

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2010-48612

(P2010-48612A)

(43) 公開日 平成22年3月4日(2010.3.4)

(51) Int.Cl.
G 0 1 N 33/50 (2006.01)F 1
G 0 1 N 33/50テーマコード (参考)
2 G 0 4 5

審査請求 未請求 請求項の数 2 O L (全 14 頁)

(21) 出願番号 特願2008-211823 (P2008-211823)
(22) 出願日 平成20年8月20日 (2008.8.20)(71) 出願人 000001959
株式会社資生堂
東京都中央区銀座7丁目5番5号
(74) 代理人 100080089
弁理士 牛木 護
(74) 代理人 100137800
弁理士 吉田 正義
(74) 代理人 100125081
弁理士 小合 宗一
(72) 発明者 川口勝浩
東京都中央区銀座7丁目5番地5号 株式
会社資生堂内
(72) 発明者 平尾直靖
東京都中央区銀座7丁目5番地5号 株式
会社資生堂内

最終頁に続く

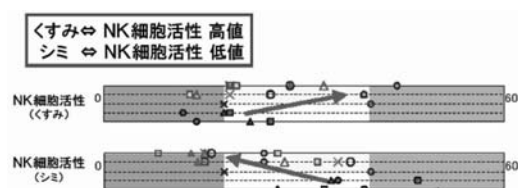
(54) 【発明の名称】 「くすみ」及び「シミ」のリスク評価法

(57) 【要約】

【課題】統計的な裏づけのある客観的な証拠すなわちエビデンスに基づいて、肌のトラブルのリスクを評価する方法と、肌のトラブルを識別する方法とを開発する。

【解決手段】本発明は、くすみ及び／又はシミのリスク評価方法を提供する。本発明の評価方法は、被験者のNK細胞活性を指標として被験者の肌におけるくすみ及び／又はシミのリスクを評価するステップを含む。本発明は、くすみとシミとの識別方法を提供する。本発明の識別方法は、被験者のNK細胞活性を指標として被験者の肌におけるくすみとシミとを識別するステップを含む。

【選択図】図3



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

被験者のNK細胞活性を指標として被験者の肌におけるくすみ及び／又はシミのリスクを評価するステップを含むことを特徴とする、くすみ及び／又はシミのリスク評価方法。

【請求項 2】

被験者のNK細胞活性を指標として被験者の肌におけるくすみとシミとを識別するステップを含むことを特徴とする、くすみとシミとの識別方法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

10

本発明は、NK細胞活性の測定値を利用する客観的なくすみ及び／又はシミのリスク評価方法と、くすみとシミとの識別方法とに関する。

【背景技術】**【0002】**

20

今日のコスメティックビジネスにおいては、顧客の1人1人の肌のコンディションにあわせて最適な化粧品を提案したり、最適な美容ケアソリューションを提供するというような、顧客へのきめ細かな個別対応が求められている。肌のトラブルの評価には視診、専用の肌測定用機器等の手法を利用することが一般的である。しかしこれらの手法は、既に発生した肌のトラブルを評価することはできるが、肌のトラブルが将来発生するリスクを評価することはできない。

【0003】

肌のトラブルが発生する要因のうち、気温、湿度又は紫外線のような環境要因や、精神的ストレスのような心理的要因は顧客が自覚している。しかし生理学的要因は顧客が直接自覚するものではないため、別途評価を行う意義がある。肌のトラブルの生理学的要因の候補としては、皮膚の血流の物理・化学的特性（組織血流量、組織酸素飽和度等）、ホルモン（プロゲステロン、プロラクチン等）、生体内の抗酸化力（ビタミンA、C等）等の生化学的特性、女性ホルモン（エストラジオール等）、細胞外マトリクス等に関連する生化学的特性が考えられる。これらの特性を含む各種の生理学的指標を用いて肌のトラブルのリスクを評価する試みが行われた例はほとんどない。

【0004】

30

また、肌のトラブルのうち、くすみとシミとは、ともに皮内色素と関連するトラブルであるが、くすみとシミとを各種の生理学的指標を用いて識別する試みが行われた例もほとんどない。

【発明の開示】**【発明が解決しようとする課題】****【0005】**

そこで、肌のトラブルと全身の各種生理学的指標との関係性を大規模な調査を行って明らかにし、統計的な裏づけのある客観的な証拠又はエビデンスに基づいて、肌のトラブルのリスクを評価する方法と、肌のトラブルを識別する方法とを開発する必要がある。

【課題を解決するための手段】

40

【0006】

本発明は、くすみ及び／又はシミのリスク評価方法を提供する。本発明の評価方法は、被験者のNK細胞活性を指標として被験者の肌におけるくすみ及び／又はシミのリスクを評価するステップを含む。

【0007】

本発明は、くすみとシミとの識別方法を提供する。本発明の識別方法は、被験者のNK細胞活性を指標として被験者の肌におけるくすみとシミとを識別するステップを含む。

【0008】

本明細書において「肌のトラブル」とは、肌の外観状態が正常でない状態を指し、シミ、くすみ、しわ、たるみ等を含む。

50

【 0 0 0 9 】

本明細書において「くすみ」とは、肌のトラブルの一種であって、肌への色素の沈着、血流の低下、肌表面の凹凸、皮膚の汚れ等により肌が暗く見える部位が生じ、該肌が暗く見える部位は弥漫（びまん）しており、暗く見える部位と暗く見えない部位との境界が不明瞭である状態を指す。

【 0 0 1 0 】

本明細書において「シミ」とは、肌のトラブルの一種であって、肌に色素が沈着することにより生じ、肌上の色素が沈着した部位と沈着していない部位との境界が明瞭である程度に色素が沈着した状態を指す。本明細書における「シミ」は、日光性黒子、脂漏性角化症等のようなケラチノサイトの異常によるシミと、肝斑、雀卵斑、紫外線照射後の光線性花弁状色素斑等のようなメラノサイトの異常によるシミと、色素沈着性接触皮膚炎、固定薬疹、外傷後色素沈着等のような炎症後色素沈着症とを含む。本明細書における「シミ」は、後天性真皮メラノサイトーシス、扁平母斑、太田母斑等のような、シミに似たメラノサイトが多いあざも含む場合がある。

10

【 0 0 1 1 】

本明細書において「しわ」とは、肌のトラブルの一種であって、加齢により生じる皮膚の線状陥没が作り出す紋様が、特定の領域に集中して、かつ、大きさ及び配列の不規則性をもって存在する状態を指す。

【 0 0 1 2 】

本明細書において「たるみ」とは、肌のトラブルの一種であって、加齢に伴い皮膚のはりが失われる結果として目又は口の周囲、頬下等に皮膚の膨らみが観察される状態を指す。

20

【 0 0 1 3 】

本明細書における用語「肌のトラブルのリスク」は、既に発生している肌のトラブルが継続し、あるいは、増悪する蓋然性と、肌のトラブルが発生する潜在的な蓋然性とを含む。本明細書における用語「肌のトラブルのリスク評価」は、肌のトラブルのリスクの有無についての定性的な評価と、リスクの蓋然性についての定量的な評価とを含む。

【 0 0 1 4 】

本明細書において「NK細胞活性」とは、血液中におけるナチュラルキラー細胞（NK細胞）の活性である。NK細胞は、細胞性免疫の主要因子として働く細胞傷害性リンパ球の1種であり、抗原による事前の感作がなされずとも癌細胞やウイルス感染細胞を認識して殺す機能を有することで知られる。

30

【 0 0 1 5 】

以下の実施例で詳しく説明するとおり、本発明は、NK細胞活性の測定値とくすみの有無との間には、被験者におけるその測定値が大きいほどその被験者はくすみを有する蓋然性が高いという発明者らの調査結果に基づいて完成された。また本発明は、NK細胞活性の測定値とシミの有無との間には、被験者におけるその測定値が大きいほどその被験者はシミを有する蓋然性が低いという発明者らの調査結果に基づいて完成された。

【 0 0 1 6 】

本発明の評価方法又は識別方法におけるNK細胞活性の測定は、臨床検査の分野の当業者に周知のいかなる検定方法を使用して実施されてもかまわない。NK細胞活性の測定は、例えば、 ^{51}Cr 遊離法により実施される場合がある。前記 ^{51}Cr 遊離法は、(i)被験者の静脈血から単核細胞を分離するステップと、(ii) ^{51}Cr で標識された癌細胞等の標的細胞を用意するステップと、(iii)前記単核細胞と前記標的細胞とを接触させるステップと、(iv)前記単核細胞中のNK細胞により破壊された前記標的細胞から遊離した ^{51}Cr の放射活性を測定するステップとを含む場合がある。

40

【 0 0 1 7 】

被験者のNK細胞活性の測定値を指標として被験者の肌におけるシミのリスクを評価し、あるいは、被験者の肌におけるくすみとシミとを識別するための判断基準は、統計学的手法により設定される場合がある。統計学的手法により設定される判断基準は、NK

50

細胞活性の測定値と被験者の肌におけるシミの程度とを関連づける判別関数の場合がある。前記判断基準は、NK細胞活性と被験者の肌におけるくすみ及び／又はシミの有無とを関連付ける判別関数をも併用するステップワイズ判別分析の場合がある。

【発明を実施するための最良の形態】

【0018】

以下の実施例は例示のために説明するのであり、本発明の特許請求の範囲はこれらの実施例により何ら限定されるものではない。

【実施例1】

【0019】

1. くすみ、シミ又はしわ・たるみの有無及びその程度と、肌及び全身の所見との関連性の解析

10

1-1. 方法

(被験者の選定)

健康な成人女性150名を対象として、後述の皮膚科医による視診、生理学的・医学的測定、肌・身体測定(以下、「視診等」という。)の被験者を選定するためのアンケート調査を実施した。アンケート調査の前に、前記150名の成人女性には試験の概要が説明され、アンケート調査への協力について自由意志に基づく書面による同意を得た。このアンケート調査における主な質問項目を表1に示す。アンケート調査の結果から、現在の顔の肌の状態(顔の肌のトラブルを有すること)及び体質(顔の肌のトラブルを発生しやすいこと)についての自覚の有無及び程度を基準として、皮膚科医による視診の対象とする被験者を選定した。顔の肌のトラブルは、くすみ、シミ及びしわ・たるみに分類した。選定の際に、被験者が、くすみ、シミ又はしわ・たるみのうち少なくとも1種類の肌のトラブルのみ自覚があること、並びに、顔の肌の状態及び体質に影響を与える可能性がある他の生活習慣、健康状態等について特に自覚がないことを確認した。

20

【0020】

【表1】

アンケート調査における主な質問項目

質問項目	具体的な質問内容
X. 基本項目	回答者の年齢、家族構成、職業について
A. 現在の顔の肌の状態及び体質	にきび、くま、くすみ、シミ、しわ・たるみ等の顔の肌のトラブルに関する、現在の顔の肌の状態(肌のトラブルの有無)及び体質(肌のトラブルの発生しやすさ)について
B. 美容及び化粧の習慣	エステティック、美容外科、化粧品等の使用の習慣について
C. 普段の生活習慣	運動、睡眠、食事、日焼け等の習慣について
D. 心身の調子及び健康状態	体調、月経周期等について

30

40

【0021】

アンケート調査の結果、前記150名の成人女性から、くすみに関する顔の肌の状態及び体質について顕著な自覚を有する者17名と、くすみに関する顔の肌の状態又は体質について自覚をほとんど有しない者8名と、シミに関する顔の肌の状態及び体質について顕著な自覚を有する者17名と、シミに関する顔の肌の状態又は体質について自覚をほとんど有しない者8名と、しわ・たるみに関する顔の肌の状態及び体質について顕著な自覚を

50

有する者 17 名と、しわ・たるみに関する顔の肌の状態又は体質について自覚をほとんど有しない者 8 名との計 75 名の被験者を選定した。

【0022】

(被験者による同意)

前記アンケート調査の結果として選定された 75 名の被験者を対象として、文書に基づいて試験内容等について説明した。その上で、皮膚科医による視診等への参加について被験者の自由意志に基づく文書による同意を得た。

【0023】

(皮膚科医による視診)

前記アンケート調査の結果として選定された 75 名の被験者を対象として、後述の生理学的・医学的測定及び肌・身体測定の被験者を選定するための皮膚科医による視診を実施した。この視診では、資生堂ビューティーソリューション開発センターにおいて肌の状態の視感評価に使用される基準を示した「視感評価マニュアル」に基づき、くすみ、シミ又はしわ・たるみの度合いを評価した。この評価結果を基準として、顕著なくすみ、シミ又はしわ・たるみを有する者と、くすみ、シミ又はしわ・たるみをほとんど有しない者とを、前記皮膚科医の判断で選定した。また視診当日には、体調、精神的ストレス、制限事項の遵守状態等についてアンケート調査を実施し、視診結果に影響を与える可能性のある項目への回答が特異な傾向を示さないことを確認した。この結果として、前記 75 名の被験者から、以下に示す計 6 群、計 30 名の被験者を選定した。

・くすみに関する顔の肌の状態及び体質について顕著な自覚を有し、かつ、顕著なくすみを有する被験者(第 1 群の被験者) 7 名

・くすみに関する顔の肌の状態又は体質について自覚をほとんど有さず、かつ、くすみをほとんど有しない被験者(第 2 群の被験者) 3 名

・シミに関する顔の肌の状態及び体質について顕著な自覚を有し、かつ、顕著なシミを有する被験者(第 3 群の被験者) 7 名

・シミに関する顔の肌の状態又は体質について自覚をほとんど有さず、かつ、シミをほとんど有しない被験者(第 4 群の被験者) 3 名

・しわ・たるみに関する顔の肌の状態及び体質について顕著な自覚を有し、かつ、顕著なしわ・たるみを有する被験者(第 5 群の被験者) 7 名

・しわ・たるみに関する顔の肌の状態又は体質について自覚をほとんど有さず、かつ、しわ・たるみをほとんど有しない被験者(第 6 群の被験者) 3 名

前記 30 名の被験者を選定する過程で、以下に示す除外基準に抵触する者は除外した。

【0024】

除外基準

a. 現在治療目的に通院し、医薬品を服用(使用)している者

b. 妊娠している者、授乳中の者、妊娠の予定のある者

c. 他の臨床試験に参加中の者

d. その他、試験責任医師あるいは試験担当医師が不適当と判断した者

(生理学的・医学的測定及び肌・身体測定)

前記 30 名の被験者を対象として、生理学的・医学的測定及び肌・身体測定を実施した。これらの測定は、測定データの再現性を確認するために、同一の被験者に対し同一の測定項目について冬季(2007 年 3 月)及び春季(2007 年 5 - 6 月)の 2 回繰り返して実施した。生理学的・医学的測定における測定内容は、血液検査、尿検査、血管硬化度測定、頸動脈内膜中膜複合体肥厚(IMT)測定、筋力測定、体組織測定、呼吸機能検査、循環検査、心臓超音波検査、聴力検査、平衡機能検査、声の老化検査、認知症検査及び自律神経バランス検査である。肌・身体測定における測定内容は、角層水分量測定、経表皮水分蒸散量測定、皮脂量測定、肌拡大画像撮影、顔写真撮影、肌粘弾性測定、肌色測定、肌血流測定、肌表面温度測定、総合肌診断、基礎代謝測定及び体温測定であった。また測定当日には、体調、精神的ストレス、制限事項の遵守状態等についてアンケート調査を実施し、測定結果に影響を与える可能性のある項目への回答が特異な傾向を示さないこと

10

20

30

40

50

を確認した。

【0025】

血液検査は、試験担当医師が被験者の両肘の内側の静脈より真空採血管を用いて採取した血液試料（被験者1人当たり25mL）を使用して行った。血液試料は採取後直ちに冷蔵保管した。その後血液試料についてグルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ（GOT）活性、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ（GPT）活性、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ（ γ -GTP）活性、乳酸デヒドロゲナーゼ（LDH）活性、コリンエステラーゼ活性、蛋白分画、アルブミン/グロブリン比、アルブミン濃度、クレアチニン濃度、尿酸値、総コレステロール量、LDLコレステロール量、SD-LDLコレステロール量、HDL2コレステロール（HDL2）量、HDL3コレステロール（HDL3）量、中性脂肪量、遊離脂肪酸量、リポ蛋白a量、レムナント様リポ蛋白c量、血糖値、ヘモグロビンA1c量、フルクトサミン濃度、Cペプチド濃度、成長ホルモン（インスリン様成長因子-1（IGF-1））濃度、甲状腺ホルモン濃度、副腎皮質ホルモン濃度、デヒドロエピアンドロステロンサルフェート（DHEA-s）濃度、フリーテストステロン濃度、プロゲステロン濃度、プロラクチン濃度、エストラジオール濃度、NK細胞活性、グラニューライシン濃度、インターロイキン-6濃度、インターロイキン-10濃度、白血球数、赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、血小板数、フェリチン量、血清過酸化脂質（血清LPO）量、鉄濃度、銅濃度、血清総抗酸化能（STAS）、ビタミンC濃度、葉酸濃度、ビタミンB₁₂濃度、ルテイン量+ゼアキサンチン量、 β -クリプトキサンチン濃度、リコピン濃度、 α -カロテン濃度、 β -カロテン濃度、ビタミンA濃度、 α -トコフェロール濃度、 δ -トコフェロール濃度、 γ -トコフェロール濃度、 α -トコフェロール/総トコフェロール比、ユビキノール濃度、ビタミンB₁濃度、ビタミンB₂濃度、ビタミンB₆濃度、高感度検査によるC反応性タンパク質（高感度CRP）量、総ホモシステイン量、アディポネクチン量、フィブリノゲン量、総プラスミノーゲンアクティベーターインヒビター（総PAI-1）量、細胞間接着分子-1（ICAM-1）量、P-セレクチン量、非対称性ジメチルアルギニン（ADMA）量、単球走化性タンパク質-1（MCP-1）量、マトリックスメタロプロテイナーゼ-9（MMP-9）量、アポEフェノタイプ及び脳性ナトリウム利尿ペプチド（BNP）量を定法により分析した。

10

20

【0026】

尿検査は、被験者が各自で適当量採取した尿試料を使用して行った。採取した尿試料について、尿中アルブミン濃度、尿中シスタチンC濃度、尿中シスタチンC/クレアチニン比、尿デオキシビリジノリン量、8-ヒドロキシ-デオキシグアナシン（8OHdG）生成速度、イソプラスタン生成速度及びコエンザイムQ10（CoQ10）酸化率を定法により分析した。

30

【0027】

血管硬化度測定としては、血圧の測定と、動脈硬化度の測定と、血管硬化度の測定と、加速度波の測定と、眼底検査とを実施した。血圧の測定は、自動血圧計BP203RV-11（日本コーリン株式会社）を使用して収縮期血圧及び拡張期血圧の測定を実施した。動脈硬化度の測定は、フォルムPWV（日本コーリン株式会社）及びVS-1000（フクダ電子株式会社）を使用して脈波伝導速度（PWV）を測定することにより実施した。血管硬化度の測定は、CVMS2000（株式会社オサチ）を使用して足首上腕血圧指数（ABI=下肢血圧/上肢血圧）を測定することにより実施した。加速度波の測定は、アルテット（株式会社ユメディカ）を使用して実施した。眼底検査は、CR5（キャノン株式会社）を使用して眼底画像を撮影することにより実施した。

40

【0028】

頸動脈内膜中膜複合体肥厚（IMT）測定としては、nemio550（東芝社）を使用して、被験者の頸部にプローブをあて超音波によるIMTの測定を実施した。

【0029】

筋力測定としては、一般的な握力計により握力を測定した。

50

【 0 0 3 0 】

体組織測定としては、骨量及び骨密度の測定と、体脂肪率及び四肢筋肉量の評価と、身長及び体重の測定とを実施した。骨量及び骨密度の測定は、A S - 1 0 0 (アロカ株式会社)を使用してインピーダンス法により、また、P R O D I G Y (G E 横河メディカルシステム株式会社)を使用してD X A 法(二重X線評価法)により実施した。体脂肪率及び四肢筋肉量の評価は、I n B o d y (株式会社タニタ)及びT B F 2 0 2 (株式会社タニタ)を使用してインピーダンス法により実施した。身長及び体重の測定は、通常の身長計及び体重計を使用して実施した。身長及び体重の測定結果からボディマス指数(B M I)を算出した。

【 0 0 3 1 】

呼吸機能検査としては、肺活量の測定と、酸素飽和度の測定とを実施した。肺活量の測定は、スパイロメーターH I - 7 0 1 (日本光電工業株式会社)を使用して実施した。酸素飽和度の測定は、パルスオキシメーター(カシオ計算機株式会社)を使用して実施した。

10

【 0 0 3 2 】

循環検査としては、生体アンプE C G 9 3 2 1 (日本光電工業株式会社)を使用して四肢に装着した電極により心電図を測定した。

【 0 0 3 3 】

心臓超音波検査としては、超音波検査装置n e m i o 5 5 0 (株式会社東芝)を使用して心臓の超音波画像を取得し、開放速度、後退速度、中隔厚、心拍出量、収縮率、大動脈径等を定量的に評価した。

20

【 0 0 3 4 】

聴力検査としては、一般的な健康診断に用いる機器を使用して、高音域及び低音域それぞれの一般聴力検査を実施した。

【 0 0 3 5 】

平衡機能検査としては、平衡機能検査装置G 1 0 (アニマ株式会社)を使用して、開眼及び閉眼状態並びに立位状態での身体の重心の動揺を時系列的に記録し平衡機能进行评估した。

【 0 0 3 6 】

声の老化検査としては、S U G I S p e e c h A n a l y z e r (株式会社アニモ)を使用して、マイクより取り込んだ音声データを解析し、発声音の周波数帯域のスペクトルより老化度を評価した。

30

【 0 0 3 7 】

認知症検査としては、C o g H e a l t h (コンピュータ上でのカード判別課題における反応速度を測定し判定するシステム、株式会社ヘルス・ソリューション)を使用して認知症傾向の検査を実施した。

【 0 0 3 8 】

自律神経バランス検査としては、アイリスメーター(アイリステック株式会社)を使用して、光に対する瞳孔反応速度を測定した。

【 0 0 3 9 】

角層水分量測定としては、頬の角層水分量の測定を実施した。被験者を、洗顔後恒温恒湿室内にて45分間安静にさせた後、頬の角層水分量をc o r n e o m e t e r (C o u r a g e + K h a z a k a e l e c t r o n i c G m b H , G e r m a n y)を用いて測定した。5回測定し平均値を算出した。

40

【 0 0 4 0 】

経表皮水分蒸散量測定としては、頬の経表皮水分蒸散量の測定を実施した。被験者を、洗顔後恒温恒湿室内にて45分間安静にさせた後、頬の経表皮水分蒸散量をv a p o m e t e r (D e l f i n T e c h n o l o g i e s L t d , K u o p i o , F i n l a n d)を用いて測定した。3回測定し平均値を算出した。

【 0 0 4 1 】

50

皮脂量測定としては、頬及び額の皮脂量の測定を実施した。被験者を、洗顔後恒温恒湿室内にて45分間安静にさせた後、頬及び額の皮脂量をSebumeter (Courage + Khazaka electronic GmbH, Germany)を用いて測定した。

【0042】

肌拡大画像撮影としては、頬の肌拡大画像を撮影した。マイクロスコープ、照明装置及び記録装置から構成される独自開発の機器を使用して、 8×6.2 mm角の肌の拡大画像を取得し、キメの状態、角層の剥離状態等の評価を実施した。

【0043】

顔写真撮影としては、全顔の正面及び左右側面の顔画像を撮影し、顔全体の肌のトラブルの評価を実施した。

10

【0044】

肌粘弾性測定としては、頬の肌粘弾性の測定を実施した。被験者を、洗顔後恒温恒湿室内にて40分間安静にさせた後、頬の肌粘弾性をcutometer (Courage + Khazaka electronic GmbH, Germany)を用いて測定した。cutometerは、頬の肌を吸引(500mb、2秒間)した後1秒間開放するサイクルを5回繰り返すよう設定し、表皮の柔軟性と真皮の粘弾性とを評価した。

【0045】

肌色測定としては、頬の肌色と、眼の下の肌色との測定を実施した。被験者を、洗顔後恒温恒湿室内にて40分間安静にさせた後、頬の肌色と眼の下約3.5cm部分の肌色とをCM-2600d (コニカミノルタセンシング株式会社)を用いて測定した。3回測定し平均値を算出した。

20

【0046】

肌血流測定としては、頬の肌血流をオメガモニターTR BOM-L1TR SF (オメガウエーブ株式会社)を用いて測定した。

【0047】

肌表面温度測定としては、全顔の表面温度を測定した。被験者を、洗顔後恒温恒湿室内にて45分間安静にさせた後、全顔の表面温度をサーモグラフィーTVS-8502 (日本アビオニクス株式会社)を用いて測定した。

【0048】

30

総合肌診断は、スキナビジウムII (株式会社資生堂)を使用して実施した。

【0049】

基礎代謝測定は、携帯用カロリーメーターMETAVINE model VMB-005N (株式会社ヴァイン)を使用して実施した。安静にさせた被験者の3分間の呼気量と呼気中の酸素濃度とを測定し、単位時間当たりの酸素摂取量から消費カロリーを推定した。

【0050】

体温測定は、仁丹平型体温計 (森下仁丹株式会社)を使用して実施した。

【0051】

上述の一連のアンケート調査、皮膚科医による視診、生理学的・医学的測定及び肌・身体測定は、ヘルシンキ宣言及び疫学研究に関する疫学指針の精神に則り、事前に作成した試験実施計画書を遵守して実施した。

40

【0052】

(生理学的・医学的測定及び肌・身体測定の結果の解析)

上述の計6群、計30名の被験者に対して実施した生理学的・医学的測定及び肌・身体測定により取得された測定データを使用して、顔の肌のトラブル(くすみ、シミ又はしわ・たるみ)の有無と、生理学的・医学的測定及び肌・身体測定の測定値との関連性の解析を行った。まず、測定項目ごとに、かつ、顔の肌のトラブルごとに、測定値及び解析結果をグラフ化し、視覚的にデータの傾向を把握した。次いで、測定値の再現性を評価するために、各測定項目ごとに、冬季の測定の測定値と春季の測定の測定値との間の積率相関係

50

数を算出した。また、顔の肌のトラブルの有無と、生理学的・医学的測定及び肌・身体測定の測定値との関連性を評価するために、各測定項目ごとに、測定時期（冬季／春季）×くすみの有無（第1群／第2群）と、測定時期（冬季／春季）×シミの有無（第3群／第4群）と、測定時期（冬季／春季）×しわ・たるみの有無（第5群／第6群）とについてそれぞれ2要因の分散分析を実施し、肌のトラブルの有無の要因に関する帰無仮説に対する危険率（ p ）を算出した。

【0053】

1 - 2 . 結果

上述のアンケート調査と皮膚科医による視診との結果として選定された計6群、計30名の被験者に対して生理学的・医学的測定及び肌・身体測定を実施し、測定データを得た。第6群の被験者3名のうち1名については試験期間途中で試験を中止したため、この1名を除く29名の被験者の測定結果に基づき結果の解析を実施した。

【0054】

図1に、測定値及び解析結果の表示例として、第1群及び第2群の被験者における一部の測定項目（コリンエステラーゼ活性、クレアチニン濃度、血糖値、ヘモグロビン量及びCペプチド濃度）についての測定値及び解析結果を示したグラフを示す。それぞれのグラフの横軸は各測定項目の測定値を示す。それぞれのグラフにおけるそれぞれの段は、上から、第1群の被験者の冬季の測定の測定値（1段目）、第1群の被験者の春季の測定の測定値（2段目）、医学的な標準範囲を示す上限値及び下限値（3段目）、第2群の被験者の冬季の測定の測定値（4段目）、第2群の被験者の春季の測定の測定値（5段目）を示す。1、2、4、5段目には、被験者ごとにマーク（×、▲、○等）を対応させて示す。各測定項目名の下に記載される小数点以下4桁の数値は、冬季の測定の測定値と春季の測定の測定値との間の積率相関係数を示す。グラフの右側に百分率で示される数値は、2要因の分散分析により算出された肌のトラブルの有無の要因に関する帰無仮説に対する危険率（ p ）である。図1では、4種類の測定項目のうちCペプチドのみについての分散分析の結果を示し、危険率（ p ）は3.0%と算出されたことを示す。このようにして測定項目ごとに、かつ、顔の肌のトラブルごとに、測定値及び解析結果をグラフ化し視覚的にデータの傾向を把握した。その後、測定値の再現性、測定値に影響を及ぼす肌のトラブルの有無の要因等について検討した。

【0055】

図2 - 1ないし2 - 4に、上述の方法により分析した測定項目のうち101項目についての、冬季の測定の測定値と春季の測定の測定値との間の積率相関係数と、分散分析により取得した肌のトラブルの有無の要因に関する帰無仮説に対する危険率（ p ）とを示す。図2 - 1ないし2 - 4では、101個の測定項目を、血管の老化度に関連する指標と考えられる11項目と、血液の老化度に関連する指標と考えられる22項目と、ホルモンバランスに関連する指標と考えられる5項目と、免疫バランスに関連する指標と考えられる4項目と、一般的な血液検査の項目15項目と、身体の構成に関連する指標と考えられる11項目と、酸化ストレスに関連する指標と考えられる27項目と、その他の6項目とを、1項目に1行を与える形で表示する。各測定項目ごとに、項目の名称と、単位と、基準値（上限値及び下限値）と、29名の被験者の測定結果から算出された積率相関係数と、分散分析により算出された肌のトラブルの有無の要因に関する危険率（ p ）とを表示する。危険率（ p ）については、測定項目ごとの測定値及び解析結果のグラフの検討から肌のトラブルの有無の要因の測定値への影響がありそうだと考えられた項目と、生理学的な仮説等から興味深いと考えられた項目とについての算出結果を表示した。しわ・たるみの有無の要因に関する危険率は、第6群の被験者3名のうち1名については試験を途中で中止したことにより測定データ数が2個となったため、参考値として表示した（2 - 1ないし2 - 4）。

【0056】

前記101個の測定項目のうち、積率相関係数が0.7を超えるものは57個あり、これらは、冬季の測定の測定値と春季の測定の測定値とを比較したときの測定の再現性が高

10

20

30

40

50

い測定項目であると考えられた(2 - 1ないし2 - 4)。

【0057】

有意水準を5%としたときに肌のトラブルの有無の要因による効果が有意であった測定項目は、くすみについては、血小板数($p = 1.8\%$)、ヘモグロビン量(2.2%)、ヘマトクリット値(2.8%)及びクレアチニン濃度(3.2%)であった。シミについては、右上腕足首脈波伝導速度(Rb a P W V)(2.8%)、左上腕足首脈波伝導速度(Lb a P W V)(3.7%)、収縮期血圧(2.2%)、拡張期血圧(0.8%)、フィブリノゲン量(3.8%)、血小板数(3.9%)、NK細胞活性(1.1%)、Cペプチド濃度(3.0%)、基礎代謝量(4.4%)、BMI(4.1%)、体脂肪率(2.2%)、鉄濃度(1.8%)であった。

10

【0058】

NK細胞活性の測定値に対するシミの有無の要因による効果が統計学的に有意であったことに着目し、NK細胞活性の測定値と、くすみ又はシミの有無との関係について詳細な解析を実施した。NK細胞活性の測定値及び解析結果を図3に示す。くすみの有無との関係では、くすみを有しない被験者(第2群の被験者)と比較してくすみを有する被験者(第1群の被験者)の方が、NK細胞活性の測定値が大きい傾向が見出された。それに対して、シミの有無との関係では、シミを有しない被験者(第4群の被験者)と比較してシミを有する被験者(第3群の被験者)の方が、NK細胞活性の測定値が小さい傾向が見出された。また、シミの有無との関係において見出された傾向は、上述のように、分散分析の結果有意水準5%で有意であった。以上より、NK細胞活性の測定値とくすみの有無との間には、被験者におけるその測定値が大きいほどその被験者はくすみを有する可能性が高いという傾向が存在する一方で、NK細胞活性の測定値とシミの有無との間には、被験者におけるその測定値が大きいほどその被験者はシミを有する可能性が低いという傾向が存在し、くすみとシミとで相異なる傾向が存在することがわかった。

20

【0059】

NK細胞活性は免疫系の活動を反映する指標である。NK細胞活性の測定値とくすみ又はシミの有無との間に特有の傾向が存在することから、免疫系の活動を反映する他の指標の測定値とくすみ又はシミの有無との間にも同様の特有の傾向が存在する可能性があると考えられた。そこで、免疫系の指標として測定した他の測定項目(グラニュライシン濃度、インターロイキン-6濃度、白血球数)の測定値と、くすみ又はシミの有無との関係について詳細な解析を実施した。NK細胞活性、グラニュライシン濃度、インターロイキン-6濃度及び白血球数の測定値及び解析結果を図4に示す。その結果、グラニュライシン濃度の測定値については、第2群の被験者と第1群の被験者との間にも、第4群の被験者と第3群の被験者との間にも、明確な差異は見出されなかった。インターロイキン-6濃度及び白血球数濃度については、第2群の被験者と比較して第1群の被験者の方が、測定値が大きい傾向が見出された。また、第4群の被験者と比較して第3群の被験者の方が、測定値が大きい傾向が見出された。インターロイキン-6濃度及び白血球数濃度の測定値とくすみの有無との間に見出された傾向はNK細胞活性の測定値とくすみの有無との間に見出された傾向と同様の傾向であったが、シミの有無との間に見出された傾向はNK細胞活性の測定値とシミの有無との間に見出された傾向と異なる傾向であった。(図4)以上より、今回の解析からNK細胞活性の測定値とくすみ及びシミの有無との間に見出された傾向は、NK細胞活性に特有の関係であり、また、くすみ及びシミの生成の機構に関する既存の概念から容易に導き出すことはできない知見であるといえる。

30

40

【図面の簡単な説明】

【0060】

【図1】測定値及び解析結果の表示例として、第1群及び第2群の被験者における一部の測定項目についての測定値及び解析結果を示したグラフ。

【図2 - 1】11個の測定項目についての、冬季の測定の測定値と春季の測定の測定値との間の積率相関係数と、分散分析により取得した肌のトラブルの有無の要因に関する帰無仮説に対する危険率(p)とを示した表。

50

【図 2 - 2】22 個の測定項目についての、冬季の測定の測定値と春季の測定の測定値との間の積率相関係数と、分散分析により取得した肌のトラブルの有無の要因に関する帰無仮説に対する危険率 (p) とを示した表。

【図 2 - 3】24 個の測定項目についての、冬季の測定の測定値と春季の測定の測定値との間の積率相関係数と、分散分析により取得した肌のトラブルの有無の要因に関する帰無仮説に対する危険率 (p) とを示した表。

【図 2 - 4】17 個の測定項目についての、冬季の測定の測定値と春季の測定の測定値との間の積率相関係数と、分散分析により取得した肌のトラブルの有無の要因に関する帰無仮説に対する危険率 (p) とを示した表。

【図 2 - 5】27 個の測定項目についての、冬季の測定の測定値と春季の測定の測定値との間の積率相関係数と、分散分析により取得した肌のトラブルの有無の要因に関する帰無仮説に対する危険率 (p) とを示した表。

【図 3】NK 細胞活性の測定値及び解析結果を示したグラフ。

【図 4】NK 細胞活性、グラニュライシン濃度、インターロイキン - 6 濃度及び白血球数の測定値及び解析結果を示したグラフ。

10

【図 2 - 1】

指標	単位	基準 下限 上限	標準相関係数			肌の主訴別、有無水準 (p)		
			r	n	p	くすみ	シミ	しわ・たるみ
① 血液の老化解								
1-1 運動時間(最大)	min	0.8	1	1769	N=29	p<.353		
1-2 運動時間(最大)	min	0.8	1	1329	N=29	p=.492		
1-3 ABIR		0.8	1.3	3491	N=29	p=.063 *		
1-4 ABIL		0.8	1.3	4536	N=29	p=.013 **		
1-5 CAVI		0	9	5841	N=29	p=.001 **		
1-6 CAVI		0	9	6055	N=29	p=.001 **		
1-7 RbPMV	cm/s	800	1600	7590	N=29	p=.000 **	2.8% **	
1-8 LbPMV	cm/s	800	1600	7051	N=29	p=.000 **	3.7% **	
1-9 ASI		0	70	2062	N=29	p=.283		
1-10 収縮期血圧	mmHg	110	140	5066	N=29	p=.000 **	2.2% **	
1-11 拡張期血圧	mmHg	60	80	8344	N=29	p=.000 **	0.8% **	

● p<.70; ** p<.05; * p<.10

【図 2 - 2】

指標	単位	基準 下限 上限	標準相関係数			肌の主訴別、有無水準 (p)		
			r	n	p	くすみ	シミ	しわ・たるみ
② 血液の老化解								
2-1 フェリタリン	ng/dL	150	400	7625	N=29	p=.000 **	3.8% **	
2-2 トーナルPAI-1	ng/mL	0	50	5191	N=29	p=.004 **	42.5% **	
2-3 血小版	×10 ⁴ /L	13	35	9437	N=29	p=.000 **	3.9% **	30.0%
2-4 総コレステロール	mg/dL	170	210	8446	N=29	p=.000 **	91.0% **	5.4% *
2-5 LDLコレステロール	mg/dL	70	140	8708	N=29	p=.000 **	44.0% **	11.0%
2-6 SD-LDLコレステロール	mg/dL	0	50	8709	N=29	p=.000 **	10.7% **	0.0% **
2-7 HDL	mg/dL	23	73	8880	N=29	p=.000 **		
2-8 HDL3	mg/dL	13	24	7556	N=29	p=.000 **		
2-9 中性脂肪	mg/dL	50	150	8740	N=29	p=.000 **	71.0% **	0.0% **
2-10 遊離脂肪酸	mg/dL	0	0.85	3618	N=29	p=.654		
2-11 レムリン分泌リポ蛋白	mg/dL	0	40	9539	N=29	p=.000 **		
2-12 脂質代謝	mg/dL	0	73	8759	N=29	p=.000 **		
2-13 ADMA	nmol/mL	0	1000	8605	N=29	p=.000 **		
2-14 ICAM1	ng/mL	113		4123	N=29	p=.028 **	49.7%	28.3%
2-15 P-セレクチン	ng/mL	25	125	9619	N=29	p=.000 **		
2-16 MCP1	pg/mL	100	350	6913	N=29	p=.000 **	48.0%	19.9%
2-17 MMP9	pg/mL	10	60	7403	N=29	p=.000 **		
2-18 総ホモステイン	nmol/mL	0	9	5267	N=29	p=.021 **		
2-19 アポB/E/AI	ug/mL	8	16	10790	N=29	p=.684	37.2%	
2-20 アポB/E/AI	ug/mL	8	16	9114	N=29	p=.000 **		
2-21 アポB/E/AI	pg/mL	0	18.4	6423	N=29	p=.000 **		4.0% **
2-22 BNP								

● p<.70; ** p<.05; * p<.10

【 図 2 - 3 】

指標	単位	基準	上層	標準化相関係数	r	n	p	群の主効果 有意水準 (p)	シメ	しわ たばこ
(右に相関図を示している指標)										
③ ホルモンバランス										
3-1	成長ホルモン	73	311	7711 ●	N=29	p=566 **	16.7%	37.6%	11.0%	
3-2	甲状腺ホルモン	69	1.7	4658 ●	N=29	p=600 **			3.2%	**
3-3	副腎皮質ホルモン	4	18.3	50 ●	N=29	p=914 **	17.0%			
3-4	エストロゲン	7	500	5339 ●	N=29	p=605 **	39.2%	28.9%		
3-5	DHEA-a	20	266	7925 ●	N=29	p=605 **				
④ 免疫バランス										
4-1	NK細胞活性	18	40	4067 ●	N=29	p=929 **	19.5%	1.1%	**	
4-2	グランドイン	1.2	7.5	7509 ●	N=29	p=600 **	6.3%			
4-3	インターロイキン6	0	4	4051 ●	N=29	p=929 **	12.0%			
4-4	インターロイキン10	0	5	※統計学基準外						
⑤ 一般健康										
5-1	血圧	8000	8500	6868 ●	N=29	p=601 **	2.2%			0.8%
5-2	体重	500	520	5548 ●	N=29	p=600 **	2.8%	3.0%	**	
5-3	ヘモグロビン	15.2	15.2	9477 ●	N=29	p=600 **	36.8%	20.2%	**	
5-4	ヘマトクリット値	52	52	8617 ●	N=29	p=600 **	3.2%			
5-5	コレステロール	3.4	69	9701 ●	N=29	p=600 **	42.0%	39.1%	**	
5-6	GOT	10	40	7446 ●	N=29	p=600 **	27.8%	27.8%	**	
5-7	GPT	35	35	9133 ●	N=29	p=600 **	0.0%			**
5-8	LDH	115	245	8095 ●	N=29	p=600 **				
5-9	r-GTP	4	5	4243 ●	N=29	p=602 **				
5-10	アルブミン	300	450	9398 ●	N=29	p=600 **	3.2%			**
5-11	コリンエステラーゼ	0.47	0.79	8310 ●	N=29	p=600 **	42.0%			**
5-12	クレアチニン	70	110	7783 ●	N=29	p=600 **	39.1%			**
5-13	尿酸値	mg/dl	70	110	8086 ●	N=29	p=600 **	27.8%		**
5-14	ヘマトクリット	%	4.5	5.5	8086 ●	N=29	p=600 **	3.0%	**	
5-15	C反応性	mg/dl	0.94	2.4	8102 ●	N=29	p=600 **			

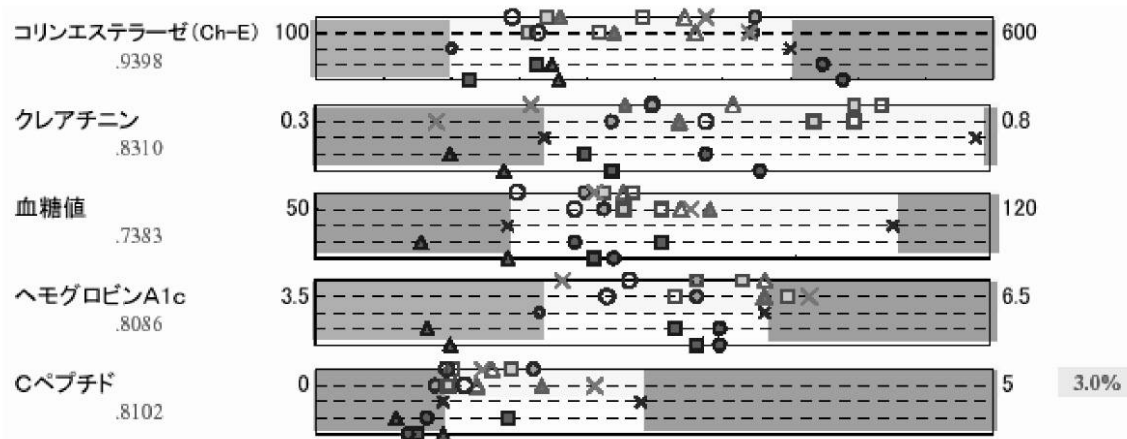
【 図 2 - 5 】

指標	単位	基準		検査相関係数				r	n	p	くすみ	シミ	しわ・たるみ
		下値	上値										
⑧ 糖化ヘモグロビン (右に相関図を示している指標)	7-1 尿中8-OHdG	ng/mL	1	26.5	5.965	N=29	P=100 **				23.3%		
	7-2 尿中8-OHdG生成速度	ng/kg/hr	4.4	22.5	1.460	N=29	P=150						
	7-3 尿中インシュリン	ng/mL	0.77	7.9	3.702	N=29	P=100 **						
	7-4 インスリン生成速度	ng/kg/hr	1.1	5	1.966	N=29	P=107						
	7-5 C ₆₀ O ₁₀ 酸化率	%	0	4.4	26.26	N=29	P=169						
	7-6 血中PO	nM	0	2.12	45.72	N=29	P=103 **						
	7-7 鉄(Fe)	ug/dL	4.9	157.2	6.992	N=29	P=100 **						
	7-8 銅(Cu)	ug/dL	58	119	8.518	N=29	P=100 **						
	7-9 フルクトサミン	nM	214	284	7.013	N=29	P=100 **						
	7-10 コレスステロール	mg/dL	147	214	8.453	N=29	P=100 **						
	7-11 中性脂肪	mg/dL	41	188	8.796	N=29	P=100 **						
	7-12 ビタミンC	nM	1087	1520	68.19	N=29	P=100 **						
	7-13 ビタミンE	mg/dL	3.2	15.2	3.039	N=29	P=109						
	7-14 ビタミンD	ug/mL	2	8	8.198	N=29	P=100 **						
	7-15 尿酸	mg/mL	15	13.7	6.113	N=29	P=100 **						
	7-16 ビタミンB12	pg/mL	197	814	79.28	N=29	P=100 **						
	7-17 ルチン・アザラキサンチン	ug/dL	13	105	72.44	N=29	P=100 **						
7-18 βクリプトキサンチン	ug/dL	0	98.8	93.35	N=29	P=100 **							
7-19 リコピン	ug/dL	0	44.3	71.56	N=29	P=100 **							
7-20 αカロテン	ug/dL	0	29.3	46.79	N=29	P=100 **							
7-21 βカロテン	ug/dL	0	96.4	63.51	N=29	P=100 **							
7-22 ビタミンA	ug/dL	32.7	78.2	7.969	N=29	P=100 **							
7-23 α-トコフェロール	ug/dL	0	12.25	7.354	N=29	P=100 **							
7-24 δ-トコフェロール	ug/dL	0	18.6	34.23	N=29	P=169							
7-25 γ-トコフェロール	ug/dL	0	246.8	4.965	N=29	P=106 **							
7-26 α-トコフェロール/β-トコフェロール		2	8	50.36	N=29	P=105 **							
7-27 コレステロール	nM	375	1155	81.26	N=29	P=100 **							

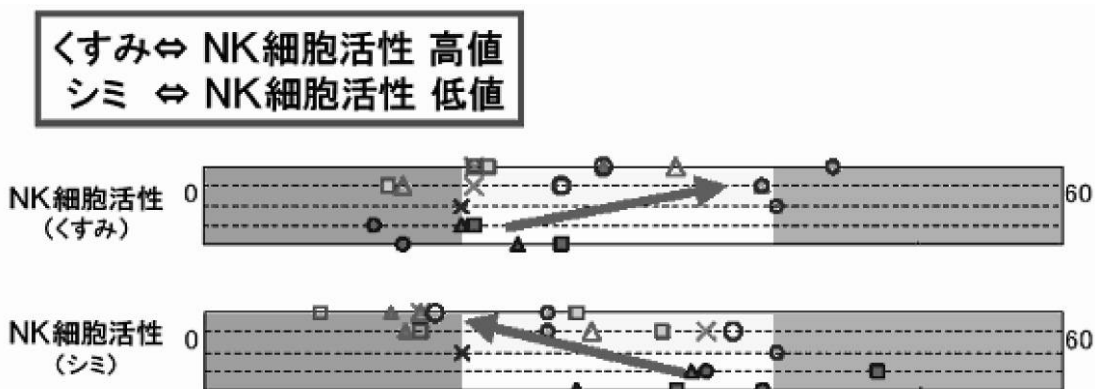
【 図 2 - 4 】

指標		単位	基準		検査相関係数			尿の主成分 若者水素量 (p)	
			下	上	r	n	p	くすみ	シミ
⑥ 尿の構成	6-1	基礎代謝量	kcal		5720	N-29	p-.000 **	8.2% *	4.4% **
	6-2	BMI		18	25	.5956	N-29	p-.000 **	21.2% *
	6-3	体脂肪率	%			.9889	N-29	p-.000 **	4.1% **
	6-4	脂肪内蔵 (脂肪動量)	kg			.5902	N-29	p-.000 **	2.2% **
	6-5	BMD 骨密度 (DXA) (g/cm ²)	g/cm ²	0.8	1.3	.5953	N-29	p-.000 **	
	6-6	BMC 骨量 (DXA) (kg)	kg	2	5	.9881	N-29	p-.000 **	
	6-7	LNG 中骨量 (骨動)	cm			.7118	N-29	p-.000 **	12.6%
	6-8	LNG 中骨量 (骨動)	cm			.7840	N-29	p-.000 **	13.4%
	6-9	脂肪重量	L			.8356	N-29	p-.000 **	
	6-10	脂肪内蔵 (体動)	%			.7204	N-29	p-.000 **	
	6-11	脂肪内蔵 (体動)	%			.1146	N-29	p-.561	
⑦ 追加成分	DTP濃度・アルブミン濃度	CRE	20	50	.6830	N-29	p-.000 **		
	ヒトイン11	g/mL	23.1	39		※水換			
	ヒトイン82	g/mL	4	19	.8163	N=25	p=.000 **	23.6%	
	ヒトイン(ヒトイキヤール) プロロゲン	g/mL	6.12	30.54	.7994	N-29	p-.000 **		32.5%

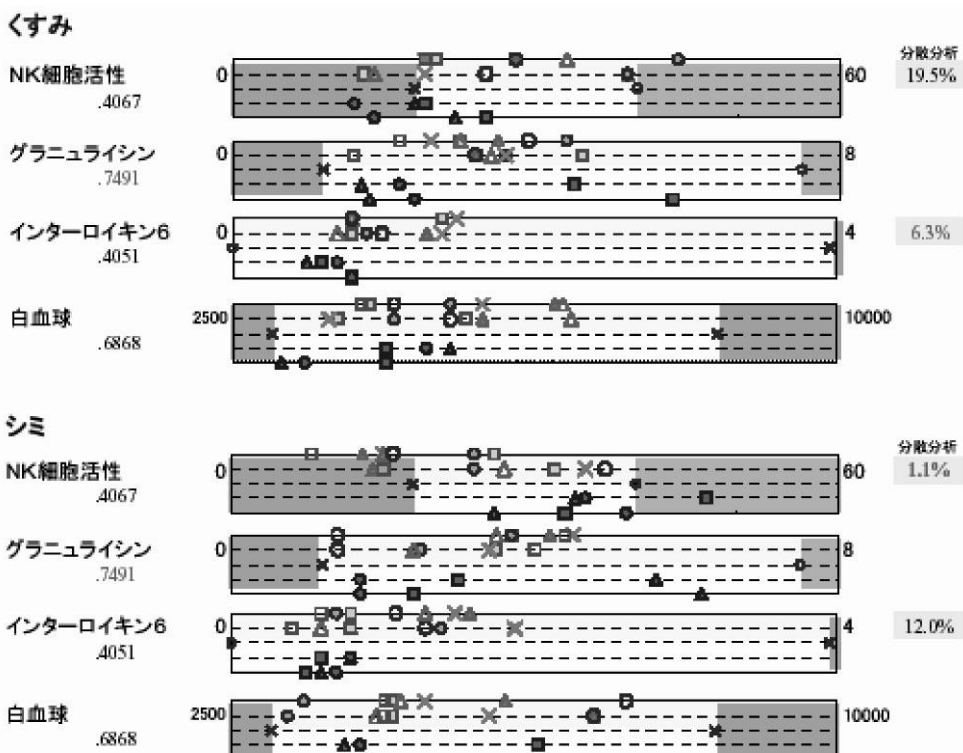
【 図 1 】



【 図 3 】



【 図 4 】



フロントページの続き

(72)発明者 山南春奈

東京都中央区銀座7丁目5番地5号 株式会社資生堂内

Fターム(参考) 2G045 CA20 CA25 CA26 CB09 CB10 JA01