

オスモリン™

Vincience
BIOFUNCTIONALS

Osmoline™



水分を届けて肌のツヤとうるおいを高め、ストレス下における
細胞の形状·結合を守る設計

Vincience
BIOFUNCTIONALS

A	B	C	D
製品詳細	背景	効能テスト	化粧品用途

ISP

Osmoline™



Vincience
BIOFUNCTIONALS

A

製品詳細

- 起源、位置づけ、効能
- 試験結果概要
- 作用

ISP

Osmoline™



起源

アミノ酸とペプチドを豊富に含む精製された**イナゴマメ**(*ceratonia siliqua*)**種子エキス**

位置づけ

水分を届けて肌のツヤとうるおいを高め、ストレス下における細胞の形状･結合を守るよう設計されています

効果

1. (*Ex-Vivo*にて)ヒアルロン酸の発現を高め、水分を補給し肌を再生させる効果を導く
2. 水分を届けてうるおいを閉じ込めます
3. ストレス下における細胞の形状･結合を守る作用に関与します
4. タンパク質の発現を高めて、表皮分化と角質層の柔軟性を高める効果が期待できます
5. 肌のうるおいとツヤ感を高めます

更にオスモリンは、(寒さ･乾燥･エアコン･ピーリング･ダーマブレーション等)
肌の水分保持が難しいストレス条件に適応するための肌本来の力を高めます。

Osmoline™

A



Vincience
BIOFUNCTIONALS

効果と試験結果の概要

1. **水分補給と肌の再生**
   - ヒト皮膚 (*In vitro*)にてヒアルロン酸の発現を高めます。
   - ヒト皮膚 (*In vitro*)にてヒアルロン酸受容体CD44の発現を高めます。

2. **Water channeling and water sealing 水分を届けて潤いを閉じ込める効果**
   - (*In vitro*、*Ex vivo*)にてアクアポリン - 3を高めて真皮と表皮間の水分の流れを促進します。
   - (*Ex vivo*)にて密着結合におけるクローティンーを高めて、傍細胞透過性を低下させます。

3. **細胞の形状·結合の保護**
   - 細胞の形状と結合を守ると考えられます (*In vitro*; Vivascope® 評価)
   - 肌の再生を高める作用があります (*In vitro*にて皮膚修復モデルによる実験)

4. **表皮分化 と角質層の柔軟性**
   - (*Ex vivo*)にて天然保湿因子NMFの先駆体(フィラグリン)とPAD1を高める作用があります。
   - (*Ex-vivo*)にて表皮分化マーカーであるサイトケラチン10とインボルクリンを増やします。

5. **肌のうるおいとツヤ感**
   - 肌の潤いを高めます(臨床試験、機器による評価)
   - 肌のツヤ感を高めます(臨床試験、専門家による採点評価)

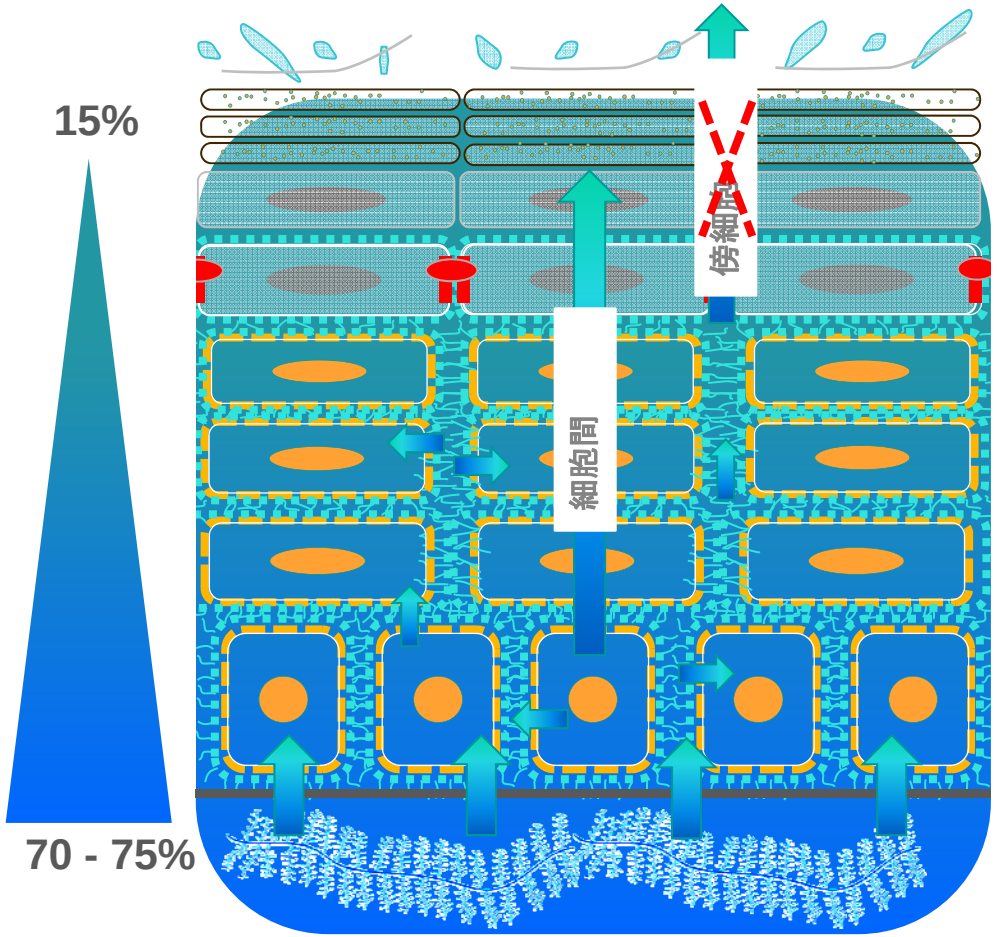
ISP

Osmoline™

A



水分に関与するすべての主要なタンパク質に着目



うるおいとツヤ

柔軟性
フィラグリン,
ケラチン,
インボルクリン
形状と結合

密着結合
(クローディン-1)
水分の通路
アクアポリン3

水分補給と肌の再生
ヒアルロン酸
CD44

Osmoline™



Vincience
BIOFUNCTIONALS

B

背景

- さらに進化した肌の水分補給
- ヒアルロン酸: 水分補給と肌の再生
- アクアポリン - 3による水分の輸送
- クローディン-1, 密着結合の構成要素クローディン - 1
- 浸透圧ストレス

ISP

Osmoline™



さらに進化した肌への水分補給

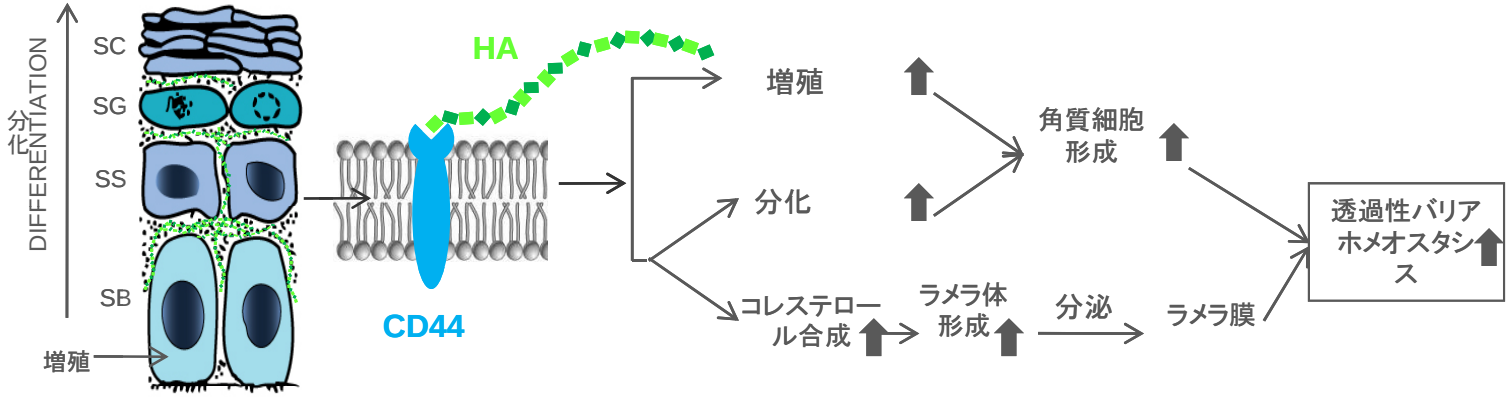
- 皮膚は最適な機能を発揮し美しさを保つ為に水分を必要とする生体組織です。
- 水分の保持が厳しい環境では、皮膚の力だけで早期老化のサインを効果的に予防し修復することは難しいことです。
- 皮膚の水分状態を左右するのは皮膚における水分の流入･排出の速度や、水分に関与するタンパク質を通じで水分保持･循環させる皮膚の力です。
- オスモリンは水分に関与するいくつかの重要な分子（ヒアルロン酸･アクアポリン－･クローディン－１･フィラグリン）に着目して肌の水分補給をさらに進化させた成分であり、経時的に肌の水分とツヤを保護し、早期老化のサインを予防します。

Osmoline™



ヒアルロン酸: 水分補給 と肌の再生効果

- ヒアルロン酸またはヒアルノナンとは、水分結合剤や電解物質抑制剤が存在する真皮内の細胞外基質に見られるグリコサミノグリカンです。ヒアルロン酸はケラチノサイトによっても積極的に代謝され、細胞外空間に分泌され、水分や栄養素の拡散を促進します。
- ヒアルロン酸は単に空間を埋める物質ではありません。CD44受容体に結合するとケラチノセイトの増殖と分化に関与します。基底層直上層ではヒアルロン酸は、角質細胞と層状体の形成を活性化します。



- ヒアルロン酸-CD44の作用はケラチノサイトが円柱状基底細胞から分裂して生まれ、平坦な角質細胞となって死滅するまでの生存期間を通じて、常にその再生を促進します。
- ヒアルロン酸は、水を通さない皮膚のバリアの形成に関与する重要な水分関連分子です。

* Hyaluronan-CD44 interaction stimulates keratinocyte differentiation, lamellar body formation/secretion, and permeability barrier homeostasis. Bourguignon et al., *J Invest Dermatol*. 2006 Jun;126(6):1356-65

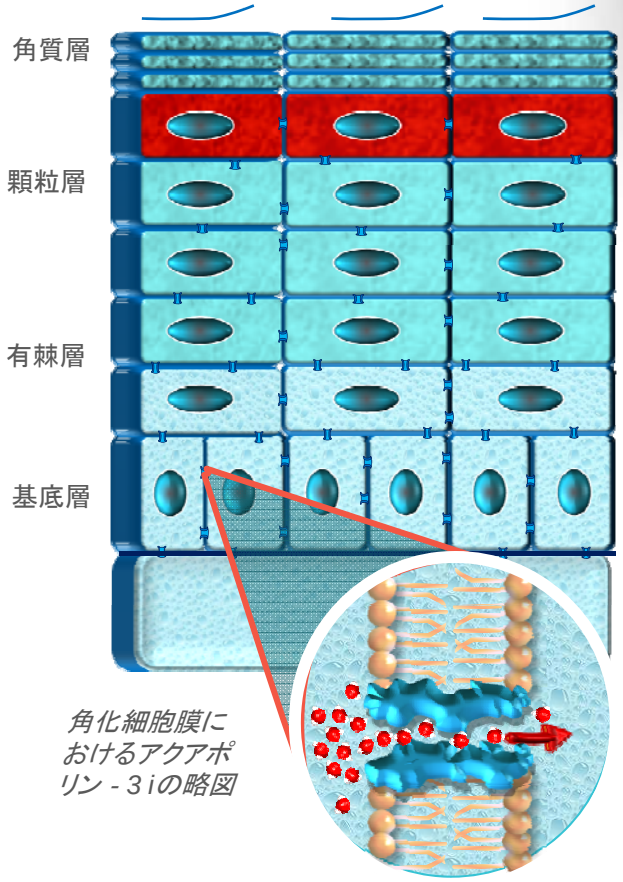
Osmoline™

B



アクアポリン-3 による水分の輸送

- 1988年にピーター·アグリ氏によって発見され、2003年には同氏はノーベル化学賞を受賞しました。アクアポリンは水を通過するため、水の輸送に重要な働きをします。
- アクアポリン-3 (AQP3)は皮膚に最も多く存在するアクアグリセロオポリンです。アクアポリンーによる水とグリセロールの両方の輸送は皮膚表皮の潤いに重要な役割を持ちます*。.
- アクアポリン - 3は水分を通過させる物質として細胞移動を促し、グリセロールの輸送物質としてケラチノサイトの増殖と文化を促すことから、皮膚の修復にも重要だと考えられています*.
- アクアポリン - 3が不足すると、表皮のハリが失われ、バリア機能と角質層の水分量が低下し、乾燥肌になります。



角化細胞膜におけるアクアポリン - 3iの略図

* Skin aquaporins: function in hydration, wound healing, and skin epidermis homeostasis. Boury-Jamot et al., *Handbuch Exp Pharmacol*. 2009;(190):205-17.

ISP

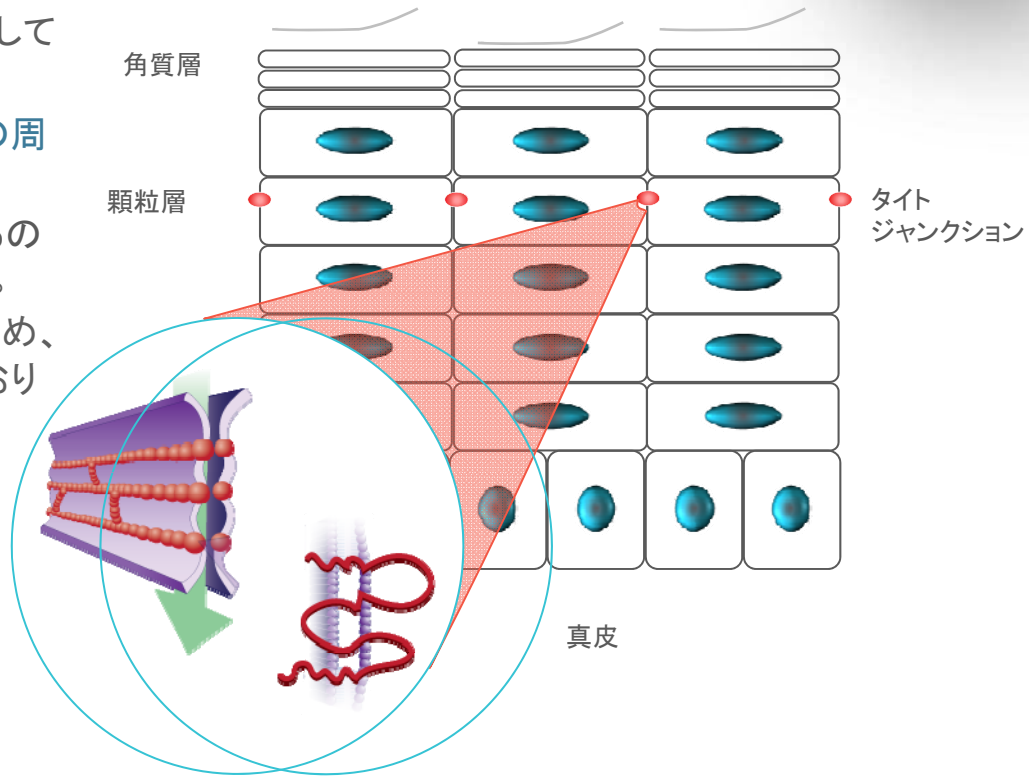
Osmoline™

B



クローディン-1, タイトジャンクションの構成要素

- クローディン-1は内在性膜で、タイトジャンクションの構成要素です。
- タイトジャンクション (TJs)は顆粒層に多く分布しています。
- タイトジャンクションは細胞を連結させて細胞の周りを塞ぐ組織です。
- 細胞間隙経路を溶質と水分が自由に通過するのを避ける為、一時的なバリアとして機能します。
- クローディン-1の欠乏はシワや乾燥肌となるため、加齢による乾燥肌の原因となると考えられております*。



* Claudin-based tight junctions are crucial for the mammalian epidermal barrier: a lesson from claudin-1-deficient mice. Furuse et al, *J Cell Biol*. 2002 Mar 18;156(6):1099-111.

Osmoline™



浸透圧ストレス

- 細胞内環境の浸透圧に管理されていることにより、細胞の形状と機能が保護されています。乾燥した環境では、表皮におけるこのような管理は特に重要です。
- 角質層による水分量の保持は、フィラグリンのタンパク質分解による吸湿活性物質の生成によって起こります。
- ケラチノサイト（角化細胞）には浸透圧調整機能があり、これは浸透圧ストレス下で細胞容積の恒常性と最適な機能を維持する為に重要です。
- ケラチノサイトの浸透圧調整機能は、紫外線などその他のストレスへの皮膚反応にも関与しているようで、皮膚の酸化ストレスと戦う作用に関与している可能性があります。
- オスモリンは浸透圧ストレス条件に対する肌の自然な反応を高め、形状·結合·水分量を保持する働きがあります。

Osmoline™



Vincience
BIOFUNCTIONALS

C

効能テスト

1. 水分補給 & 肌の再生効果
2. 水分を届けてうるおいを閉じ込める効果
3. 形状と結合
4. 表皮分化と角質層の柔軟性
5. 肌のうるおいとツヤ感

ISP

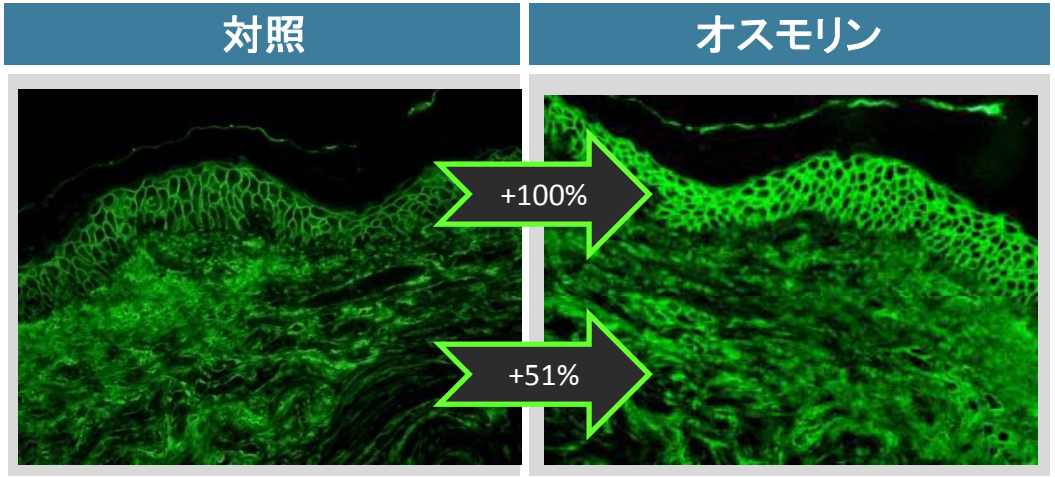
Osmoline™



1. 水分補給 と肌の再生

ヒト皮膚における **ヒアルロン酸量**の評価(*ex-vivo*)

培養: *ex-vivo* ヒト皮膚生検　　**製品塗布:** 1%のオスモリン , 一日一回　　**塗布時間:** 48 時間
評価法: ヒアルロン酸検出にはHABP(ヒアルロン酸結合タンパク質)という特定マーカーを免疫蛍光染色し、画像分析ソフトウェア(Mac Mullen他、IJCS、2010年)を使用して定量化



結果として、オスモリンはヒト皮膚において**ヒアルロン酸発現**を増加させ、**水分補給効果**を示しました。

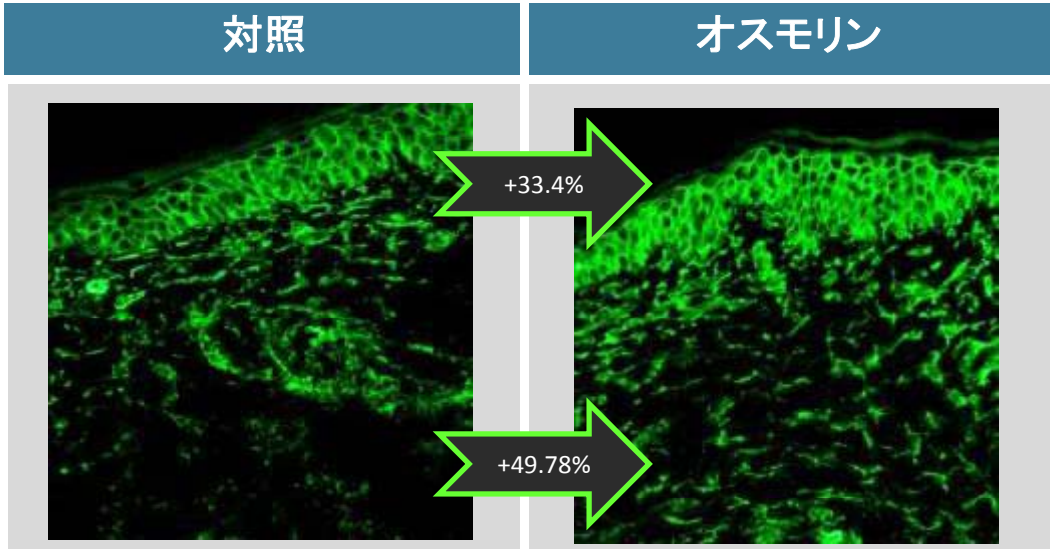
Osmoline™



1. 水分補給 と 肌の再生

ヒト皮膚(*ex-vivo*)における**ヒアルロン酸**(HA) 結合受容体量の評価

培養: *ex-vivo* ヒト皮膚生検　**製品塗布:** 1%のオスモリン,一日一回　**塗布時間:** 48時間
評価法: ヒアルロン酸受容体CD44を免疫蛍光染色し、画像分析ソフトウェアを使用して定量化



結果として、オスモリンを皮膚に塗布することによりヒアルロン酸受容体CD44の発現を増加させました。

Osmoline™



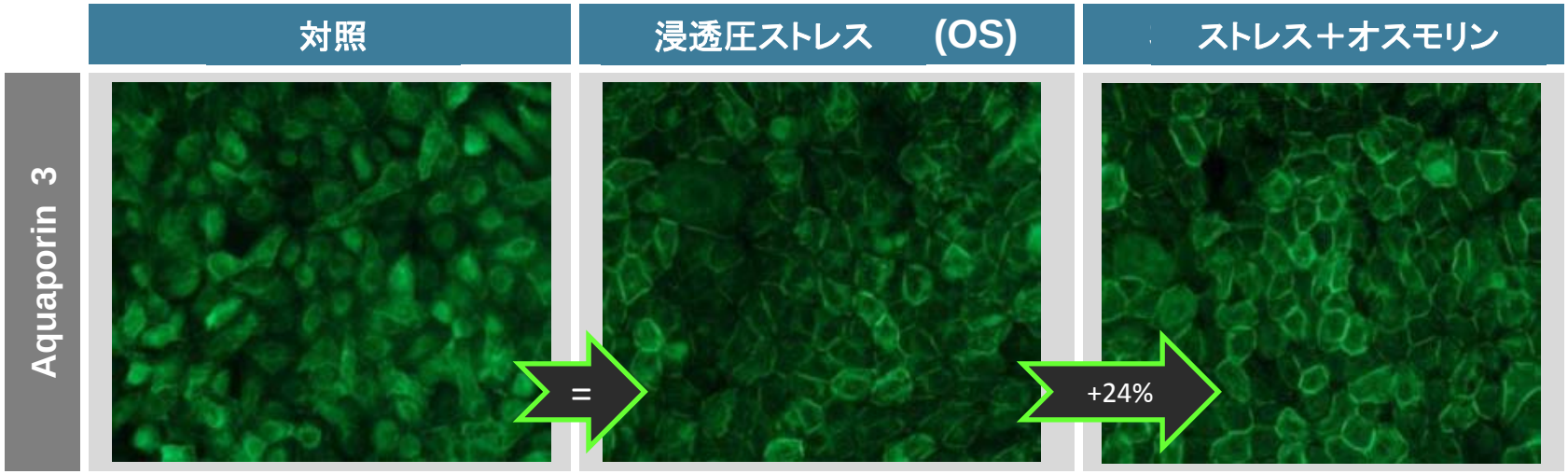
2. 水分を届けてうるおいを閉じ込める効果

Vincience BIOFUNCTIONALS

浸透圧ストレス後の細胞膜におけるアクアポリン-3の発現 (*in-vitro*)

培養: 正常なヒトケラチノサイト　**製品塗布:** オスモリン 1%　**塗布時間:** 24時間

浸透圧ストレス: 200mMのソルビトールを2時間
評価法:アクアポリン-3を免疫蛍光染色し、画像分析ソフトウェアを使用して定量化



ケラチノサイトが浸透圧ストレス下に置かれると、アクアポリン-3が細胞膜に発現します。オスモリンは細胞膜でアクアポリン-3の局在化を促進し、高浸透圧ストレスの状況下でケラチノサイトの生存力を高めます(MTT試験、結果参照なし)。

ISP

Osmoline™

C



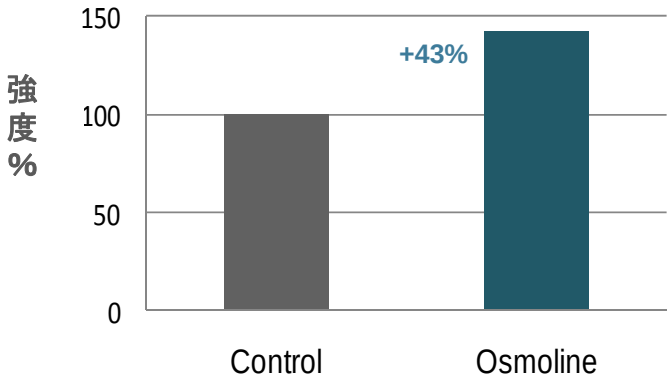
2. 水分を届けてうるおいを閉じ込める効果

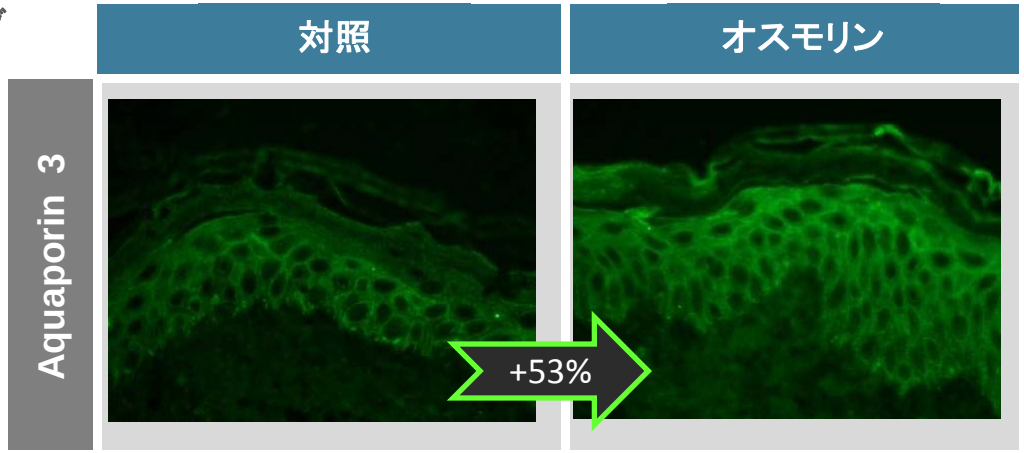
Vincience BIOFUNCTIONALS

ケラチノサイト(*in-vitro*)およびヒトの皮膚(*ex-vivo*)におけるアクアポリン-3の発現

培養:正常なヒトケラチノサイトおよび生体外皮膚生検　**製品塗布:**オスモリン 1%　**塗布時間:**ケラチノサイトには24時間、生体外皮膚生検には48時間　**評価法:**ケラチノサイトではアクアポリン-3を免疫ブロットし、皮膚生検では免疫蛍光染色し、画像分析ソフトウェアを使用して定量化

ケラチノサイトにおけるアクアポリン-3の免疫ブロティング





結果として、ケラチノサイトとヒトの皮膚にオスモリンを塗布後、アクアポリン-3の増加が見られました。これ以外の(参照なし)試験でも水分が少ない環境において、生体外皮膚生検に低温ストレス･機械的ストレス(ピーリング)･紫外線によるストレスを与えた後、アクアポリン-3発現が高まりました。

ISP

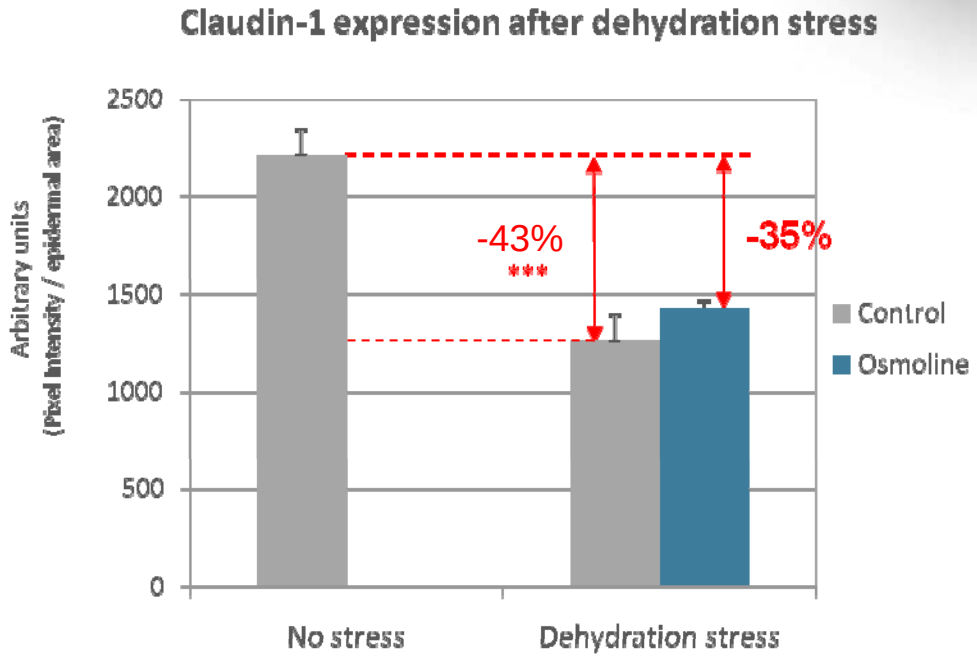
Osmoline™



2. 水分を届けてうるおいを閉じ込める効果

claudin-1 ヒト皮膚(*ex-vivo*)における**クローディン - 1**(タイトジャンクションの構成要素)評価

培養:生体外皮膚生検
製品塗布: オスモリン 1%
ストレス: 2時間乾いた空気を送風することによる乾燥
塗布時間: 24時間 ->2時間乾燥した空気->24時間の塗布
評価法: Claudin-1 を免疫蛍光染色し、画像分析ソフトウェア(Mac Mullen他)を使用して定量化
統計分析:スチューデント検定 n=3
***: 兼著に有意



他の試験(参照なし)でも**低温ストレス**(4℃)および**紫外線ストレス後**に、クローディン-1の発現が高まったことが示されています。

この結果は、乾燥ストレスによって引き起こされるクローディン-1の減少をオスモリンが抑制することを示しています。

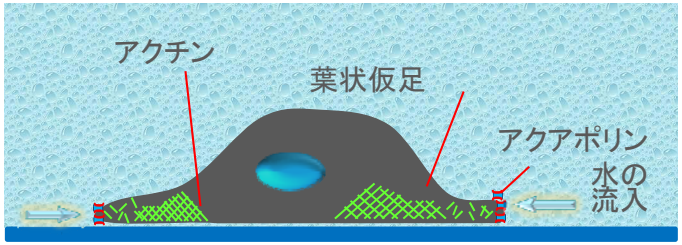


3. 細胞の形状·結合

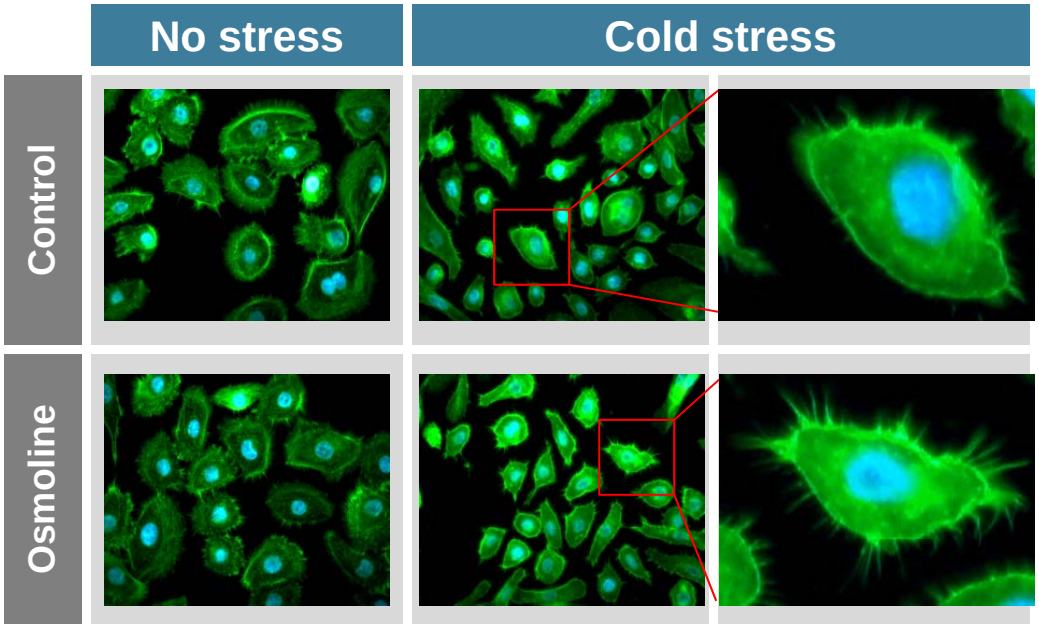
低温ストレス後のアクチン発現(in-vitro)の評価

冬の季節などに水分量が減ると、皮膚にひび割れや亀裂が生じやすくなり、上皮再形成を起こします。アクチンとアクアポリン-3は細胞運動に重要な役割を果たすことが知られています。

培養: 正常なヒトのケラチノサイト
製品塗布: オスモリン 1%
ストレス: 低温ストレス4℃で4時間
塗布時間: 24 時間
評価法: アクチン免疫蛍光染色



細胞の形状変化は、アクチンという細胞骨格の持続的な再構築と、アクアポリンを通じた水の流れに関連しています。



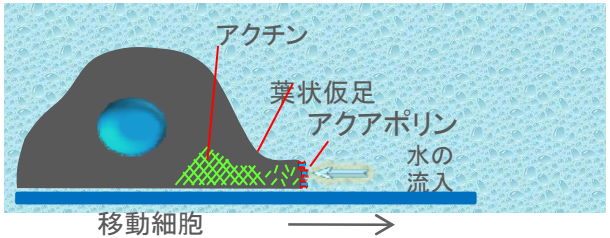
ケラチノサイトにオスモリン塗布するとストレス状況下でも細胞の形状を保護します。



3. 細胞の形状·結合

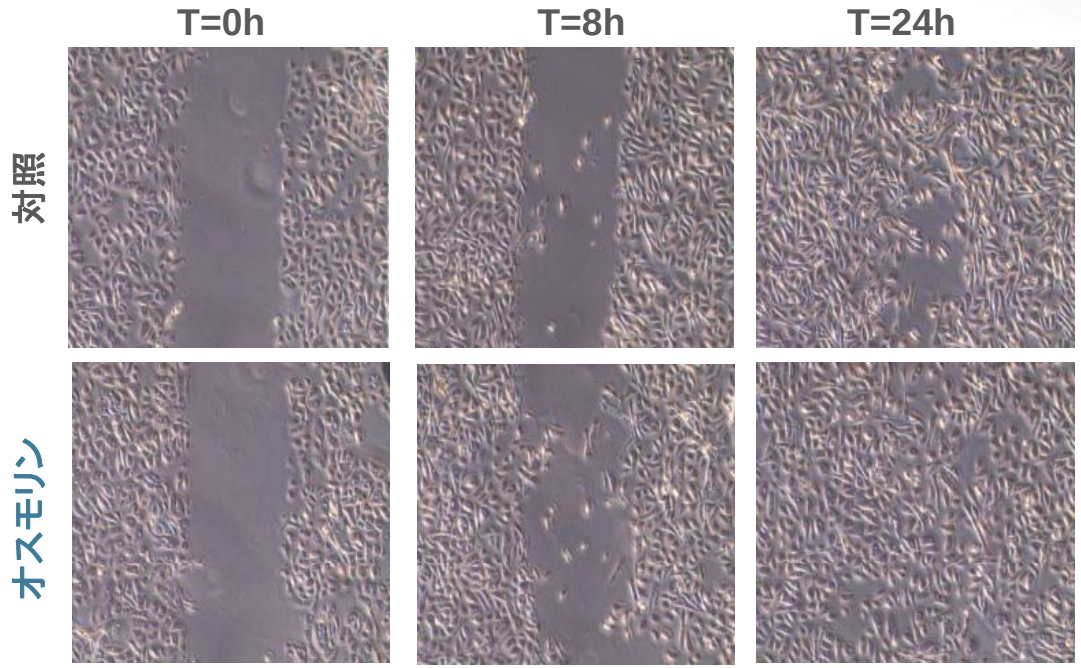
皮膚の再生を促進します（*in-vitro* にて皮膚修復モデルを使用）

培養: 正常なヒトのケラチノサイト　**製品塗布:** オスモリン 1%　**塗布時間:** 8時間と 24時間　**評価法:** 培養の挿入(IBIDI)と位相差顕微鏡法



細胞の形状変化は、アクチンという細胞骨格の持続的な再構築と、アクアポリンを通じた水の流れに関連しています。

.



結果として、オスモリンはIn-vitroでの皮膚再生において細胞運動を促進する効果があることが確認されました。

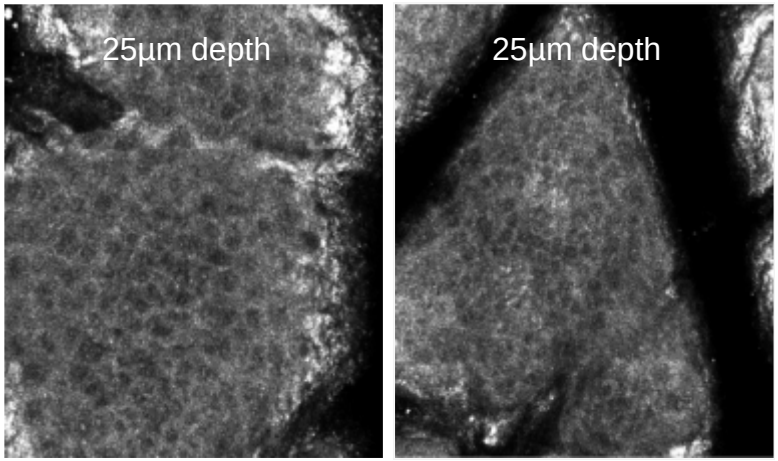


3. 細胞の形状·結合

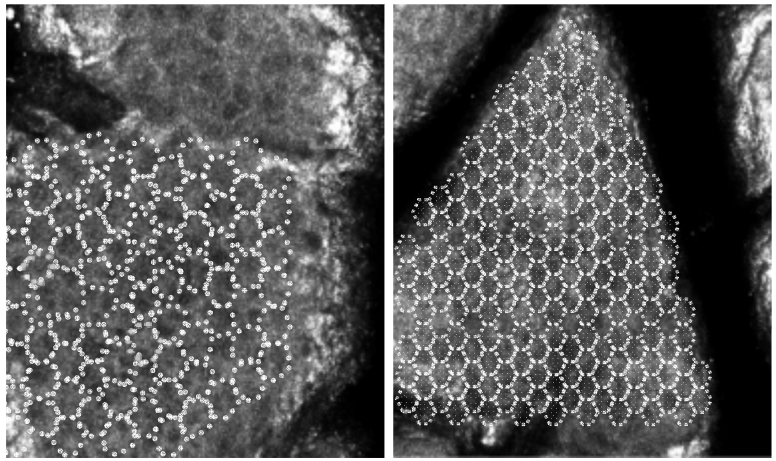
細胞の形状·結合のVivascope®評価 (臨床試験, プロトコール p. 25)

乾燥した皮膚では、顆粒細胞における結合が弱わります。タイトジャンクションの要素であるクローディン-1は、顆粒層における細胞結合を保持する重要な役割を担っています。

塗布7日後の顆粒層における細胞の形状·結合の評価



プラセボ　オスモリン



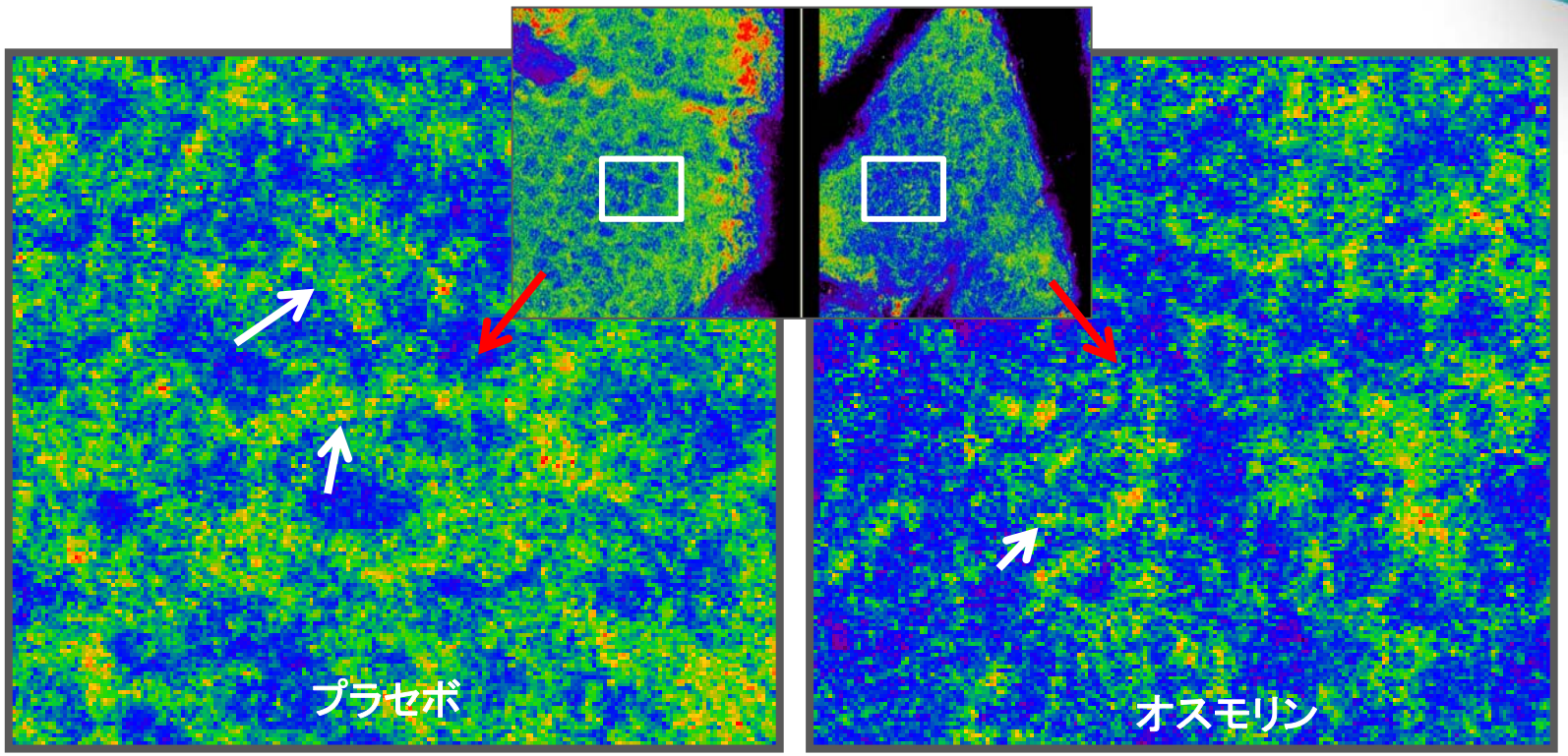
プラセボ　オスモリン

プラセボを塗布した皮膚では、顆粒細胞の境界線が不均一なのに対し、オスモリンを塗布した皮膚では、いずれのボランティアにおいても7日後および21日後には、顆粒細胞がより接着力が増すよう均一に並び、大きさも小さくなっていました。



3. 細胞の形状･結合

細胞の形状･結合のVivascope®評価



ホイヘンスソフトウェアによる画像変換

緑の部分：顆粒細胞の間の空間

Osmoline™



4. 表皮分化と角質層の柔軟性

***Ex-vivo*のヒト皮膚における天然保湿因子(NMF)の前駆体フィラグリンおよびPAD1の発現の評価**

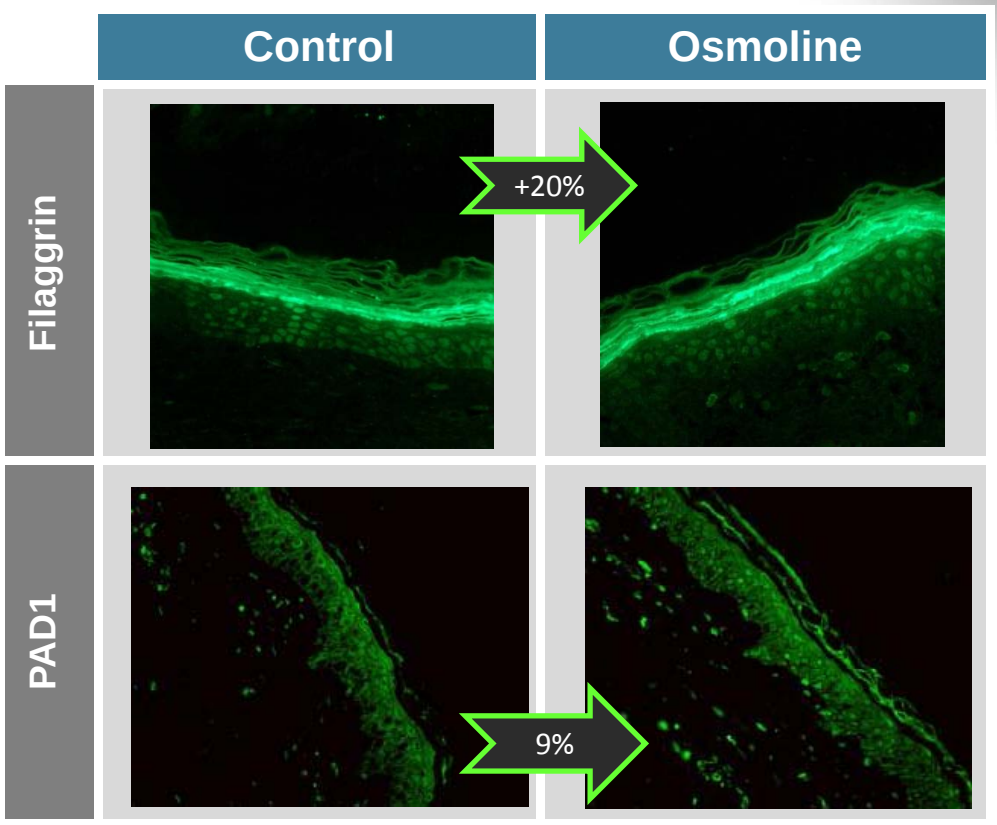
培養: *ex-vivo*ヒト皮膚生検
製品塗布: オスモリン 1%
製品塗布: 24時間 (フィラグリン) 48時間 (PAD1)
評価法: フィラグリンとPAD1を蛍光免疫染色し、画像分析ソフトウェアで定量化

フィラグリンはケラチン繊維に結合するフィラメントに関連するタンパク質です。

PAD (ペプチジルアルギニン・デイミナーゼ) はフィラグリンノ処理に関連する酵素です。

フィラグリンは、NMFにおける吸水性アミノ酸の生成に必要です。

結果としてオスモリンは皮膚細胞においてフィラグリンとPAD1の発現を高めることが分かります。



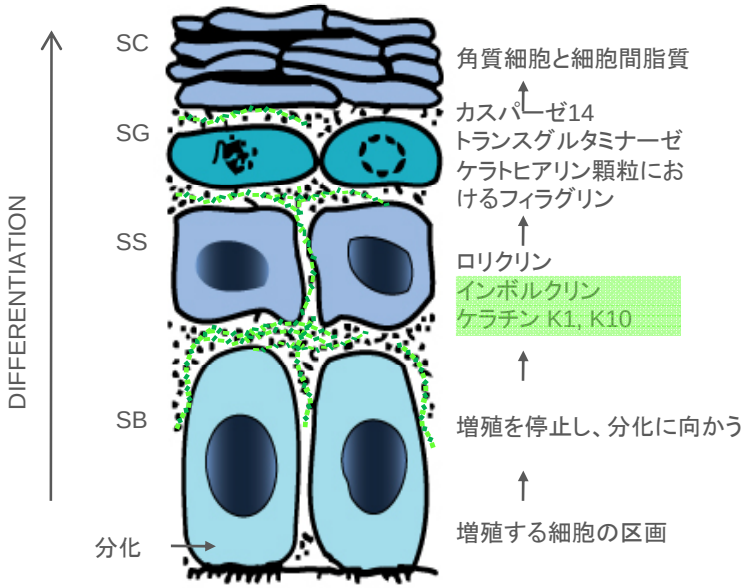
Osmoline™

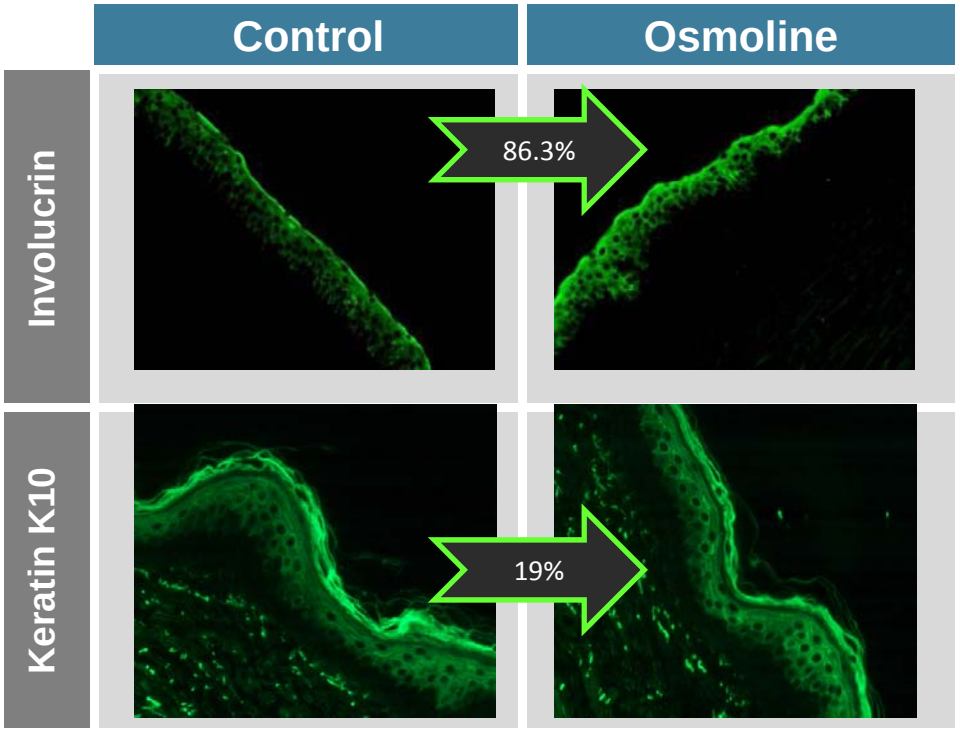


4. 表皮分化と角質層の柔軟性

*Ex-vivo*ヒトの皮膚でのケラチン10とインボルクリン発現の評価

培養: *ex-vivo* ヒト皮膚生検　**製品塗布:** オスモリン 1%　**塗布時間:** ケラチン 10: 24h, インボルクリン:48時間
評価法:*K10(ケラチン10)とインボルクリンを免疫蛍光染色し、画像分析ソフトウェアで定量化*





結果としてオスモリンはヒト皮膚モデルにおいてケラチン10をインボルクリンの量を増加することが分かります。

Osmoline™



5. 肌のうるおいとツヤ感

プラセボ対照二重盲検試験

目的:オスモリンが肌のうるおいと見た目のツヤ感に与える効果の評価
ボランティア被験者の数: 普通肌の10 人(20歳～49歳)
期間: 3 週間、初日、7日目、22日目に試験に来てもらい評価を行う
試験材料: 1%のオスモリン配合の化粧品
製品塗布: 1日に朝晩2回、前腕に2 $mg.cm^{-2}$
評価:
–皮膚の水分量の計測（こるネオメーターを使用して静電容量を計測）
–Vivascope® 1500を使用して細胞の大きさと結合を評価
–肌のツヤ感を評価（専門家による採点評価）
統計分析: ノンパラメトリック･ウィルコクソン･マッチドペア検定



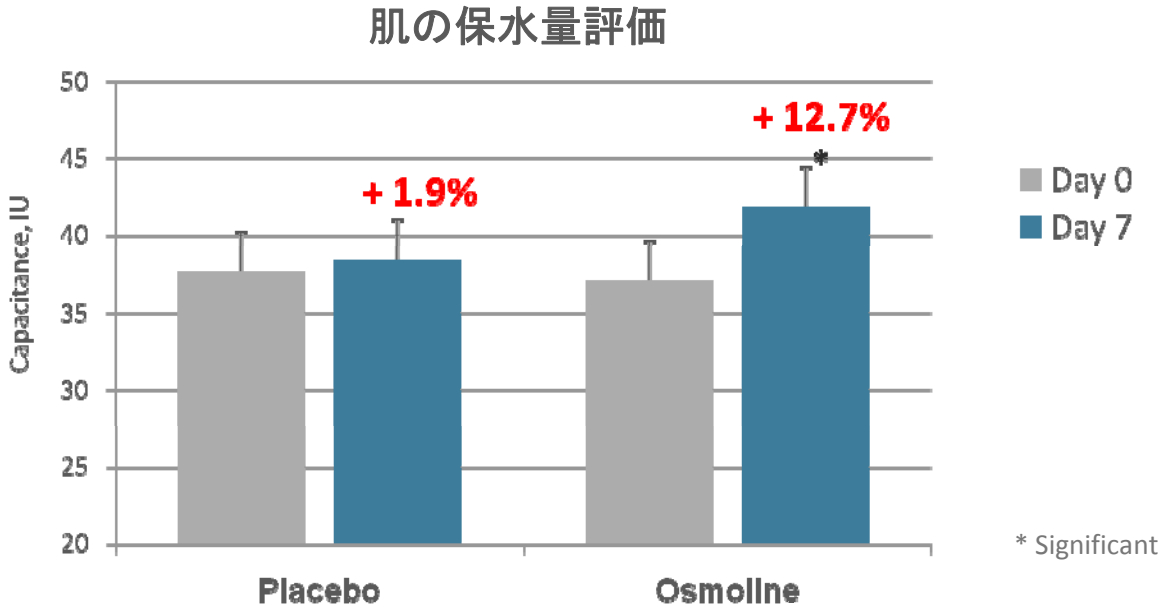


Vincience BIOFUNCTIONALS

5. 肌のうるおいとツヤ感

肌のツヤ感の評価 (*in-vivo*)

コルネオメーターを使用して静電容量の変化から、肌のうるおいを計測



結果として、オスモリンクリームの塗布後、肌の水分量は増加しました。この増加は70%の被験者で確認されました。

ISP

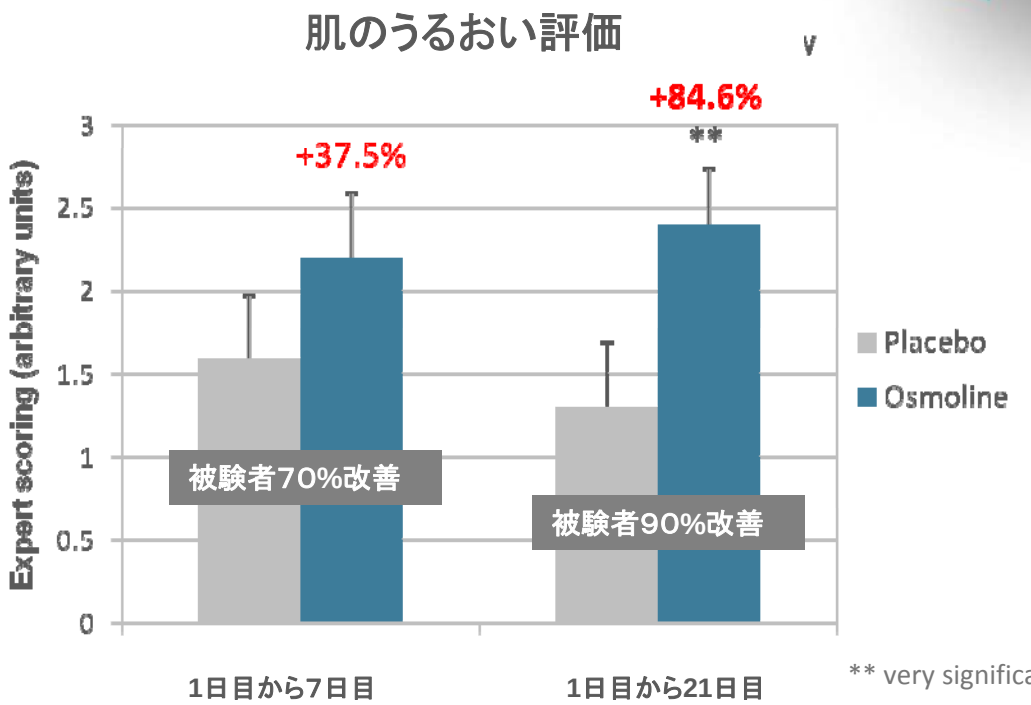


5. 皮膚のうるおいとツヤ感

肌の見た目によるツヤ感の評価 (専門家による採点評価)

7日目と試験最終日に肌の見た目によるツヤ感を専門家が臨床的に観察しました。

0から10までの得点で評価を行いました。
0 → 超乾燥肌
10 → 非常にうるおいのある肌



** very significant

肌のツヤ感は、オスモリンを配合したクリームを3週間塗布後、プラセボクリームを使用した対照に比べて顕著に有意な改善が見られました。

Osmoline™

Vincience
BIOFUNCTIONALS



D

化粧品用途

推奨事項

ISP

Osmoline™



化粧品用途

- 肌を保湿し乾燥を防ぐスキンケア製品
- 乾燥肌･敏感肌向けスキンケア製品
- 老化した肌用のスキンケア製品
- 肌の再生を助けるスキンケア製品:
  - ピーリングやダーマブレージョン後に使用するクリーム
  - アフターシェービング剤や脱毛後に使用するクリーム
- 乾燥した環境での水分保持を助けるスキンケア製品:
  - 冬用クリーム
  - （環境要因から）肌を保護するスキンケア
- 推奨濃度:1%（臨床試験を1%で行いました）



問い合わせ先

アイエスピー・ジャパン株式会社
パーソナルケア部
〒104-0033
東京都中央区新川1－16－14
TEL: 03-5566-8705
FAX: 03-5566-8682
URL (日本語)：http://www.ispjapan.co.jp
処方掲載サイト：http://www.cosmeticinfo.jp/form/result.php?preparer_id=246