



ガラクトミセス培養液を含む 3種類のエキス（Celleanup™）を配合した ローションの塗布によるシワ改善効果： プラセボ対照・二重盲検法での4週間塗布試験による検討

川野大地¹⁾／山田耕作¹⁾／能登 舞²⁾／野澤一美³⁾／付 子華¹⁾

Wrinkle Improvement Effect by Application of a Lotion Containing Three Extracts (Celleanup™) Including Galactomyces Ferment Filtrate : Examination by Four Weeks Application Test by Placebo-controlled and Double-blind Methods

Daichi KAWANO¹⁾／Kosaku YAMADA¹⁾／Mai NOTO²⁾／Kazumi NOZAWA³⁾／Zihua FU¹⁾

1) Hondo Innovation Center Co., Ltd.

2) Akita University Hospital Dermatology

3) Interface, Inc.

はじめに

化粧品の効能は「人体に対する作用が緩和なもの¹⁾」と定義されており、化粧品の効能の範囲として56項目の効能効果を標榜することが認められている。これまで、皮膚の乾燥がシワを形成することが報告されてきたことに基づき、2011年には化粧品機能評価表ガイドライン²⁾に準拠した臨床試験によってシワの改善効果が証明できたときのみ「乾燥による小じわを目立たなくする」という標榜が可能となった。また2016年には真皮のシワ改善効果がある成分「ニールワン[®]」が初めてシワを改善する有効成分として厚生労働省に承認され、医薬部外品で「シワを改善する」という訴求が認められるようになったことから化粧品全体におけるシワに対する注目度が高まり、数多くの商品が上市されている。我々はこれまでにガラクトミセス培養液が

オートファジー活性を有しており、さらにオートファジー活性を有するテンニンカ果実エキスとムラサキバレンギクエキスを混合することで代謝のマスターレギュレーターであるAMPKを活性化することを見出している。今回、この3種類のエキス（Celleanup™）を配合したローションのシワに対する効果を確認するため、20歳～60歳以下を対象にシワに対する効果について試験を行ったので報告する。

I 対象および方法

1. 被験者

＜対象＞

インターフェイス株式会社（試験実施関係者：皮膚科専門医 能登 舞、試験責任者 野澤 一美）が一般募集を行い、選択基準を満たし、除外基準に抵触せず、試験への参加に同意する33名の女性を被験者とした。

＜選択基準＞

1. 年齢：20歳～60歳

1) 紅道科研センター

2) 秋田大学医学部附属病院 皮膚科

3) インターフェイス株式会社

表1 Celleanup™ ローションとプラセボの配合成分

【Celleanup™ ローション】 [有効成分] ガラクトミセス培養液, テンニンカ果実エキス, ムラサキバレンギクエキス [その他の成分] 水, ヒドロキシアセトフェノン, 1,2-ヘキサンジオール, BG
【プラセボ】 [有効成分] なし [その他の成分] 水, ヒドロキシアセトフェノン, 1,2-ヘキサンジオール

2. 性別：女性
3. 国籍：日本
4. 試験担当者により健康であると判断された者
5. 「化粧品機能評価法ガイドライン」によるシワグレードが2.5～4.5の者。シワグレードは左右同程度が望ましい。
6. 試験の要求に従い協力し、参加する意思のある者

≪除外基準≫

1. 現在、妊娠している者
2. 試験期間中に妊娠する可能性のある者
3. 現在、授乳している者
4. 試験期間中に授乳する予定のある者
5. 試験品使用1カ月前からシワに効果のあると認められている医薬部外品や医薬品を日常的に使用・服用していた者
6. 被験部位に何らかの影響を与えるような美容医療の経験のある者
7. 本試験の評価に影響をおよぼすと考えられる薬剤（ステロイド剤, 抗アレルギー剤, 免疫抑制剤, 抗ヒスタミン剤等）を日常的に服用・使用する者
8. 試験結果に影響を与える可能性のある程度の花粉症などのアレルギーを発症している者
9. アトピー性皮膚炎等の皮膚症状を有する者
10. 試験に参加することにより皮膚トラブルを発症する可能性の高い皮膚病やアレルギー等の既往歴がある者
11. まつ毛エクステンションをしている者
12. 瞼アートメイク（アイライン等）をしている者
13. ホルモン補充療法を受けている者
14. 他の臨床試験に参加している者
15. その他、試験責任医師および試験責任者が不適格と判断した者

2. 試験品

試験品は有効成分である3種類のエキスを配合したCelleanup™ ローションと有効成分を配合していないローション（プラセボ）である。その配合成分を表1に示す。

3. 試験実施機関

インターフェイス株式会社にて測定。試験責任者は、インターフェイス株式会社 野澤一美、皮膚科専門医 能登 舞にて実施した。

4. 試験期間

試験期間は、2023年4月11日～2023年5月10日までの4週間とした。

5. 試験方法

「新規効能取得のための抗シワ製品評価ガイドライン」に準拠した有用性試験を行った。試験は二重盲検法とし、試験品2品の盲検化は紅道科研センター株式会社にて実施した。その後、インターフェイス株式会社にて、以下の方法で割り付けを行い、紅道科研センター株式会社はインターフェイス株式会社でのキーオープンと同時にインターフェイス株式会社に割り付け開示を行った。

5-1. 試験品の割付方法

割付責任者は、被験者ごとに被験部位（左か右）に対し、単純ランダム割付を行った。試験品の割付は、割付責任者が作成した割付表に基づいて実施された。割付表は割付責任者が密封し、開封時まで厳重に保管を行った。割付責任者：インターフェイス株式会社 竹本 真由子

5-2. 開鍵（キーオープン）

割付責任者は、最終測定が終了し、すべてのデータが固定されたことを確認後、割付表の封印状況の確認を経て開鍵を行った。

6. 試験品の使用方法

1日2回朝晩の洗顔後、試験品2品を指定された半顔側にそれぞれ3プッシュ（約0.5 ml）をやさし

く塗布する。試験品使用期間中、普段品の基礎化粧品品の左右の目周りへの使用は不可とし、左右の目周り部位以外には、普段品の基礎化粧品品を使用する。普段品のメイク落とし、洗顔料、日焼け止め効果のある乳液やクリーム、化粧下地、ファンデーション、メイクアップ製品については、全顔への使用を可能とした。

7. 試験期間中の制限事項

1. 左右の目周り部位への基礎化粧品品の使用
2. 1か月以上使用経験のない製品の身体（頭からつま先まで）への使用
3. 測定日前1週間以内の被験部位の剃毛・除毛

8. 試験内容

- ① <洗顔> 被験者は、メイク落とし（ビオレメイク落とししっかりクリアジェル[®]）と、洗顔料（ビオレスキンケア洗顔料モイスチャー[®]）を用いて洗顔する。
- ② <馴化> 洗顔後、被験者は、温度が20℃、湿度が50%に設定された恒温恒湿室で15分以上馴化する。
- ③ 目尻の写真撮影（VISIA-CRTM）
- ④ シワグレードの目視評価を実施
- ⑤ 目尻のレプリカを採取（SILFLO 剤）
- ⑥ 試験品は、受託機関の試験担当者による口頭説明およびビデオによるデモンストレーション後に配付。その際、書類として使用方法説明書と使用日誌（使用状況の記録、肌状態の記録、薬の服用・使用の記録）も配付。
- ⑦ 使用2週間後に来所、①～⑤の手順を実施し（評価当日朝は試験品を使用することは禁止とする）、その際被験者が持参した試験品を用いて使用方法の確認をする。
- ⑧ 使用4週間後に来所、①～⑤の手順を実施する（評価当日朝は試験品を使用することは禁止とする）。

9. 検査および測定方法

試験開始時と同条件の部屋を使用し、各被験者のCelleanupTM ローションとプラセボにおける使用前後の比較を検討した。評価項目として、①目視によるシワグレードの評価、②写真によるシワグレードの評価、③機器（レプリカ解析）による評価〔シワ面積率（%）、総シワ平均深さ、最大シワ平均深さ、最大シワ最大深さ〕

① 目視によるシワグレードの評価

皮膚科専門医の管理下で熟練判定者が被験者の目尻のシワグレード評価写真「グレード0：シワはない」、「1：不明瞭な浅いシワが僅かに認められる」、「2：明瞭な浅いシワが僅かに見られる」、「3：明瞭な浅いシワが見られる」、「4：明瞭な浅いシワの中に、やや深いシワが僅かに認められる」、「5：やや深いシワが認められる」、「6：明瞭な深いシワが認められる」、「7：著しく深いシワが認められる」の8段階のスコアに基づき、試験品使用前および使用2週間連用後と4週間連用後のシワを評価した。

② 写真によるシワグレードの評価

試験責任医師は左右目尻部位のみを拡大加工処理した写真に対して、目尻のシワの程度についてシワグレード標準を用いて、使用前、2週間連用後および4週間連用後を評価した。各グレードの標準写真に当てはまらない場合は、その中間値あるいは1/4値のスコアの導入も可とした。

③ 機器（レプリカ解析）による評価

レプリカによる斜光照明を用いた二次元画像解析法を用いて、試験品使用前および使用2週間連用後および4週間連用後のレプリカより形状補正された三次元形状からシワを抽出し、以下のシワ解析パラメーターを算出した。

《シワ面積率》測定範囲に占める抽出されたシワの面積比率

《総シワ平均深度》測定範囲内のシワの平均の深さ

《最大シワ平均深度》解析範囲に存在する最大の体積（もしくは面積）のシワに対するシワの平均の深さ

《最大シワ最大深度》解析範囲に存在する最大の体積（もしくは面積）のシワに対するシワの最大の深さ解析範囲は、シワ面積率、総シワ平均深度については、10 mm × 10 mm 四方とし、最大シワ平均深度、最大シワ最大深度については10 mm × 10 mm 四方の中から最大の影面積を生じる1本のシワを最大シワとした。

10. 有害事象および副作用

有害事象は試験期間中に発現した試験品との因果関係を問わないあらゆる事象と定義し、また副作用は試験期間中に発現した試験品との因果関係を否定できない事象と定義する。試験期間中、生じた症状

表2 目視試験によるシワグレードスコア (個人データ)

被験者番号	Celleanup™ ローション			プラセボ		
	使用前	2週間後	4週間後	使用前	2週間後	4週間後
001	3.0	3.0	2.5	3.0	3.0	3.0
002	2.5	2.5	2.0	2.5	2.5	2.5
003	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
004	3.5	3.5	3.5	3.0	3.0	3.0
005	3.0	3.0	3.0	2.5	2.5	2.5
006	3.0	3.0	3.0	3.5	3.5	3.5
007	4.5	4.5	4.0	4.0	4.0	3.5
008	4.0	4.0	3.5	3.5	3.5	3.5
009	3.0	2.5	2.5	3.5	3.5	3.5
010	3.5	3.0	3.0	4.0	4.0	4.0
011	3.5	3.5	3.5	3.0	3.0	3.0
012	4.0	4.0	3.5	4.5	4.5	4.0
013	3.5	3.0	3.0	3.5	3.5	3.5
014	3.5	3.5	3.5	3.0	3.0	3.0
015	3.5	3.5	3.0	3.0	3.0	3.0
016	3.5	3.5	3.0	4.0	4.0	4.0
017	2.5	2.5	2.5	3.0	3.0	3.0
018	3.5	3.0	3.0	3.0	2.5	2.5
019	3.0	3.0	2.5	3.0	2.5	2.5
020	4.0	4.0	3.5	4.5	4.5	4.0
021	4.0	3.5	3.0	3.5	3.5	3.5
022	3.0	3.0	2.5	2.5	2.5	2.5
023	3.0	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
024	3.0	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
025	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
026	3.0	3.0	3.0	3.0	3.5	3.5
027	3.5	3.5	3.0	4.0	4.0	4.0
028	3.0	3.0	3.0	3.5	3.5	3.5
029	3.0	2.5	2.5	2.5	3.0	3.0
030	3.0	3.0	3.0	3.5	3.5	3.0
031	4.5	4.5	4.0	4.5	4.5	4.5

表3 目視試験によるシワグレードスコア平均値の推移

	使用前	4週間後	試験前後の 変化量	試験前後の 変化量の群間比較
Celleanup™ ローション	3.30 ± 0.53	3.00 ± 0.47	- 0.30 ± 0.47	有意差あり ($p = 0.0001^{***}$)
プラセボ	3.30 ± 0.63	3.20 ± 0.58	- 0.10 ± 0.25	

平均値 ± 標準偏差 (n = 31)

*** : $p < 0.001$

に対して試験責任医師または試験責任者が診察を行い、試験品の使用中止など適切な対処を行う。いずれの事象に関しても試験責任医師と試験責任者は、症状の発現日、程度、処置、転帰、試験品との因果関係について記録し、強い刺激反応などの症状が認められた場合は当該部位の写真撮影を行う。

11. 統計処理

Wilcoxon 符号付順位検定または t 検定の両側検定にて使用前と2週間連用後、使用前と4週間連用後、および Celleanup™ ローション塗布部位とプラセボ塗布部位を使用前から2週間連用後、4週間連用後の変化量で比較解析した。有意水準は5%と

表4 機器評価(レプリカ解析)によるシワ解析のスコアデータ

被験者 番号	Celleanup™ ローション						プラセボ					
	最大シワ平均深さ			最大シワ最大深さ			最大シワ平均深さ			最大シワ最大深さ		
	使用前	2週間後	4週間後	使用前	2週間後	4週間後	使用前	2週間後	4週間後	使用前	2週間後	4週間後
001	259.24	205.27	210.08	350.82	315.77	340.71	175.05	172.81	198.14	285.76	292.97	350.31
002	174.74	150.36	154.31	254.32	279.87	240.83	174.16	172.47	190.54	310.75	292.33	292.90
003	164.51	177.89	170.77	359.45	320.04	326.87	133.26	208.96	155.79	297.90	393.28	319.39
004	169.75	182.85	188.23	361.06	388.05	332.27	174.33	161.20	161.51	275.35	285.04	293.22
005	151.39	185.87	141.93	300.34	321.76	317.05	128.92	133.85	137.85	176.46	244.15	257.02
006	213.71	174.40	155.03	374.90	330.12	302.24	193.65	207.59	204.82	343.02	345.58	396.81
007	181.88	155.19	164.82	296.45	279.62	300.86	182.53	172.55	165.60	304.15	323.96	296.44
008	178.95	188.17	168.33	361.55	359.17	346.99	156.82	142.79	151.29	267.30	253.12	261.48
009	170.76	186.31	163.98	352.53	361.03	310.67	206.40	215.63	176.29	353.65	319.92	294.84
010	194.19	183.40	189.81	330.24	308.65	352.18	173.78	196.43	219.44	280.56	305.40	369.01
011	157.36	153.67	153.08	312.17	273.19	292.33	166.89	159.23	172.94	327.14	346.08	277.48
012	165.04	175.37	198.78	318.87	402.35	365.03	155.53	145.29	160.58	254.20	241.18	304.85
013	221.44	194.27	178.47	353.81	424.92	338.69	167.44	177.84	167.44	292.55	296.02	338.57
014	205.55	176.23	168.24	350.43	371.88	257.44	217.70	200.30	171.84	343.89	322.41	350.17
015	190.20	165.53	172.77	362.16	335.61	310.72	179.90	178.37	164.15	317.81	304.12	316.24
016	173.84	169.65	165.36	304.05	325.18	327.24	232.27	226.64	275.19	369.38	426.25	405.83
017	156.62	153.64	151.49	234.15	250.70	313.52	146.64	148.66	164.98	307.92	274.84	356.41
018	164.60	162.11	153.07	224.15	293.83	238.08	140.62	131.55	129.43	199.14	222.18	205.13
019	148.74	153.90	150.24	297.40	244.68	259.48	138.07	134.04	130.08	309.88	209.14	210.07
020	175.56	161.22	164.58	316.93	292.76	251.63	203.03	166.42	186.69	363.83	384.48	330.01
021	196.76	160.85	153.23	311.31	282.07	263.34	149.85	130.00	160.07	260.89	210.26	257.15
022	186.12	166.73	166.12	323.89	318.34	281.29	153.43	146.08	176.81	357.58	388.56	317.27
023	122.24	134.18	143.53	216.59	225.83	261.84	157.42	160.55	155.38	262.82	281.63	260.50
024	145.96	146.47	155.17	291.50	278.98	264.11	132.00	138.06	138.17	194.35	227.26	172.30
025	185.39	168.33	180.12	358.22	318.65	302.09	179.41	187.14	169.79	306.92	327.28	286.98
026	176.57	162.83	145.37	272.10	252.28	244.68	164.67	159.00	145.51	314.07	281.57	256.86
027	159.90	153.72	152.28	297.00	344.04	230.33	192.37	168.25	168.96	321.55	302.57	305.91
028	151.07	155.64	153.93	317.53	296.01	280.47	151.02	151.46	170.92	303.53	238.08	323.04
029	175.13	153.60	166.39	314.98	295.03	288.77	167.33	175.97	177.61	288.98	354.81	373.63
030	163.72	167.95	174.17	301.60	297.23	402.14	198.50	201.63	199.35	312.52	317.86	304.41
031	225.99	194.95	188.57	339.48	327.33	300.80	198.42	213.74	160.50	305.52	343.31	290.23

した。

12. 有効性に関する判定

目視によるシワグレード評価, 写真によるシワグレード評価, 機器による評価(レプリカ解析)における改善を主要評価項目とし, 症状改善や使用感などの日誌評価での改善を副次的評価項目とした。使用2週間連用後, 4週間連用後に, Celleanup™ ローションとプラセボとを比較し, 統計学的検定を適用して, 目視評価, 写真評価または機器評価(レプリカ解析)のいずれかで有意差が認められる場合を有効性ありと判定した。

II 結 果

1. 被験者の背景

33人の女性が試験を開始したが, 1人が有害事

象のため, 1人が使用方法の逸脱のため有効性解析対象者から除外し, 最終的な有効性解析対象者は31人であった。

2. 評価項目の結果

2-1 目視評価

Celleanup™ ローションとプラセボを使用前からの変化量で比較した際, 2週間連用後および4週間連用後の結果を表2に示し, シワグレードの平均値の推移を表3に示した。

Celleanup™ ローションにおいてプラセボと比較してシワグレードが減少しており, またそのいずれも有意差が認められた。

2-2 写真による評価

皮膚科医による写真評価では有意差は認められなかった。

表5 機器評価 (レプリカ解析) による最大シワ平均深さのスコアデータの推移

	使用前	4週間後	試験前後の 変化量	試験前後の 変化量の群間比較
Celleanup™ ローション プラセボ	177.64 ± 26.79 170.69 ± 25.52	165.88 ± 16.33 171.21 ± 27.98	- 16.62 ± 43.01 5.33 ± 44.38	有意差あり ($p = 0.022^*$)

平均値 ± 標準偏差 (n = 31)

* : $p < 0.05$

表6 機器評価 (レプリカ解析) による最大シワ最大深さのスコアデータの推移

	使用前	4週間後	試験前後の 変化量	試験前後の 変化量の群間比較
Celleanup™ ローション プラセボ	314.84 ± 41.11 297.08 ± 45.75	298.22 ± 27.98 302.40 ± 52.56	- 11.76 ± 20.84 0.52 ± 21.00	有意差あり ($p = 0.025^*$)

平均値 ± 標準偏差 (n = 31)

* : $p < 0.05$

2-3 レプリカ解析

シワ面積率 (%), 総シワ平均深さ, 最大シワ平均深さおよび最大シワ最大深さの4つのパラメーターを使用前, 2週間連用後および4週間連用後で算出し, Celleanup™ ローションとプラセボの変化量を比較した。その結果, シワ面積率と総シワ平均深さにおいて有意差は認められなかった。

最大シワ平均深さと最大シワ最大深さにおいて Celleanup™ ローションとプラセボを使用前からの変化量で比較した際, 2週間連用後および4週間連用後の結果を表4に示し, 最大シワ平均深さのスコアデータの推移を表5, 最大シワ最大深さのスコアデータの推移を表6に示した。2週間連用後では最大シワ平均深さと最大シワ最大深さともに有意に減少がみられなかったが, 4週間連用後において最大シワ平均深さと最大シワ最大深さともに統計学的に有意に減少が認められた。

3. 有効性の評価

本製品は化粧品機能評価法のガイドラインに沿って試験を行い, Celleanup™ ローション塗布群において目視とレプリカ解析においてシワグレードが有意に改善されており, 今回の有効成分が抗シワ効果に有効性ありと判定した。また副次的評価項目においても有害事象が1件発生したが, 試験責任医師は試験品との関連はないとの見解を示したことから安全性に問題ないと考えられた。

III 考 察

これまで化粧品は健やかな肌を保つことを役割としていたが, 近年, 化粧品科学の進歩により, 様々な機能を持った商品が上市されている。その中でも注目されている機能の一つがシワに対する標榜であり, 2011年から臨床試験の結果より「乾燥による小じわを目立たなくする」の表示が化粧品で可能になってからさらに化粧品の機能に対して市場から求められる声が高まってきている。今回我々は, 有効成分としての Celleanup™ のシワ改善効果を, 「新規効能取得のための抗シワ製品評価ガイドライン」に準拠した条件で, 4週間にわたるプラセボ対照・二重盲検法で試験を行った。Celleanup™ はオートファジー活性を有する3つの成分を組み合わせ, 高いオートファジー活性が期待できる独自のオリジナル複合成分である。シワグレード2.5~4.5を有する健常な38歳~60歳の女性の被験者に対し, 4週間の間朝晩で2回のハーフフェイス法による検討を行った結果, 目視評価でのシワグレードのスコアにおいて有意に改善がみられた。また, レプリカ解析での4週間連用後において最大シワ平均深さと最大シワ最大深さの2つのパラメーターで統計学的に有意に減少が認められた。これまで目尻におけるシワの深さは年齢とともに相関することが報告されており, 最大シワ最大深さは最も重要なパラメーターである³⁾。これまでの報告を含めて今回のレプリカ解

析は有意性があると判断し有効性ありと結論付けた。目視試験とレプリカ試験において有意性が示されたことで、Celleanup™ がシワの改善効果に対して期待が持てる結果となった。また安全性においても試験期間中に Celleanup™ ローションによる副作用は認められず、本試験の条件下において、安全性に問題がないことが確認された。

文 献

- 1) 厚生労働省：医薬品，医療機器の品質，有効性及び安全性の確保等に関する法律（2014.11.29 施行）
 - 2) 抗老化機能評価専門委員会：新規効能取得のための抗シワ製品評価ガイドライン〈化粧品機能評価法ガイドライン〉。日本化粧品学会誌 **30**：316-332, 2006.
 - 3) 大西一禎，山口あゆみ，栗山健一，辻野義雄，藤原延規：日本人男性の加齢に伴う顔面皮膚の生理的・形態的变化と自己意識について（第1報）—皮膚基本特性の部位差・季節間変動・加齢変化について—。日本化粧品技術者会誌 **41**：94-102, 2007.
- 1) 厚生労働省：医薬品，医療機器の品質，有効性及び安
-