

「アスタリフト モイストローション」の開発

本間 俊之*, 五十嵐 祐子*, 金澤 克彦*, 織笠 敦*, 大村 現**, 田代 朋子*

Development of “ASTALIFT Moist Lotion”

Toshiyuki HOMMA*, Yuko IGARASHI*, Katsuhiko KANAZAWA*, Atsushi ORIKASA*,
Gen OMURA**, and Tomoko TASHIRO*

Abstract

In September 2016, we launched “ASTALIFT Moist Lotion,” which is a renewed, high-functionality skin lotion of the ASTALIFT skin care series aimed at anti-aging skin care. Quantitative and qualitative changes in the dermal collagen contribute to wrinkle formation in photoaged skin. Collagenase, which is induced by ultraviolet rays, is capable of degrading fibrillar collagens into distinctive 3/4 and 1/4 fragments. These collagen fragments have been reported to be incorporated into fibroblasts via the receptor protein Endo180. Therefore, Endo180 is presumed to play an important role in collagen turnover. In this study, we investigated the involvement of Endo180 in the uptake of fragmented collagen and searched for a material that would enhance Endo180 expression in the fibroblasts, which led us to “Retinol” (or Vitamin A). We then developed a nano-sized emulsion called “nano vitamin Ax,” which contains a retinol derivative and astaxanthin, and formulated it into ASTALIFT Moist Lotion.

1. はじめに

2016年9月、機能性化粧品アスタリフトシリーズの化粧水をリニューアルし、高機能化粧水「アスタリフト モイストローション」として発売した (Fig. 1)。

肌のハリ低下は多くの女性が抱える肌悩みであるが、この原因として加齢や紫外線の影響によって、真皮コラーゲンが減少あるいは劣化することが挙げられる。

これまで、コラーゲンの減少に対しては、その産生量を増加させるという対処法が数多く提案されているが、コラーゲンの劣化に関する対策についてはあまり研究が進んでいなかった。

今回われわれは、劣化したコラーゲン、すなわち断片化コラーゲンの蓄積と代謝メカニズムに着目し、「コラーゲンの再生」を目指した研究を進めた。本報告では、コラーゲンレセプターと呼ばれるタンパク質「Endo180」の機能解明と断片化コラーゲンの代謝を加速する「ナノビタミンAx」の開発について報告する。



Fig. 1 The newly developed “ASTALIFT Moist Lotion”

本誌投稿論文 (受理2016年12月12日)

*富士フイルム (株) R & D 統括本部

医薬品・ヘルスケア研究所

〒258-8577 神奈川県足柄上郡開成町牛島577

*Pharmaceutical & Healthcare Research Laboratories
Research & Development Management Headquarters
FUJIFILM Corporation

Ushijima, Kaisei-machi, Ashigarakami-gun, Kanagawa
258-8577, Japan

**富士フイルム (株) R & D 統括本部

解析技術センター

〒250-0193 神奈川県南足柄市中沼210

**Analysis Technology Center

Research & Development Management Headquarters

FUJIFILM Corporation

Nakanuma, Minamiashigara, Kanagawa

250-0193, Japan

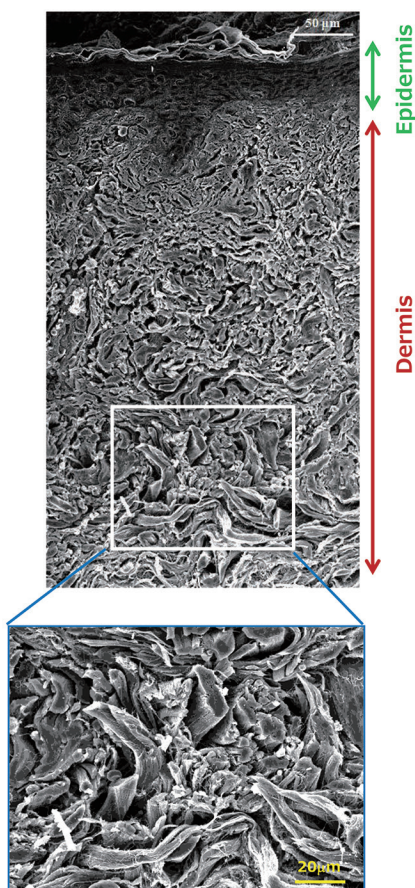


Fig. 2 SEM images of a cross-section of human skin

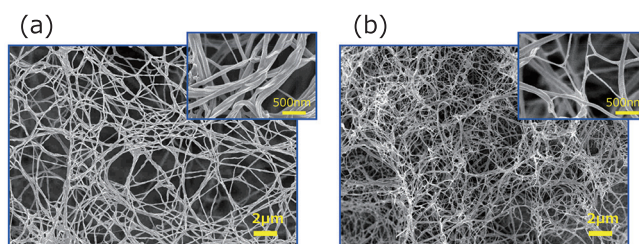


Fig. 3 SEM images of type-1 collagen gels with (a) no treatment and (b) collagenase treatment

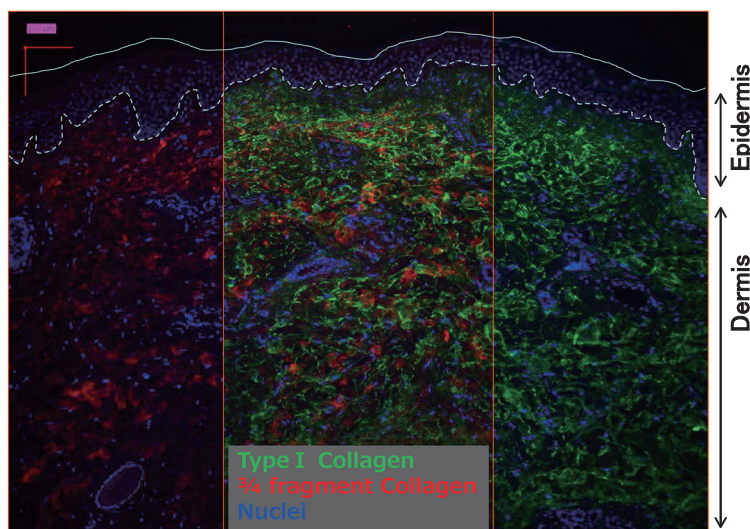


Fig. 4 Microscopic image of a cross-section of human skin stained for collagen fragments (red) and type-1 collagen (green)

2. 真皮コラーゲンの断片化

ヒトの皮膚は三つに大別され、肌表面に近い側から「表皮」「真皮」「皮下組織」と呼ばれる。表皮の数十倍の厚さを持つ真皮は、皮膚本体に強靭さを与えるので、その機能低下はシワやたるみといった老化現象に関わってくる。

細胞成分が多い表皮と異なり、真皮は主に線維成分で構成されている。このような線維の大半が「コラーゲン」であり、真皮乾燥重量の70%以上を占めると言われている¹⁾。実際に走査型電子顕微鏡を用いてヒト皮膚を観察した結果、真皮中の発達したコラーゲン線維を確認することができた (Fig. 2)。

真皮のコラーゲンが、加齢や光老化によって量的・質的变化を受けることは従来からよく知られている。量的に減少するコラーゲンに対しては、その産生を担う線維芽細胞を賦活化し、コラーゲン産生を向上させるというアプローチがこれまでに数多く提案されている。

質的な変化、すなわちコラーゲンの劣化は、紫外線や炎症等によって誘導されるCollagenaseの活性化に起因し、その酵素活性によってコラーゲン分子は「3/4鎖長」と「1/4鎖長」という二つのフラグメントに分解される。また、多数のコラーゲン分子の集合体であるコラーゲン線維も分解を受け、線維径の減少や部分的な断裂が起こる。光老化を受けた皮膚では、

このような「断片化コラーゲン」が真皮内に蓄積していることが報告されている²⁾。

この「断片化コラーゲン」の影響に関してVaraniらは、Collagenase 処理したコラーゲン中で線維芽細胞を培養した結果、無処理の正常コラーゲン中と比べて、細胞のコラーゲン合成能が低下することを報告している³⁾。すなわち「断片化コラーゲン」の蓄積が、線維芽細胞における新たなコラーゲンの生成を妨げることを意味している。

実際に、試験管内で再構成したコラーゲン線維に対しCollagenaseの一種であるMatrix metalloproteinase-1 (MMP-1) を作用させると、その線維径が減少の様子が観察された (Fig. 3)。また70歳代女性の顔部皮膚を蛍光免疫染色にて観察した結果、正常コラーゲン (緑色; I型コラーゲン) が大部分を占める真皮において、断片化コラーゲン (赤色; 3/4コラーゲン) も広範囲に存在することを確認した (Fig. 4)。

この真皮に蓄積し、コラーゲン新生を妨げるという「断片化コラーゲン」を排除させることはできないのか?そこでわれわれはコラーゲンレセプターと呼ばれるタンパク質「Endo180」に着目した。

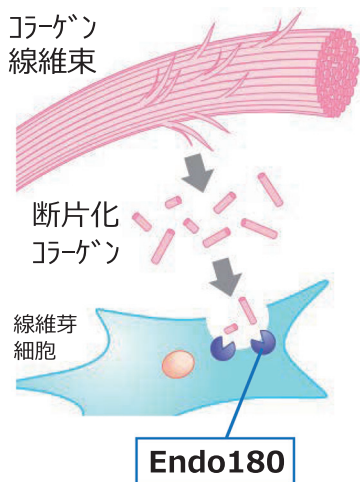


Fig. 5 Collagen fragments and Endo180

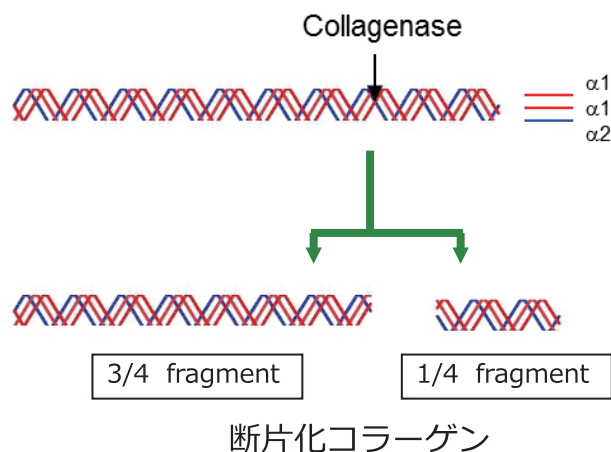


Fig. 6 Preparation of collagen fragments

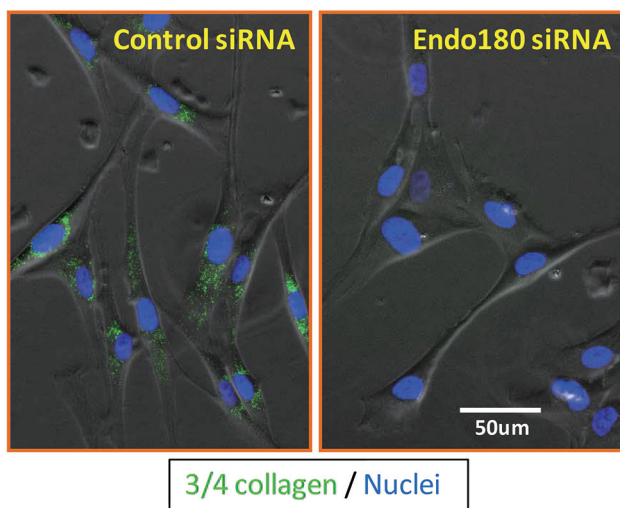
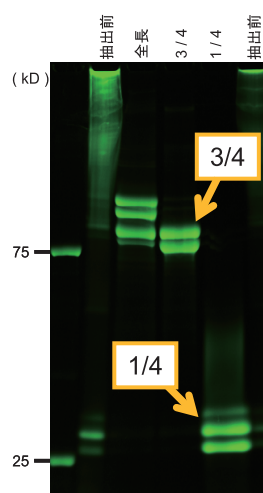


Fig. 7 Endo180-dependent uptake of collagen fragments

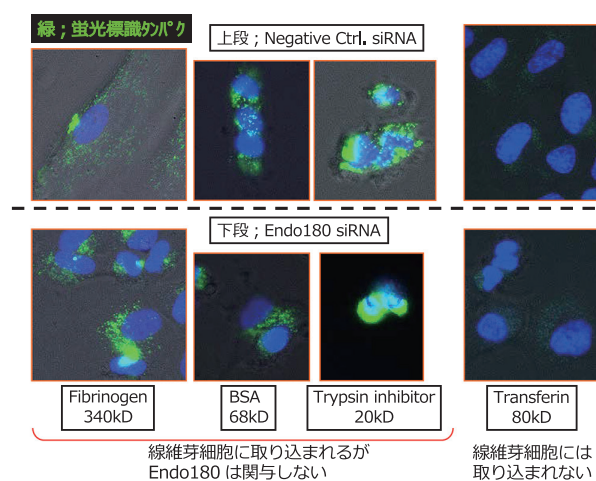


Fig. 8 Endo180-independent uptake of fluorescent-labeled proteins

3. Endo180を介したコラーゲン代謝機構

細胞には、細胞外の物質を取り込む Endocytosis と呼ばれる機構が存在する。断片化コラーゲンもこの機構によって線維芽細胞に取り込まれ、やがて分解されると考えられている。その取り込みの際に、Endo180 (uPARAP, MRC2, CD280) と呼ばれる膜タンパク質が断片化コラーゲンを認識することが報告されている⁴⁾。

このことから Endo180 は紫外線により障害を受けたコラーゲンの再生に関与すると考えられるが、Endo180 自身も光老化によって減少することが報告されている²⁾。

そこで、Endo180 を介したコラーゲンの代謝メカニズムについて研究を行った (Fig. 5)。

3.1 Endo180による断片化コラーゲンの取り込み

断片化コラーゲンの調製には、豚腱由来 I 型コラーゲンを用いた。Recombinant Human MMP-1 を用いて室温にて 14 日間切断処理した後、SDS-PAGE にて 3/4 鎖長と 1/4 鎖長に分離し、これをゲルから抽出・精製した (Fig. 6)。断片化コラーゲンの蛍光標識は Alexa488 ラベリング試薬を用いた。ヒト線維芽細胞の Endo180 発現抑制は siRNA 処理にて行った。

精製した蛍光標識断片化コラーゲン (3/4 鎖長) を培地へ添加したところ、線維芽細胞へ貪食される様子が観察された。また、Endo180 ノックダウンによって断片化コラーゲンの取込みが顕著に抑制された (Fig. 7)。この傾向は、1/4 鎖長の断片化コラーゲンにおいても確認された (Data not shown)。また、コラーゲン以外のタンパク質 (Fibrinogen, Trypsin-inhibitor 等) について同様に実験を行ったところ、細胞内の取り込み量に差異は認められなかった (Fig. 8)。この結果は、Endo180 が断片化コラーゲンを特異的に認識し、細胞内に取り込む役割を担っていることを示している。

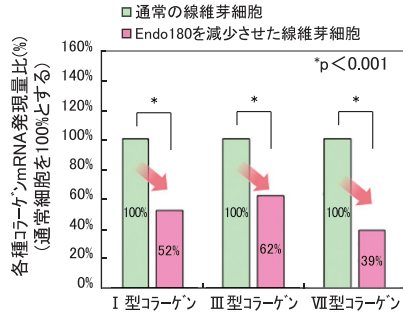


Fig. 9 Endo180 regulates the mRNA expression of several types of collagen

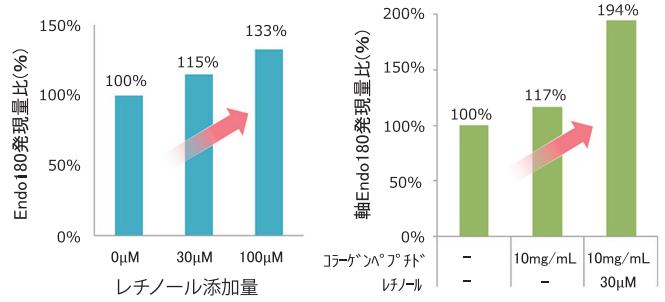


Fig. 10 Ingredients for increasing Endo180 expression

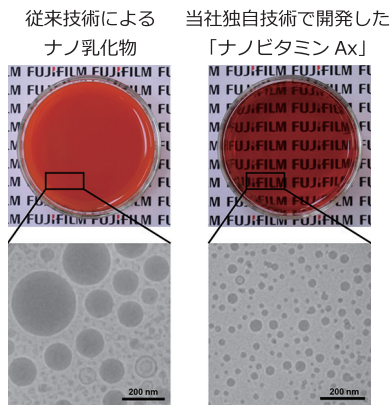


Fig. 11 TEM images of "nano vitamin Ax," which contains a retinol derivative and astaxanthin

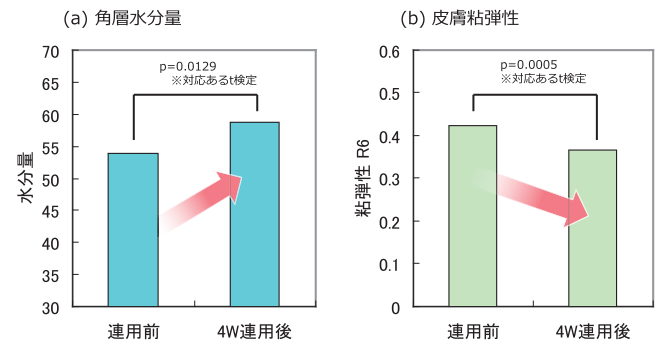


Fig. 12 Changes in the (a) water content (b) viscoelasticity of the skin

3.2 Endo180とコラーゲン合成

Endo180の機能についてさらに詳細に調べるため、コラーゲン合成能へ及ぼす影響を評価した。皮膚に存在することが知られているI型、III型、IV型、V型、VII型コラーゲンのmRNA発現量を測定した結果、Endo180をノックダウンした線維芽細胞では、I型・III型・VII型コラーゲンの発現量が減少することが分かった (Fig. 9)。この結果によって、Endo180は断片化コラーゲンの取り込みだけでなく、新規コラーゲン合成にも関与することが明らかとなった。

4. レチノールによるEndo180亢進作用

これまでの検証から、光老化によって減少するEndo180の回復が、コラーゲン再生において重要であることが示唆された。そこでスキンケア製品への応用のため成分探索を行った結果、レチノール (ビタミンA) にEndo180亢進作用を見出した。また、化粧品素材として知られているコラーゲンペプチドと同時に添加することで、本作用が相乗的に増加することを見出した (Fig. 10)。

5. 独自成分「ナノビタミンAx」の開発

レチノールの効果を最大限発揮させるため、皮膚内へ浸透した後、変換を受ける誘導体「パルミチン酸レチノール」に着目した。また、抗酸化作用によって断片化コラーゲンの生成を抑制するアスタキサンチンの共配合を検討した。その結果、50nmサイズにナノ乳化した「ナノビタミンAx」の開発に成功し、「モイストローション」への配合を可能にした (Fig. 11)。

6. 「モイストローション」の肌改善効果

線維芽細胞でのコラーゲン代謝を促進する「ナノビタミンAx」を配合した「モイストローション」が肌状態に及ぼす影響を確認するため、文書での同意が取得できた健常な日本人女性29名での4週間連用試験を実施した。被験者は朝晩1日2回の洗顔・入浴後に、本ローションを適量使用し、連用開始前および連用4週間後に、各被験者の頬部の角層水分量を Corneometer、粘弾性を Cutometer (いずれも Courage+Khazaka 社製) で測定した。

その結果、角層水分量の平均値は54から約5増加し、粘弾性R6 (数値が低いほど粘性的な伸びが少なく、たるみが少ない)の平均値は0.42から約0.06減少し、「モイストローション」連用による肌改善効果を確認することができた (Fig. 12)。

7. まとめ

今回われわれは、光老化や加齢によって皮膚に蓄積する「断片化コラーゲン」に着目し、その代謝機構を担うタンパク質「Endo180」に関する研究を進めた。その過程では、実際のヒト皮膚内に存在する断片化コラーゲンの観察や、線維芽細胞におけるEndo180依存的な断片化コラーゲンの取込みなど、コラーゲン代謝に関する新たな知見を得ることができた。また、コラーゲン代謝を促進させる成分としてレチノールにEndo180亢進作用を見出した。さらにレチノール誘導体とコラーゲン分解を防ぐ抗酸化剤アスタキサンチンを組み合わせた「ナノビタミンAx」を開発し、これを配合した「モイストローション」での肌改善効果を実証した。

写真分野で培ったコラーゲン研究を活かし、スキンケア製品へ応用させることは、われわれにしかできないアプローチである。今後も独自技術を駆使し、新たな化粧品の開発に取り組んでいきたい。

参考文献

- 1) 清水宏編. あたらしい皮膚科学 第2版. 中山書店, 2011, p.13.
- 2) Tang, S.; Lucius, R.; Wenck, H.; Gallinat, S.; Weise, J. M. Journal of Dermatological Science. 2013, 70(1), p.42-48.
- 3) Varani, J.; Spearman, D.; Perone, P.; Fligiel, S. E. G.; Datta, S. C.; Wang, Z. Q.; Shao, Y.; Kang S.; Fisher G. J.; Voorhees J. J. American Journal of Pathology. 2001, 158(3), p.931-42.
- 4) Madsen, D. H.; Engelholm L. H.; Ingvarsen, S.; Hillig, T.; Wagenaar-Miller R. A.; Kjølner, L.; Gårdsvoll, H.; Høyer-Hansen, G.; Holmbeck, K.; Bugge, T. H.; Behrendt, N. Journal of Biological Chemistry. 2007, 282(37), p.27037-27045.

商標について

- ・「アスタリフト」「ASTALIFT」「ナノビタミンAx」は、富士フイルム（株）の登録商標です。
- ・その他、本論文中で使われている会社名、システム・製品名は、一般に各社の商標または登録商標です。