Blumilight™ Biofunctional

ブルーライト汚染から保護する
プレミアムココアペプチド



ASHLAND
With good chemistry great things happen.

Vincience
Biofunctionals

ブルーライト汚染から保護するプレミアムココアペプチド

概要 A

背景 B

有効性試験 C

美容への応用 D

概要

A

- *要約*
- *稀少種:クリオロ・ポルセラーナ*
- *アルト・ピウラ産の持続可能なココア*
- *チョコレート:強力な快楽物質*

要約

Blumilight™

由来

- カカオシード抽出物
- ペルーのアルト・ピウラ産の持続可能なココア
- 稀少種：クリオロ・ポルセラーナ
- ペプチド、糖類、ポリフェノールが豊富

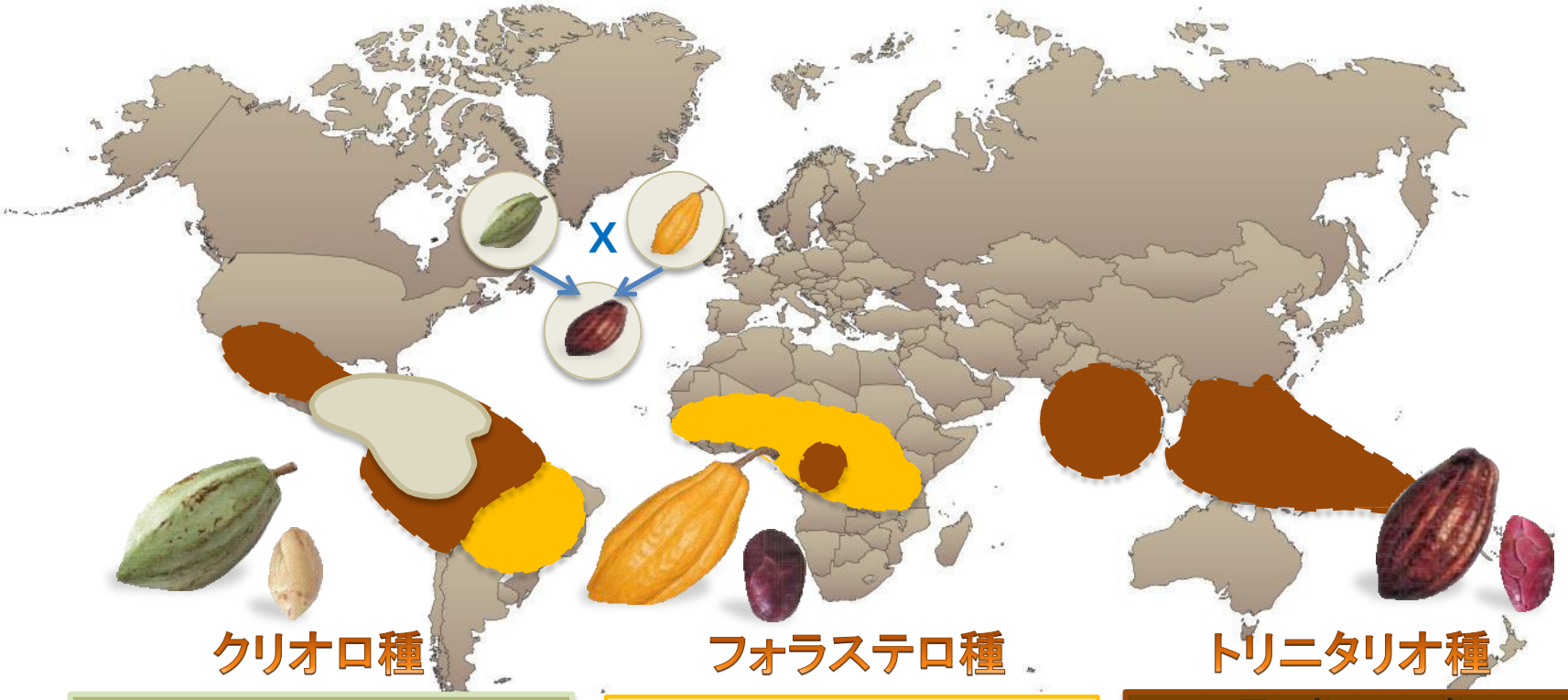
位置づけ

Blumilight™との関連性がみられるもの：

- ブルーライトのストレス下で活性酸素種が減少（*in vitro*）
- ブルーライトのストレス下でオプシン光受容体の維持（*in vitro*）
- コラーゲンI、フィブリリン1、シンデカン4の増加（*in vitro*、*ex vivo*）
- エラスチン線維ネット構造の目に見える改善（*ex vivo*）
- 皮膚の弾力性の改善（*in vivo*）
- 皮膚のしわの目に見える改善（*in vivo*）

稀少種：クリオロ・ポルセラーナ

Blumilight™



クリオロ種	フォラステロ種	トリニタリオ種
豆の色：白 甘味とかすかな苦味、 最も繊細で香り豊か 病害虫に最も弱い	豆の色：紫/スミレ色 苦味と酸味が強い 最も素朴な味わい	豆の色：スミレ色 クリオロ種ほどではないが 繊細な香り
1-5%	80-90%	10-20%

Vincience

ASHLAND

ペルーのアルト・ピウラ産の持続可能なココア

Blumilight™

- ペルー、**アルト・ピウラ**の現地生産者からカカオを持続可能な調達
- 特別な「**白いカカオ**」で知られる地域で、3,000年前に開墾される
- **クリオロ・ポルセラーナ種**その品質の高さでチョコレート製造業者に珍重される
- **極上で、稀少価値**があり、**きわめて病害虫に弱い**品種。クリオロ・ポルセラーナ種をトリニタリオ種の台木に**接ぎ木**して、病気への耐性と収穫量を増やす
- **無発酵のココアシード**から抽出した環境に優しい成分
- 成分：**ペプチド、糖類、ポリフェノール**



チョコレート：強力な快楽物質

Blumilight™

- ココアはいわゆる「**スーパーフルーツ**」に分類される
- 生ココアの**抗酸化力**はブルーベリー、クランベリー、ザクロ[1]、緑茶[2]より強い
- ココアはぜいたくな満足感に関連しており、**幸福感を高める物質**を含んでいる
- 消費者は**ココア**成分の優れた価値に気付いているため、**スキンケア製品**でココアのメリットが得られることに熱い期待を寄せている





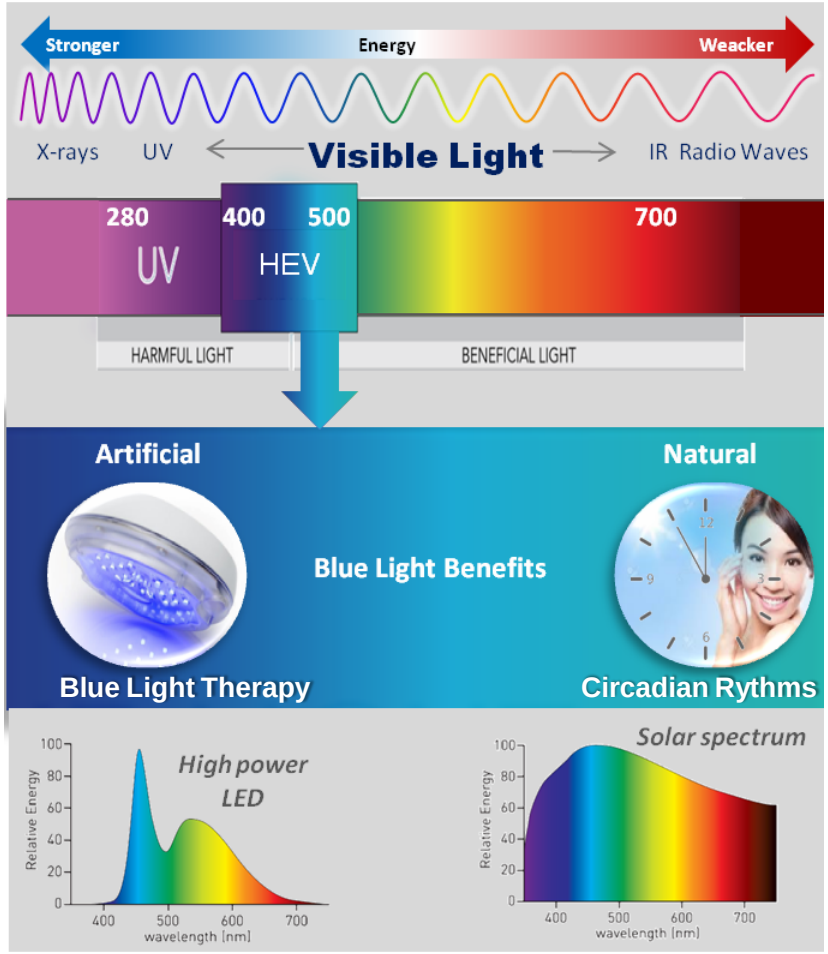
背景

B

- ブルーライトの利点
- ブルーライトの負の側面
- ブルーライト汚染とデジタル機器による老化
- 3C老化：高度に情報化された生活習慣
- ブルーライトが活性化する（オプシン）光受容体

ブルーライトの利点

- ブルーライト、すなわち**高エネルギー可視（HEV）光線**は、可視光線のうち波長400～500 nmの光を指す
- 紫外線（UV）に近く、短い波長で**エネルギーが高い**
- 自然状態では、身体はブルーライトによって**覚醒**し、**概日リズム**を調節する
- 人工的なブルーライトは、**皮膚科学に則った**皮膚病変（ざ瘡、乾癬など）**LED光治療**に利用される
- 青色LEDは酸化ストレスを引き起こしやすい**青色の光パルス**を放射して皮膚病変[3]を治療する



ブルーライトの負の側面

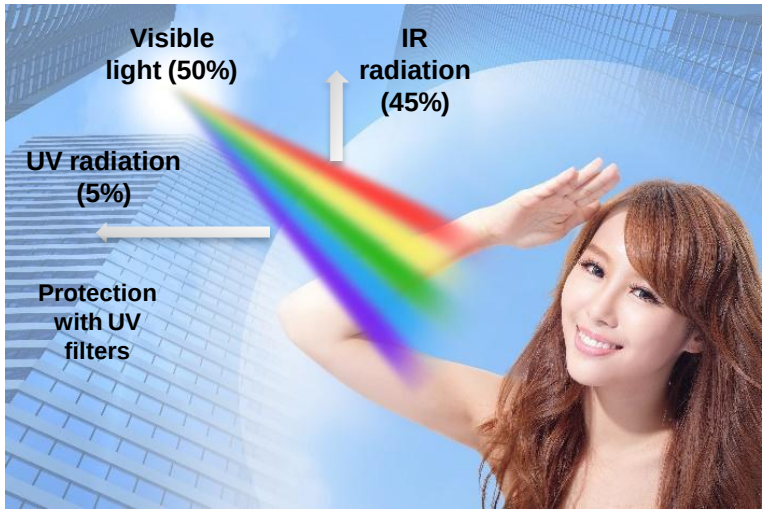
Blumilight™

紫外線（UVB、UVA）、電離放射線（IR）の放射から皮膚を守ることの重要性は周知の事実であるが、**可視**光線、特に高エネルギー可視（**HEV**）光線はどうだろうか？

自然界のブルーライトには多くの利点もあるが、**酸化ストレス**を引き起こし、**光による皮膚のダメージ**を増大させる[4-6]

可視光線またはHEV光線の皮膚細胞に対する作用（*in vitro*）：

- **活性酸素種**の増加[5]
- **ミトコンドリアDNAの損傷**[6]
- 表皮**バリアの回復**の遅れ[7]
- **炎症カスケード**の変質[8]
- 真皮の**カロテノイド欠乏**[9]
- **ランゲルハンス細胞**の免疫抑制[10]



Irradiation of skin with visible light induces ROS and oxidative damage

青色光に対する皮膚の保護作用を高めることは、紫外線や赤外線に対する保護を**補完するアプローチ**であり、皮膚を若々しい外観に保つ[5]

ブルーライト汚染とデジタル機器による老化

Blumilight™

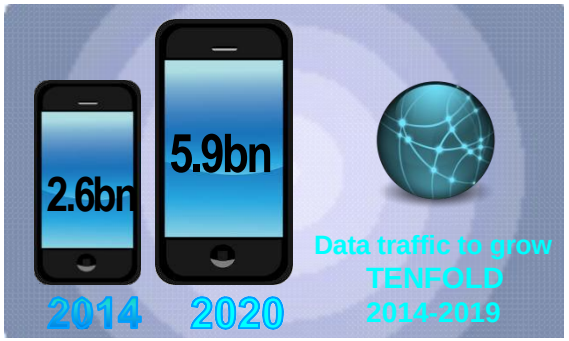
- **ブルーライト汚染**は高度に情報化された生活習慣に伴う人工的なブルーライトへの曝露を意味する
- **ブルーライト**は、**携帯電話**や**タブレット**、**コンピュータ**など**電子機器**から多く発せられている
- 人工的なブルーライトの発生源には、**エネルギー効率の良い**蛍光**電球**や**LED光**で使用される**人工**光がある
- 就寝前に**LED光**に長時間曝露することは、睡眠障害、メラトニンの変化および**眼の早期老化**、すなわち「**ブルーライトの害**」に関連している[4,11]
- UVや大気汚染からの保護が必要であるように、ブルーライト汚染からの保護も**デジタル機器による皮膚の老化**を最小限にする上で役立つ可能性がある



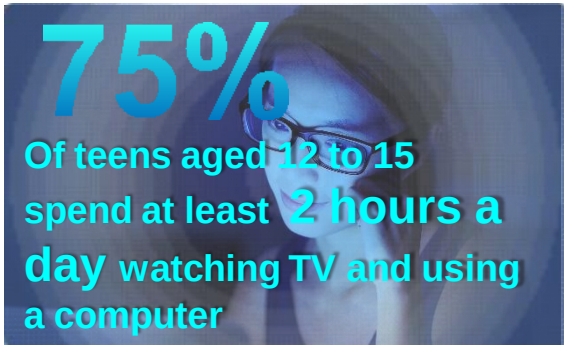


3C老化：高度に情報化された生活習慣

- **日常生活での電子機器の利用の増加**：スマートフォンユーザーは2020年に53%を超えると予想される
- **眼のブルーライトへの曝露**が増大すると、眼精疲労や目の早期老化を招く[4,11]
- ブルーライトの害を低減するために、特殊なコーティングを施した**眼科用レンズ**が開発されている
- また、ブルーライト曝露を低減するための**アプリや画面フィルム**も開発されている
- 中国では[12]、消費者が都市（**City**、大気汚染）、コンピュータ（**Computer**、ブルーライト）、コミュニケーション（**Communication**、無線の電磁波）による**「3C老化」**を心配している
- 新たな老化の心配：「スマートフォンじわ」
- Blumilight™は、消費者の**変化しつつある生活習慣**の影響を 打ち消す助けになる







ブルーライトが活性化する(オプシン)光受容体

Blumilight™

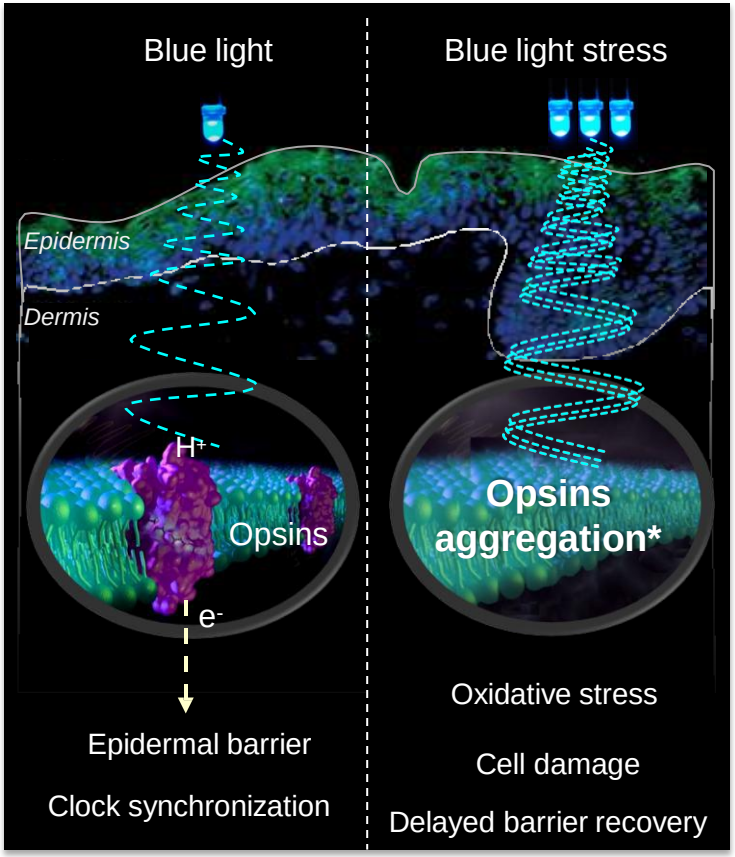
皮膚は可視光線の**光感覚器**系としてはたらく

皮膚のケラチン生成細胞とメラニン形成細胞にある**オプシン光受容体**でブルーライトを検知する[13 14]

オプシンは**表皮バリア**の分化[14]や**体内時計の調節**[15]に関与することが知られている

ブルーライトへの過剰曝露は、細胞内で**オプシンの凝集**を引き起こし、**細胞にダメージ**を与える[16]

皮膚がブルーライトに過剰曝露すると、
バリアの回復の遅れ[17]を招く



*Opsin aggregation is observed in epithelial cells of the retina

有効性試験（*in vitro*、*ex vivo*）

C

- ブルーライトストレスと皮膚の光感覚器系
  - オプシン光受容体（オプシン1、2、3）
- ブルーライトストレスと活性酸素種
  - ミトコンドリアと細胞ROS
- Blumilight™と老化のバイオマーカー
  - コラーゲンI、フィブリリン1、シンデカン4

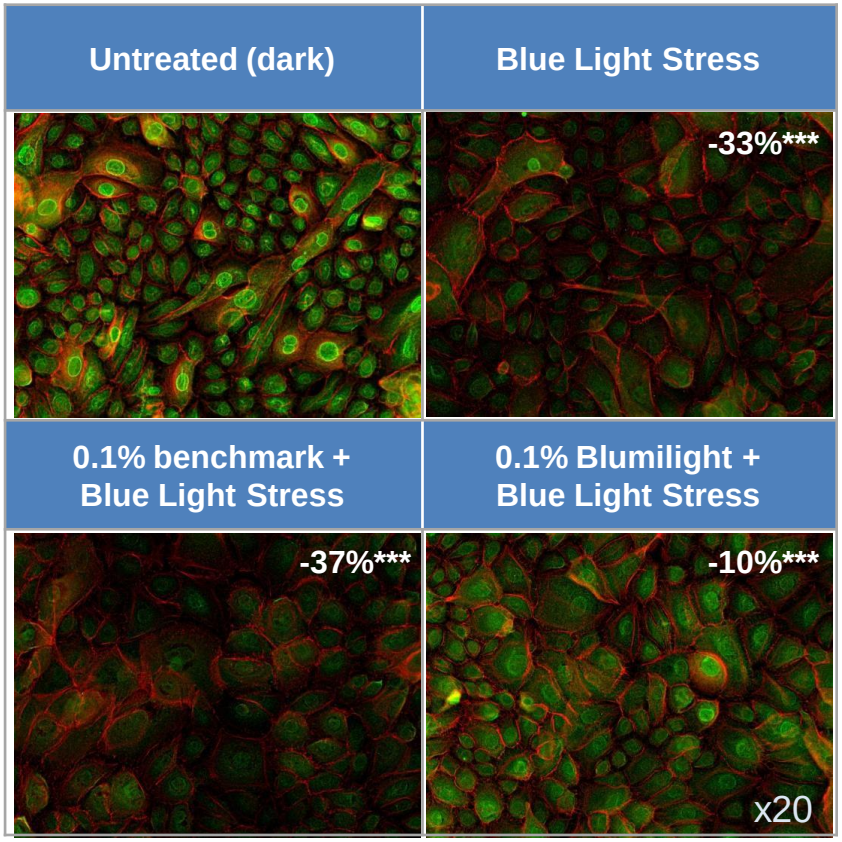
Blumilight™

ブルーライトストレス
と皮膚の光感覚器系

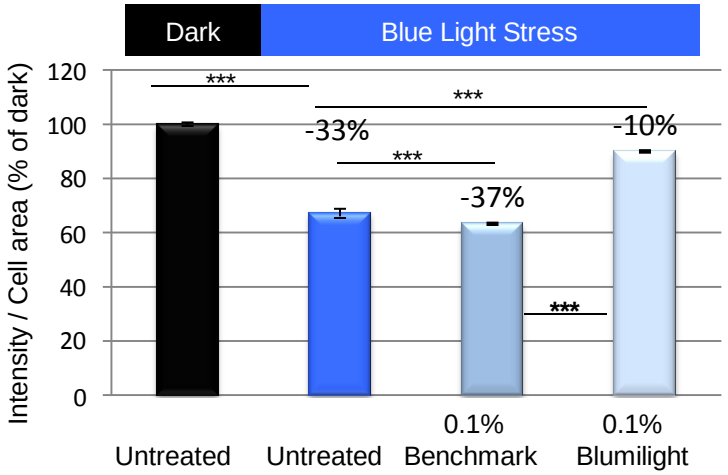
ブルーライトストレスとオプシン1

オプシン1 SWは、表皮の上層に存在し、**青紫光で活性化される光受容体**である

培養細胞:正常ヒトケラチン生成細胞　**適用物質**:0.1% Blumilight™ または0.1%ベンチマーク（ココアポリフェノール）
ストレス:青色LED 415 nm（3 mW/cm²、18分間）　**適用時間**:投与（24時間）→ストレス→投与（24時間）→ストレス→ 染色
評価:OPN1SWの免疫染色およびソフトウェア解析による画像定量化。緑:オプシン1 SW染色、赤:アクチン染色



Statistical analyses versus Dark untreated



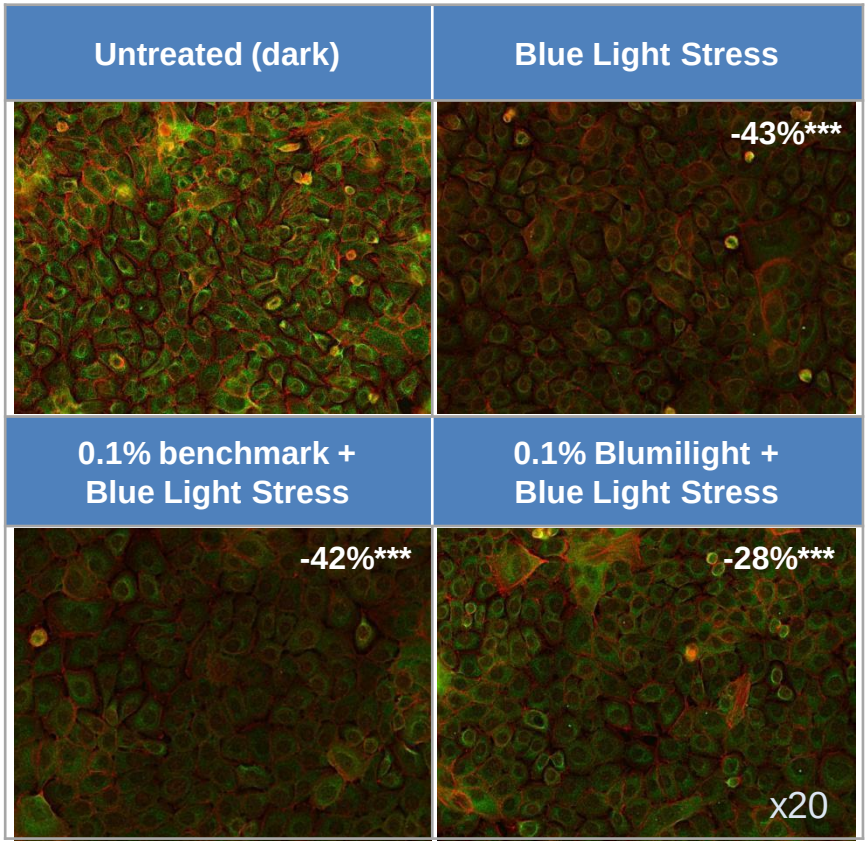
Statistical analysis with Student's *t* test
*** highly significant, Mean ± sem, n=3

Blumilightは、ブルーライトストレスに曝露したケラチン生成細胞でオプシン1 SW維持の改善に関連している（*in vitro*）

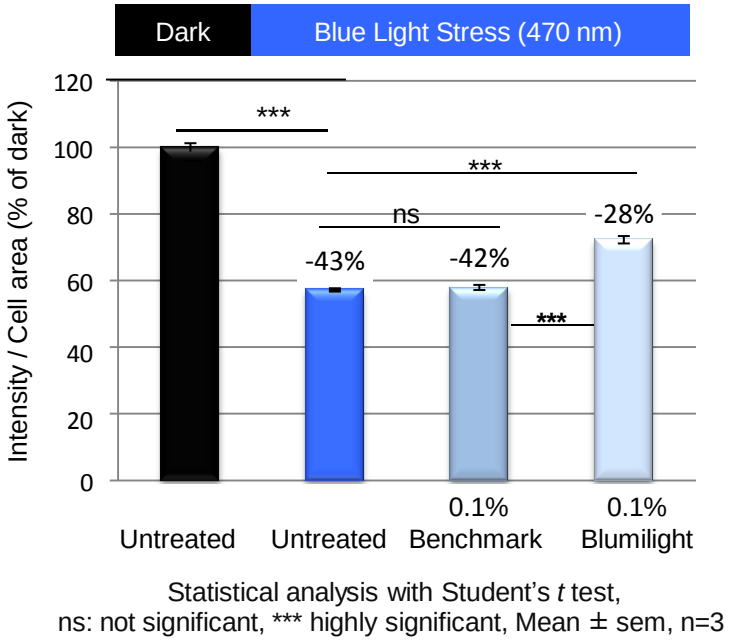
ブルーライトストレスとロドプシン（オプシン2）

ロドプシンは、表皮の上層に存在し、**青緑光に感受性のある光受容体**である

培養細胞：正常ヒトケラチン生成細胞　**適用物質**：0.1% Blumilight™ または0.1%ベンチマーク（ココアポリフェノール）
ストレス：青色LED 470 nm（3 mW/cm²、18分間）　**適用時間**：投与（24時間）→ストレス→投与（24時間）→ストレス→染色
評価：ロドプシン（オプシン2）の免疫染色およびVolocity*ソフトウェア解析による画像定量化。緑：オプシン2染色、赤：アクチン染色



Statistical analyses versus Dark untreated



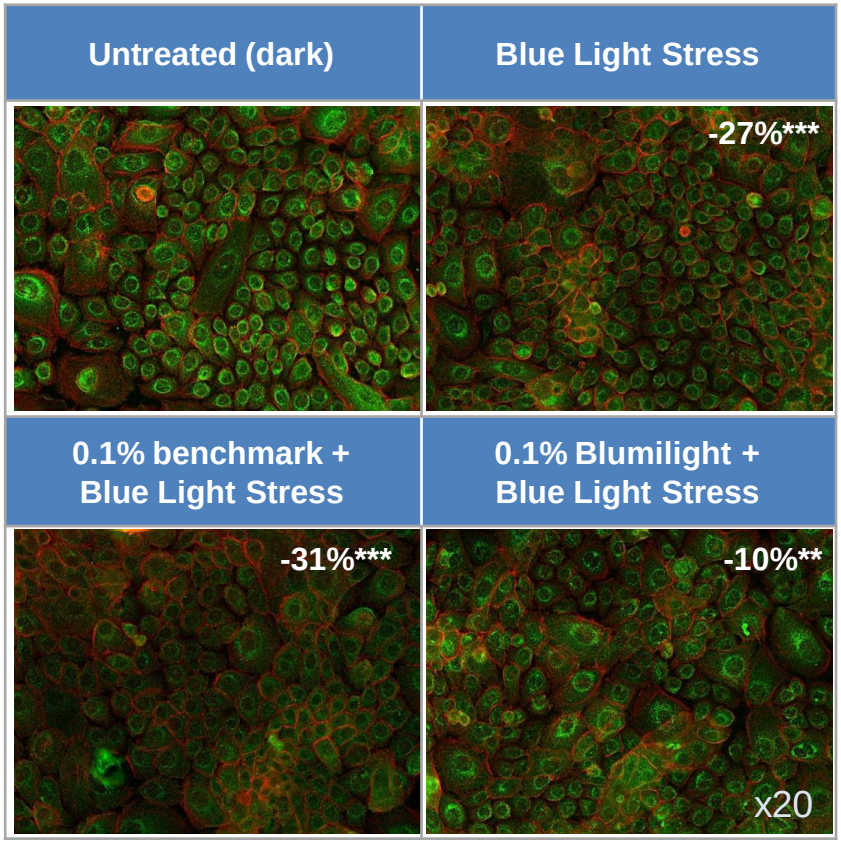
Statistical analysis with Student's *t* test,
ns: not significant, *** highly significant, Mean ± sem, n=3

Blumilightは、ブルーライトストレスに曝露したケラチン生成細胞でロドプシン維持の改善に関連している*（in vitro）*

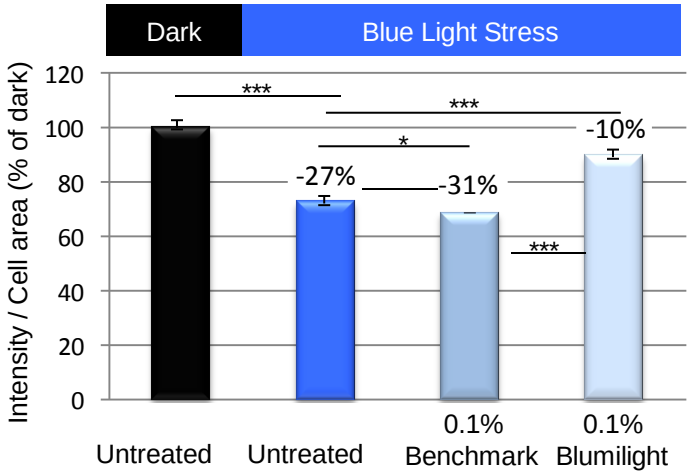
ブルーライトストレスとオプシン3

オプシン3は、ケラチン生成細胞とメラニン形成細胞に発現する、**青色光に感受性のある光受容体**である

培養細胞:正常ヒトケラチン生成細胞　**適用物質**:0.1% Blumilight™ または0.1%ベンチマーク(ココアポリフェノール)
ストレス:青色LED 415 nm(3 mW/cm^2、18分間)　**適用時間**:投与(24時間)→ストレス→投与(24時間)→ストレス→染色
評価:オプシン3の免疫染色およびVolocity*ソフトウェア解析による画像定量化。緑:オプシン3染色、赤:アクチン染色



Statistical analyses versus Dark untreated



Statistical analysis with Student's *t* test, * significant,*** highly significant, Mean ± sem, n=3

Blumilightは、ブルーライトストレスに曝露したケラチン生成細胞でオプシン3維持の改善に関連している*(in vitro)*

Blumilight™

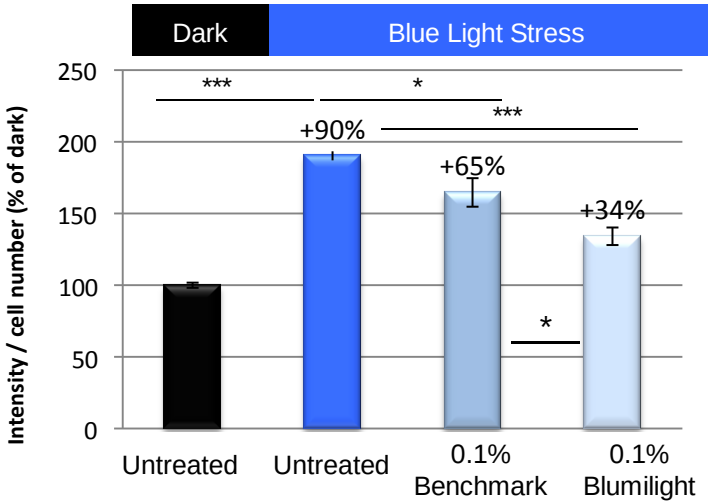
ブルーライトストレスと活性酸素種（ROS）

ー ミトコンドリアROS

ー 細胞ROS

ブルーライトストレスとミトコンドリアROS

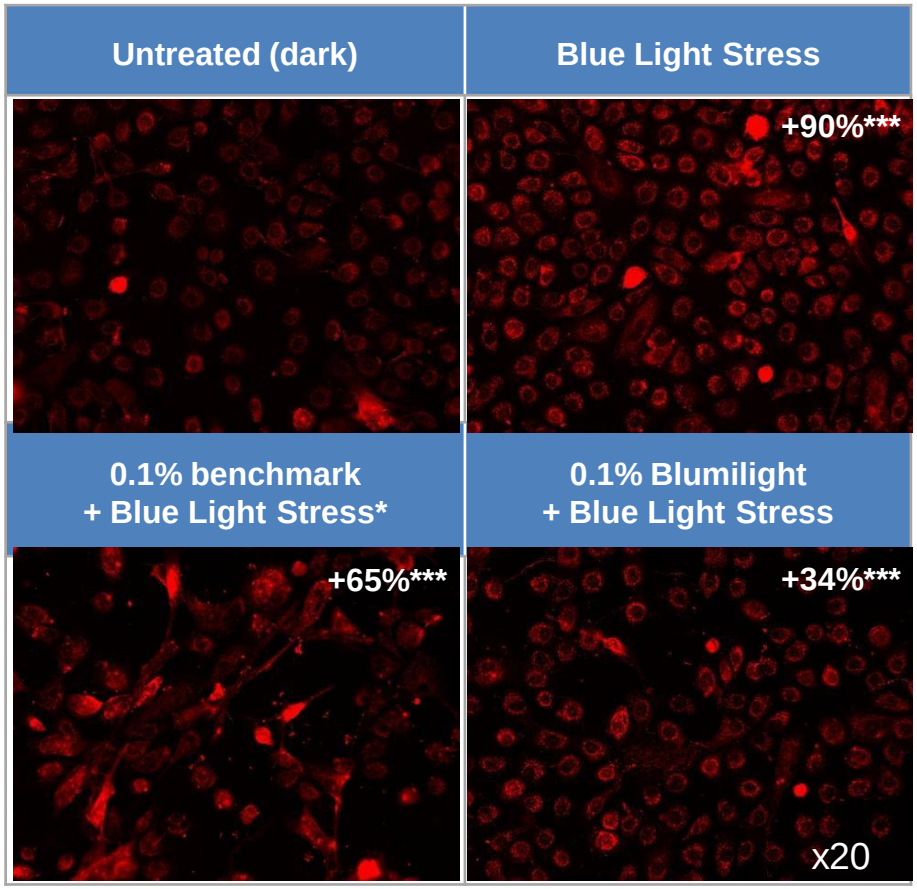
培養細胞：正常ヒトケラチン生成細胞　**適用物質**：0.1% Blumilight™または0.1%ベンチマーク（ココアポリフェノール）
ストレス：青色LED 415 nm（3 mW/cm^2、18分間）　**適用時間**：投与（24時間）→ストレス→投与（24時間）→ストレス→染色
評価：MitoSOX蛍光強度染色およびVolocityソフトウェア解析による画像定量化



Statistical analysis with Student's *t* test. *** highly significant, mean ± sem, n=3

Blumilightは、ブルーライトストレスに誘導されたミトコンドリアROS数の少なさに関連している（*in vitro*）

Blumilightの利益は、生の無発酵シードから抽出したペプチドの独特な配合のために、ココアポリフェノールよりも大きい

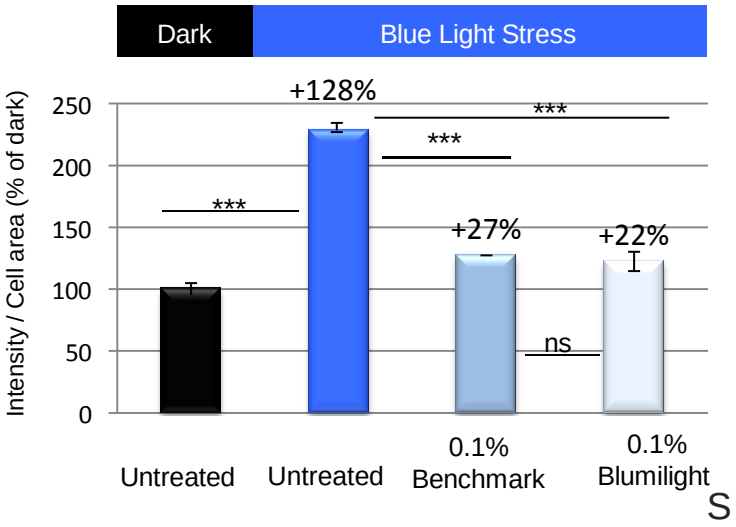


* More damaged cells

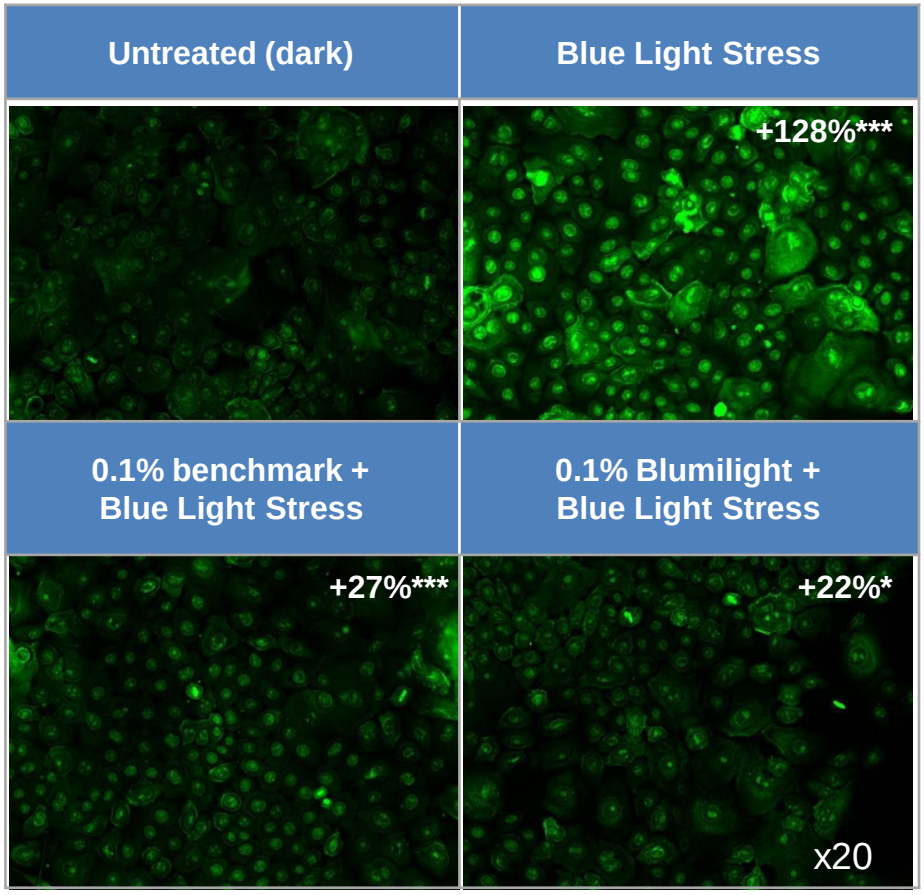
Statistical analyses versus Dark untreated

ブルーライトストレスと細胞ROS

培養細胞：正常ヒトケラチン生成細胞　**適用物質**：0.1% Blumilight™または0.1%ベンチマーク（ココアポリフェノール）
ストレス：青色LED 415 nm（3 mW/cm²、18分間）　**適用時間**：投与（24時間）→ストレス→投与（24時間）→ストレス→染色
評価：CellROX蛍光強度染色およびVolocityソフトウェア解析による画像定量化



Statistical analysis with Student's *t* test, ns non significant, *** highly significant, mean ± sem, n=3

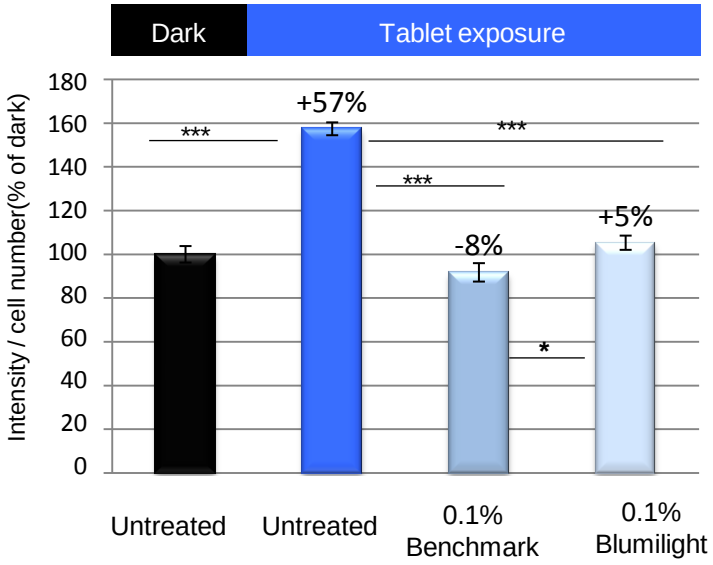


Statistical analyses versus Dark untreated

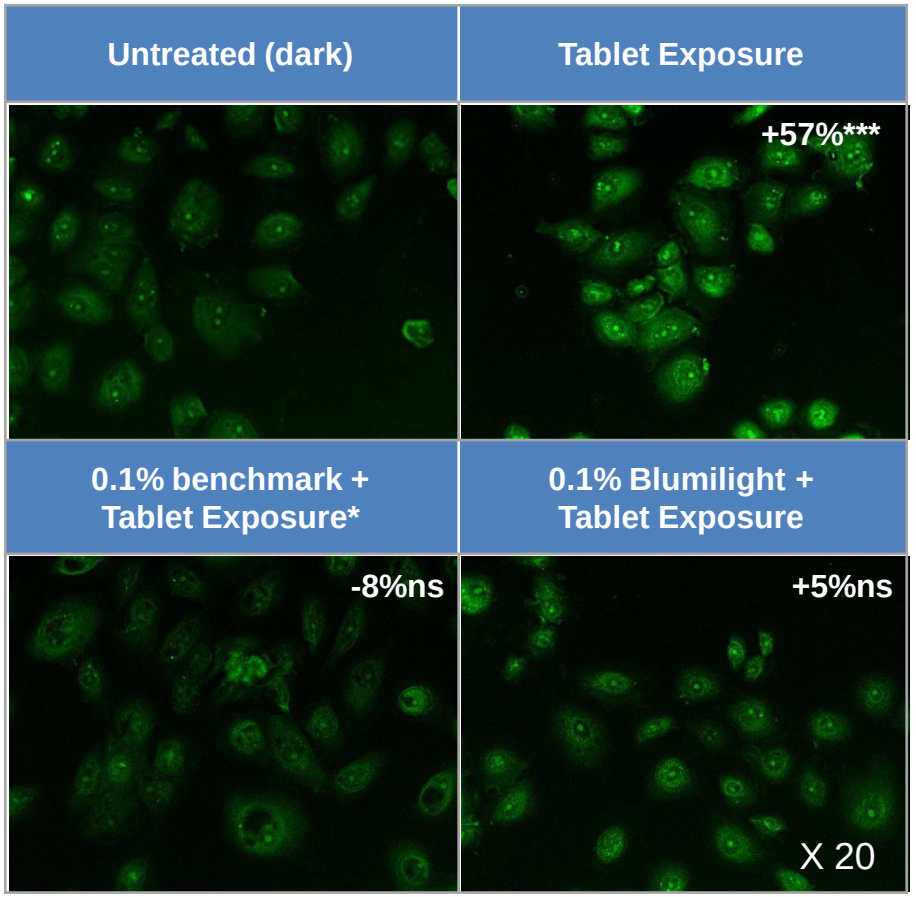
Blumilightは、ブルーライトストレスに誘導された細胞のROS数の少なさに関連している（*in vitro*）

ブルーライトストレスと細胞ROS

培養細胞:正常ヒトケラチン生成細胞　**適用物質**:0.1% Blumilight™または0.1%ベンチマーク(ココアポリフェノール)
ストレス:青色LED 3 mW/cm², 18分間に相当する4時間のタブレット曝露　**適用時間**:投与(48時間)→ストレス→ 染色
評価:CellROX蛍光強度染色およびVolocityソフトウェア解析による画像定量化



Statistical analysis with Student's *t* test, * significant, *** highly significant, mean ± sem, n=3



** More damaged cells*

Statistical analyses versus Dark untreated

Blumilightは、タブレット曝露に誘導された細胞のROS数の少なさに関連している(*in vitro*)

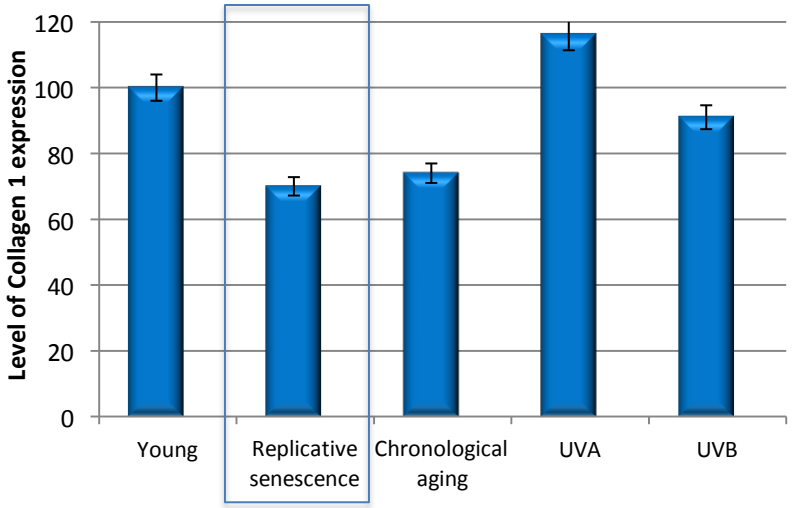
Blumilight™

加齢のバイオマーカー

*In Vitro*モデルの定義

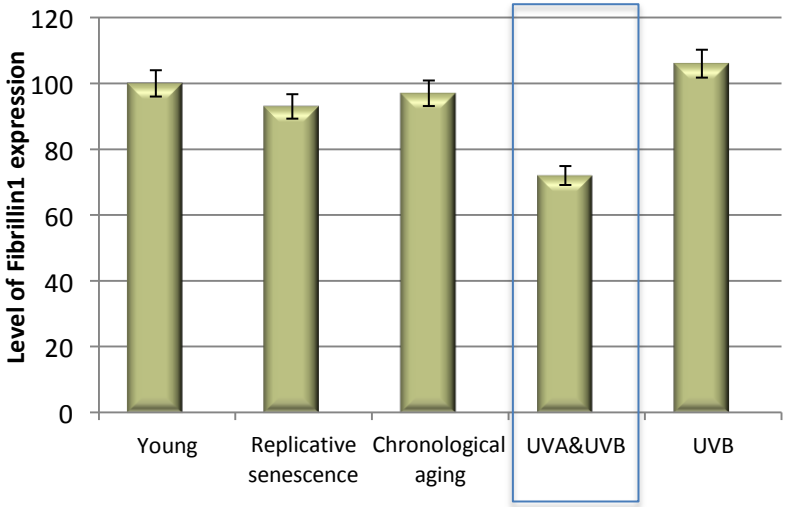
培養細胞：正常ヒト皮膚線維芽細胞　***In vitro*モデル**：25歳のドナーから採取した若い細胞、若い細胞の複製老化によって得た老化した細胞、57歳のドナーから採取した経年変化した細胞、若い細胞にUVAを3回照射し各照射の間に24時間の回復時間を置いた光老化した細胞、または若い細胞にUVBを2回照射し各照射の間に48時間の回復時間を置いた光老化した細胞[18]
評価：コラーゲンIおよびフィブリリン1の免疫染色、Arrayscan Cellomics TMによる定量化

Collagen I



コラーゲンIの評価に選択した*in vitro*モデルは複製老化である

Fibrillin-1



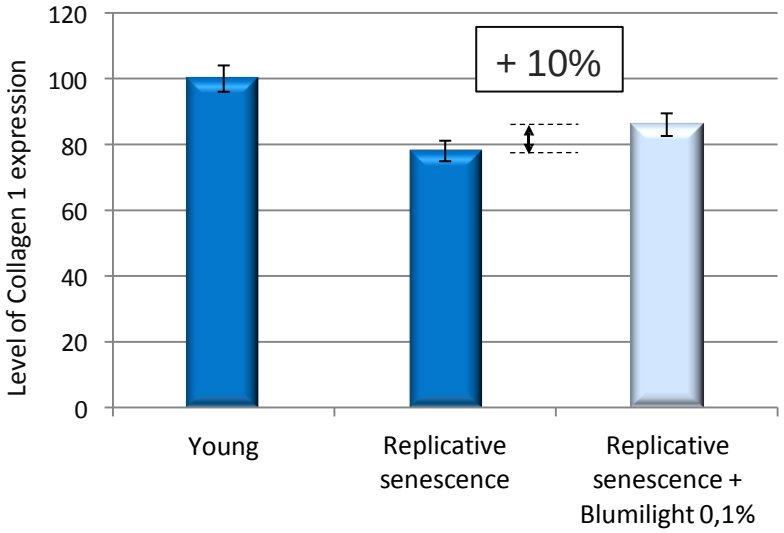
フィブリリンIの評価に選択した*in vitro*モデル*は若い細胞でのUVA &UVBモデルである

Blumilightのコラーゲン I &フィブリリン1に対する効果

事前定義した*in vitro*モデルの使用

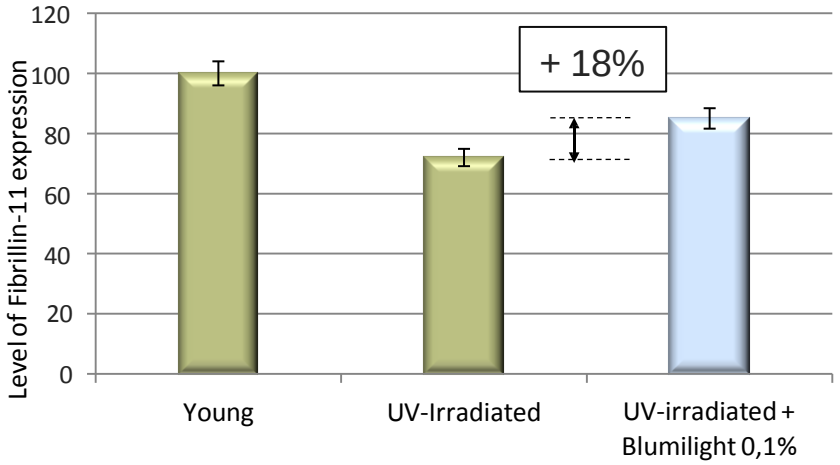
培養細胞：正常ヒト皮膚線維芽細胞　***In vitro*モデル**：若い細胞の複製老化によって得た老化した細胞、若い細胞にUVAを3回照射し各照射の間に24時間の回復時間を置いた光老化した細胞　**適用物質**：Blumilight™ 0.1%
評価：コラーゲンIおよびフィブリリン1の免疫染色、Arrayscan Cellomics*による定量化

Collagen I



Blumilightは、老化した線維芽細胞での
コラーゲンIの増加に関連している（*in vitro*）

Fibrillin-1

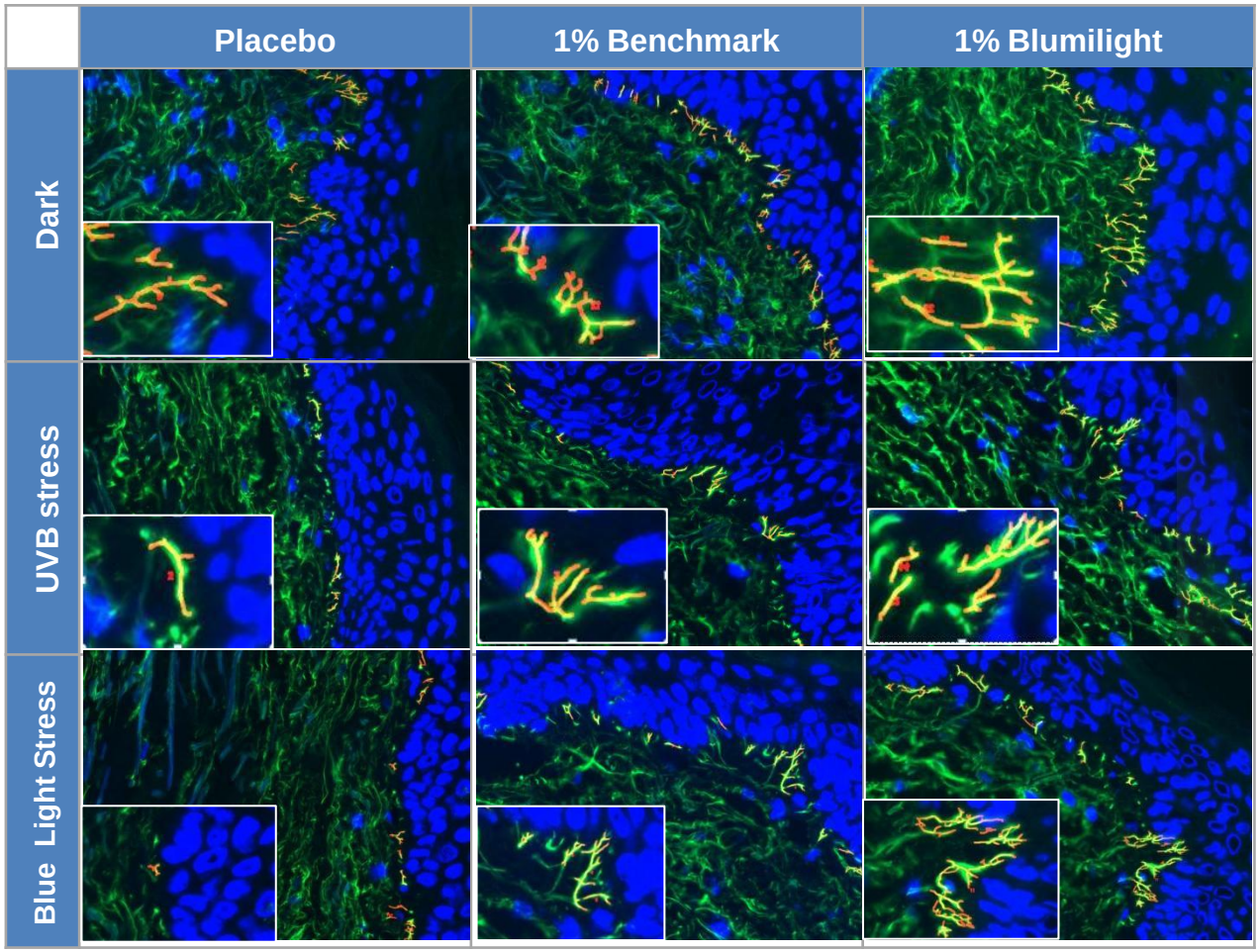


Blumilightは、UVにより老化した線維芽細胞での
フィブリリン1の増加に関連している（*in vitro*）

* Trademark owned by a third party

Blumilightのフィブリリン1に対するEx Vivoでの作用

培養細胞:皮膚生検(54歳) **適用物質**:1% Blumilight™または0.1%ベンチマーク(ココアポリフェノール)
適用時間:72時間 **ストレス**:UVB 100mJ/cm²または青色LED 470 nm(5 mW/cm²、18分間)、24時間および48時間投与
評価:フィブリリン1免疫染色およびコンピュータ支援画像処理



真皮乳頭層のエラスチン線維は燭台様の形状に特徴がある。

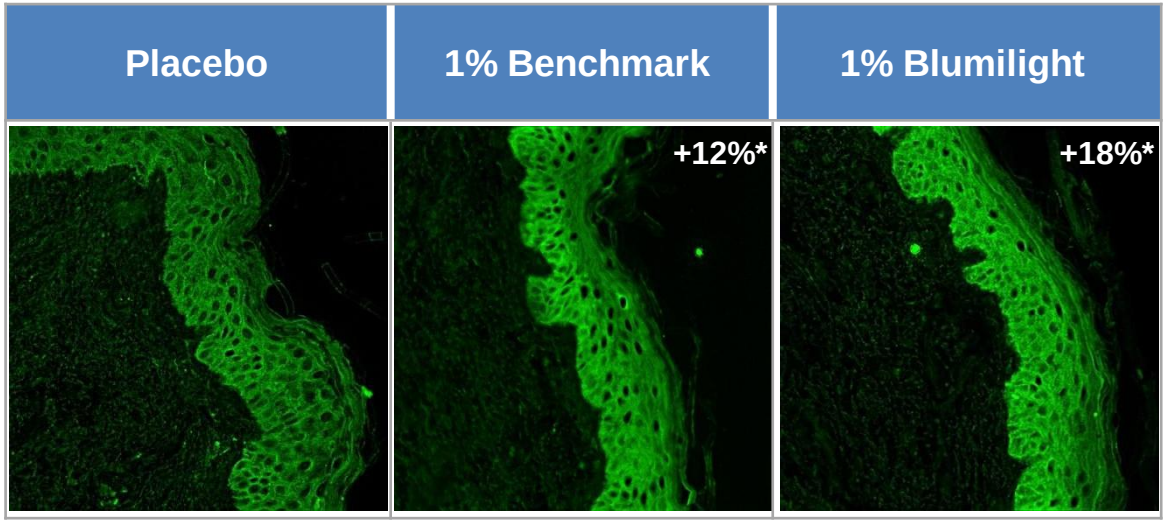
Blumilightは、UVBおよびブルーライト条件下で**エラスチン線維の形状および長さの目に見える改善**に関連している(*ex vivo*)

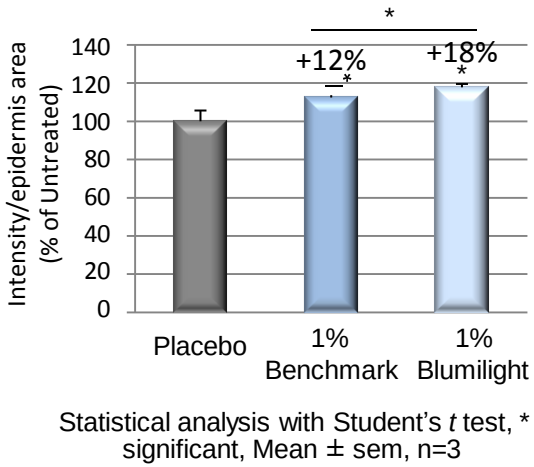
Blumilightのシンデカン4に対する*In Vitro*での効果

C Blumilight™

シンデカンは表皮で合成される小さなプロテオグリカンである。シンデカン4は、表皮の修復に重要な役割を果たすことが報告されている[19]。

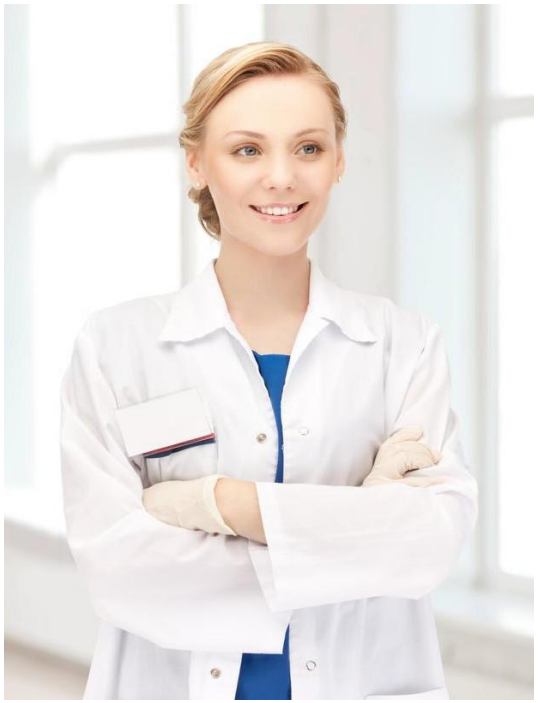
培養細胞:ヒト皮膚生検(52歳) **適用物質**:1% Blumilight™または0.1%ベンチマーク(ココアポリフェノール)
適用時間:投与(72 時間)2x/日→染色 **評価**:シンデカン4免疫染色およびVolocityソフトウェア解析による画像定量化





Statistical analysis with Student's *t* test, * significant, Mean ± sem, n=3

Blumilight 1%は、**皮膚***ex vivo***での**シンデカン4の目に見える増加に関連している



臨床試験

Blumilightがしわの外観と皮膚の弾力性に及ぼす効果

臨床試験のプロトコール

Blumilight™

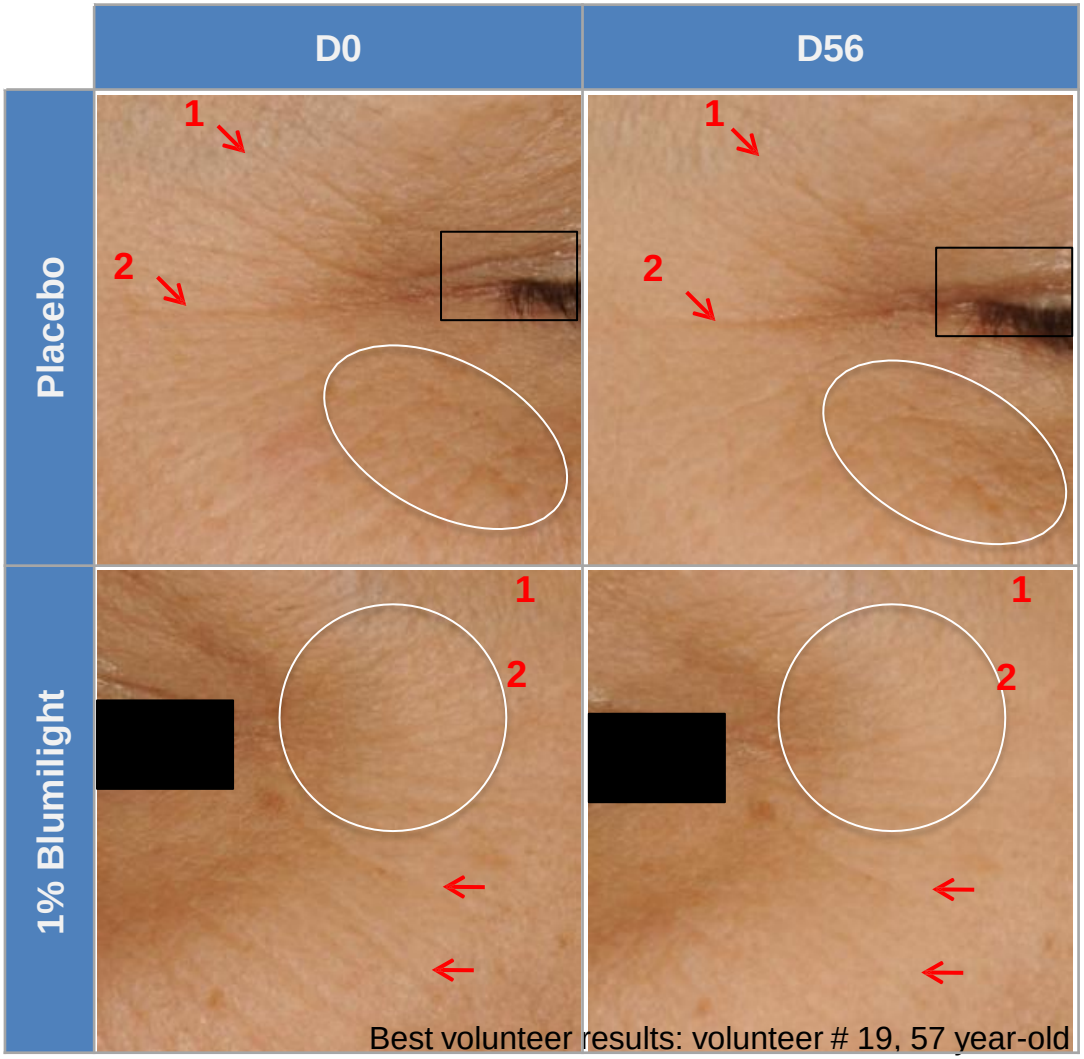
目的：ブルーライト（タブレット、携帯電話、コンピュータ）に1日平均3.8時間さらされるボランティアを対象にBlumilight™1%配合のクリーム剤を評価すること

- **ボランティア**：20名（年齢40～66歳）
- **試験デザイン**：プラセボ対照二重盲検試験
- **使用法**：1日2回朝と夜、クリーム剤を1回2 mg/cm^{2}顔に塗る
- **継続期間**：8週間
- **試験来院**：第0日、第28日、第56日
- **評価法**：DermaTOP*画像解析、カラー画像、Cutometer*解析
- **統計解析**：データが正規分布に従っているかどうかによって、Student t検定（片側検定）またはWilcoxon符号順位検定（片側検定）を用いる





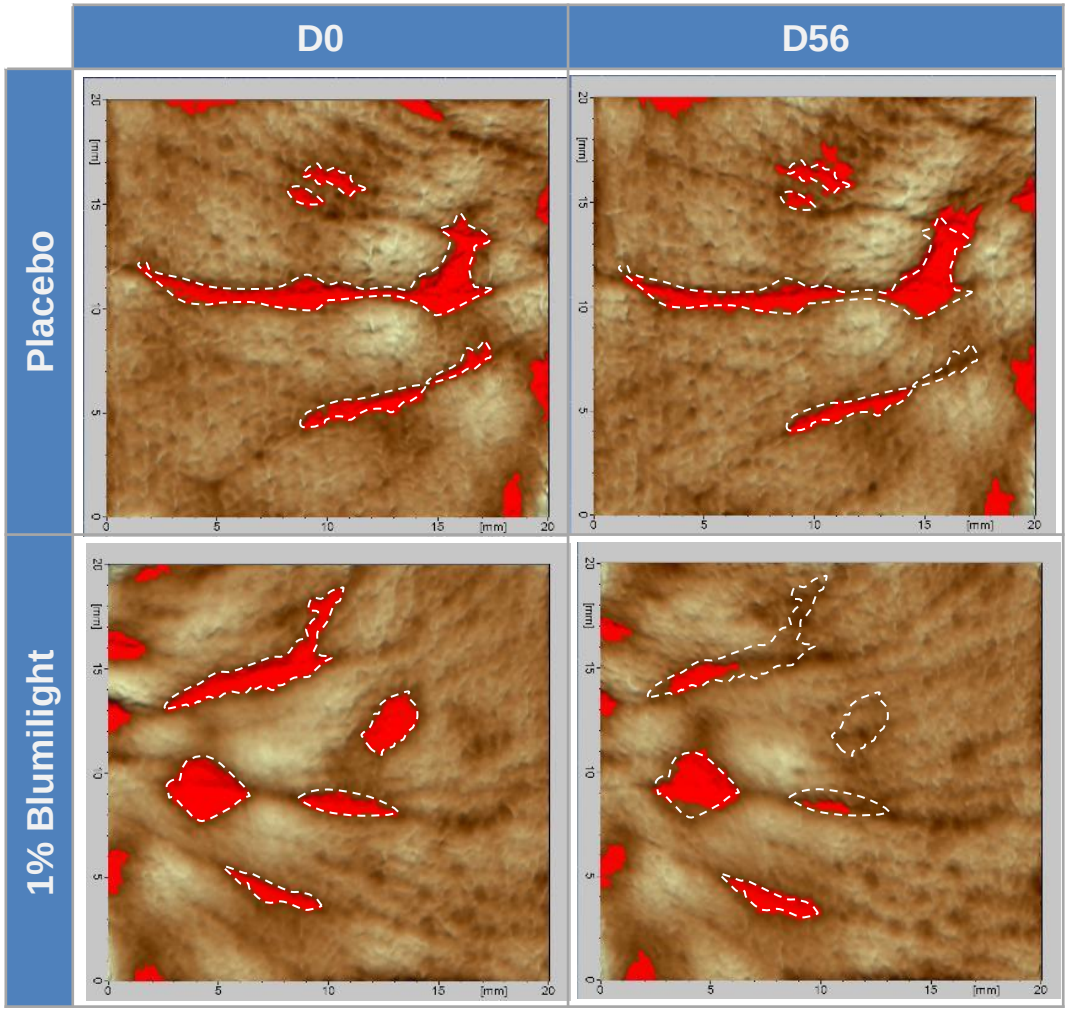
しわの解析：カラー画像



カラー画像によると、Blumilight™1%配合クリーム剤を塗布した側がプラセボを塗布した側と比較して、しわが目立たず皮膚表面がなめらかである

しわの解析：DermaTOP画像

Blumilight™



Best volunteer results: volunteer #4, 66 year-old

	Treated side	Time	Mean	sem	p	% of change
Number of wrinkle segments	Placebo	D56-D0	0.80	0.72	0.0346*	-23%
	1% Blumilight		-1.05	0.78		
Total volume (mm^3)	Placebo	D56-D0	0.191	0.245	0.0133*	-33%
	1% Blumilight		-0.486	0.130		

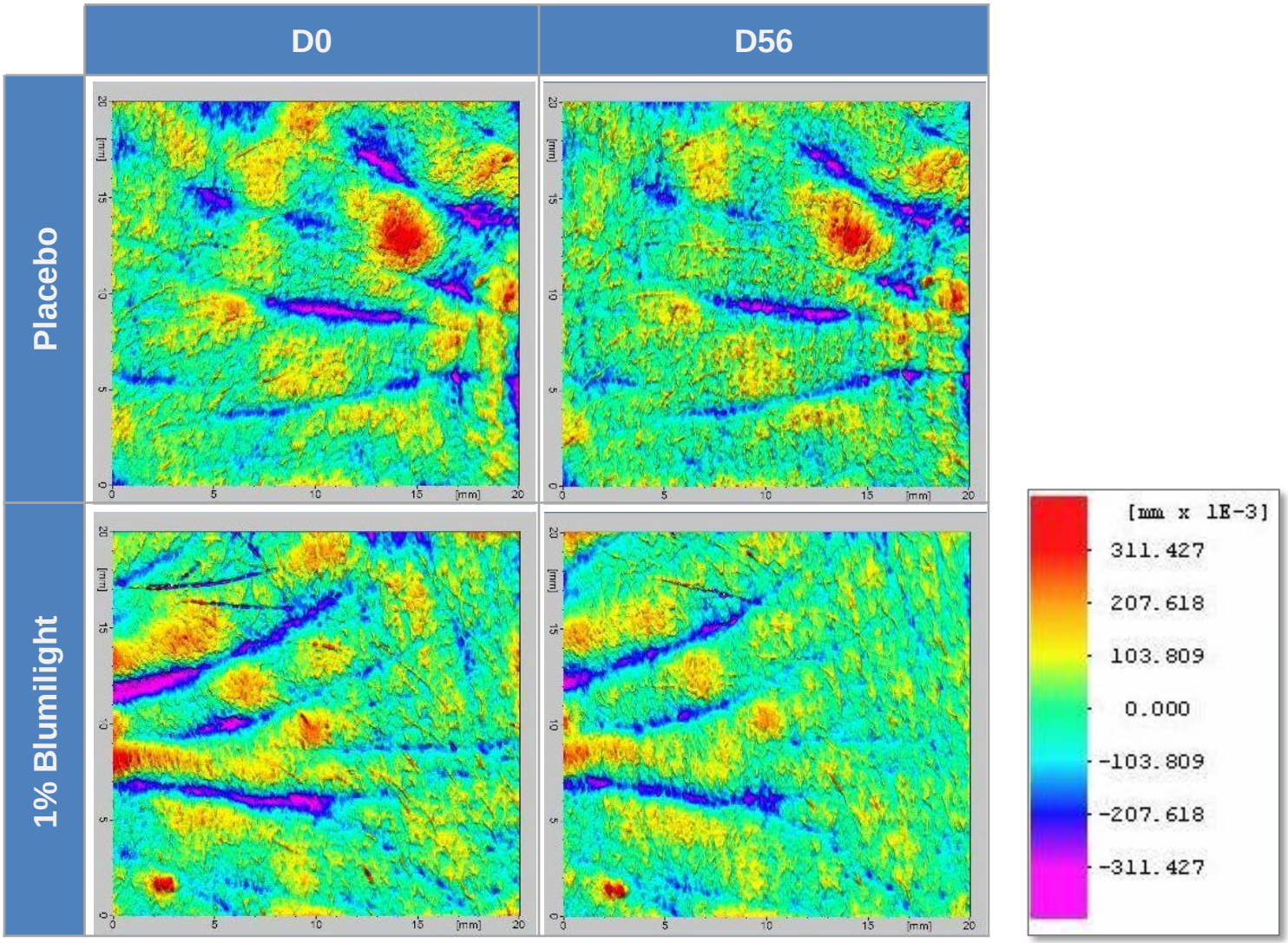
*: significant with Student's *t*-test or Wilcoxon; n=20

DermaTOPによる評価結果：

- しわのある区画が23%減少
- 全体の体積が33%減少

Blumilight™を1%配合したクリームを2カ月塗布した後で、プラセボと比較

しわの解析：DermaTOP画像



Best volunteer results, volunteer #1, 56 year-old

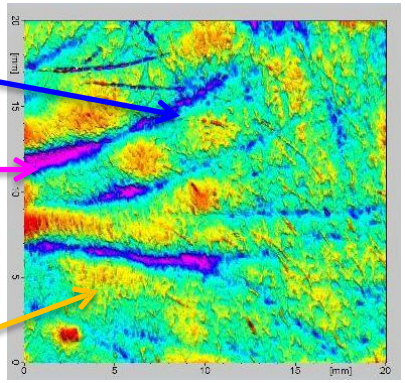
しわの解析:しわのパラメータ

Blumilight™

DermaTOP wrinkles parameter evolution[20]

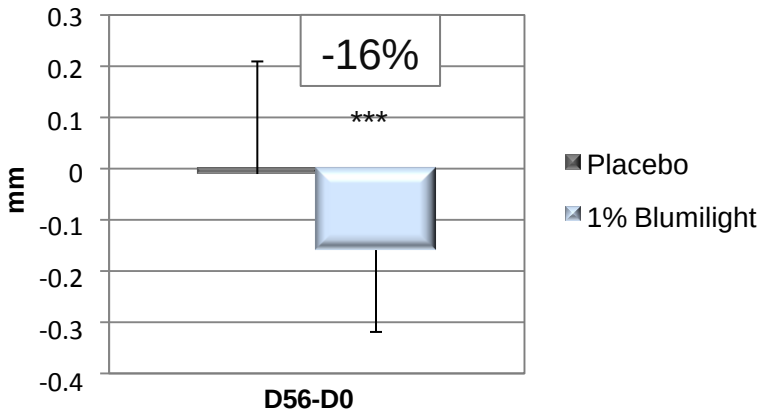
↓**Sa** = Reduction in wrinkles and fine lines

↓**St** = reduction in main wrinkle



↓**Stm** = smoothing of the surface

Reduction in main wrinkles (St parameter)



	Treated side	*Time*	*Mean*	*sem*	*p*	*% of change*	*% of improved volunteers*
Sa (mm)	Placebo	D56-D0	0.0005	0.0022	**0.0319***	**-8%**	70% (14/20)
	1% Blumilight		-0.0046	0.0016			
St (mm)	Placebo	D56-D0	-0.0107	0.0345	**0.0049*****	**-16%**	65% (13/20)
	1% Blumilight		-0.1592	0.0322			
Stm (mm)	Placebo	D56-D0	-0.0078	0.0128	**0.0531≈***	**-6%**	65% (13/20)
	1% Blumilight		-0.0334	0.0107			

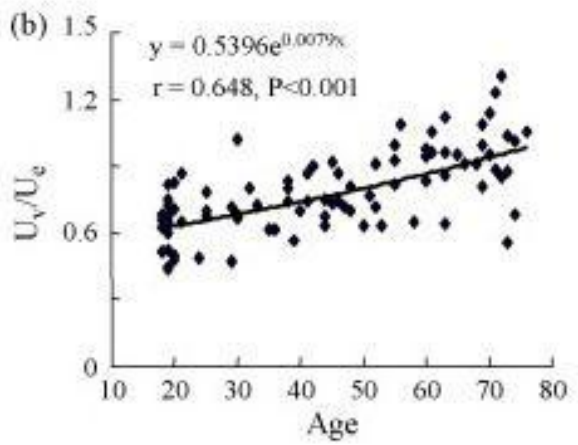
≈*: nearly significant ; *: significant; ***: highly significant with Student's *t*-test or Wilcoxon test; mean +/- sem; n=20

Blumilight™が1%配合されたクリーム剤はしわの見えにくさ(深いしわおよび細かいしわ)および皮膚表面のなめらかさと関連している

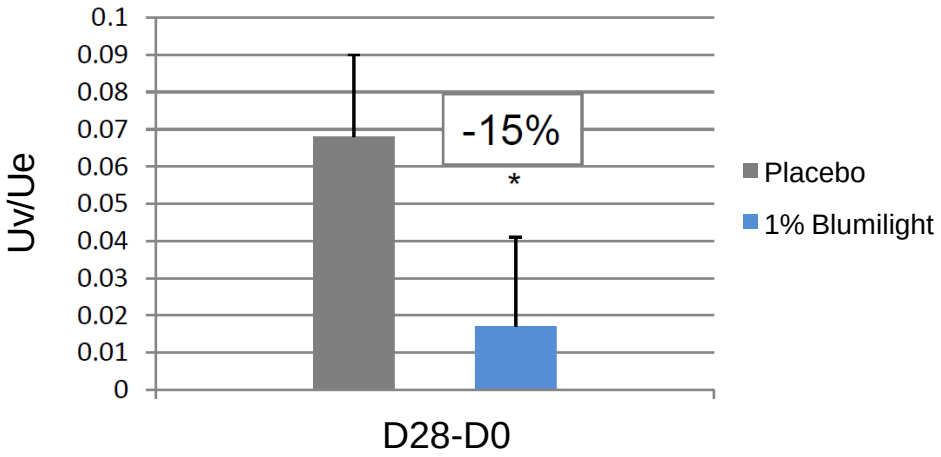
皮膚の弾力性の評価

Blumilight™ 1%配合クリームを塗布して1カ月後に皮膚の弾力性を評価する。Uv/Ueパラメータは粘性と弾力性の比率を表す。値が小さいほど皮膚弾力性が高く、したがって皮膚に張りがあるように見えることを示す[21]。

Evolution of Uv/Ue Parameter with age[21]



Evolution of Uv/Ue Parameter after Blumilight Application (Cutometer analysis)



	Treated side	*Time*	*Mean*	*sem*	*p*	*% of change*	*% of improved volunteers*
Uv/Ue	Placebo	D28-D0	0.068	0.022	0.0474*	**-15%**	**70% (14/20)**
	1% Blumilight		0.017	0.024			

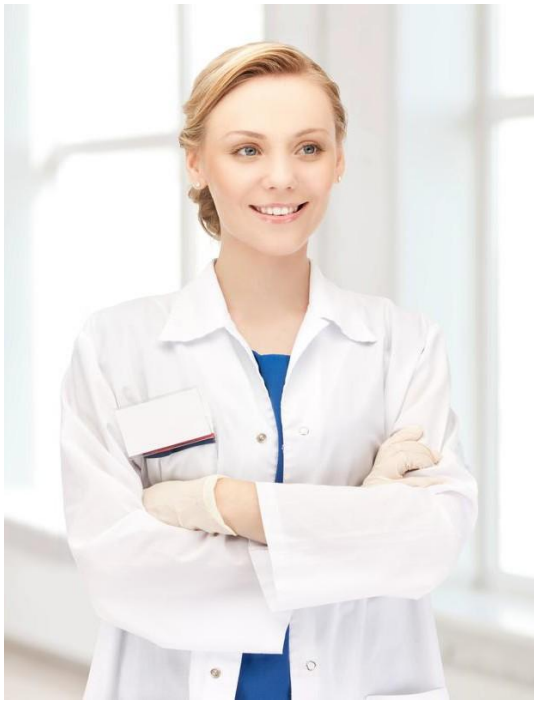
*: significant with Student's *t*-test; mean +/- sem; n=20

Blumilight 1%配合クリームは、1カ月後の皮膚弾力性の改善に関連している。

ボランティアの自己評価

Blumilight™

ボランティアは二重盲検による評価で皮膚の両側を比較した。「どちらの側が改善したと思いますか」という質問に回答してもらった。



2カ月後



ボランティアの過半数が、Blumilight 1%配合クリームを塗った側の皮膚の外観のほうがプラセボを塗った側よりも、目に見えて改善したと答えた。