

# 化粧品開発へ向けた新規乳酸菌エクソソームの安全性・機能性評価

若命 浩二 [北海道科学大学 / 教授]  
工藤 亜子 [北海道科学大学 / 研究員]  
清水 希光 [北海道科学大学 / 研究員]  
三輪 一典 [アテリオ・バイオ株式会社 / 代表取締役]  
南田 公子 [アテリオ・バイオ株式会社 / 専務取締役]

## 背景・目的

近年、ヒト幹細胞の培養液に由来するエクソソームを原料とした化粧品が流通されはじめている。ところが、そのほとんどが国外で生産されており、安全性面においてウイルスの混入などが不安視され、機能性面において十分な科学的データがあるとは言い難い。そこで、我々は北海道の花(ライラック)より単離された有孢子性乳酸菌の培養液から精製したエクソソームを用いて、安全かつ高機能性の化粧品を開発するために本研究を計画した。

## 内容・方法

【安全性試験】ヒト皮膚3次元モデルに乳酸菌エクソソームを低濃度～高濃度まで調整したものを添加しMTT法により皮膚細胞の生存率を算出する。

【ヒト線維芽細胞試験】乳酸菌エクソソームをヒト線維芽細胞に添加し、リアルタイムPCR法によってコラーゲン合成遺伝子(Col1A1, Col3A1, Col7A1, Col17A1)、ヒアルロン酸合成遺伝子(HYAL1, HAS1, HAS2, HAS3)、エラスチン合成遺伝子(ELN)のmRNAの発現を定量する。

【ヒト角化細胞試験】乳酸菌エクソソームをヒト角化細胞に添加し、リアルタイムPCR法によって保湿関連遺伝子(AQP3, TGM1)、皮膚バリア関連遺伝子(FLG, OCLN)のmRNAの発現を定量する。

【化粧品溶媒に対する安定性】化粧水に乳酸菌エクソソームを添加することを想定して、化粧品添加溶媒で良く用いられているブチレングリコール(BG)と乳酸菌エクソソームをさまざまな濃度に調整し、冷蔵、明所、暗所に保管して製品としての安定性をチェックする。

## 結果・成果

【安全性試験】ヒト皮膚3次元モデルに乳酸菌エクソソームを低濃度(終濃度で20000倍希釈= $1.65 \times 10^7$  particles/mL)～高濃度(終濃度で200倍希釈= $1.65 \times 10^9$  particles/mL)まで播種し、1時間被検サンプルを暴露させて、48時間後にMTT法によって細胞毒性を検証した。その結果、いずれの濃度においても細胞毒性は観察されなかった。(図1)

【ヒト線維芽細胞試験】ヒト線維芽細胞に乳酸菌エクソソーム(濃度 $1.65 \times 10^{10}$  particles/mL)を添加し、6時間、24時間後にTotal RNAを抽出し、リアルタイムPCRでmRNA産生能を測定した。その結果、コラーゲン合成遺伝子(Col1A1, Col3A1)、ヒアルロン酸合成遺伝子(HAS2)、エラスチン合成遺伝子(ELN)のmRNAの産生能が有意に上昇した。(図2)

【ヒト角化細胞試験】ヒト角化細胞に乳酸菌エクソソーム(濃度 $1.65 \times 10^9$  particles/mL)を添加し、48時間、72時間、96時間後にTotal RNAを抽出し、リアルタイムPCRでmRNA産生能を測定した。その結果、保湿関連遺伝子(TGM1)、皮膚バリア関連遺伝子(OCLN)のmRNAの産生能が有意に上昇した。(図3)

さらにヒト角化細胞に乳酸菌エクソソームを添加して96時間後に、紫外線(UVB:80mJ/cm<sup>2</sup>)を照射、72時間後にMTT法によって細胞の生存率を測定した。その結果、乳酸菌エクソソーム終濃度1,000倍希釈( $1.65 \times 10^6$  particles/mL)、100倍希釈( $1.65 \times 10^8$  particles/mL)において有意に細胞保護作用が確認された。(図4)

【化粧品溶媒に対する安定性】溶媒として、精製水(DDW)、50%ブチレングリコール(BG)、50%DMSO、70%エタノールを選択し、乳酸菌エクソソーム(濃度 $4.95 \times 10^{10}$  particles/mL)と混合し、マクロファージに添加、24時間後の細胞増殖活性をMTT法により測定した。結果、いずれに溶媒においても乳酸菌エクソソームの細胞増殖活性が確認されたことから、生物活性の点において溶媒の影響は受けていない可能性が示唆された。尚、エクソソームの粒子径が保持されているかは不明である。

これらの結果から、乳酸菌エクソソームは化粧品応用として高い安全性と、肌弾力・保湿の保持、バリア機能強化、UV保護作用などが期待されることが明らかとなった。

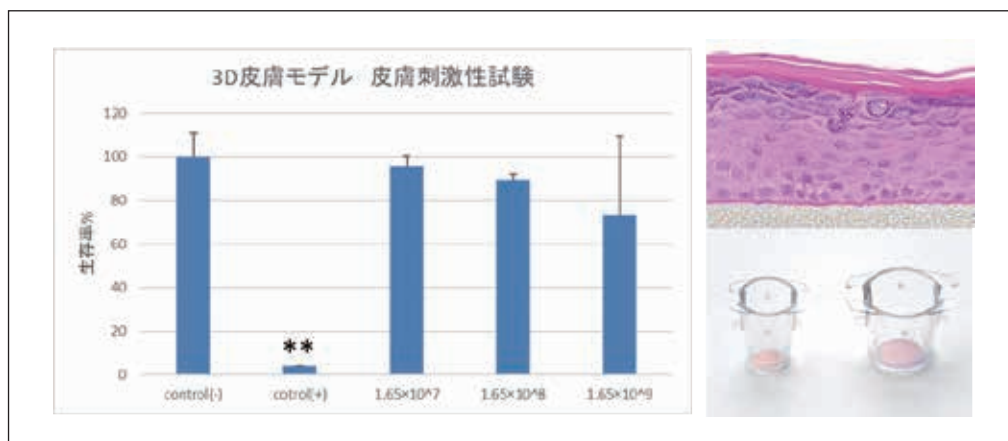


図1

## 今後の展望

今後は乳酸菌エクソソームを混合した化粧品の試作品を作成、ヒト臨床試験を実施し、実際に肌に対するシワ改善、保湿効果などを検証する。同時に、乳酸菌エクソソームの皮膚への効果メカニズムをタンパクレベルで詳細に解析する。

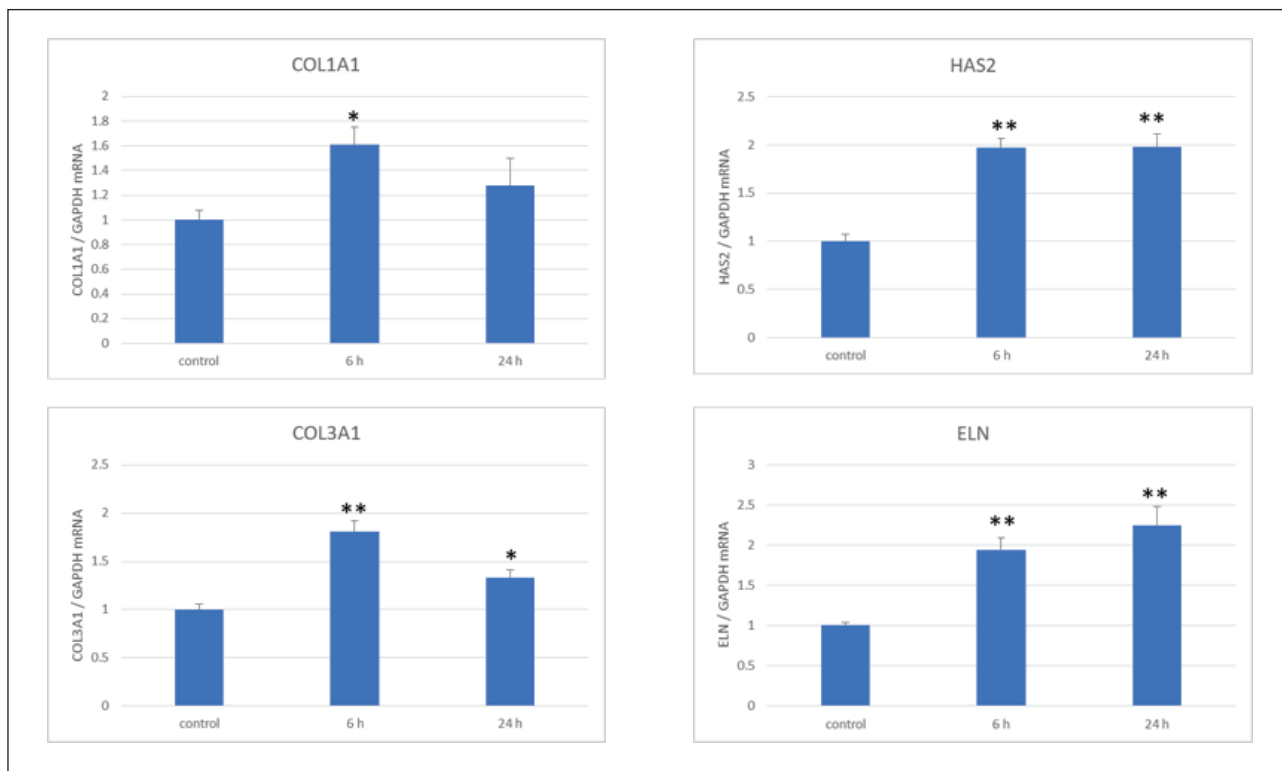


図2

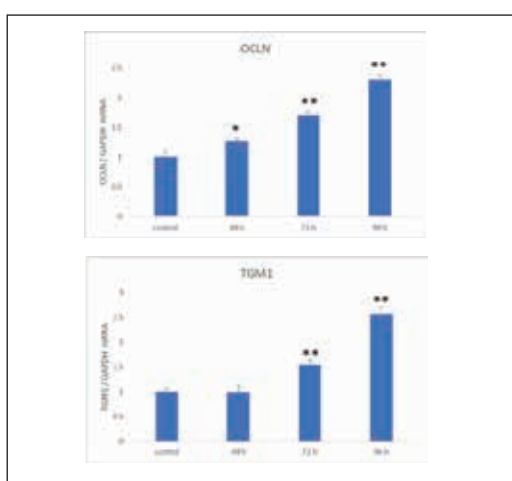


図3

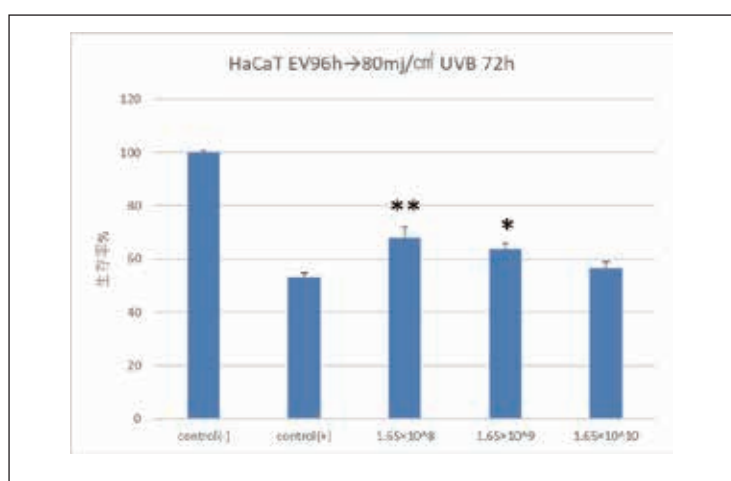


図4