

細胞老化を抑制できる 化粧品評価用培養系の構築

東京都立産業技術研究センター
機能化学材料技術部 バイオ技術グループ
副主任研究員・干場隆志

2025年2月4日

化粧品はあやしい？



- 効果を実感できない？
- どれも同じ？
- 結局ブランドイメージ？

今は化粧品にもエビデンスが必要



グローバルトレンドとして **Evidence-based**な開発 の流れ

(業界トレンド)

- ・化粧品会社の研究部門の強化
- ・医療分野からの参入

(消費者トレンド)

- ・成分買いの需要増
- ・ダーマコスメ(※)が話題

=裏付けのある効能効果を重視

※皮膚科学にもとづいた化粧品

弊所の技術支援件数も年々増加

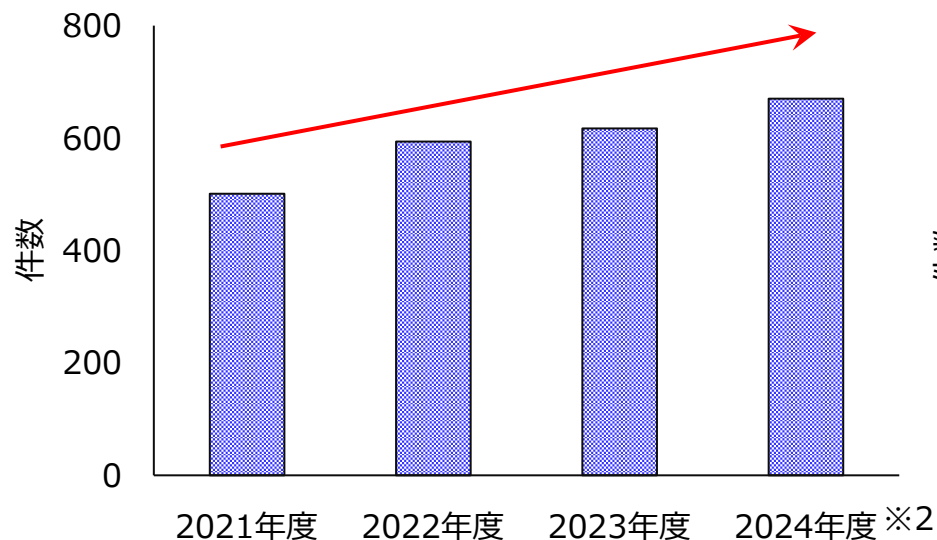
2020年4月 **ヘルスケア産業支援室** 開設

化粧品を中心としたヘルスケア産業の技術支援を本格的に開始

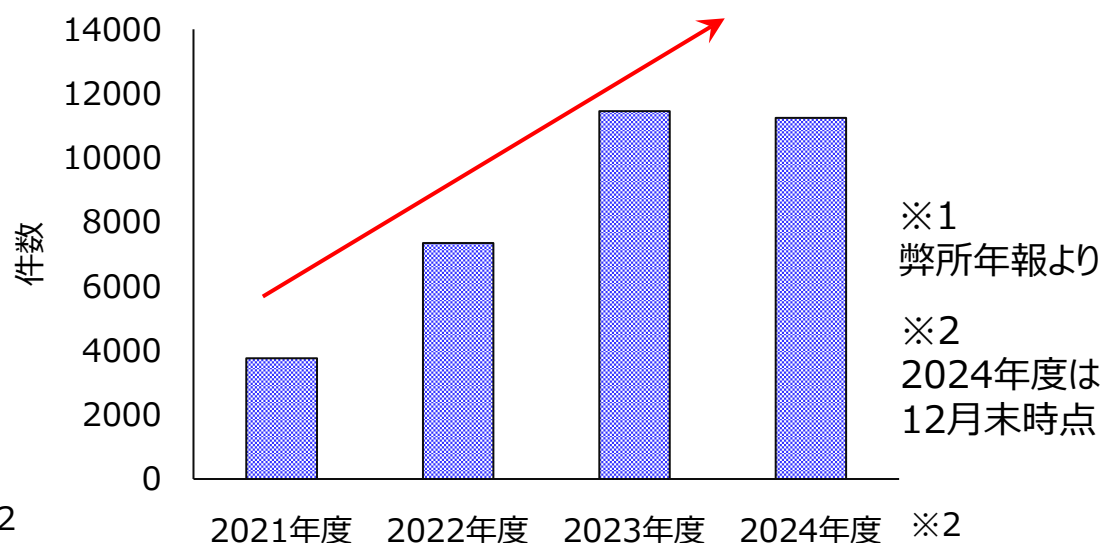
- ・(専門家を交えた)技術相談
- ・各種測定装置や培養細胞を用いた**依頼試験**を実施
- ・弊所が保有する装置の**機器利用**の実施
- ・各種技術セミナー・講習会の開催



【依頼試験実績(件数)】

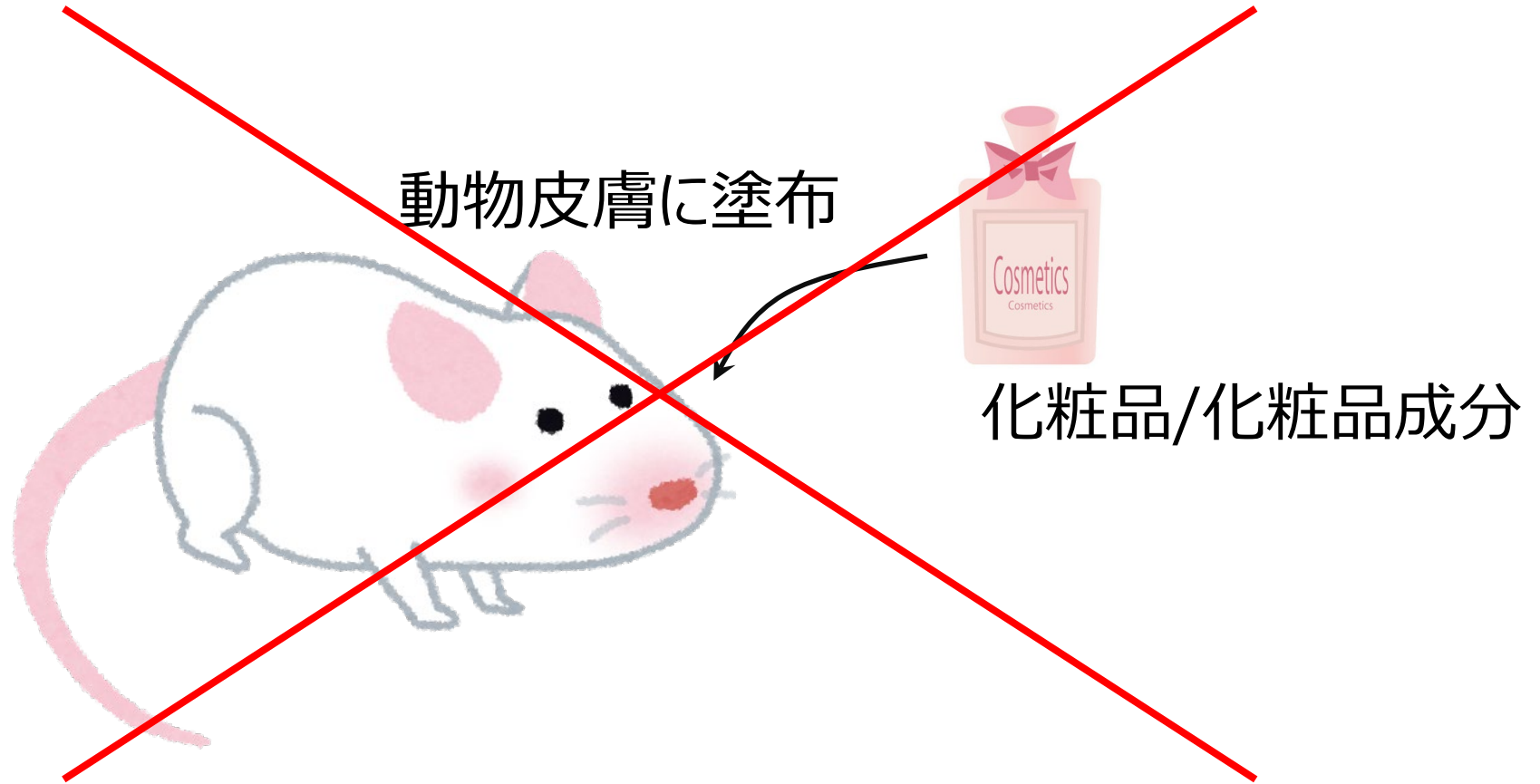


【機器利用実績(件数)】



弊所のヘルスケア産業支援事業の技術支援件数も年々増加
=データの裏付けを望む企業が増加している

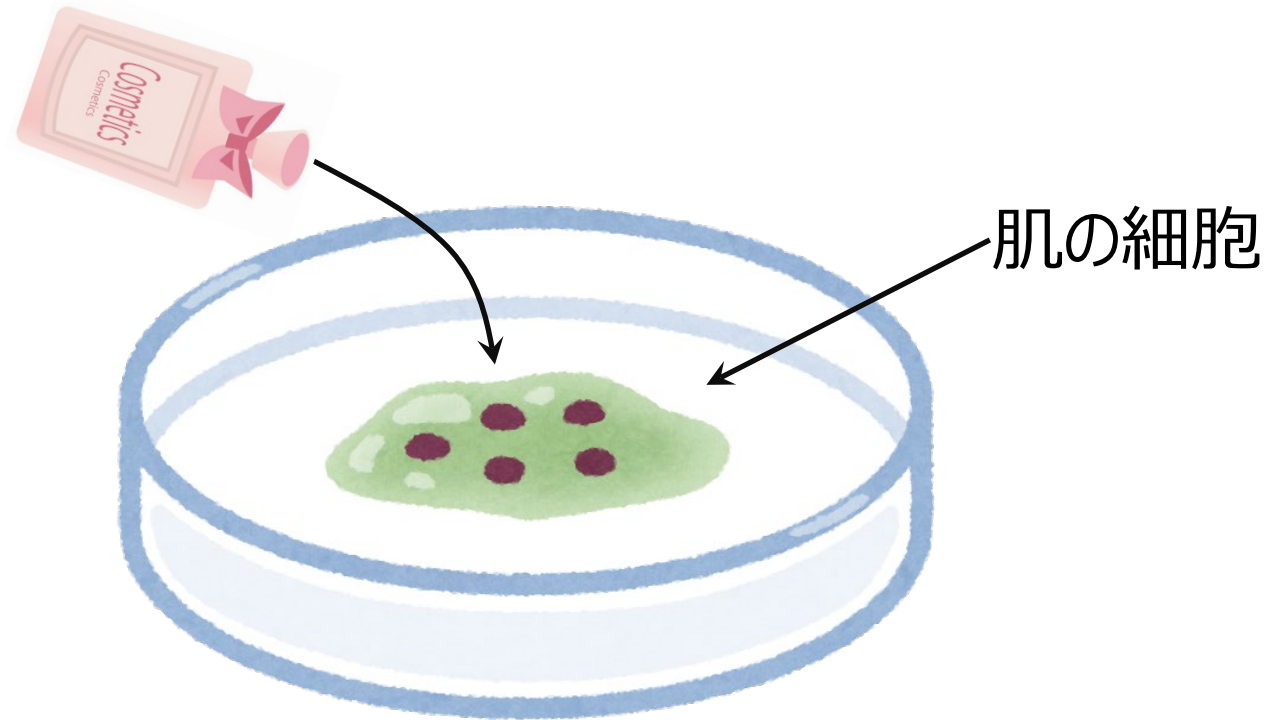
効果の確認には実験が必要だが..



動物実験は化粧品業界では行ってはいけない

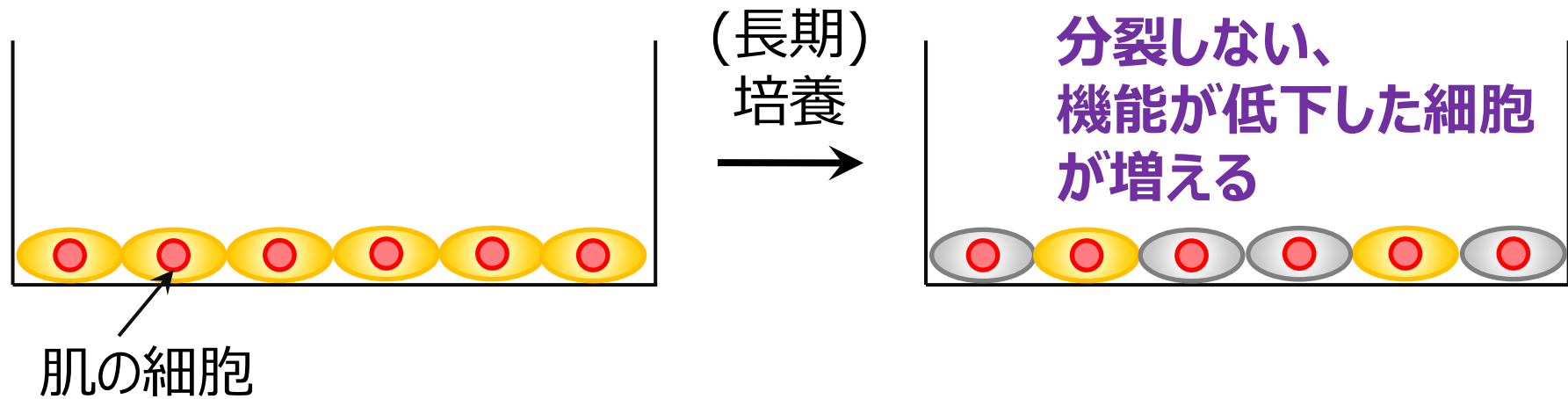
化粧品の効果を確認する実験

化粧品/化粧品成分



化粧品の効果を調べるには、動物実験の代わりに、**培養細胞を用いた実験**が行われている

細胞を用いた化粧品評価の課題



長期間の評価を行うと、細胞が反応しなくなったり、増えなくなる

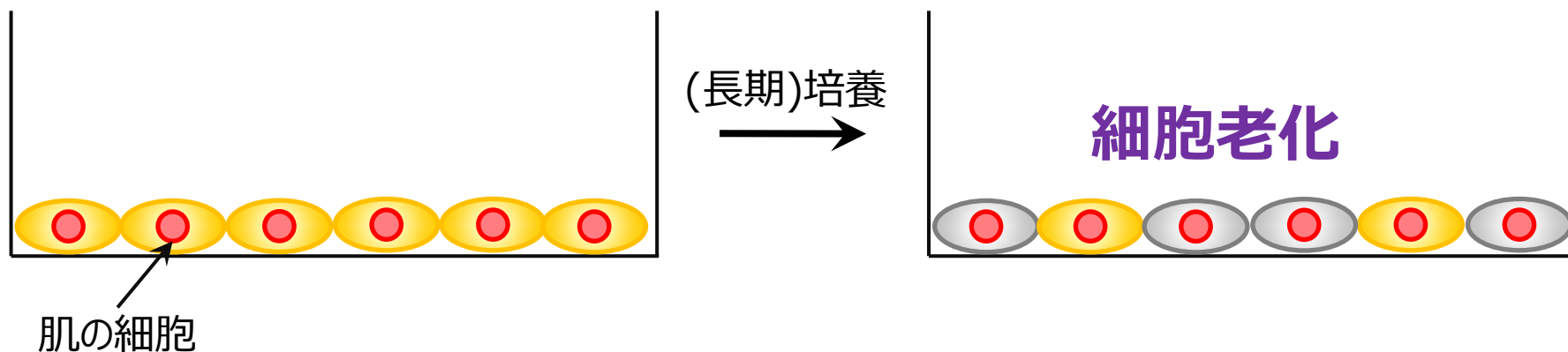
→ 安定した結果が得られない
長期間の評価ができない
という課題がある

課題解決によるメリット

- 化粧品は長期連用を前提としているため、
実際の使用状況に近い条件で評価できる可能性
= **高価格なモニター試験を減らす**ことができる
- 安定した評価ができるようになると、**試験回数も減る**
 - ⇒ **試験費用を節約**できる
 - ⇒ より多くの **エビデンス獲得のための資金**が増える
 - ⇒ **より訴求力のある製品開発**ができる
 - ⇒ 受託試験機関も、**より満足のいく支援**ができる

では、どうすれば課題解決できるだろうか？

長期間培養すると細胞も老ける

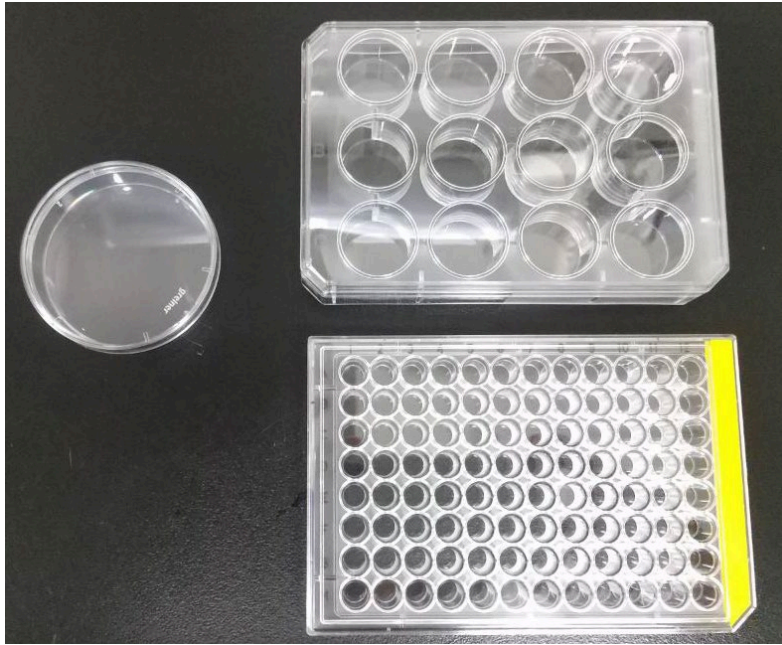


細胞老化と呼ばれる現象により、
細胞が分裂しなくなったり、機能が低下して、
化粧品の評価が難しくなる。

⇒本発表では、**培養中の細胞老化を抑制できる
新しい培養用素材を紹介**します

現在の細胞培養の問題

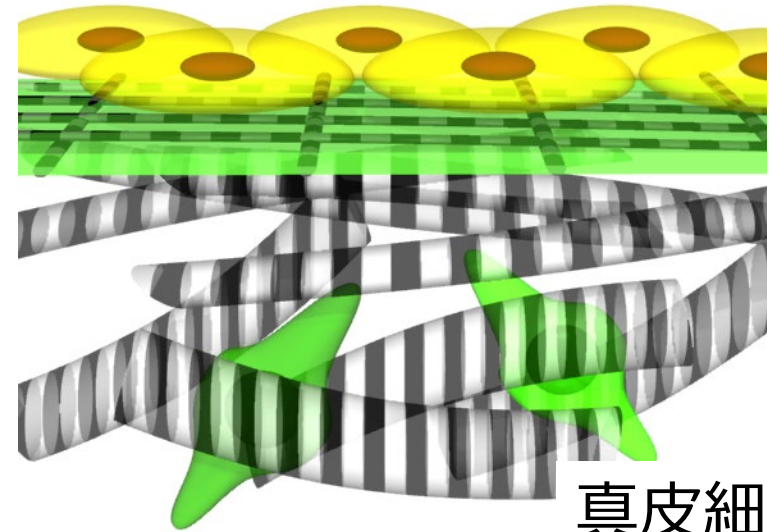
【現在の培養用容器】



細胞は**プラスチック容器内**で培養

【身体の中にある細胞の環境】

表皮細胞

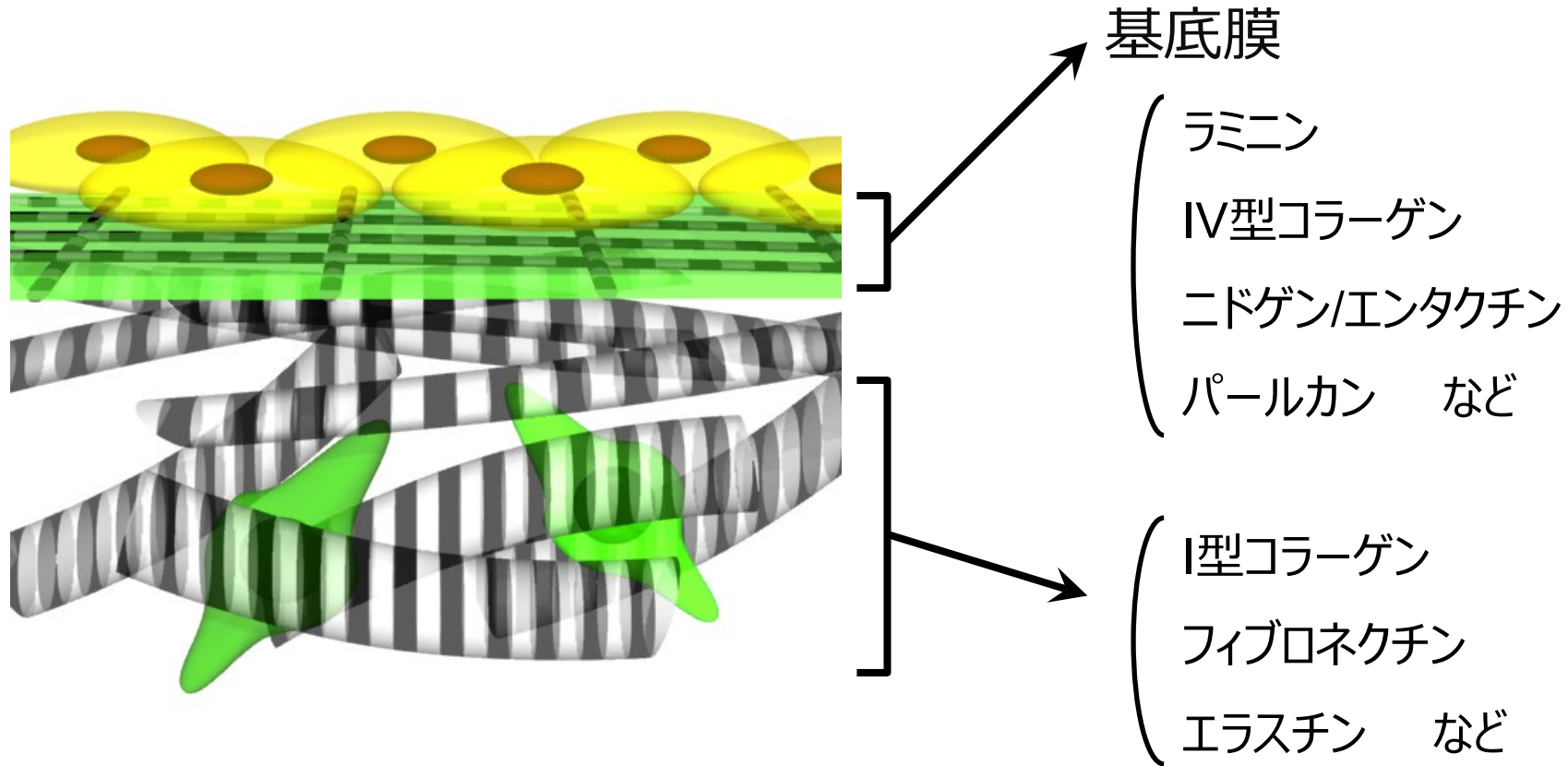


真皮細胞

身体の中の細胞は
タンパク質に囲まれた環境

プラスチックの培養容器では細胞も機能を発揮できない！
⇒身体の中と同じ**タンパク質**でできた**培養容器が理想**

細胞を囲むタンパク質とは

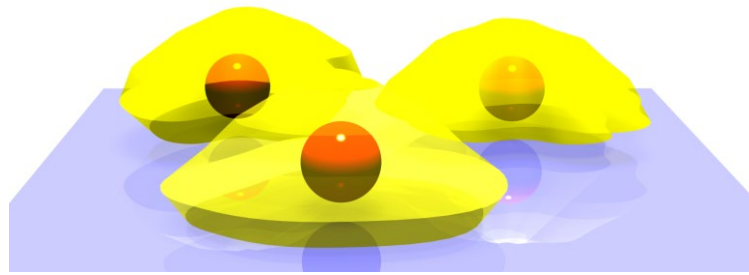


身体の中では、300種類以上のタンパク質群が細胞を取り囲んでいる

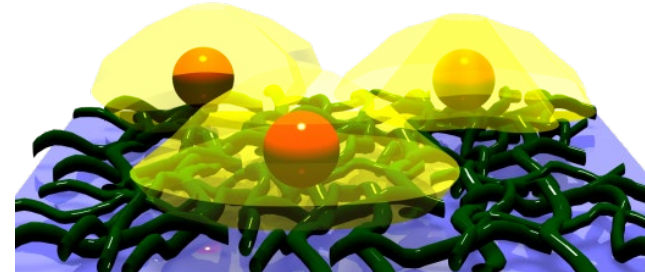
→化学的な手法で細胞を囲んでいる

タンパク質群を再構築して培養容器を作るのは難しい

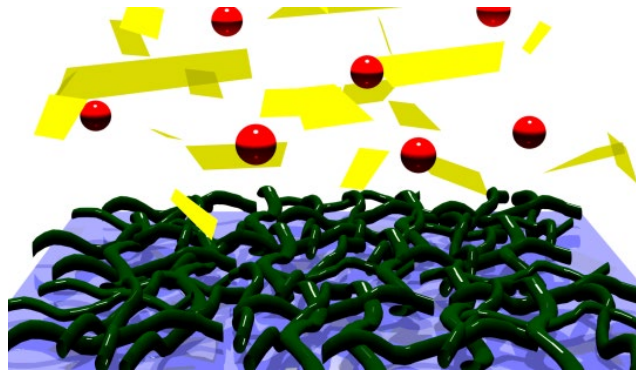
生体内で細胞を囲むタンパク質を 含む培養容器の作り方



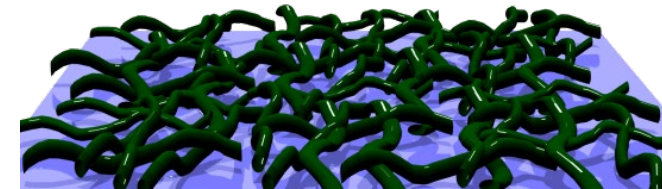
プラスチックの培養容器内
での細胞培養



培養容器表面への
タンパク質群の沈着



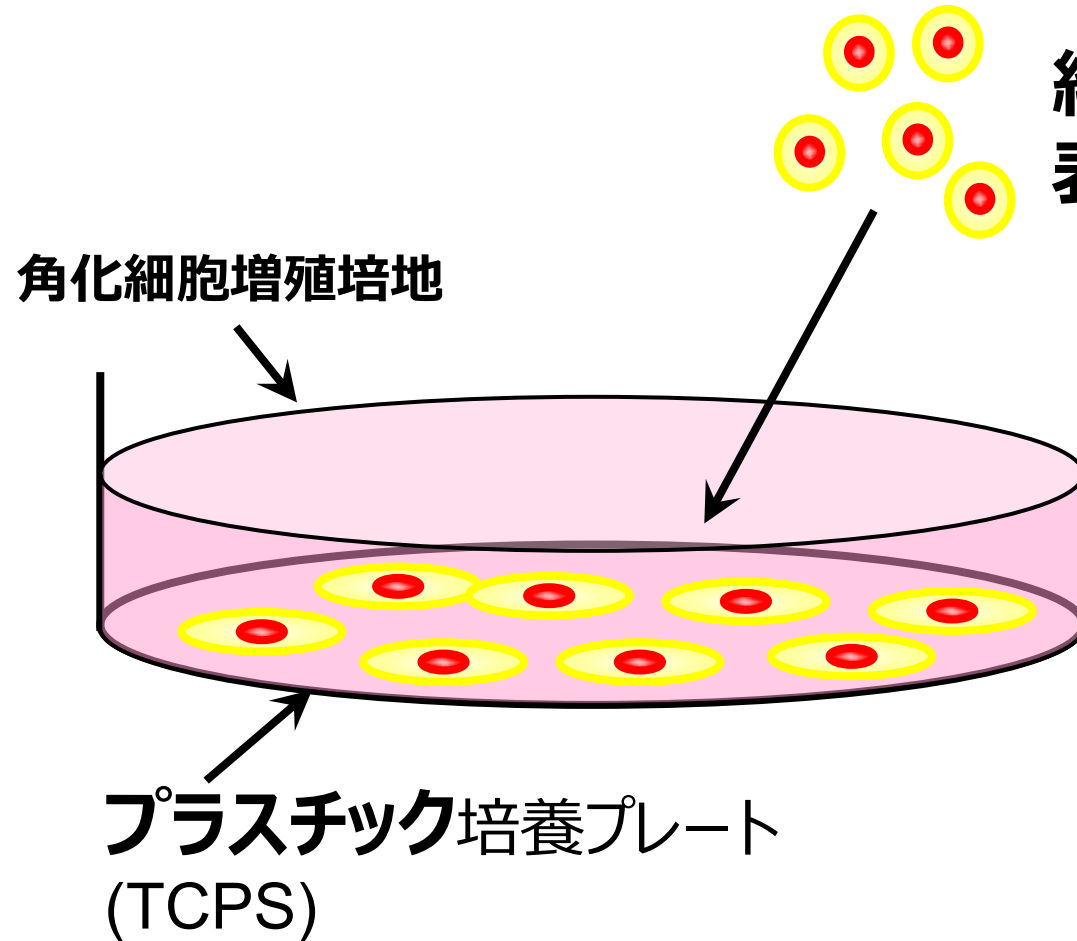
細胞成分だけを除去
(脱細胞化)



沈着したタンパク質群を
新規な培養容器として利用

細胞自身が作ったタンパク質を培養容器として利用すれば、
身体の中で細胞を囲むタンパク質がある培養系になる。

培養容器の作製方法



細胞老化前あるいは細胞老化後の表皮細胞

細胞播種密度

細胞老化前： 1×10^4 cells/cm²

細胞老化後： 6×10^4 cells/cm²

上記の培養条件で**1週間培養**することで細胞直下にタンパク質を沈着させた。

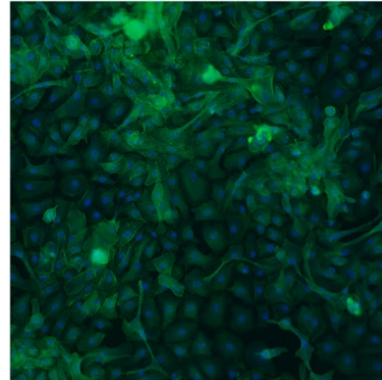
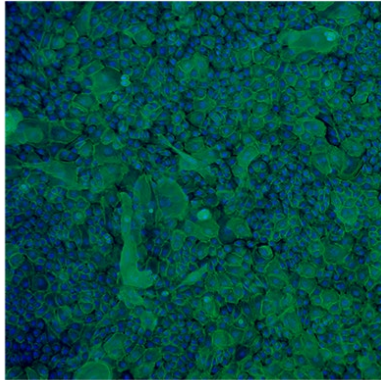
培養表皮細胞の脱細胞化による 培養容器の作製

【細胞除去の確認】

老化前の細胞

老化後の細胞

除去前



除去後



青：細胞核、緑：細胞骨格アクチン

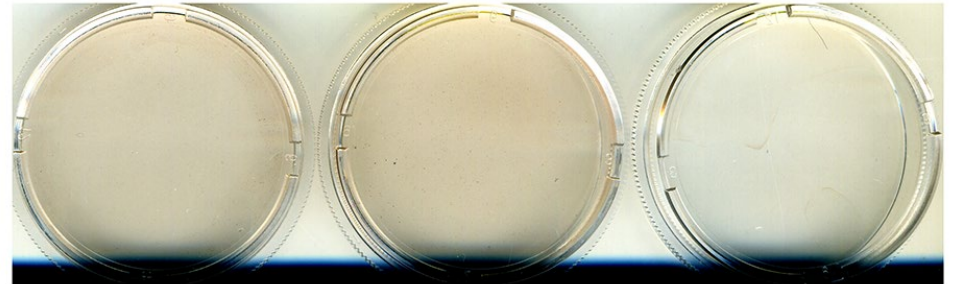
【タンパク質残存の確認】

老化前の
細胞

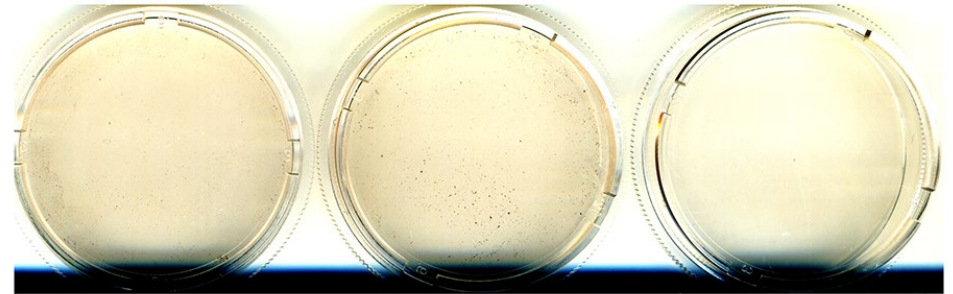
老化後の
細胞

プラスチック

フィブロネクチン



ラミニンα3鎖



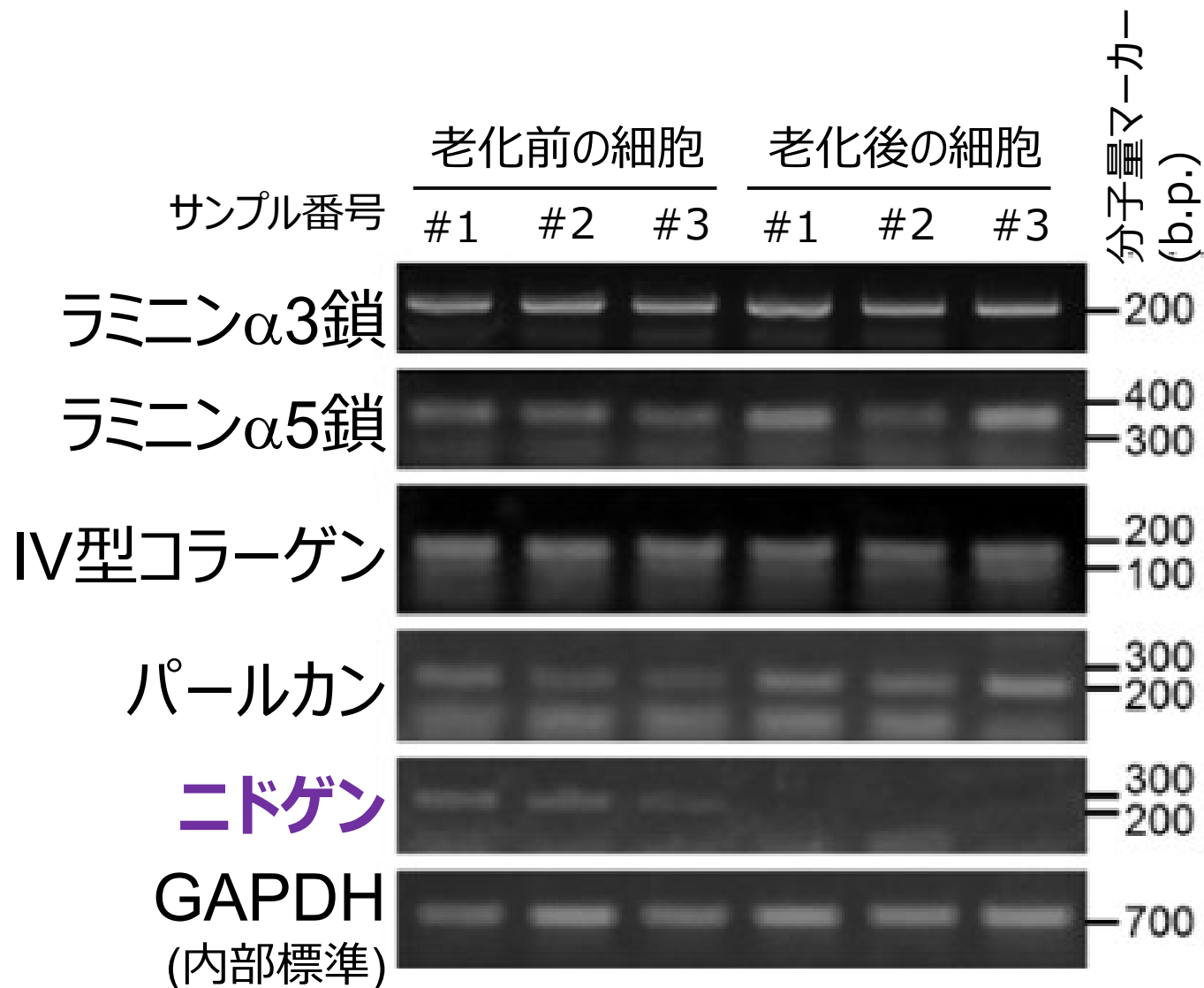
老化前の
培養容器

老化後の
培養容器

茶：フィブロネクチン/ラミニンα3鎖

老化前の細胞、老化後の細胞由来の培養容器を作製した。

どれだけ生体内環境に近いのか？



⇒ 老化後の細胞は
ニドゲンが少ない

※実験は同一条件で調製した3サンプルを用いて行った。

老化前の培養容器は、

表皮細胞が接している基本的なタンパク質を含んでいる

本当に細胞老化を抑制できるのか？

細胞老化は

- ・酸化ストレス
- ・細胞増殖のさせすぎ

により生じる。



人工的に
細胞老化を誘導

細胞老化の特徴を有する表皮細胞数を抑制できるか評価

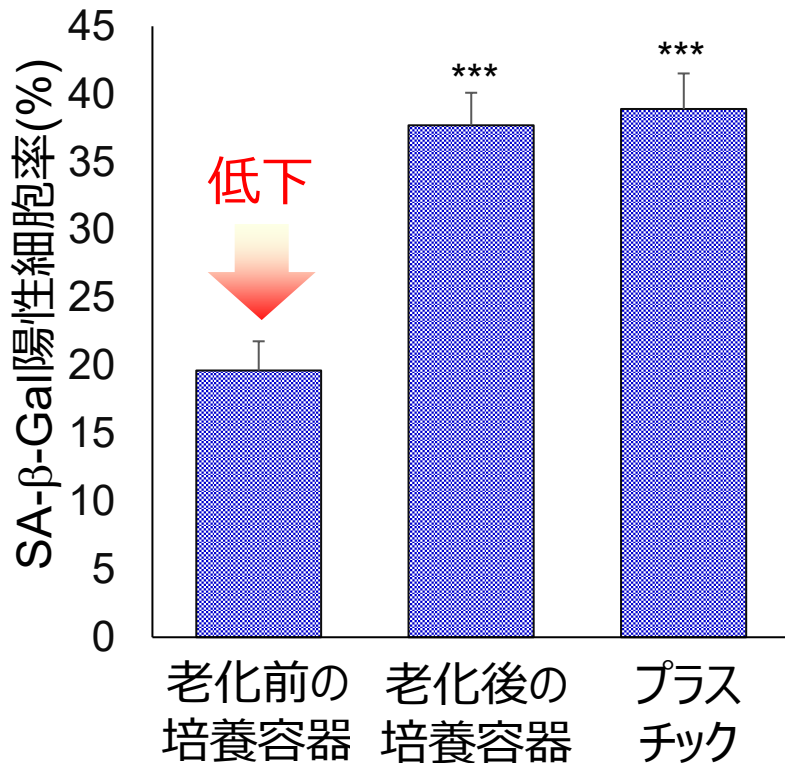
【細胞老化を生じた細胞の特徴】

- ・細胞サイズの増大
- ・老化随伴β-ガラクトシダーゼ(SA-β-Gal)活性の上昇
- ・細胞増殖能の低下
- ・細胞老化マーカーの変動(増大：p16、p21、低下：lamin B)

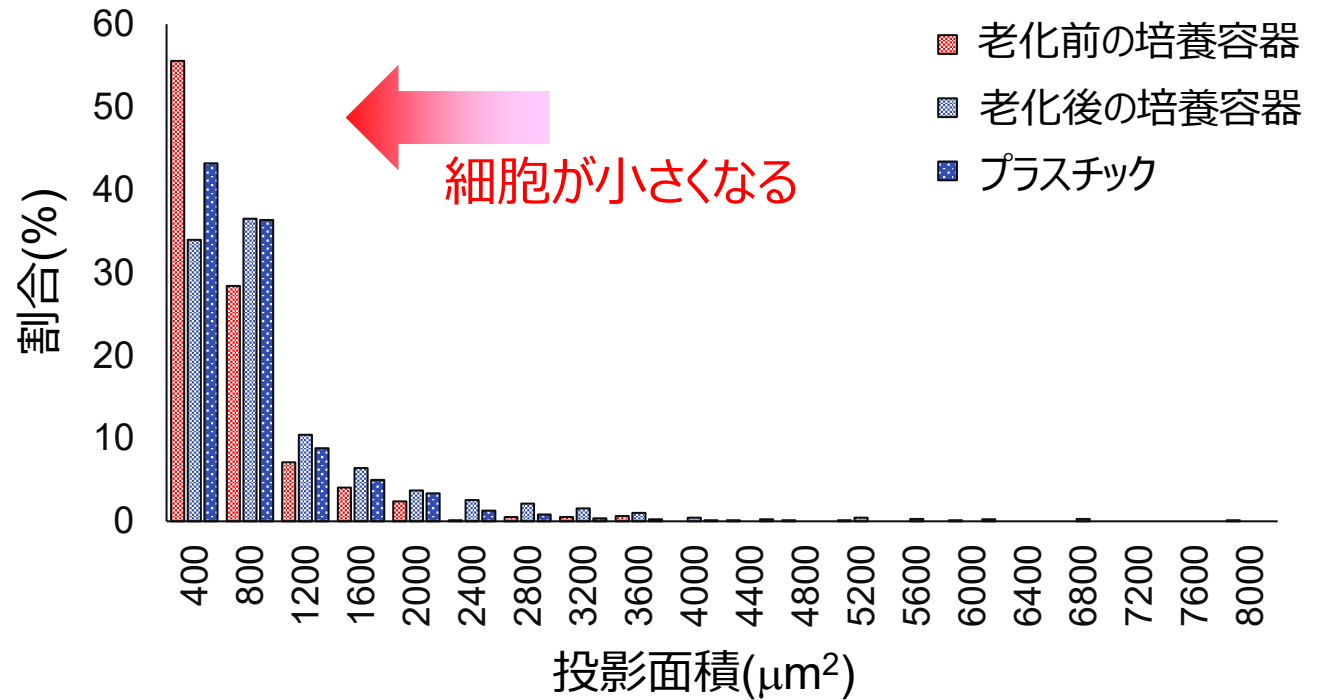
酸化ストレスにより誘導される 細胞老化は抑制される

【SA-β-Gal陽性細胞率】

平均値±標準偏差(n=5)
***: $P < 0.005$ vs. P3-dECM



【細胞のサイズ(投影面積)】



【平均投影面積：平均値±標準偏差、n > 650】
老化前の培養容器：553±641 μm
老化後の培養容器：839±937 μm
プラスチック：632±589 μm

**老化前の培養容器を用いることで
酸化ストレスにより誘導される表皮細胞の細胞老化は抑制された**

細胞増殖のさせすぎによる 細胞老化の抑制

【植え継ぎによる増殖に伴う細胞老化の評価】

細胞老化前の表皮細胞を老化前の培養容器あるいはプラスチック内で2回植え継ぎ後、SA-β-Gal陽性細胞率を計測した。

	老化前の 培養容器		プラスチック	P-values
#1	21.7±3.6	<	30.7±1.8	0.002
#2	27.1±2.2	<	37.4±2.2	0.00008
#3	21.8±2.8	<	28.7±2.1	0.002

SA-β-Gal陽性細胞数が減少

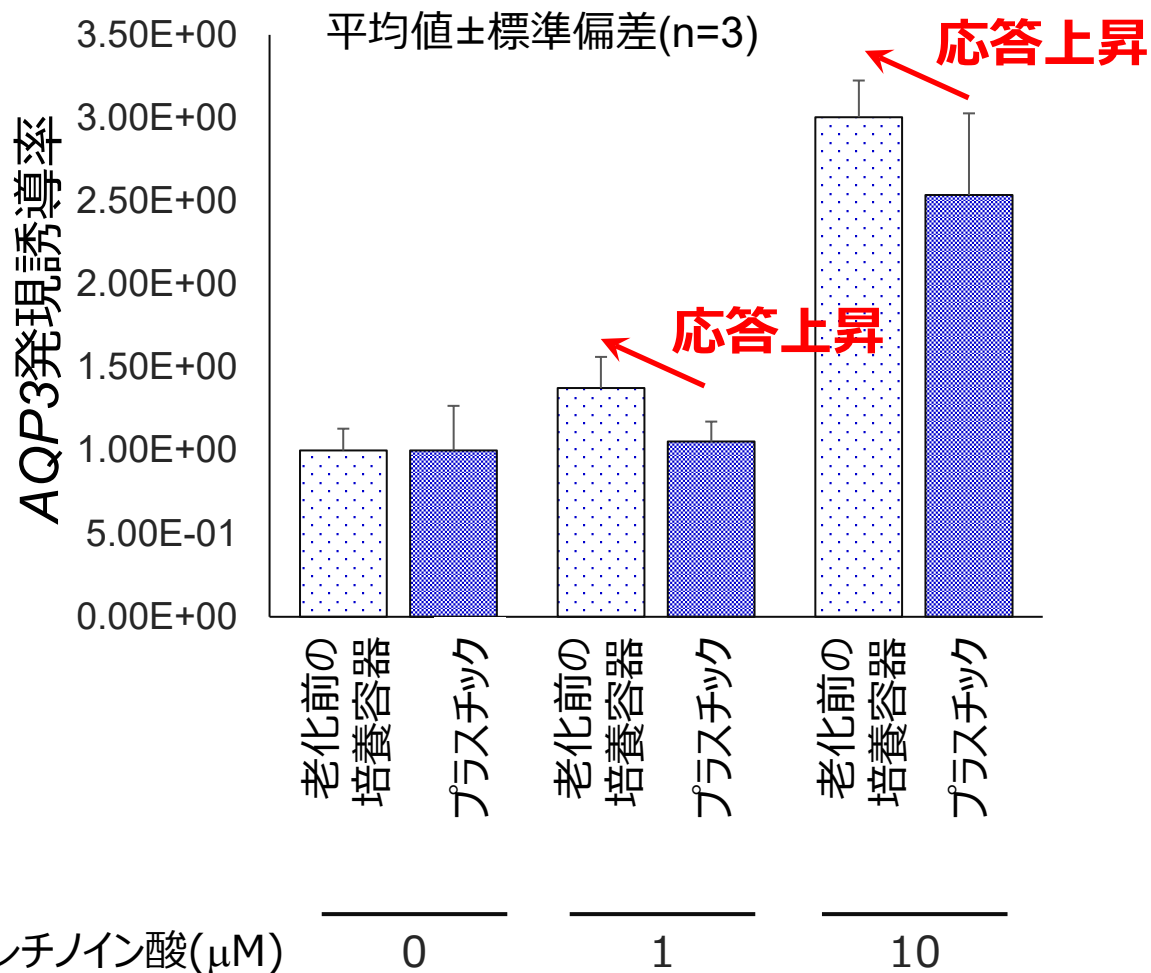
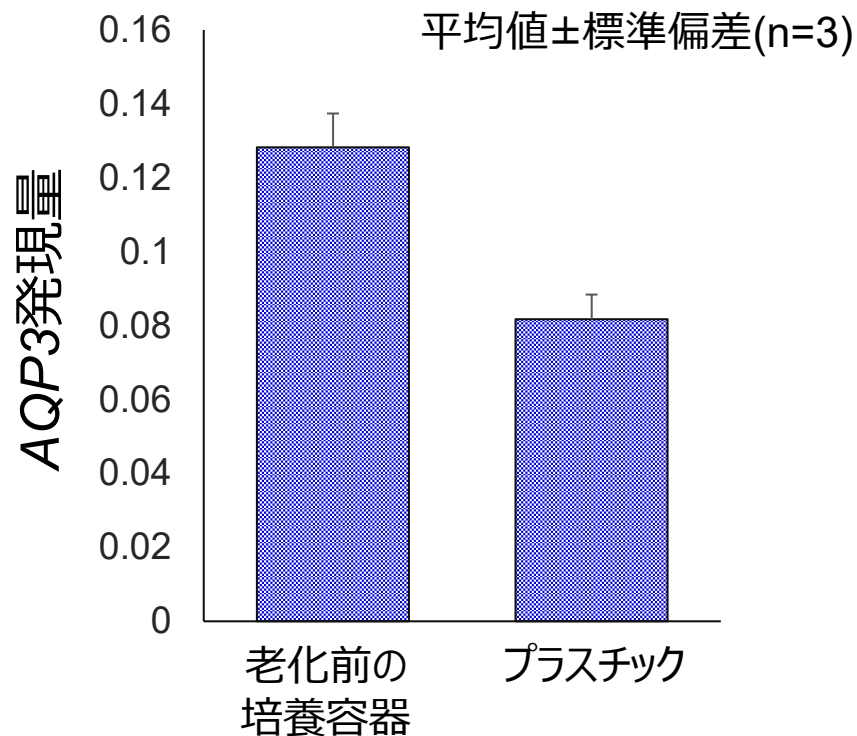
単位：%
平均値±標準偏差
(n=5)

細胞増殖のさせすぎによる
表皮細胞の細胞老化は抑制された

老化前の培養容器で培養しても 表皮細胞の機能は発現する

【化粧品成分添加前の機能】

【化粧品成分に対する応答】



※AQP3：アクアポリン3(保湿機能に関与)

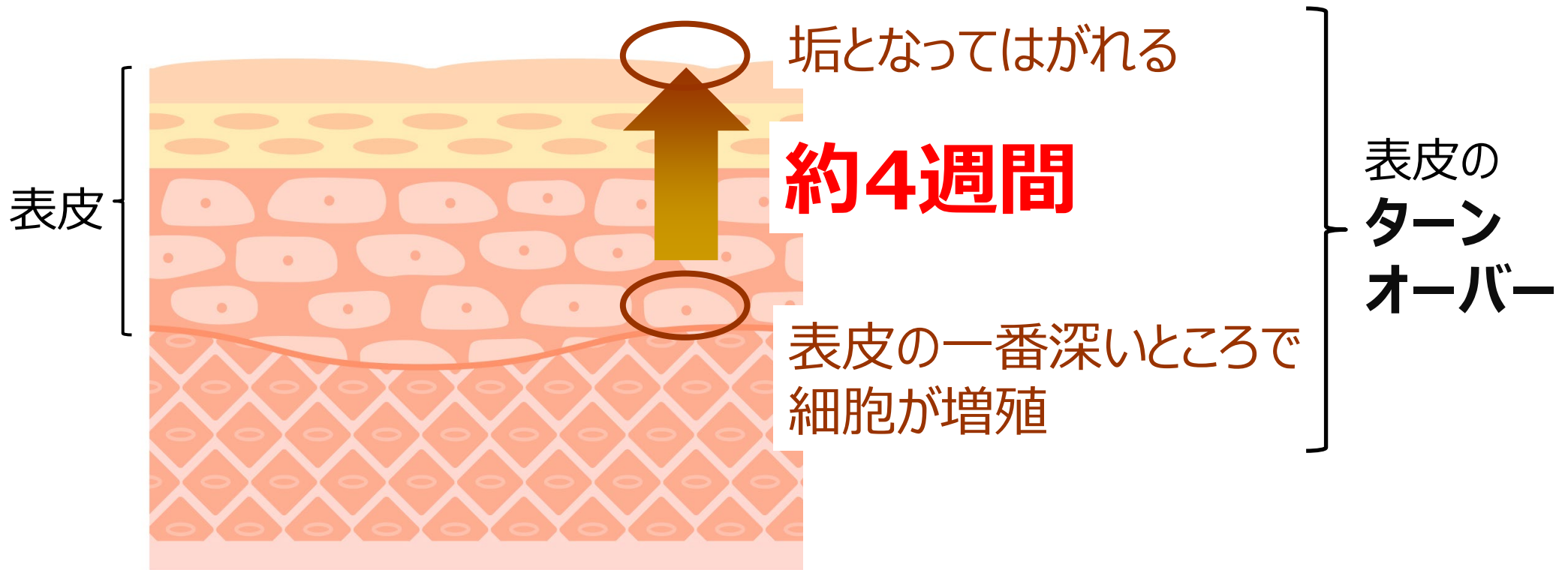
老化前の培養容器を用いても、化粧品成分に応答し、さらにプラスチック上よりも強く応答した。

老化前の培養容器は化粧品の評価に利用できる

想定される使用用途と 解決すべき課題①

【使用用途】

組織修復まで評価できる安全性評価系

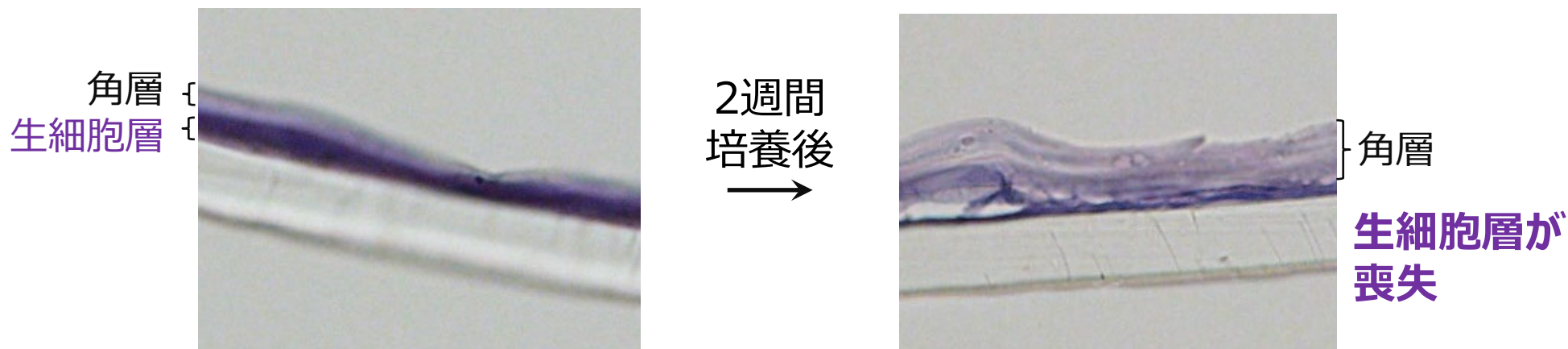


皮膚表皮は**約4週間**で常に生まれ変わり続けている

想定される使用用途と 解決すべき課題①

【使用用途】

組織修復まで評価できる安全性評価系



【現状】

培養を続けると、**2-3週間**で生細胞が消失し、障害時に皮膚が自然に修復されるかはわからない。

【本培養系の可能性】

細胞老化を起こさずに培養することで、**皮膚モデルを長持ち**させ、修復まで評価

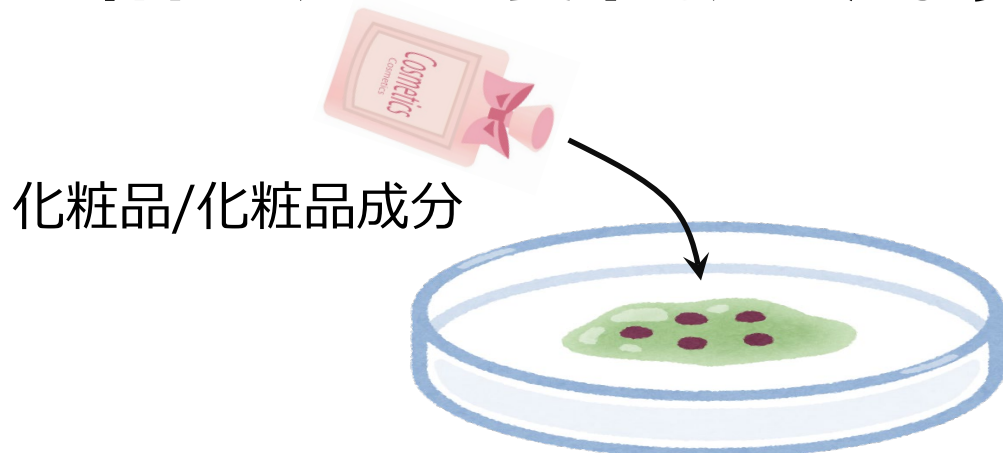
【解決すべき課題(青字は都産技研が苦手な点)】

- 培養表皮を作製し、実際に長持ちするか確認する必要
- 培養容器の作製方法の改良

想定される使用用途と 解決すべき課題②

【使用用途】

生体内に近い培養系を用いたより正確な有効性評価



2次元培養系での
・化粧品の評価
・化粧品成分のスクリーニング

【現状】

保湿機能に関するアクアポリン3遺伝子の応答能を有し、従来の培養系より強い応答を誘導できた。

【本培養系の可能性】

より強く応答を誘導できるため、**より正確な有効性の評価**ができる可能性がある。

【解決すべき課題(青字は都産技研が苦手な点)】

a) **保証性能の確認を含む有効性評価系としてのバリデーション**

b) 培養容器をより適したものへの改良

その他の細胞種の培養への応用の可能性も・・・

まとめ

～新技術の特徴・従来技術との比較～

比較項目	従来技術	新技術
素材	プラスチック	生体内に近いタンパク質の構造体
細胞老化 (酸化ストレスによる誘導)	抑制できない	抑制できる (約1/2へと抑制)
細胞老化 (増殖させすぎによる老化)	抑制できない	抑制できる (約2/3へと抑制)
化粧品への応答能	あり	あり (より強い応答の可能性)



- 組織修復まで評価できる**培養表皮モデル**を開発できる可能性
- 正確な評価ができる有効性評価系**になる可能性

希望する共同研究先 ～企業への期待～

① 組織修復まで評価できる安全性評価系

培養表皮モデルを評価できる企業と連携することにより、
開発がスムーズになると考えている。

⇒ **培養表皮モデルを開発している企業**との共同研究を希望

② 生体内に近い培養系を用いたより正確な有効性評価

ルーチンで化粧品の有効性評価を実施する企業と連携することで、
評価系のバリデーションが加速すると期待している

⇒ **化粧品原料メーカー/OEM企業**との共同研究を希望

⇒ **オリジナルの評価系を開発したい企業**も歓迎

- 共同研究に向けた打ち合わせ後での少量のサンプル提供
- 必要に応じた培養容器の改良
- 技術移転の場合は技術指導も可能

マッチングファンド型の共同研究制度による技術支援もあります。

ご興味を持たれた方はまずお声がけください

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称：
角化細胞培養基板、角化細胞培養基板の製造方法、角化細胞の培養方法、培養表皮組織及び培養表皮組織の製造方法
- 出願番号：
特願2022-057554
- 出願人：
東京都立産業技術研究センター
- 発明者：
干場隆志

お問い合わせ先

地方独立行政法人東京都立産業技術研究センター
企画部 開発企画室

TEL 03-5530-2528

e-mail kaihatsu@iri-tokyo.jp