



# サガラメエキスおよびマンダリンオレンジ果皮エキスを配合した化粧品によるフィラグリンタンパク質産生促進効果の検証

植松史帆<sup>1)</sup>／竹田竜嗣<sup>2)</sup>

## ● 要旨

フィラグリンは、皮膚のバリア機能に重要な役割を果たす角層のタンパク質として知られている。我々は、これまでにサガラメエキスおよびマンダリンオレンジ果皮エキスを、フィラグリン産生促進の可能性を遺伝子発現試験により確認した。本研究では、フィラグリンタンパク質の産生促進効果を確認するため、3次元培養皮膚モデルを用いた、ドットプロット法によるフィラグリン産生確認試験を実施した。試験には、サガラメエキスおよびマンダリンオレンジ果皮エキスを、各単品および組み合わせによるフィラグリン産生促進効果を確認した。さらに、ローションとクリーム製品のこれら成分を配合し、両エキス非配合品との比較も実施した。その結果、試験品添加72時間後のフィラグリン量は、サガラメエキス単品添加群においてControlと比較して有意な増加が認められた。また、サガラメエキスとマンダリンオレンジ果皮エキスの組み合わせによる混合物においても、フィラグリン量は有意な増加が認められた。さらに、製品を用いた評価においては、サガラメエキスおよびマンダリンオレンジ果皮エキスを配合した製品が有意にフィラグリン量を増加させた。一方、両エキスを配合しない製品におけるフィラグリン量は、Controlと比較して有意な変化は認められなかった。これらの結果から、両エキスを配合した製品は、保湿効果だけでなく、フィラグリン量を増加させることで、保湿効果やバリア機能の維持に役立つことが示された。フィラグリンタンパク質の産生促進は、アトピー性皮膚炎(AD)発症の抑制やアレルギーマーチの抑制が期待できると考えられる。今後は、ヒトにおける知見をさらに確認する必要があるが、両エキスを配合した製品は、乳幼児などバリア機能の未熟な方に効果的なスキンケア製品として期待されることが示された。

**Key words:** フィラグリン, 皮膚バリア機能, サガラメエキス, マンダリンオレンジ果皮エキス, アレルギーマーチ

## 1. 緒 言

ヒトの皮膚の最も重要な役割は、バリア機能であると言われる<sup>1)</sup>。ヒトは、進化の過程で、乾燥した外界に対する防御システムとして表皮の角化機構を発達させたとされる。「角化」とは皮膚の表面の表

皮、さらにその表面の角質層を形成することであり、角化して細胞死に至った表皮細胞の層である角質層が、皮膚バリア機能において重要な役割を果たしている。この角質層内の天然保湿因子と脂質層の形成によって、体表面からの水分蒸散量はコントロールされ、かつ、外界からのアレルゲン等の異物

1) ビジョンホームプロダクツ株式会社 (〒417-0826 静岡県富士市中里 2608-31 富士市浮島工業団地)

2) 関西福祉科学大学 健康福祉学部福祉栄養学科 (〒582-0026 大阪府柏原市旭ヶ丘 3-11-1)

投稿代表者: 竹田竜嗣 (関西福祉科学大学 健康福祉学部福祉栄養学科 〒582-0026 大阪府柏原市旭ヶ丘 3-11-1)

TEL: 072-978-0088 e-mail: rtakeda@tamateyama.ac.jp

の侵入が防がれている。このバリア機能に重要な役割を果たしている皮膚のタンパク質の1つが、フィラグリンであるとされる。

アトピー性皮膚炎 (AD) は、慢性的なかゆみを伴う皮膚疾患である。発症には、遺伝的要因を背景に環境因子が加わる多因子性疾患として考えられている<sup>2)</sup>。従来、免疫学的異常が背景として考えられてきたが、2006年にPalmerらが表皮組織のバリア機能関連タンパク質であるフィラグリンの遺伝子変異がAD発症の重要な因子であることを報告<sup>3)</sup>して以来、表皮組織のバリア機能について着目されている。先行研究において、乃村らは日本のAD患者におけるフィラグリンの遺伝子異常を解析した結果、30%程度が遺伝子異常を持つことを報告<sup>4)~7)</sup>しており、フィラグリンの異常はAD発症と関連性が深いといえる。また、アトピー性皮膚炎の発症を機に、連鎖的にアレルギー疾患が生じるアレルギーマーチという言葉が近年よく知られるようになった。アレルギーマーチは、乳幼児期に発症したADに続き、食物アレルギー・気管支喘息・アレルギー性鼻炎と子供の成長に従い連鎖的に様々なアレルギー性疾患が出現する。これらの原因は、皮膚バリア機能の障害によって、皮膚へのアレルゲン曝露 (経皮感作) が生じ、その後、食物アレルギーやADの悪化につながると示唆されており、ADが食物アレルゲンへの感作や食物アレルギーの発症に先行するとされるシステマティックレビューが公表<sup>8)</sup>されるなど、ADが成長期におけるアレルギー性疾患へ大きく関わっていることが示唆されてきた。

フィラグリンは、上述したように、皮膚のバリア機能に重要な役割を果たす角層のタンパク質である。角層には、約10層程度の脱核した細胞が重層化しており、フィラグリンはその重要な構成要素である<sup>9)</sup>。バリア機能としての役割の他にも、フィラグリンは角層内における強度、柔軟性の維持、pHの調整など、重要な役割を担っている。また、角層内で、カスパーゼ14によってフィラグリンはその一部が分解され、さらにカルパイン、プレオマイシン分解酵素による分解過程を経て、天然保湿因子 (NMF) として作用している。NMFは、角層において水分保持量を高め、pHを調整するバッファー作用により、細胞の正常分化を促進し、病原性細菌のコロニー形成を阻止する役割を持っている<sup>10)</sup>。

近年、フィラグリンの発現をコントロールすることでADの発症を抑制することができるかが検討されている。大塚らは、培養表皮細胞および3次元培養皮膚モデルを用いて約1200程度の化合物からフィラグリン遺伝子の発現を亢進する化合物をスクリーニングし、その後mRNAレベルだけでなく、タンパク質レベルでもフィラグリンの産生を亢進する化合物を確認<sup>11)</sup>している。また、この化合物がマウスADモデル (NC/Ngaマウス) においてAD症状の改善を示したことから、フィラグリン遺伝子の発現亢進によって、AD症状が改善することが示唆されている。

我々は、化粧品原料として用いられ、フィラグリンの産生促進効果が示唆されるサガラメエキスとフィラグリンの分解促進効果が示唆されるマンダリンオレンジ果皮エキスに着目してきた。サガラメエキスは、海藻のサガラメ (*Eisenia arborea* Areschoug) から抽出されたエキスである。サガラメは、コンブ科アラメ属の褐藻類で御前崎から紀伊半島までの狭い地域で水揚げされるものを指し、鳥羽市内では「あらめ巻き」などの伝統料理として食されている植物で、ヒト正常表皮細胞においてフィラグリンの産生効果が知られている<sup>12)</sup>。マンダリンオレンジ果皮エキスは、マンダリンオレンジ (*Citrus reticulata*) の果実の果皮から作られたエキスである。マンダリンオレンジは、ミカン属の常緑低木で白い花をつけ、秋から冬に食用となる果実をつける。果皮が薄く手でむくことができるのが特徴である。マンダリンオレンジ果皮エキスはヒト表皮角化細胞においてカスパーゼ14産生促進作用が知られている<sup>13)</sup>。この作用により、NMFの産生が示唆され、皮膚のバリア機能改善が見込まれている。

我々は以前、サガラメエキスおよびマンダリンオレンジ果皮エキスについて、3次元培養皮膚モデルへ添加し、培養することでフィラグリン遺伝子の発現が無添加の場合と比較して、有意に上昇したことを報告した<sup>14)</sup>。さらに、クリームや乳液などにこれらを配合し、同様に皮膚モデルへ添加したところフィラグリン遺伝子の発現上昇が認められていた。

そこで、本研究では、フィラグリンのタンパク質レベルでの増加を確認するため、先行研究と同様に、エキス原料そのものだけではなく、各エキスを含む製剤の評価を3次元培養皮膚モデルへ添加する

**Table 1** Relative filaggrin protein content ratio of each product (Control as 100%)

Item	Protein ratio (%)	p-value (vs Control)
Control	100.0 ± 4.8	—
Sagarame extract 0.002%	127.6 ± 5.8	0.003
Mixture of Sagarame extract 0.002% and Mandarine orange peel extract 0.006%	150.0 ± 5.3	< 0.001
Baby Lotion (involved Extract)	160.2 ± 5.0	< 0.001
Baby Lotion (no Extract)	100.4 ± 4.5	0.929
Baby Cream (involved Extract)	146.4 ± 5.1	< 0.001
Baby Cream (No Extract)	100.9 ± 5.1	0.842

ことによって実施し、ドットブロットング法によるフィラグリンの定量実験を行った。

## 2. 方法

### 2-1. 試薬

サガラメエキスおよびマンダリンオレンジ果皮エキスは、一丸ファルコス社製のものを用いた。3次元培養皮膚モデルは、Mattek社(クラボウ)のEPI-200を用いた。NucleoSpin® RNA, PrimeScript® RT Master Mix, SYBR® Premix Ex Taq II (Tli RNaseH Plus) (2X) は、タカラバイオ社のもを用いた。フィラグリンおよびハウスキーピング遺伝子のcDNAは、タカラバイオ社のもを用いた。

製品評価には「ピジョン フィルベビー ベビーミルクローション」(発売元 ピジョン株式会社)と「ピジョン フィルベビー ベビークリーム」(発売元 ピジョン株式会社)を用いた。本剤は、サガラメエキス、マンダリンオレンジ果皮エキスに加えて保湿成分としてグリセリン、パルミチン酸エチルヘキシル、水添ナタネ油アルコール等を配合したO/W型製剤であり、皮膚の保湿効果を持続させるように保湿成分と油分量のバランスを工夫している。さらに、着色料や香料、エタノールを含んでおらず、安全性にも配慮した製剤設計になっている。比較製品としてサガラメエキスおよびマンダリンオレンジ果皮エキスを配合しない同成分のローションとクリームも用いた。

### 2-2. 3次元培養皮膚モデルの培養

ヒト3次元培養皮膚モデル(Mattek, EPI-200)は、添付のEPI-100-NMM培地を用いて、37°C, CO<sub>2</sub> 5%雰囲気下のCO<sub>2</sub> インキュベーターにて18時間前培養した。その後、Table 1に示した濃度で調整した各試験品溶液をヒト3次元培養皮膚モデル

の上部へ原料は50 µL, 製品は0.1 g添加し、72時間培養した。また、Controlとして、試験品の代わりにPBS(-) 50 µLを添加した。各試験区(コントロールおよび各試験品)は、1つの試験区で3個の皮膚モデルを用いた。培養終了後、PBS(-)で皮膚モデル表面を十分洗浄した。ヒト3次元培養皮膚モデルを回収し、フィラグリンタンパク質の抽出を行うまで-80°Cにて保存した。

### 2-3. ヒト3次元培養皮膚モデルからのフィラグリンタンパク質抽出およびドットブロットング法によるフィラグリンタンパク質の定量

ヒト3次元培養皮膚モデルは、0.5% Triton-X100を用いて超音波処理破碎した。得られた細胞溶解液は、ニトロセルロース膜(Bio-rad製)にブロットングを行った。その後、ニトロセルロース膜を室温で一晩乾燥させ、1%ウシアルブミン含有PBS(-)を用いて1時間室温でブロットングを行った。ブロットング後は、0.1% Triton-X100含有PBS(-)を用いて、ブロットング膜を洗浄した。その後、一次抗体として、抗ヒトフィラグリン抗体(コスモバイオ社製)を1:200に希釈し、室温で1時間インキュベートを行った。さらに、二次抗体として、ヒストファインシンブルステインにて室温1時間でインキュベートを行った。その後、0.1% Triton-X100含有PBS(-)で洗浄を実施した。発光基質としては、Lumi-Light Western Blotting 基質(Thermo Fisher製)を用い、ブロットング膜に添加を実施した。その後、発光強度をImageQuant LAS 500にて撮影し、Image Quant TLにて撮影画像を解析し、各タンパク質の抽出液のタンパク質量で除したものをフィラグリン量として、無添加のコントロール区と比較した。

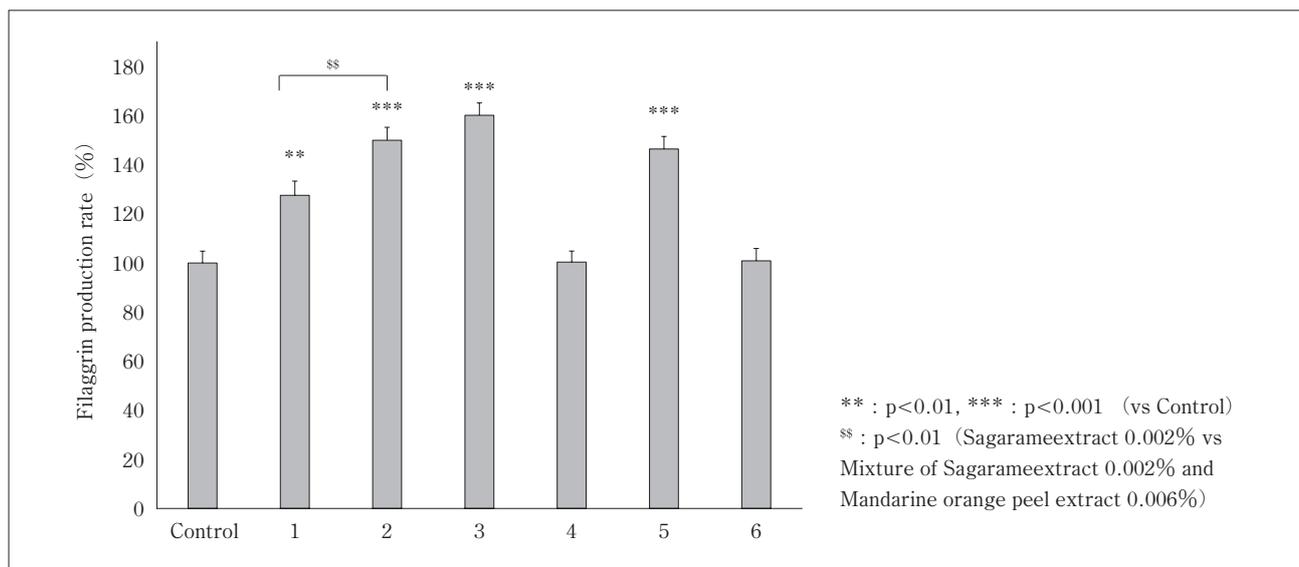


Fig.1 Relative ratio of filaggrin protein (Control as 100%)

#### 2-4. 統計処理

測定結果は、平均値±標準偏差で表し、Controlとの比較をStudentのt検定で実施した。統計計算は、JMP 13.0 (SAS社製)を用いた。

### 3. 結果

Fig. 1にControlを基準としたフィラグリタンタンパク質の相対比率を示した。原料の添加においては、サガラメエキス単独およびサガラメエキスおよびマンダリンオレンジ果皮エキスの混合物に、フィラグリタンタンパク質の発現がControlと比較して有意に増加した。さらに、サガラメエキス単独とサガラメエキスおよびマンダリンオレンジ果皮エキスの混合物を比較したところ、サガラメエキスおよびマンダリンオレンジ果皮エキスの混合物の方が有意にフィラグリタンタンパク質の発現が増加した。また、製品を用いた評価では、サガラメエキスおよびマンダリンオレンジ果皮エキスを配合したローション、クリームいずれの製品においてもControlと比較して有意にフィラグリタンタンパク質が増加した。一方、サガラメエキスおよびマンダリンオレンジ果皮エキスを配合していないローションとクリームではControlと比較して有意な差は認められなかった。

### 4. 考察

我々は、フィラグリンの皮膚のバリア機能に重要な役割やAD発症との関連性に着目し、フィラグリ

ンの皮膚内での増加に寄与する化合物について研究を実施してきた。その結果、先行研究において、サガラメエキスおよびマンダリンオレンジ果皮エキスに、遺伝子レベルでのフィラグリンの発現促進を確認できた。また、本研究では実際にタンパク質レベルでの増加も確認でき、サガラメエキスおよびマンダリンオレンジ果皮エキスがフィラグリンの産生促進に寄与することが示された。ADの発症については、皮膚の乾燥が背景にあることが知られてきており<sup>15)</sup>、これまでに実施されたAD<sup>15)</sup>や老人性乾皮症<sup>16)</sup>などのドライスキンの研究からも、乾燥した肌で角層水分量とともに角層アミノ酸量が低下することが報告<sup>17)</sup>されている。アミノ酸は、NMFを構成する要素であると考えられ、通常は、フィラグリンの分解により供給されるものである可能性が高い。これらのことは、フィラグリンはバリア機能の改善だけでなく、保湿にも重要な役割を担っていると考えられる。また、ADの発症と皮膚の保湿やバリア機能に強い関連があることが示されており、乳幼児における保湿剤の使用によって、ADの発症リスクを低減させることが示されている。また、ADの発症リスクを下げることにより、アレルギーマーチの抑制にも寄与することが示唆されている。さらに近年、「スキンケアでは保湿成分が配合されている保湿剤の方が効果的である」という提案もなされており、油分と保湿成分をバランスよく含んだ保湿剤の効果がさらに注目されることが考えられる<sup>17)</sup>。

今回、先行研究の結果を受け、フィラグリン遺伝子の発現を上昇させたサガラメエキスおよびマンダリンオレンジ果皮エキスのフィラグリンタンパク質の発現への影響について検討した。本結果から、遺伝子の発現と同様に、サガラメエキスにフィラグリンタンパク質の増加も認められた。さらに、サガラメエキスとマンダリンオレンジ果皮エキスを組み合わせることで、サガラメエキス単体と比較し、フィラグリンタンパク質の発現が有意に増加した。マンダリンオレンジ果皮エキスは、均一な角質層形成を促進することが分かっている<sup>13)18)</sup>。また、フィラグリンは、角化とともにプロフィラグリンから切り出される<sup>19)</sup>。そのため、プロフィラグリンの産生だけでなく、角化の促進や、ターンオーバーの正常化によって、フィラグリン量の増加につながる事が考えられる。今回、マンダリンオレンジ果皮エキスの配合によって、角化の促進や、ターンオーバーの正常化の相乗的な効果があったことが、フィラグリンのタンパク質量が増加した一因と考える。また、これらの両エキスを配合した製品についても、先行研究同様に本研究においても確認したところ、フィラグリンのタンパク質量を増加させた。これらの原料の安全性については、皮膚一次刺激性・感作性試験などにより確認されており、乳幼児などバリア機能の未熟な方への使用も問題ないと考えられる。よって、先行研究および本研究の結果から、両エキスを配合した製品は乳幼児などのバリア機能の未熟な方への保湿効果やバリア機能の維持についても期待でき、AD発症の抑制やアレルギーマーチの抑制につながる効果的なスキンケア製品である可能性が示唆された。これは、化粧品の効能効果で認められている肌を外側からうるおいを与える保湿効果だけでなく、フィラグリンのタンパク質産生を促進し、角層内から肌本来の機能を高めることで、保湿効果やバリア機能の維持に役立つことが示された。今後は、本研究の結果をもとに、ヒトでの検証が進むことでサガラメエキスおよびマンダリンオレンジ果皮エキスの機能についてより多くの知見が得られることが期待される。

## 5. 参考文献

1) 秋山真志：教育セミナー：ドライスキンのサイエンス～原点から最前線まで～皮膚バリアの基礎知見 Up-to-

Date. 日本化粧品学会誌 **38** : 22-27, 2014.

- 2) 森実 真：アトピー性皮膚炎と表皮角化細胞産生カリクレイン関連ペプチダーゼ. 岡山医学会雑誌 **131** : 17-21, 2019.
- 3) Palmer CN, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, Zhao Y, Liao H, Lee SP, Goudie DR, Sandilands A, Campbell LE, Smith FJ, O'Regan GM, Watson RM, Cecil JE, Bale SJ, Compton JG, DiGiovanna JJ, Fleckman P, Lewis-Jones S, Arseculeratne G, Sergeant A, Munro CS, El Houate B, McElreavey K, Halkjaer LB, Bisgaard H, Mukhopadhyay S, McLean WH: Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. *Nat Genet* **38**: 441-446, 2006.
- 4) Nomura T, Sandilands A, Akiyama M, Liao H, Evans AT, Sakai K, Ota M, Sugiura H, Yamamoto K, Sato H, Palmer CN, Smith FJ, Mclean WH, Shimizu H: Unique mutations in the filaggrin gene in Japanese patients with ichthyosis vulgaris and atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* **119**: 434-440, 2007.
- 5) Nomura T, Akiyama M, Sandilands A, Nemoto-Hasebe I, Sasaki K, Nagasaki A, Ota M, Hata H, Evans AT, Palmer CN, Shimizu H, McLean WH: Specific filaggrin mutations cause ichthyosis vulgaris and significantly associated with atopic dermatitis in Japan. *J Invest Dermatol* **128**: 1436-1441, 2008.
- 6) Nomura T, Akiyama M, Sandilands A, Nemoto-Hasebe I, Sasaki K, Nagasaki A, Palmer CN, Smith FJ, McLean WH, Shimizu H: Prevalent and rare mutations in the gene encoding filaggrin in Japanese patients with ichthyosis vulgaris and atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* **129**: 1302-1305, 2009.
- 7) 乃村俊史：フィラグリンをターゲットにしたアトピー性皮膚炎の新規治療法の開発. *Cosmetology* **24** : 124-128, 2016.
- 8) Tsakok T, Marrs T, Mohsin M, Baron S, du Toit G, Till S, Flohr C: Does atopic dermatitis cause food allergy? A systematic review. *J Allergy Clin Immunol* **137**: 1071-1078, 2016.
- 9) Horimukai K, Morita K, Narita M, Kondo M, Kabashima S, Inoue E, Sasaki T, Niizeki H, Saito H, Matsumoto K, Ohya Y: Transepidermal water loss measurement during infancy can predict the subsequent development of atopic dermatitis regardless of filaggrin mutations. *Allergol Int* **65**: 103-108, 2016.
- 9) 大塚篤司, 椋島健治：専門医のためのアレルギー学講座1. バリア機能と皮膚免疫. *アレルギー* **64** : 1189-1195, 2015.
- 10) Weidinger S, Illig T, Baurecht H, Irvine AD, Rodriguez E, Diaz-Lacava A, Klopp N, Wagenpfeil S, Zhao Y, Liao H, Lee SP, Palmer CN, Jenneck C, Maintz L, Hagemann

- T, Behrendt H, Ring J, Nothen MM, McLean WH, Novak N: Loss-of-function variations within the filaggrin gene predispose for atopic dermatitis with allergic sensitizations. *J Allergy Clin Immunol* **118**: 214-219, 2006.
- 11) Otsuka A, Doi H, Egawa G, Maekawa A, Fujita T, Nakamizo S, Nakashima C, Nakajima S, Watanabe T, Miyachi Y, Narumiya S, Kabashima K: Possible new therapeutic strategy to regulate atopic dermatitis through upregulating filaggrin expression. *J Allergy Clin Immunol* **133**: 139-146, 2014.
  - 12) 一丸ファルコス: 新原料紹介. *FRAGRANCE JOURNAL* **37**: 111-112, 2009.
  - 13) 榎谷昇明, カザール ボロン ビスワス, 小島弘之, 伊藤賢一: マンダリンオレンジエキスの表皮構造強化機能及び, 角質透明感改善作用. 第40回日本化粧品学会講演要旨集 p90, 2015.
  - 14) 神保希望, 植松史帆, 木内めぐみ, 黒河正司, 岡沢唯香, 武藤友瑛, 竹田竜嗣: サガラメエキスおよびマンダリンオレンジ果皮エキスを配合した化粧品によるフィラグリン遺伝子の発現促進効果の検証. *診療と新薬* **57**: 239-246, 2020.
  - 15) Tanaka M, Okada M, Zhen YX, Inamura N, Kitano T, Shirai S, Sakamoto K, Inamura T, Tagami H: Decreased hydration state of the stratum corneum and reduced amino acid content of the skin surface in patients with seasonal allergic rhinitis. *Br J Dermatol* **139**: 618-621, 1998.
  - 16) Horii I, Nakayama Y, Obata M, Tagami H: Stratum corneum hydration and amino acid content in xerotic skin, *Br J Dermatol* **121**: 587-92, 1989.
  - 17) Boralevi F, Saint Aroman M, Delarue A, Raudsepp H, Kaszuba A, Bylaite M, Tiplica GS: Long-term emollient therapy improves xerosis in children with atopic dermatitis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* **28**: 1456-1462, 2014.
  - 18) 杉浦義正, 白井将勝, 宮田昌明: マウス耳介浮腫に対する褐藻サガラメ由来の脂溶性成分による抑制効果. *水産大学校研究報告* **65**: 245-250, 2017.
  - 19) 藤田宏志, 片桐千華, 太田直美, 和田元次, 大田正弘, 平尾哲二: 乾燥によるフィラグリンとアミノ酸の減少を防ぐ Palo Azul. *日本化粧品技術者会誌* **37**: 84-91, 2003.
-

## Verification of the Effect of Cosmetics Containing Sagarame Extract and Mandarin Orange Peel Extract on Filaggrin Protein Production

Shiho UEMATSU<sup>1)</sup> / Ryuji TAKEDA<sup>2)</sup>

1) Pigeon Home Products Corporation: Fuji City Ukishima Industrial District 2608-31 Nakazato Fuji-City, Shizuoka 417-0826, Japan

2) Kansai University of Welfare Sciences Department of Nutritional Sciences for Well-being, Faculty of Health Sciences for Welfare: Asahigaoka 3-11-1, Kashiwara-City, Osaka 582-0026, Japan

### Abstract

Filaggrin is known as a protein in the stratum corneum that plays an important role in the skin barrier function. We have confirmed that sagarame extract and mandarin orange peel extract promote filaggrin gene expression. In this study identified the effect of each test article, i.e., Sagarame and mandarin orange peel extracts, either alone or in combination, on filaggrin protein expression using a three-dimensional cultured skin model by dot blotting method. In addition, these extracts were also added to the lotion and cream products and compared to the products without both extracts. As a result, addition of the sagarame extract increased the amount of filaggrin protein compared with the control after 72h. A significant increase in the amount of filaggrin was also observed in the mixture of the combination of sagarame extract and mandarin orange peel extract. Furthermore, significant effects were also observed in the lotion and cream products containing the combination both extracts. On the other hand, there was no significant difference in the products without neither extracts compared to the control. These results indicate that products containing both extracts not only have the moisturizing effect, but also support maintain the moisturizing effect and barrier function by increasing filaggrin protein. It is suggested that the promotion of filaggrin protein expression can be expected to inhibit the onset of atopic dermatitis (AD) and allergic march. Although we need further studies on human, the products containing both extracts are expected to be effective skin care products for not only infants but also other people with immature barrier functions.

**Key words:** Filaggrin, skin barrier function, sagarame (*Eisenia arborea*) extract, mandarin orange peel extract, allergy march