



Caloric Restriction Mimetic Anti-Aging Skin Benefits with Snow Algae Powder

Fred Züllli

Agenda

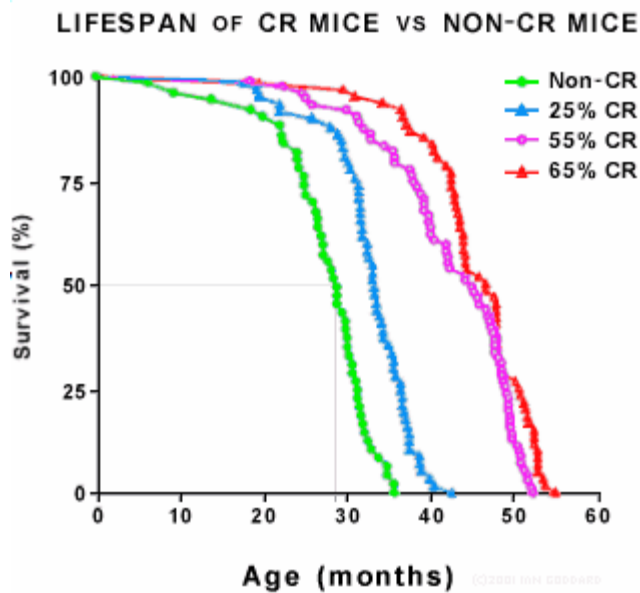
1. Anti-Aging: The Life Style Topic
2. Caloric Restriction for Life Span Extension
3. Stimulation of Klotho: A New Pathway to Delay Biological Skin Aging
4. Caloric Restriction Mimetic Strategies for Cosmetics
5. Snow Algae: A New Source for Cosmetic Actives
6. Study Results
7. Cosmetic with Snow Algae Powder

Aging Postulates

老化の前提条件

- 細胞分裂の制限
(テロメア短縮) → 幹細胞の活性化 (**PCT**)
- 慢性被毒 → Nrf 2 の活性化 (**Detoxophane**)
- DNA 変異 → DNA 保護/修復 (**Helioguard / T-EQ10**)
- 慢性炎症 → NfκB 阻害 (**Maxnolia**)
- 酸化ストレス (ROS) → 抗酸化/ラジカルスカベンジャー (**GSP-T**)
- カロリー制限 → ダイエットと運動 (**Snow Algae Powder**)

Caloric Restriction Increases Lifespan in Rats and Mice



- 1934年 Mary Crowellと Clive McCay はカロリー制限したラットに顕著な寿命延長を発見した。
- マウスでも同様な結果が見られた。(Weindruch R, et al., 1986).

CR=Caloric restriction
カロリー制限

Graph adapted from: Weindruch R, et al. (1986). Journal of Nutrition, April, 116(4), 641-54.

Caloric Restriction (カロリー制限)

- 近年最も着目されているアンチエイジングトピック
- 酵母、線虫、マウス、ラット、犬、猿、そして人にも同様の効果がある？
- ROS の削減が一つのメカニズム (適度な運動と共に!)
- 世界大戦による食糧難 → 結果として寿命が延びた
- 沖縄県民は摂取カロリーが低い → 100歳以上の高齢者が多い

CRON-diet

(Caloric Restriction with Optimal Nutrition)

最適な栄養状態保ったカロリー制限ダイエット

- 高い心拍変動数（心機能の良好性）
- 心機能が数年若くなる
- 老化関連のバイオマーカーが減少する
- 体温が低くなる
- 肥満や2型糖尿病が減る
- 見た目が若くなる

Discovery of a new Anti-Aging Hormone 新しいアンチエイジングホルモンの発見



- 1997年、損傷を起こすと著しい老化現象を引き起こす遺伝子がマウスで発見された。
- 人の生死の運命をつかさどるギリシャの女神にちなんで、**Klotho**と名付けられた。

The Klotho Gene

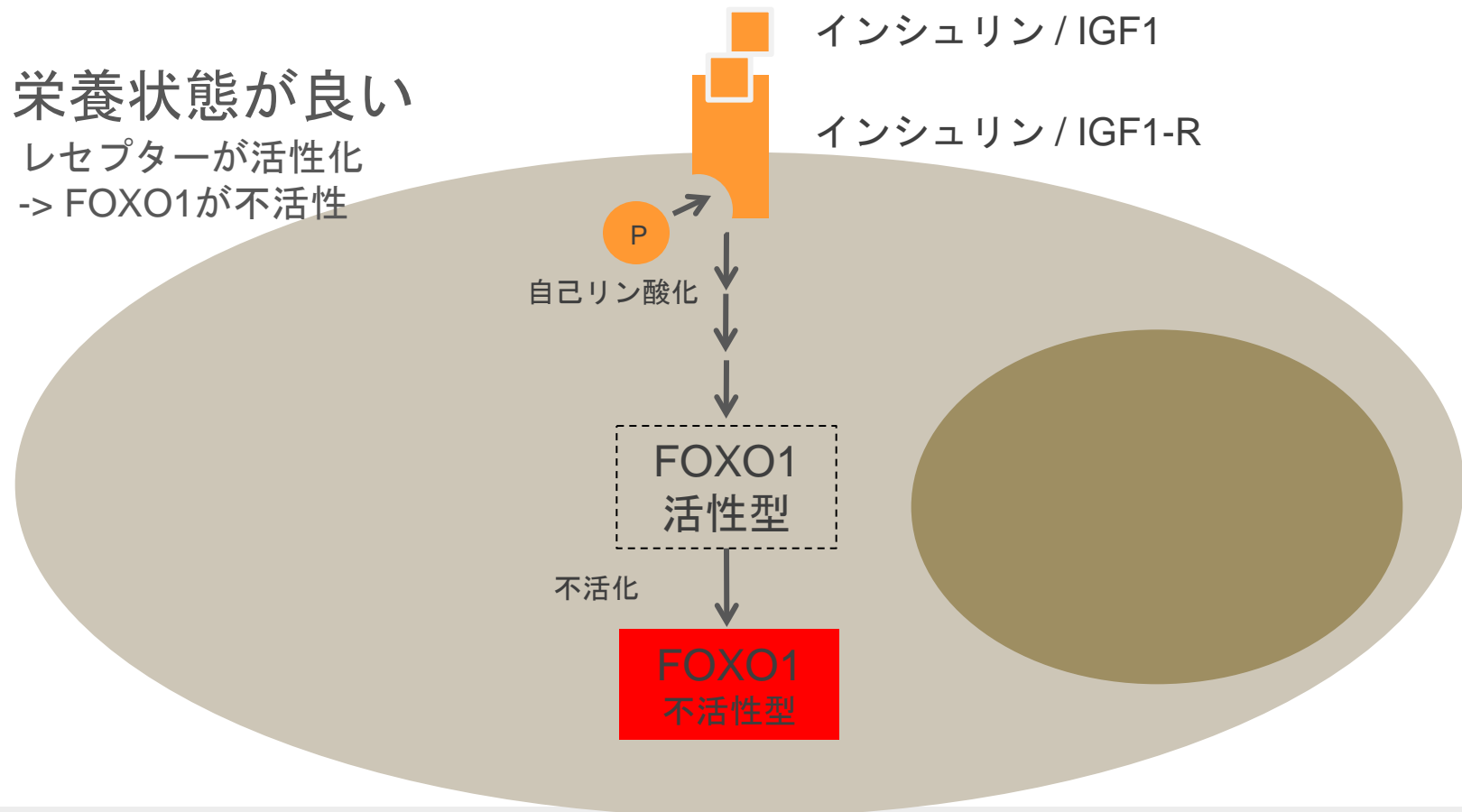
A Marker for Longevity (長寿マーカー)

- Klotho は 1 回膜貫通型の膜貫通ドメインと細胞外ドメインからなるタンパク質をコードしている
- Klothoタンパクの細胞外ドメインの一部は、分離して血中内にを循環する。→ホルモン
- ホルモンは細胞表面レセプターの結合し、インシュリンとIGF1の細胞内シグナル伝達を抑制する
- Klothoは寿命を延長する

Insulin / IGF1 Pathway and FOXO

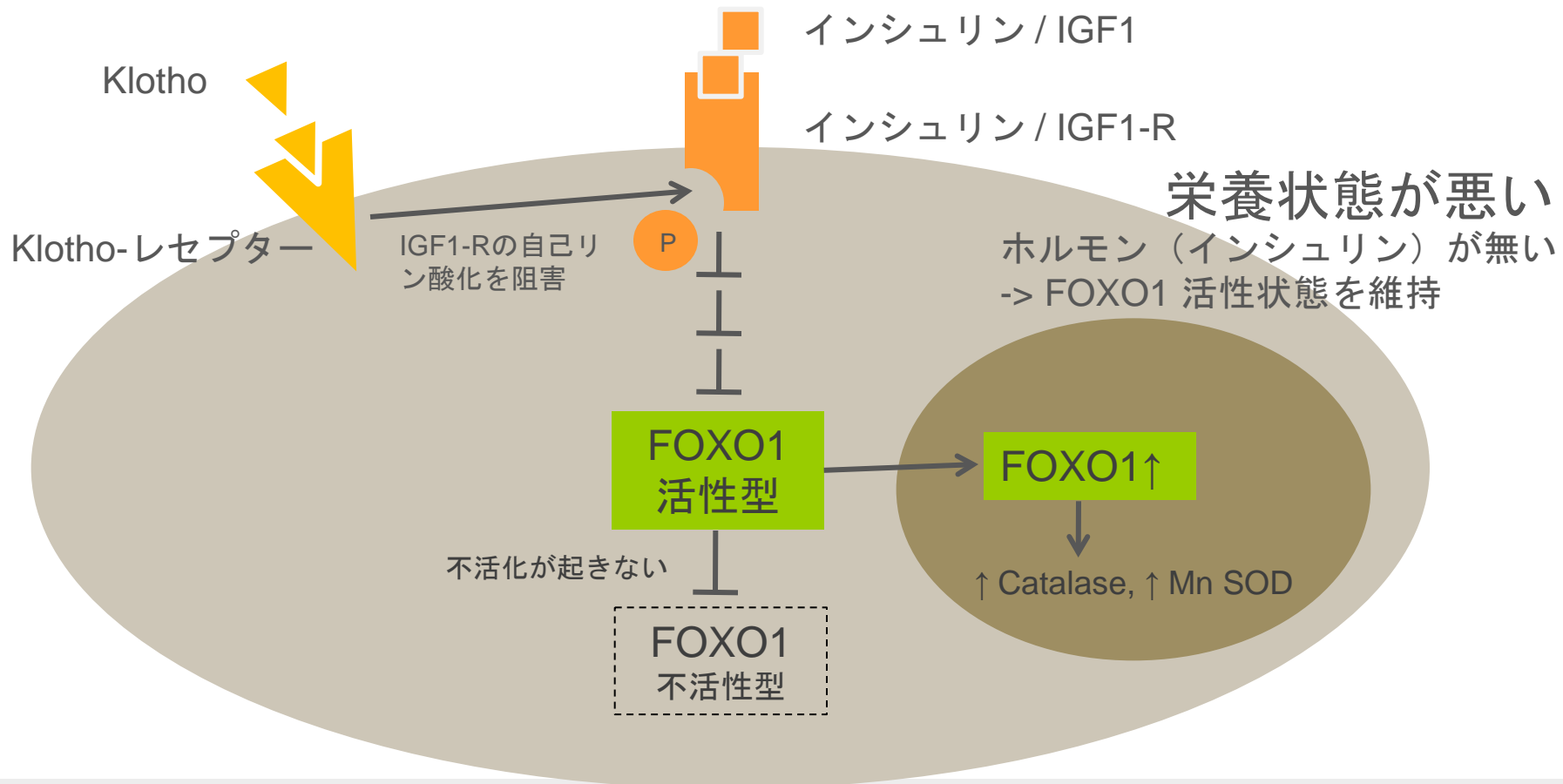
インシュリン/IGF1経路とFOXO

栄養状態が良い
レセプターが活性化
-> FOXO1が不活性



Insulin / IGF1 Pathway and FOXO

インシュリン/IGF1経路とFOXO



Anti-Aging Hormone Klotho

抗老化ホルモン Klotho

Klotho ↓

FOXO1 ↓

早老

Klotho ↑

FOXO1 ↑

SOD ↑ カタラーゼ ↑

→ 酸化ストレス耐性が向上
(ミトコンドリア)

→ 長寿, 抗老化活性

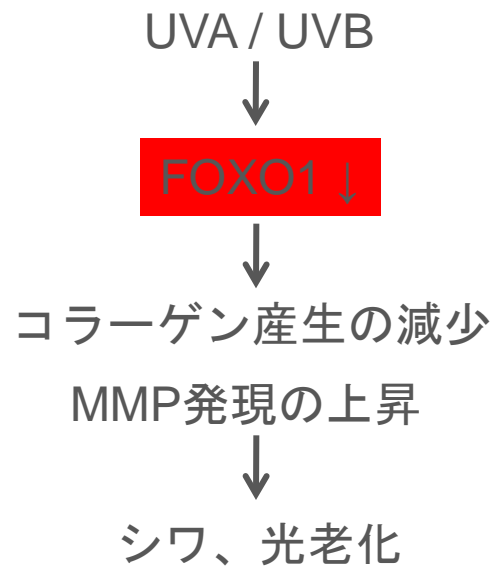
(シャペロン、代謝関連遺伝子、ステロイドホルモン

)

FOXO1 and UV Radiation

FOXO1と紫外線

UVA /UVB 照射した線維芽細胞でFOXO1の発現減少が見られた。



Tanaka, H. et al., Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings (2009): 14, 60-62.

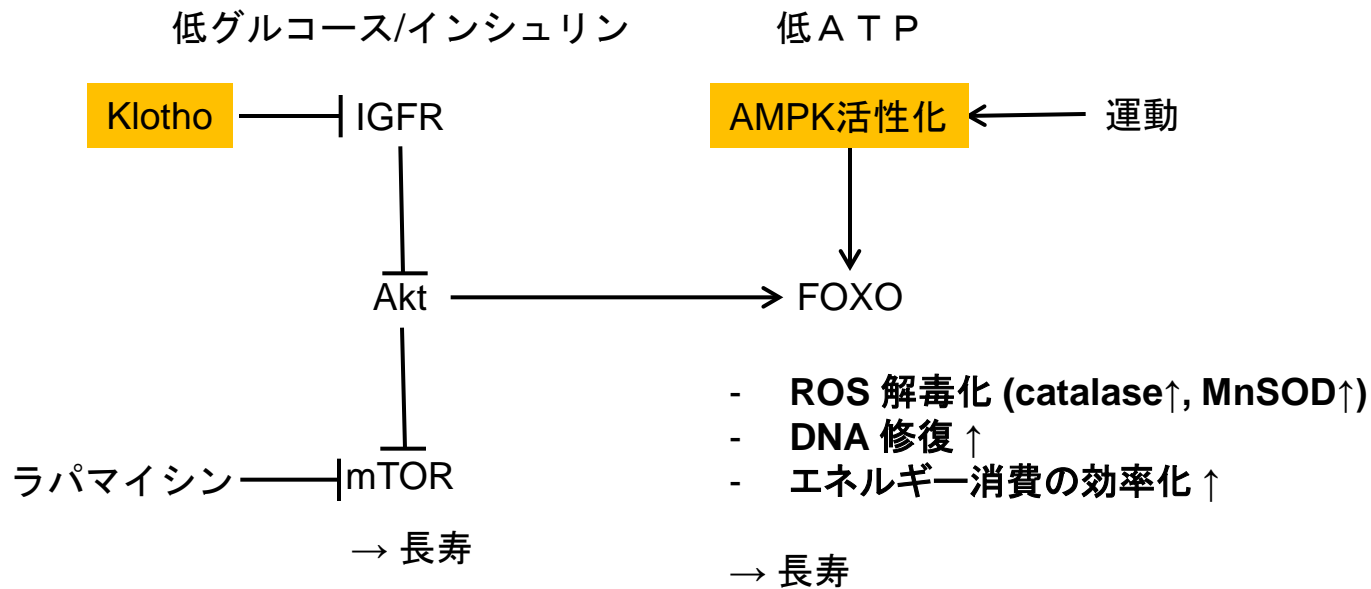
Biochemistry of Caloric Restriction

カロリー制限の生化学

- インシュリン/IGF-1 レセプター
- Foxo 転写因子
- Klotho 抗老化遺伝子
- mTor シグナリング
- AMPK アデノシン1リン酸リン酸化酵素の活性化

Calorie Restriction Pathways

カロリー制限経路



Caloric Restriction Mimetic Anti-Aging Concepts

カロリー制限を模倣したアンチエイジングコンセプト

- カロリー制限と運動により、平均寿命と健康寿命が延びる
- 究極の不老長寿の薬の探索 !!
- カロリー制限の生化学作用を模倣した有効成分
- カロリー制限様活性を応用し肌の老化を遅らせる
→ 健康寿命（平均寿命）の延長
- Mibelle Biochemistryは、化粧品業界で初めてカロリー制限様作用に着目した。

Screening for CR mimetic anti-aging activity

カロリー制限様アンチエイジング活性の探索

ゴール: 有効成分を見つけること。 どんな？



- 老化肌の中でKlotho（抗老化ホルモン）を増やす有効成分

Effect of Snow Algae Extract on Klotho Gene Expression

Klotho遺伝子発現に対するスノーアルゲエキスの効果



	Klotho発現
コントロール (P8)	100
老化した線維芽細胞 (P17)	43
老化した線維芽細胞 (P17) + スノーアルゲ*エキス	147

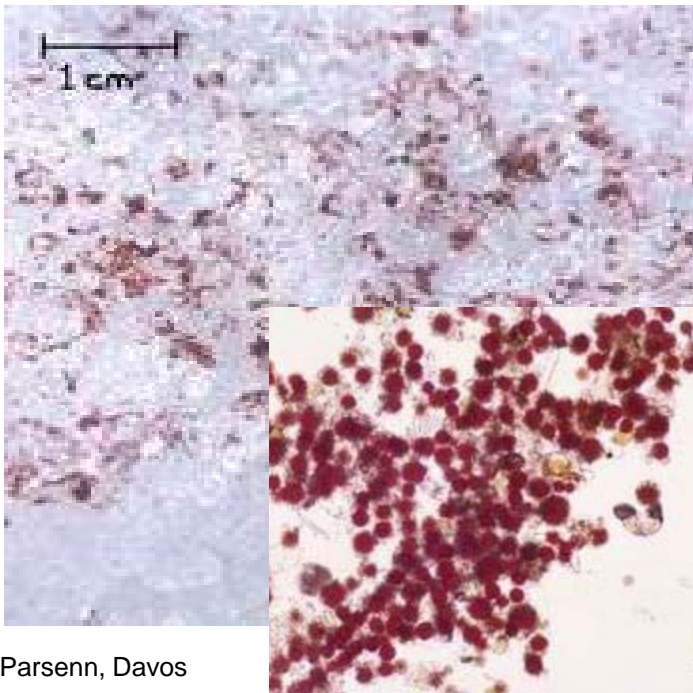
S-243

* スノーアルゲ（別名：冰雪藻）は極限環境で生育する単細胞藻類の一種です



Snow Algae Powder(スノーアルゲパウダー) and the secret of the red snow(と赤い雪の秘密)

赤い雪って何？



Parsenn, Davos

- 昔からときどき、赤い雪が積る現象が知られていた。
- この色はスノーアルゲの胞子からくるもの
- この赤い色はスノーアルゲ自身を極端な紫外線から守っている。

Chlamydomonas nivalis



- 現在おおよそ350種類のスノーアルゲが見つかっており、そのうちのひとつが単細胞藻類の*Chlamydomonas nivalis*である。
- 冬の期間、スノーアルゲは雪の下で赤い芽胞状態となって休眠する。
- 春になると、休眠していた芽胞が発芽して、緑色鞭毛虫を放出し、雪上に移動して繁殖する。
- これら子孫は、生存のために次の夏まで再度赤い芽胞状態となる。

Snow Algae Live under Extreme Conditions

スノーアルゲは極限環境に生息する



- 極端な温度、紫外線、栄養欠乏状態
- スノーアルゲは水、二酸化炭素、日光、ミネラルだけで生き続ける
- 0~5°Cが最適な増殖速度

Interesting Metabolites in Snow Algae

スノーアルゲが含む興味深い代謝物

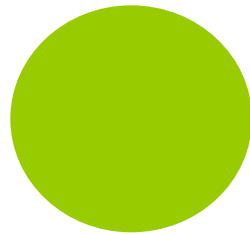


極限での生育の結果、スノーアルゲは多種類の二次代謝物に反映される様々な適応能力を獲得している。

- 色素類 (例:カロテノイド/アスタキサンチン)
- 生体高分子 (gallerten)
- 不凍糖タンパク質(AFGPs)
- 浸透圧活性のあるアミノ酸、糖類
- ストレス変換因子

Green- and Red Stage of Snow Algae

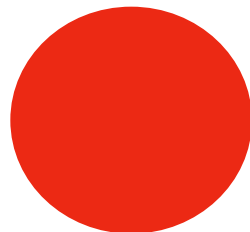
スノーアルゲの緑色期と赤色期



成長期/分裂期

- クロロフィル

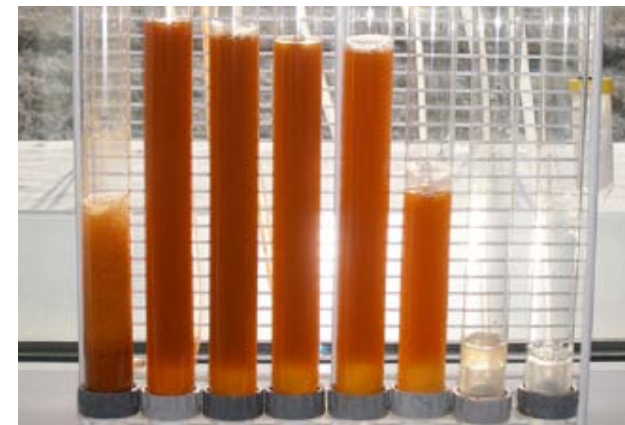
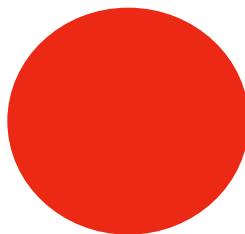
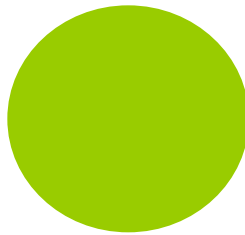
紫外線や栄養欠乏
などのストレス



休眠期

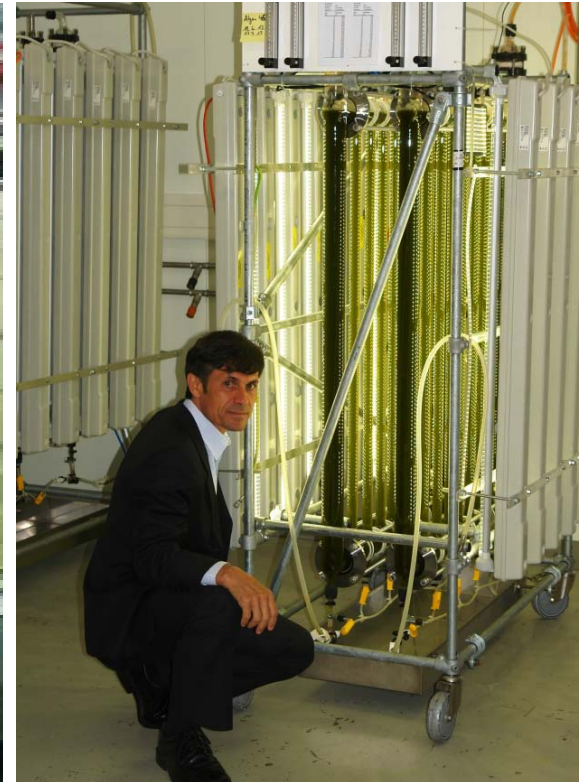
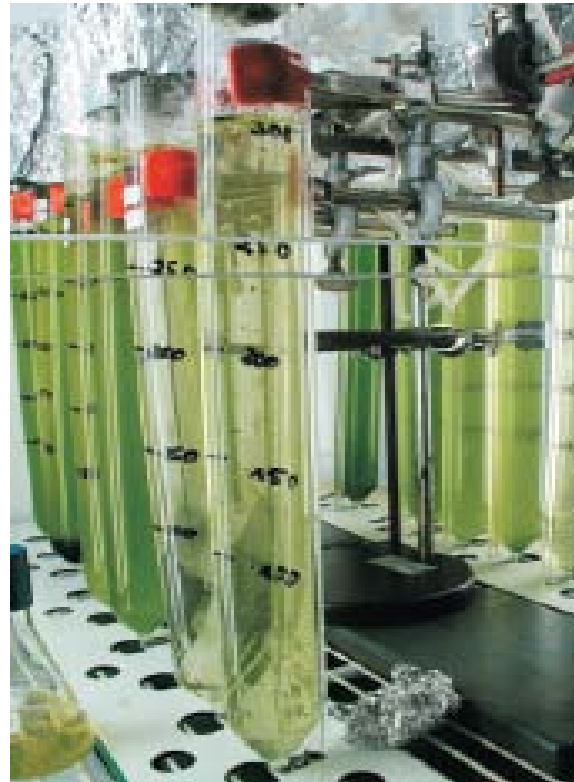
- カロテノイド
- アンチオキシダント
- ポリフェノール

Green- and Red Stage of Snow Algae in the Lab 試験室内でのスノーアルゲの緑色期と赤色期



Harvesting of Snow Algae, Breeding in the Lab and Biomass Production

スノーアルゲの収穫、繁殖、バイオマス生産



Mechanism of Snow Algae Extract AMPK Phosphorylation in Keratinocytes

スノーアルゲエキスの作用メカニズム 角化細胞内でのAMPKのリン酸化

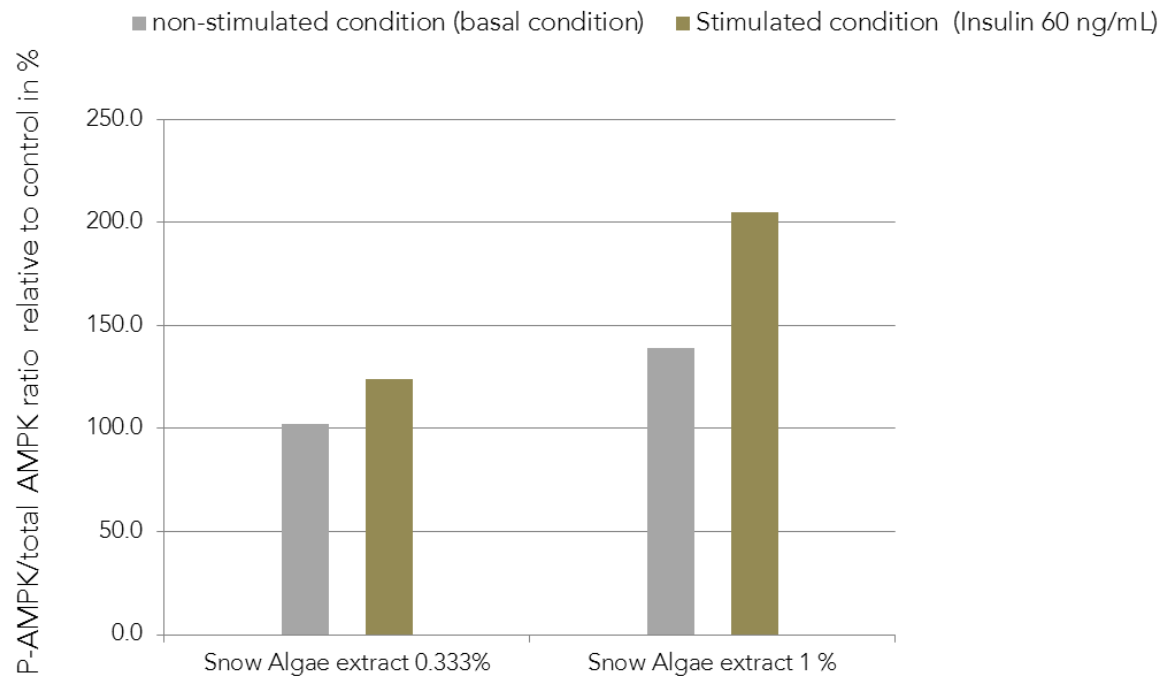
- 細胞種:正常ヒト表皮角化細胞 (NHEK)
- 実験条件:通常培地とカロリーー負荷培地（インシュリン、60ng/ml含有培地）にそれぞれスノーアルゲエキスを 0.33%及び1%添加して48時間培養
- ウェスタンブロットを行い総AMPK量とリン酸化AMPKの量を比較

Mechanism of Snow Algae Extract

→ Stimulation of AMPK Phosphorylation

スノーアルゲエキスの作用メカニズム

→ AMPKのリン酸化の促進

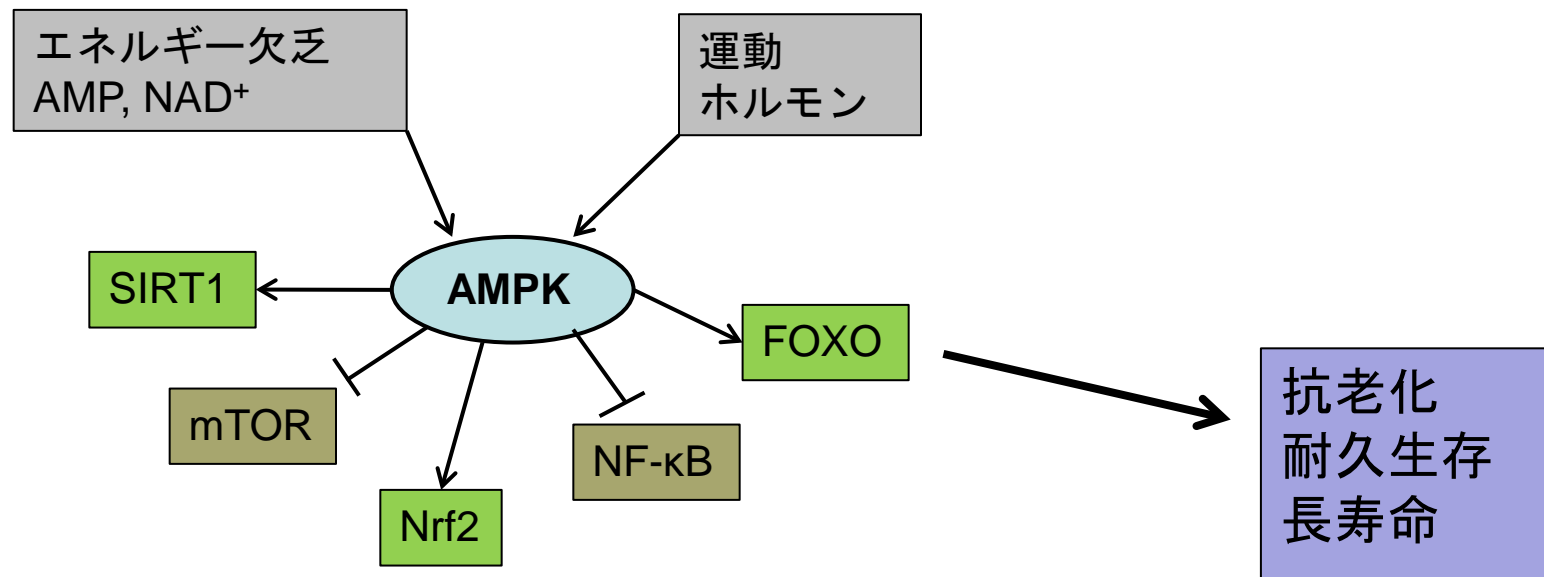


The AMPK Protein

AMP-activated protein kinase, an energy sensor, controls the aging process via an integrated signaling network

AMPK タンパク質

AMP活性化プロテインキナーゼは、エネルギーバランス制御するセンサーで、シグナル伝達系を介して加齢プロセスをコントロールしている。



Clinical Trial in Alpine Winter Climate

冬季アルプスでの有効性評価試験

- スノーアルゲ粉末を0.3%配合したクリームを用いて溶媒対照ハーフサイド比較テストを行った。テストサンプルを、20名の被験者（女性18名、男性2名）に対して、3週間に渡り1日2回塗布した。被験者は第2週目をスキーリゾートで過ごした。
- 試験実施前後のTEWLを評価した。
- VisioFace® systemを用いてシワと紫外線によるシミを分析した



スノーアルゲを3週間用いた場合TEWLが顕著に減少(-12%)した。

Significant Improvement of Wrinkles in the Snow Algae Powder-Treated Half Face

スノーアルゲを処置した半面における、顕著なシワの改善効果



S-240

Improvement of UV-Spots in the Snow Algae Powder-Treated Half Face

スノーアルゲを処置した半面における、紫外線によるシミの改善効果



S-240

被験者6名を用いたダブルブラインド試験

比較対照半面

- 悪化した (3)
- 変化なし (3)

試験半面

- 悪化した (1)
- 変化なし (1)
- 改善した (3)
- 有意に改善した (1)

In vivo Microscopic Analysis Using Multi Photon Tomography

マルチフォトントモグラフィを利用した*In vivo* 顕微鏡観察

条件

試験製品:	2%スノーアルゲ粉末配合クリーム及びプラセボクリーム
処置:	2カ月間、1日2回、前腕内側
被験者	55~67歳の白人女性5名

画像取得条件設定

蛍光: 800 nm, femtosecond laser Mai-Tai Broad Band DeepSee

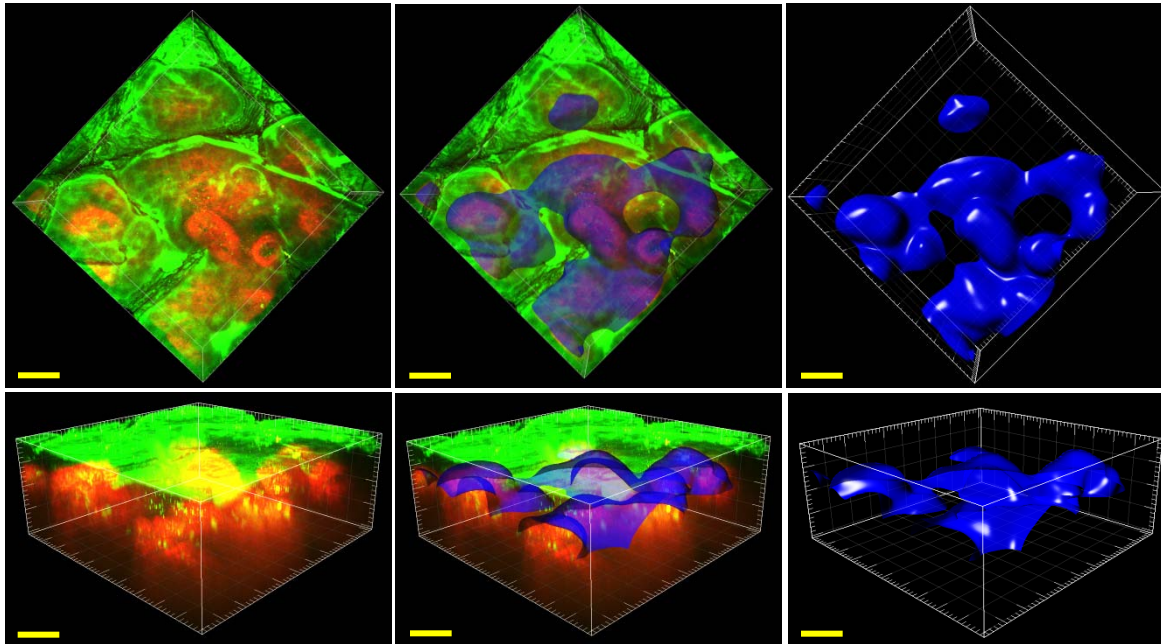
吸収フィルタ:

Channel 1 – band pass 397-412 nm (SHG, color-coded **red**)

Channel 2 – band pass 455-490 nm (AF of elastin fibers, NAD(P)H, color-coded **green**)

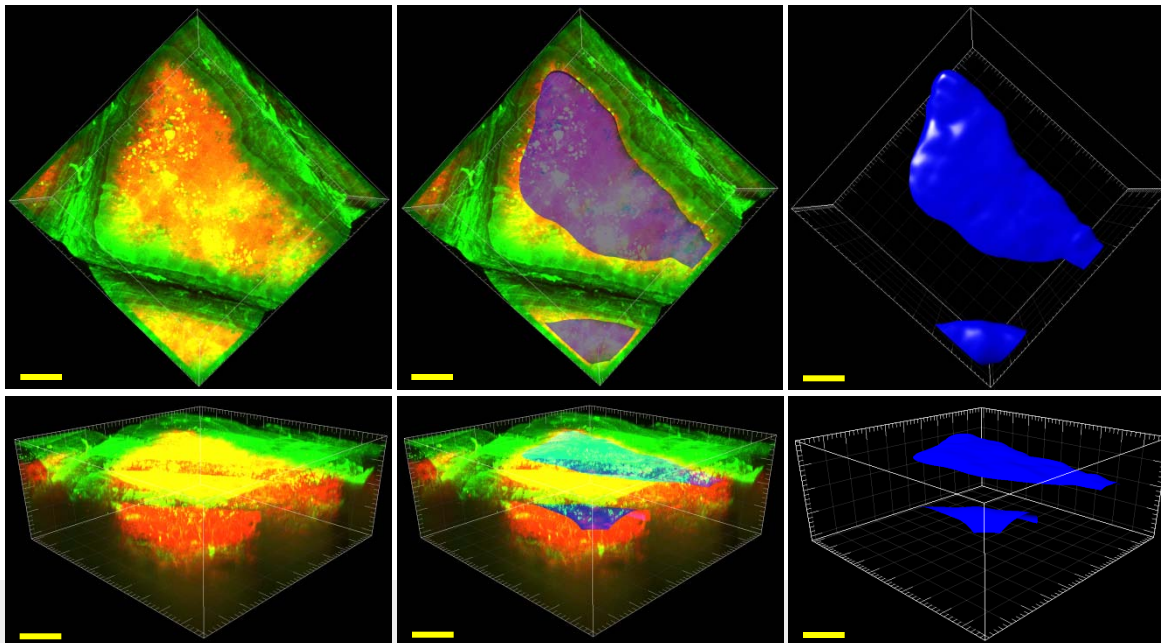
Channel 3 – band pass 526-577 nm (AF of FAD)

Representative *in vivo* 3次元画像 & 乳頭状表面画像



若い女性の皮膚構造 (31歳)

- 凸面を持った真皮乳頭
- 基底膜が保たれている

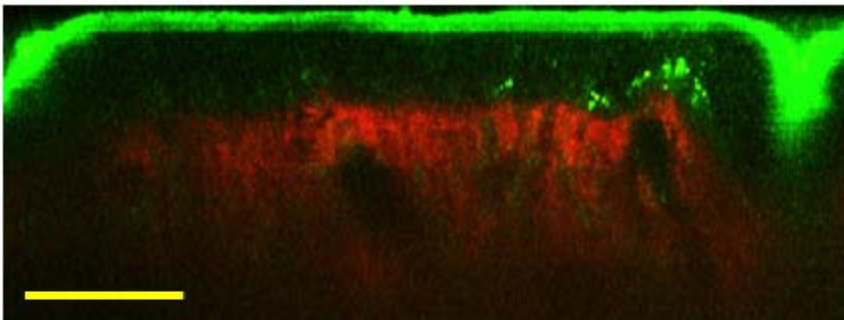


老化した女性の肌 (67歳)

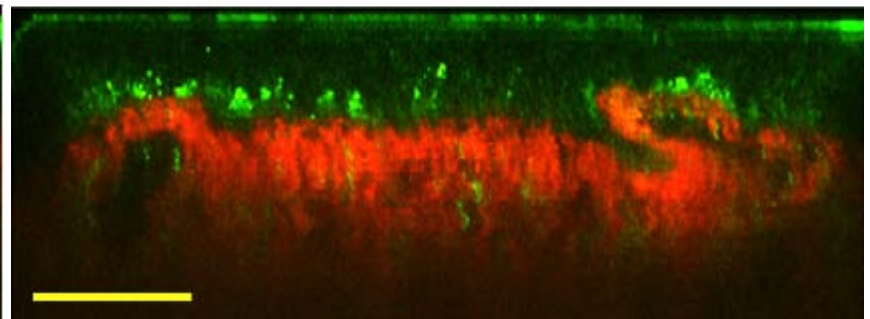
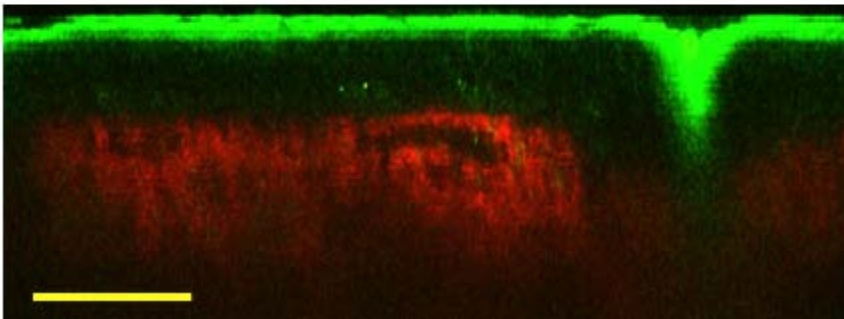
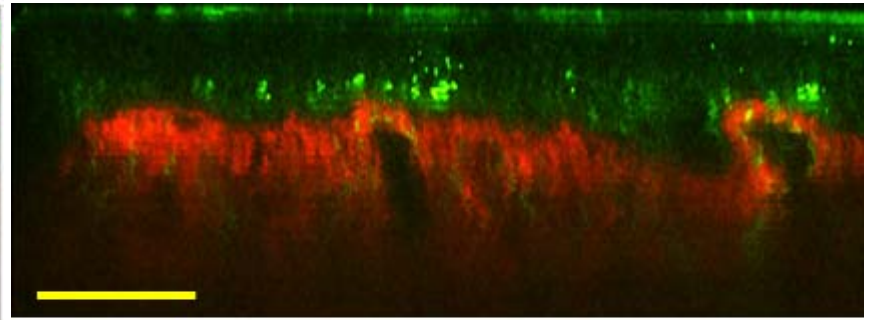
- 平坦になった真皮乳頭
- 基底膜が減少している

Analysis of the Papillary Surface Area 真皮乳頭層の範囲の分析

Baseline



Treatment



S-413, MH, 57 y.

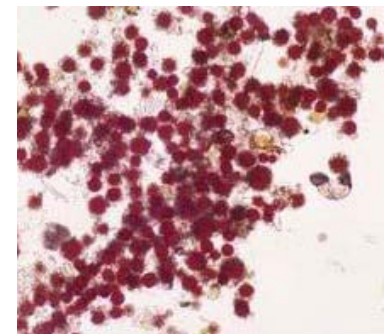
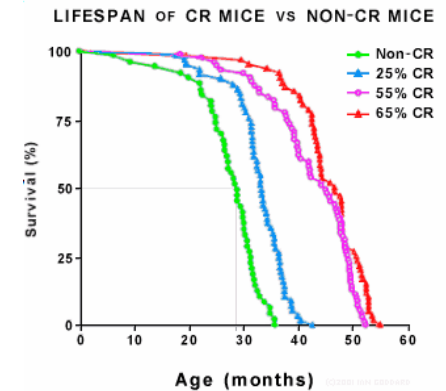
Cosmetics with Snow Algae Powder

Activity, Story & Benefits

スノーアルゲ配合化粧品の機能、ストーリー、利点

機能

- スノーアルゲが以下の因子を活性化する：
 - Klotho, 長寿命に関する最も重要な遺伝子
 - AMPK, エネルギーを活性化する酵素
- スノーアルゲはダイエットとエクササイズの2つの抗老化コンセプトをサポートする。



Cosmetics with Snow Algae Powder

Activity, Story & Benefits

スノーアルゲ配合化粧品の 機能、ストーリー、利点

ストーリー

スノーアルゲはスイスアルプスでの生存競争に勝ち抜いた特別な生物

100万年以上かけて過酷な環境化を生き延びるための物質を獲得してきた

2つの形態を持つ:

- 緑色: 繁殖
- 赤色: 生存、自己保護

ミベールバイオケミストリーは化粧品用途として、緑色のスノーアルゲの培養と栄養欠乏状態による赤色化に成功した。



Cosmetics with Snow Algae Powder

Activity, Story & Benefits

スノーアルゲ配合化粧品の 機能、ストーリー、利点

利点

カロリー制限と運動による肌におけるアンチエイジング作用

- 皮膚細胞の平均寿命、健康寿命の延長
- 皮膚の長寿スイッチの活性化
- 環境ストレス因子からの保護
- しわの改善
- エイジスポットの予防
- 皮膚の弾力改善

