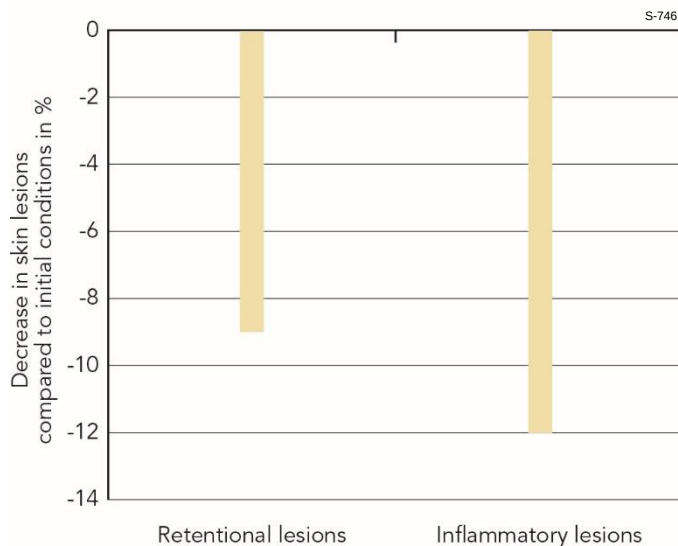


毎日の使用での3日後、
2 % Black BeeOme™ は下記を著しく改善した

- 肌の質感 (texture) +35 %
- 肌の外観をマット感 +28 %
- 肌ツヤ、肌色を均一性 +46 %

シートマスクを用いた都市での不潔な肌の改善

■ 2 % Black BeeOme™

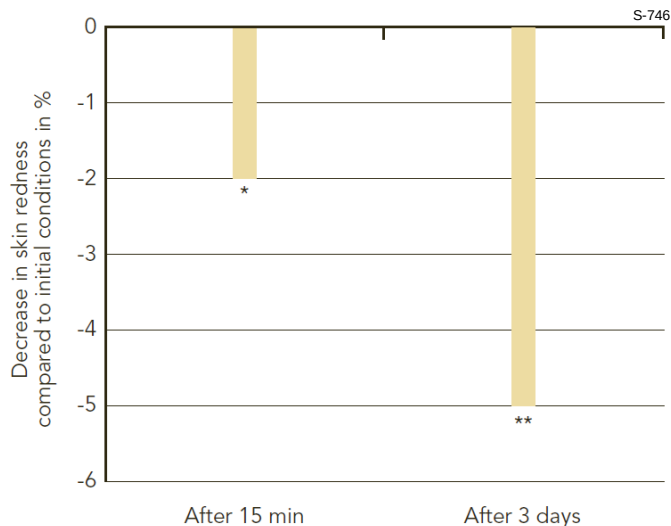


毎日の使用での 3日後、
2 % Black BeeOme™ は下記を減少させた

- 炎症性損傷 12 %
- 保持的損傷 9 %

シートマスクを用いた都市での不潔な肌の改善

■ 2 % Black BeeOme™



*p<0.001 versus initial conditions

**p<0.0001 versus initial conditions



2% Black BeeOme™での肌の赤みの著しい減少:

- 15分後に 2 % 減少
- 3日後に5 % 減少

シートマスクを用いた都市での不潔な肌の改善

自己評価質問表の分析では統計的に下記のことが判明した:

被験者の100 %が同意またはやや同意:

“肌を柔らかく快適な状態で維持”

被験者の95 %が同意またはやや同意:

“肌のテカリが抑えられた”

“肌が再びバランスを取り戻したように思う”

“肌がきれいに (pure)なったように思う”

被験者の91%が同意またはやや同意:

“過剰な皮脂が減った”

“製品が肌を清潔で新鮮な状態に保たせた”

“肌を長時間テカリなくマットな状態に維持した”

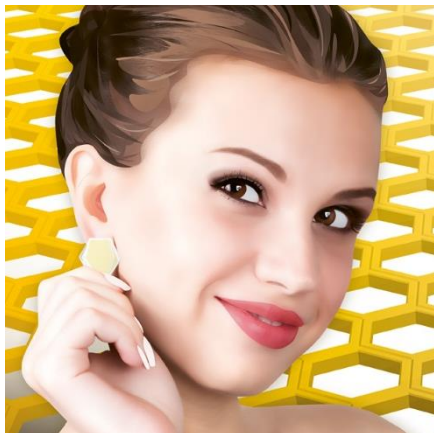
Black BeeOme™

訴求

- 皮脂産生を抑えてマットで綺麗な肌へ
- 洗浄後の肌微生物叢を再生
- 肌バリアの保護と強化

用途

- シートマスク
- テカリ抑制スキンケア
- Anti-blemish処方
- 敏感肌ケア



マーケティング上の利点

- 希少で極めて耐性に優れたスイスの蜂によるハチミツ
- ハチミツは長い伝統をもつスキンケア用の貴重な原料
- 正常な肌微生物叢への回復をアシスト
- 効果確認済みのシートマスク処方あり

ポウセイル
PAUSEÎLE™
A RETREAT FOR YOUR SKIN





Marine bio-research, more than water

- Ocean, 地球の活力源, はたった5%探索されただけであり, まだまだ未開発の部分が多い
- 海の深さや海風によって, 海の刺胞動物や 陸上の塩生植物等様々な独特な種が存在する
- 研究機関と協力し, LIPOTRUE社は新規アクティブ原料用の制限のない素材として微生物の独自のコレクションを所有している

22,000 以上の微生物が存在



Malaspinga
Expedition



Mediterranean
Expedition



Marine cnidarian



Halophyte
Plants*



Extreme aquatic
environments

...さらに**本当**の新規性のあるアクティブ原料はまだ公表されていない



Malaspina expedition, inspired by history

1789年の最初の探検に刺激され, 海洋学調査船で世界中の旅に出航

- ≥ 42,000 海里以上の国際水域
- 350 以上の海水サンプルを採取
- 120 以上の未知の菌株を単離
- 異なる深さ, 温度, 塩分濃度と酸素レベル



Courtesy of CSIC: Malaspina expedition, 2010



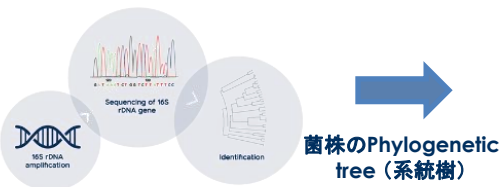
The journey of a strain to become a product

菌株の分類 & 同定

- HTS分析での **MALDI-TOF MS**と**16S ribosomal RNA**シーケンス解析による単離した株の分類と同定
- **メタボロミクス**(代謝学)による抽出物の評価と特性評価

Smart Dataへの変換

- **トランスクリプトミクス**(転写学)を用いて抽出物の効能を分析
- **飛びぬけた効能をもつ新規アクティブ原料**を得るための**Smart data**
- 2つの戦略:
 - 原料の作用**メカニズム**の同定
 - 特定の作用**メカニズム**に対するベストな**アクティブ原料**を決定





Pauseîle™, a retreat for your skin

Pauseîle™ はMalaspina 探索中にモーリシャス島(インド洋)で回収された微生物由来のアクティブマリン化粧品である



水が砂を4,000m以上の深さの奈落の底まで押し下げ、印象深い水中の滝を作り上げた

微生物は下記条件から回収:

深さ: 3 m

水温: 25 °C

酸素レベル: 3.5 $\mu\text{mol/L}$



Pauseîle™, a retreat for your skin

肌水分を密封し、softness と radiance を修復する保湿効果を通じてあなたの真の美しさをリセットさせる

- 肌の輝きをリセット (7日間で +40%, *in vitro* と *in vivo*)
- 肌バリアを密封 & 水分をブースト (24時間で+14%, *in vitro*, ヒト肌外植片, と *in vivo*)
- 肌弾力を回復 (*in vitro* と *in vivo*)





A worth and needed reset

- あなたの肌は水分、ツヤや柔軟性を回復するために休息が必要



Let yourself submerge in a moisturizing experience
to make peace with your skin for a new beginning

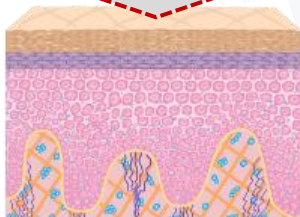


Hydration matters

Stratum Corneum (SC; 角質層) は効果的な生物学的バリアで表皮の透過性やホメオスタシスを制御する

- ストレス
- 睡眠不足
- 外的湿度変化
- 石鹸

↓ 脂質レベル
↑ pH
↓ バリア機能
↑ TEWL



↑ 水分喪失
↓ 水分保持





The brick & mortar model

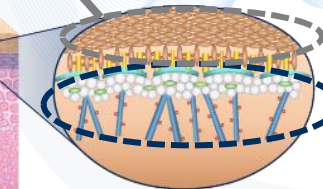
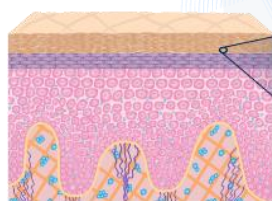
ケラチノサイトは基底層からSCへの旅の中で分化する

➔ **Cornification (角化) / keratinization (角質化)**

- **角質層** は 最終分化した死んだ角化した扁平した角質細胞(モルタル状)からなる

脂質二重層 (lipid envelope) のモルタル中に埋め込まれている

➤ SC 組織のためのレンガ、モルタルモデル

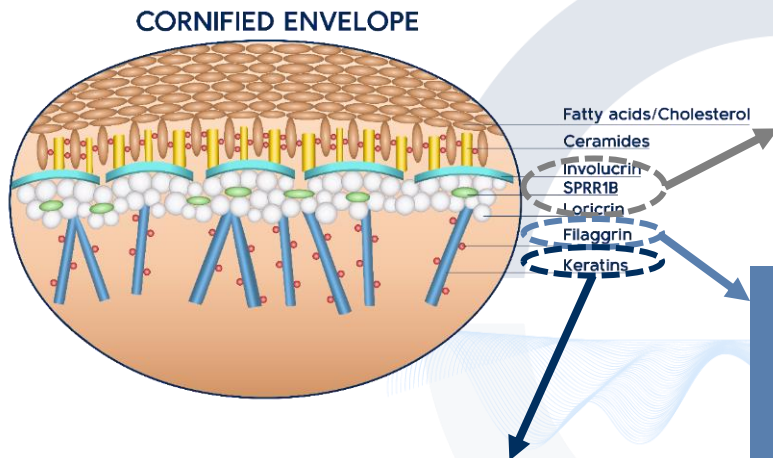


Cornified envelope (角化膜; タンパク)



Proteins in the cornified envelope

角質細胞はケラチンとNMF分子で満たされている



● 角化膜を強化するために
合成、クロスリンクされる



✓ 表皮構造 & バリア機能

● 角化中のプロテアーゼによる破壊



吸湿性の NMF



✓ 水分のひきつけと保持
✓ 肌の酸性 pHの維持

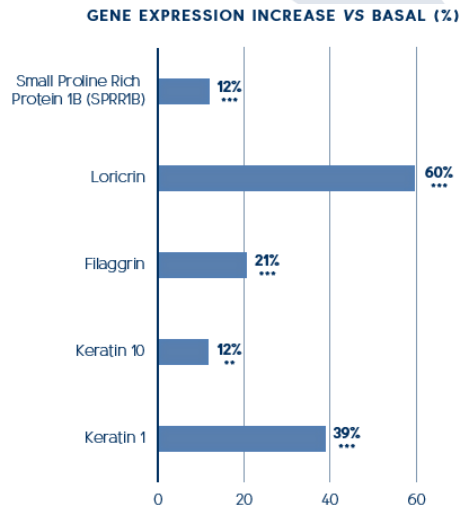
✓ SC 柔軟性 & 復元力
✓ 水への結合
✓ バリア機能修復



In vitro efficacy: transcriptomics by Dermoarray (fluorescence)

- 初代ヒト表皮ケラチノサイト
- 0.05 mg/mL **Pauseîle™***
- 24 時間インキュベート
- 肌細胞で発現する600遺伝子

- ✓ **Loricrin と SPRR1B 遺伝子の
上方制御→ Cornified
envelope (角化膜)を形成**
- ✓ **Filaggrin 遺伝子発現の上昇
→Filaggrinの破壊でNMF 分
子が創出される**
- ✓ **Keratin遺伝子の誘導→柔軟
性と復元力を提供**



**p<0.01

***p<0.001

1

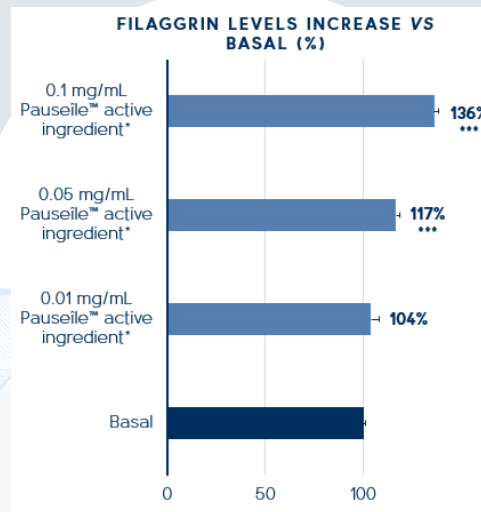
- Microarrays can be used to study the extent to which certain genes are turned on or off in cells and tissues



In vitro efficacy: hydration enhancement (ELISA)

- 初代ヒト表皮ケラチノサイト
- 48時間インキュベート
- 吸収 (405 nm)

- ✓ **36% Filaggrin 上昇**
(0.1 mg/mL vs basal) → 表皮構造を強化して肌水分を維持
- ✓ **Dose依存的効果**



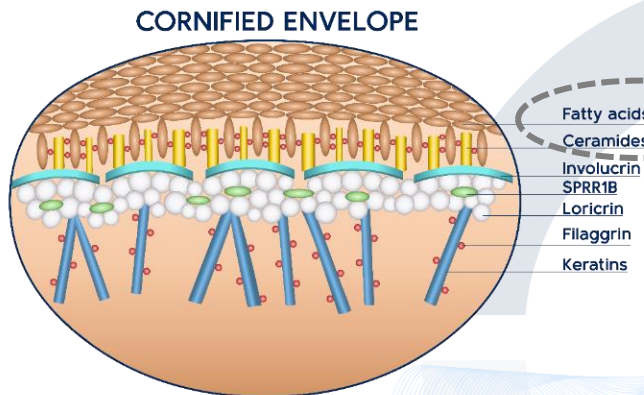
***p<0.001

1



The lipidic mortar

モルタルはラメラ体由来の脂質豊富な細胞外ラメラ膜



- ✓脂質エンベロップ
- ✓バリアホメオスタシス透過性
- ✓肌 pH

脂質二重膜構造



密に積み重ねられた角質細胞

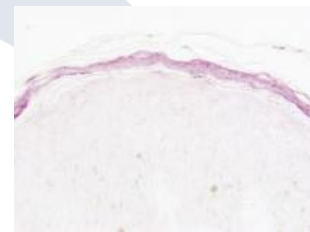
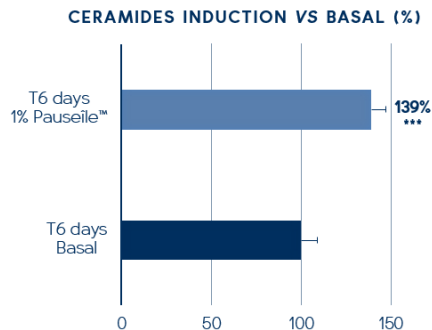
TEWLに対する密なバリア

↑ 水分保持

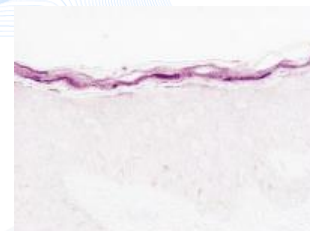


Human skin explants efficacy: sealing the skin against water loss (ELISA)

- ヒト皮膚外植片 (50歳の女性被験者), 免疫染色法
- 6 日間
- Cream with 1% Pauseîle™



Placebo



1% Pauseîle™

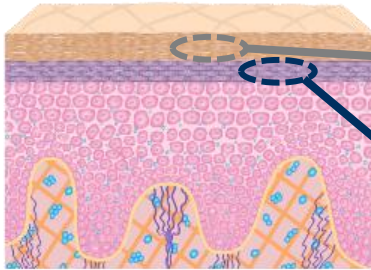
✓ 39% Ceramide レベル向上 vs basal

→ 水分の密封、明るく柔らかい肌



Hyaluronic acid in barrier function

ヒアルロン酸 (HA) はネガティブチャージを中和するために水の大質量雲に取り囲まれている (本来の体積の1,000 倍まで)



✓表皮中の 50%近い HA がSC中で発見されている

✓水分保持

✓ラメラ構造の脂質との相互作用



SC 力学的性質

✓顆粒層は
HAをSCへ
供給する

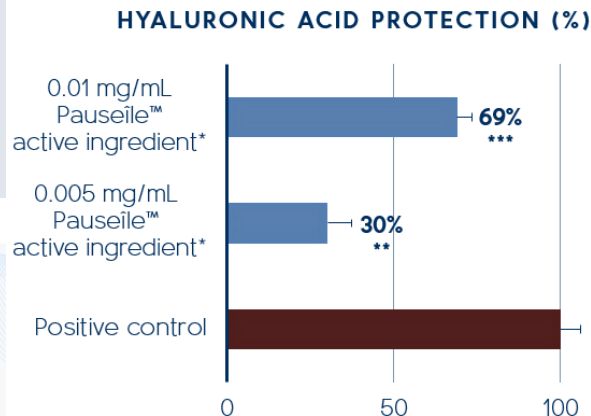


In vitro efficacy: Hyaluronan protection (enzymatic)

- Positive Control

✓ 0.01 mg/mL Pauseîle™ *
による 69% ヒアルロニダー
ゼ活性阻害

✓ HA分解からの保護 → 水分
含量向上、表皮構造やバリア
機能の改善



In vivo efficacy: moisturizing and tonicity efficacy

乾燥肌の20名の白人女性(30-50歳)に2% Pauseîle™を顔半分に1日2回28日間塗布してもらった。プラセボは顔のもう半分に塗布。

評価:

- 保湿力 (Corneometer®)
- TEWL (Tewameter®)
- 落屑 (Corneofix®)
- Tonicity; 弾力性 (Cutometer®)
- ツヤ; 明るさ (Colorimeter)

In vivo efficacy: moisturizing and tonicity efficacy

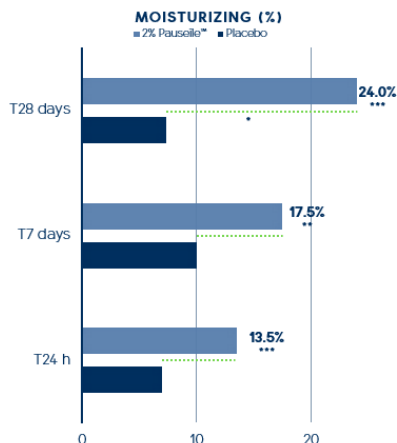
- 保湿力 (Corneometer®)
- Cream with 2% Pauseîle™ vs placebo
- 顔半分, 28 日間, 1日2回
- 年齢: 30-50

- TEWL (Tewameter®)
- Cream with 2% Pauseîle™ vs placebo
- 顔半分, 28 日間, 1日2回
- 年齢: 30-50

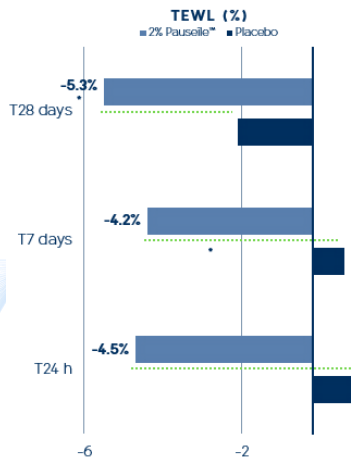
✓ たった24時間で
水分が14% 向上

✓ たった1日で保湿
力が 39% 改善

✓ 28日間で 64.5%
保湿改善



***p<0.001
**p<0.01
*p<0.05 vs
placebo



*p<0.05
*p<0.05 vs
placebo

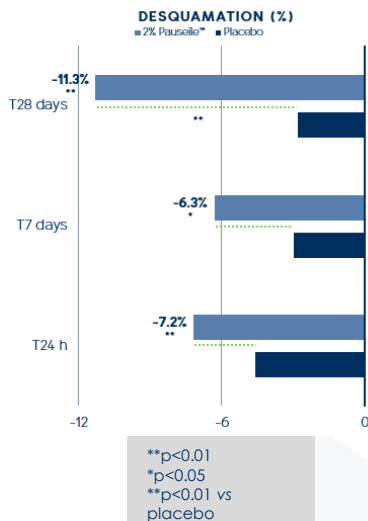
✓ たった24時間で4.5% TEWL 減少

✓ 7日間で 40% 水分減少を抑制

In vivo efficacy: moisturizing and tonicity efficacy

- 落屑 (Corneofix®)
- Cream with 2% Pauseîle™ vs placebo
- 顔半分, 28 日間, 1日2回
- 年齢: 30-50

- ✓ たった24時間で落屑が7%減少
- ✓ 28日間で角質細胞接着が11% 向上
- ✓ たった1日で 31% 改善



T0 days

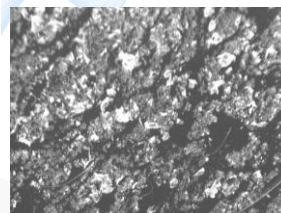


T24



Volunteer 3 (42 years old)
Desquamation: ↓31%

T0 days



T28

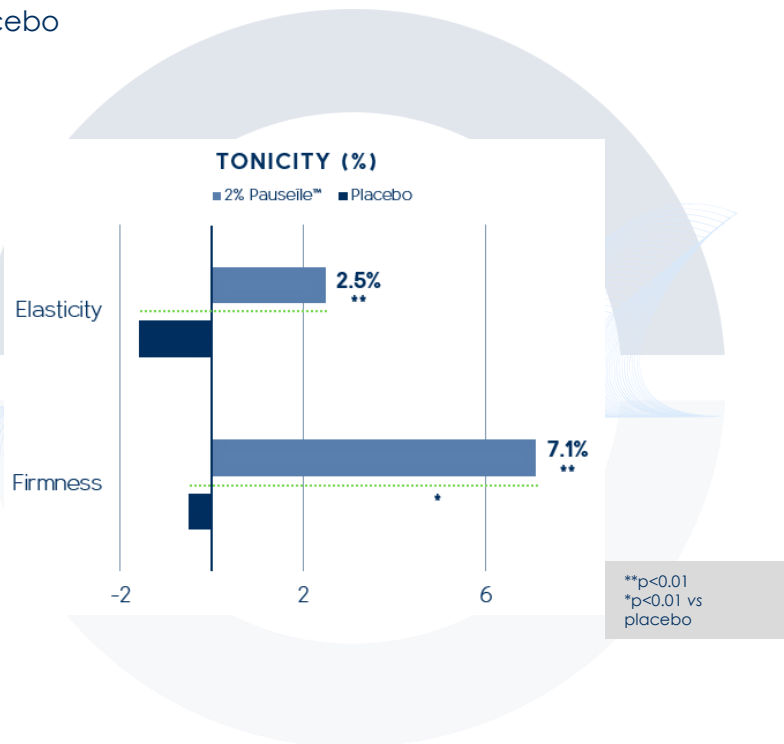


Volunteer 4 (50 years old)
Desquamation: ↓32.2%

In vivo efficacy: moisturizing and tonicity efficacy

- Tonicity; 弾力性 (Cutometer®)
- Cream with 2% Pauseîle™ vs placebo
- 顔半分, 28 日間, 1 日 2 回
- 年齢: 30-50

✓ 7% firmness 改善
✓ 2.5% elasticity 向上

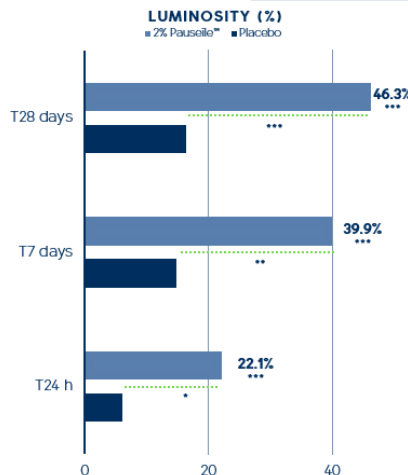


In vivo efficacy: moisturizing and tonicity efficacy

- ツヤ、明るさ (Colorimeter)
- Cream with 2% Pauseîle™ vs placebo
- 顔半分, 28 日間, 1日2回
- 年齢: 30-50

✓ たった24時間で輝きが 22% 向上

✓ 1か月で 46% ツヤが向上



***p<0.001
***p<0.001 vs placebo
**p<0.01 vs placebo
*p<0.05 vs placebo

T0 days



T7 days

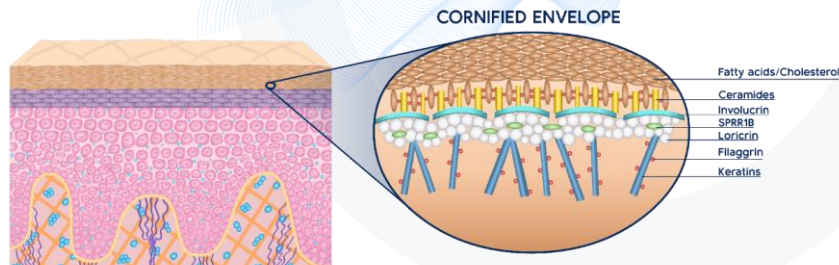


Volunteer 19 (49 years old)
Radiance: ↑70.4%



A retreat for your skin

- ✓ 肌ツヤのリセットは正常な落屑への主要な要素
- ✓ 肌バリアの密封 & 水分ブーストは水分保持を向上させて水分喪失を減少させる
- ✓ 肌弾力の回復は表皮構造を強化する





Technical information

- **Product Name:** Pauseîle™ (ポウセイル)
- **Marine** active biotechnological ingredient
- **推奨配合量:** 1-2% 
- **全税分表示名称:** バチルス発酵物、グリセリン、水
- **形状:** 液体
- **防腐剤:** なし
- **溶解性:** 水溶性



Applications

Cosmetic formulations

- Holidays effect
- Let your skin disconnect
- A reset for a good day skin
- Science for radiant beauty
- Submerge into a moisturizing and pampering experience



ポウセイル
PAUSEÎLE™
A RETREAT FOR YOUR SKIN

