

ÉTUDE DE CAS · BIOLOGIE CUTANÉE · BIEN-VIEILLIR

Des molécules aux allégations : caractériser le mécanisme d'un actif positionné sur la longévité cutanée

Comment Skin Biology Xplorer associe cellules 2D, peau reconstruite 3D et explants de peau humaine à des lectures génomiques, transcriptomiques, protéomiques, métabolomiques et métagénomiques pour caractériser ce que fait un ingrédient anti-âge, par quelles voies biologiques, et quelles allégations les preuves peuvent étayer, une étude de cas illustrative.

Étude de cas illustrative. Ce scénario montre comment Skin Biology Xplorer peut s'appliquer à une question anti-âge. Il ne décrit ni un projet client réel ni un ingrédient existant : modèles, résultats et délais sont illustratifs et dépendent de l'actif, de l'allégation visée et de la disponibilité des tissus. Les données issues de modèles cellulaires, 3D et d'explants peuvent étayer des allégations mécanistiques ; les allégations d'efficacité perceptible par le consommateur nécessitent des études sur volontaires.

Dans cette étude de cas, la « longévité cutanée » désigne le maintien à long terme des fonctions biologiques associées à la résilience de la peau : homéostasie redox, intégrité de la matrice extracellulaire, contrôle de la sénescence cellulaire, homéostasie épidermique et métabolisme énergétique.

1 Modèle

Cellules 2D, peau 3D ou explants, choisis selon la question

2 Mesurer

Lectures génomiques, transcriptomiques, protéomiques, métabolomiques et métagénomiques

3 Cartographier

Une voie est renforcée quand des couches indépendantes convergent

4 Interpréter

Mécanisme d'action et preuves pour les allégations

En bref

QUESTION

Un extrait botanique fermenté agit-il sur la biologie du vieillissement cutané : et par quel mécanisme ?

PROFIL DU CLIENT

Fournisseur d'ingrédients cosmétiques préparant les allégations d'un actif anti-âge

MODÈLES

Fibroblastes dermiques sénescents et kératinocytes (2D) · peau 3D complète exposée aux UV · explants de peau humaine exposés aux UV, 6 donneurs de 52 à 68 ans

COMPARATEURS

Véhicule, contrôle non irradié, référence rétinol

COUCHES OMNIQUES

Transcriptomique, protéomique, métabolomique/lipidomique (cœur) ; épigénomique (exploratoire) ; métagénomique (module optionnel)

VOLUME

Environ 200 profils moléculaires

MÉCANISME

Réponse antioxydante NRF2 + réduction du sécrétome de sénescence + préservation de la matrice dermique, avec un profil moléculaire non rétinoïde

ALLÉGATIONS

4 confirmées · 2 confirmées avec formulation restreinte · 1 non confirmée

Le défi

Un fournisseur d'ingrédients cosmétiques avait mis au point un extrait botanique fermenté positionné sur la « longévité cutanée ». Les premières données, un dosage ELISA du procollagène et un test antioxydant chimique, étaient encourageantes, mais ne répondaient pas aux questions posées par les équipes réglementaires et R&D de ses clients :

- **Agit-il sur la biologie du vieillissement cutané** dans des modèles pertinents pour l'humain, et pas seulement en tube à essai ?
- **Par quelles voies ?** Un mécanisme d'action crédible peut différencier un ingrédient actif sur un marché très concurrentiel.
- **Que peut-on réellement revendiquer ?** Dans l'UE, les allégations cosmétiques doivent reposer sur des preuves suffisantes et vérifiables¹, et la preuve de l'effet revendiqué fait partie du dossier d'information sur le produit (DIP)².

La demande : caractériser ce que fait l'extrait dans la peau, comprendre comment il agit, et déterminer quelles allégations les preuves peuvent étayer, et lesquelles elles ne peuvent pas étayer.

01 Choisir le modèle selon la question

Aucun modèle ne répond à toutes les questions. Nous avons construit une échelle de modèles dont chaque niveau traite une question différente, avec les mêmes comparateurs : véhicule, extrait et rétinol³, un comparateur anti-âge bien documenté. La biologie du vieillissement a été modélisée de deux façons : la sénescence cellulaire, l'une des caractéristiques du vieillissement⁴, et le photovieillissement induit par les UV, contributeur majeur du vieillissement cutané visible⁵.

1 Cellules 2D

L'extrait est-il sûr et actif au niveau cellulaire ? À quelles concentrations ? Quelles voies répondent en premier ?

5 concentrations non cytotoxiques + véhicule, n = 4 ; culture prolongée de 4 semaines pour les lectures épigénétiques



2 Peau reconstruite 3D

L'actif formulé agit-il après application topique à travers un épiderme vivant ?

Contrôle non irradié, UV + véhicule, UV + extrait 3 %, UV + rétinol 0,1 % ; n = 4 tissus par bras ; version colonisée optionnelle pour les études du microbiome



3 Explants de peau humaine

L'effet persiste-t-il dans une peau humaine réelle et âgée, malgré la variabilité entre donneurs ?

Culture de 7 jours, application topique quotidienne ; mêmes quatre bras ; épiderme et derme analysés séparément

Figure 1. Une échelle de modèles. Chaque niveau répond à une question différente, avec les mêmes comparateurs (véhicule, extrait, rétinol) : cellules 2D pour l'activité et la dose ; peau 3D reconstruite pour l'application topique à travers un épiderme vivant ; explants de peau humaine de 6 donneurs de 52 à 68 ans pour une peau réelle et âgée. Plan illustratif.

Conçu pour l'interprétation. Critères et modules de voies ont été définis avant la génération des données, et les explants ont été analysés en comparaisons appariées par donneur, chaque donneur servant de propre contrôle.

02 Mesurer la réponse : sélectionner les couches omiques pertinentes

Skin Biology Xplorer s'appuie sur cinq couches omiques. Toutes les questions ne les exigent pas toutes : le tableau indique ce que chaque couche peut apporter à une allégation anti-âge et comment elle a été utilisée dans cette étude.

TABLEAU 2. COUCHES OMIQUES POUR UNE QUESTION ANTI-ÂGE

Couche	Ce qu'elle peut montrer	Utilisation dans cette étude
Génomique et épigénomique	Horloges de méthylation de l'ADN (âge épigénétique) ⁶ ; génotypage des donneurs ; génomes de souches pour les études du microbiome	Exploratoire : puces de méthylation sur cultures longues de fibroblastes
Transcriptomique	RNA-seq bulk et 3' mRNA-seq pour les relations dose-réponse : programmes de matrice, de sénescence/SASP ⁷ , de stress oxydant, de différenciation épidermique, d'homéostasie de la barrière et de jonction dermo-épidermique	Cœur : les trois modèles ; épiderme et derme analysés séparément pour les explants
Protéomique	timsTOF dia-PASEF ⁸ : matrisome dermique ⁹ , sécrétome et protéines sécrétées associées à la sénescence	Cœur : derme des explants et sécrétome des fibroblastes
Métabolomique et lipidomique	Métabolisme du NAD ⁺ et métabolisme énergétique ¹⁰ , statut redox du glutathion, lipides oxydés, céramides épidermiques et profils lipidiques liés à la barrière	Cœur : fibroblastes et peau 3D
Métagénomique	Séquençage shotgun (ou 16S/ITS) d'une communauté microbienne cutanée : composition et gènes fonctionnels ¹¹	Module optionnel : peau 3D colonisée par des commensaux cutanés

La pré-analytique détermine la qualité des données. Les explants sont des tissus précieux et denses : chaque échantillon a été immédiatement séparé en épiderme et derme, puis stabilisé en quelques minutes. La qualité de l'ARN a été évaluée par le DV200 plutôt que par le seul RIN, avec une chimie à déplétion de l'ARNr pour l'ARN dermique partiellement dégradé. Les protéines dermiques ont été extraites avec un protocole adapté à la matrice extracellulaire, afin de ne pas perdre les collagènes insolubles.

Au total, environ 200 profils moléculaires : 112 transcriptomes, 32 protéomes, 28 métabolomes/lipidomes, 12 méthylomes et 12 métagénomies.

Ce qui a été mesuré

≈200 profils moléculaires sur trois niveaux de modèles

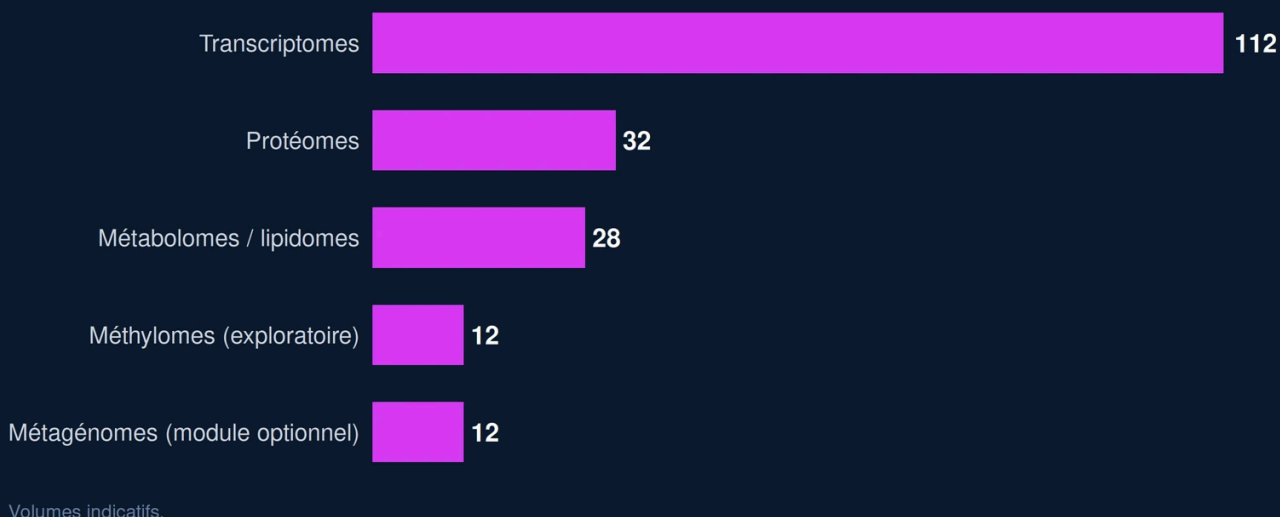


Figure 2. Ce qui a été mesuré. Nombre de profils moléculaires par couche omique, environ 200 au total sur les trois niveaux de modèles. La transcriptomique est la couche centrale dans chaque modèle ; la méthylation était exploratoire et la métagénomique un module optionnel. Volumes indicatifs.

03 Cartographier les voies

Chaque couche de données a d'abord été analysée indépendamment, puis intégrée. Une voie biologique était considérée comme renforcée lorsque des couches ou modèles indépendants convergeaient vers le même sens d'effet.

- **Statistiques appariées par donneur.** Les comparaisons sur explants ont été appariées par donneur (DESeq2¹² pour l'ARN ; modèles linéaires pour les protéines et les métabolites), avec contrôle du taux de fausses découvertes.
- **Modules de vieillissement prédéfinis.** Synthèse et dégradation de la matrice, sénescence/SASP, stress oxydant, homéostasie de la barrière épidermique et métabolisme énergétique ont été testés comme modules de gènes (GSEA¹³) définis avant l'examen des résultats.
- **Régulateurs en amont.** L'activité des facteurs de transcription, inférée à partir de régulons curés¹⁴, a identifié des régulateurs candidats de la réponse ; une analyse factorielle multi-omique¹⁵ a identifié des axes de variation partagés entre couches de données.
- **Règle de convergence des preuves.** Une voie était considérée comme confirmée lorsqu'au moins deux couches de données ou modèles indépendants concordaient sur le sens de l'effet.

	Épigénomique	Transcriptomique	Protéomique	Métabolomique	Métagénomique	Test phénotypique	Conclusion
Synthèse de la matrice dermique	–	↑	↑	–	–	↑	Confirmée
Dégradation de la matrice (MMP-1)	–	↓	↓	–	–	–	Confirmée
Réponse au stress oxydant (NRF2)	–	↑	–	↑	–	↓	Confirmée
Sénescence et SASP	–	↓	↓	–	–	↓	Confirmée
Métabolisme énergétique (NAD ⁺)	–	=	–	↑	–	–	In vitro uniquement
Âge épigénétique	=	–	–	–	–	–	Non confirmé
Équilibre de la communauté microbienne	–	–	–	–	=	–	Préservé (modèle)
Signalisation rétinol	–	=	–	–	–	–	Non activé

Figure 3. Carte des preuves. Les lignes sont des voies liées au vieillissement, les colonnes des couches de données. Une flèche bleue indique une variation significative et son sens, = pas de variation significative, – non mesuré. Une voie n'est confirmée que si au moins deux couches ou modèles indépendants concordent : quatre voies remplissent cette règle, le métabolisme énergétique repose sur une seule couche in vitro, et l'âge épigénétique n'a pas changé. Résultats illustratifs.

Principaux résultats (extrait vs véhicule, explants exposés aux UV et modèles 2D/3D ; illustratifs) :

- **Matrice dermique.** COL1A1 (×1,6) et COL3A1 (×1,4) augmentent, tandis que MMP1 diminue (×0,55). Parmi environ 3 800 protéines dermiques, dont 248 du matrisome, le collagène I α1 (+22 %) et la décorine (+15 %) augmentent et la MMP-1 diminue (–31 %) ; le marquage du collagène concorde.
- **Stress oxydant.** Les gènes cibles de NRF2 (HMOX1, NQO1, GCLM) sont induits¹⁶ ; le ratio GSH/GSSG augmente (×1,4), tandis que les phospholipides oxydés et les ROS intracellulaires diminuent après exposition aux UV.
- **Sénescence.** Les fibroblastes positifs à la SA-β-gal diminuent de 28 %¹⁷ ; les transcrits du SASP (IL6, CXCL8, MMP3) et les protéines sécrétées correspondantes sont réduits.
- **Métabolisme énergétique.** Le ratio NAD⁺/NADH augmente (×1,3) dans les fibroblastes, une couche de données, un modèle.

- **Âge épigénétique.** Après 4 semaines, l'âge de méthylation est inférieur de 0,8 an à celui du véhicule, mais l'IC à 95 % (–2,1 à +0,5) inclut l'absence d'effet.
- **Compatibilité avec le microbiome.** Dans la peau 3D colonisée, aucune variation statistiquement significative de la composition ni des profils fonctionnels de la communauté n'a été détectée (PERMANOVA $p = 0,41$).
- **Comparateur rétinol.** Le rétinol a produit une réponse matricielle comparable (score d'enrichissement normalisé 2,4 vs 2,1 pour l'extrait), accompagnée d'une signature de réponse rétinolique (p. ex. CRABP2) et de gènes épidermiques associés à l'irritation ; ces signatures n'ont pas été détectées avec l'extrait.

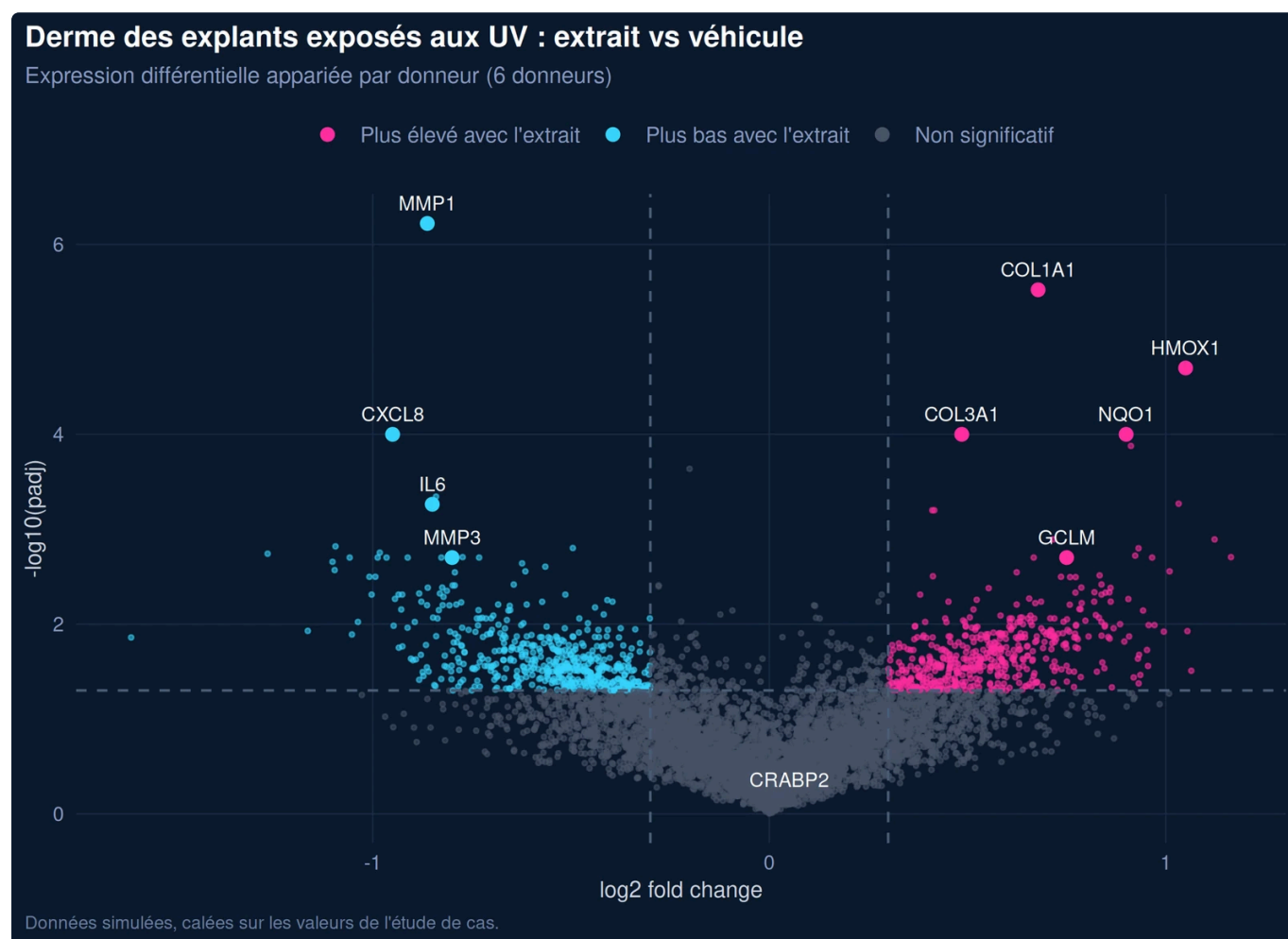
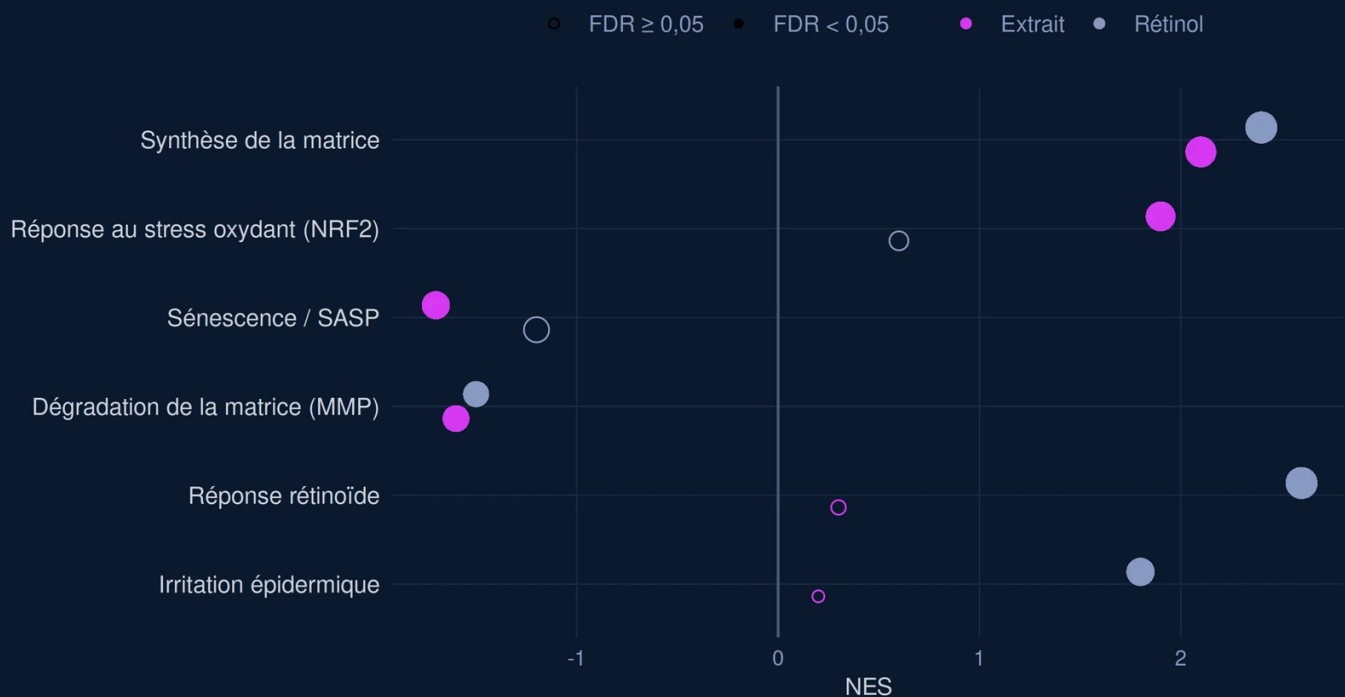


Figure 4. Expression différentielle dans le derme d'explants exposés aux UV. Chaque point est un gène, extrait contre véhicule, comparé au sein de chacun des 6 donneurs. À droite, les gènes plus exprimés avec l'extrait : gènes de la matrice COL1A1 et COL3A1, et cibles de NRF2 HMOX1, NQO1 et GCLM. À gauche, les gènes moins exprimés : MMP1 et les gènes associés à la sénescence IL6, CXCL8 et MMP3. CRABP2, marqueur de la réponse rétinolique, ne change pas. Lignes en pointillés : seuils de significativité et de variation. Données simulées, calées sur l'étude de cas.

Modules de vieillissement prédéfinis : extrait vs rétinol

GSEA, score d'enrichissement normalisé vs véhicule



Données simulées, calées sur les valeurs de l'étude de cas.

Figure 5. Modules de vieillissement prédéfinis, extrait contre rétinol. Chaque point est le score d'enrichissement normalisé (NES) d'un module de gènes défini avant l'analyse : positif, le module augmente par rapport au véhicule ; négatif, il diminue. Les points pleins sont significatifs (FDR < 0,05). Les deux bras stimulent la synthèse de la matrice (NES 2,1 pour l'extrait, 2,4 pour le rétinol), mais seul le rétinol active les modules de réponse rétinolide et d'irritation. Données simulées ; seules les valeurs de la matrice figurent dans l'étude de cas.

Effets sélectionnés de l'extrait

Extrait vs véhicule, modèles exposés aux UV (illustratif)

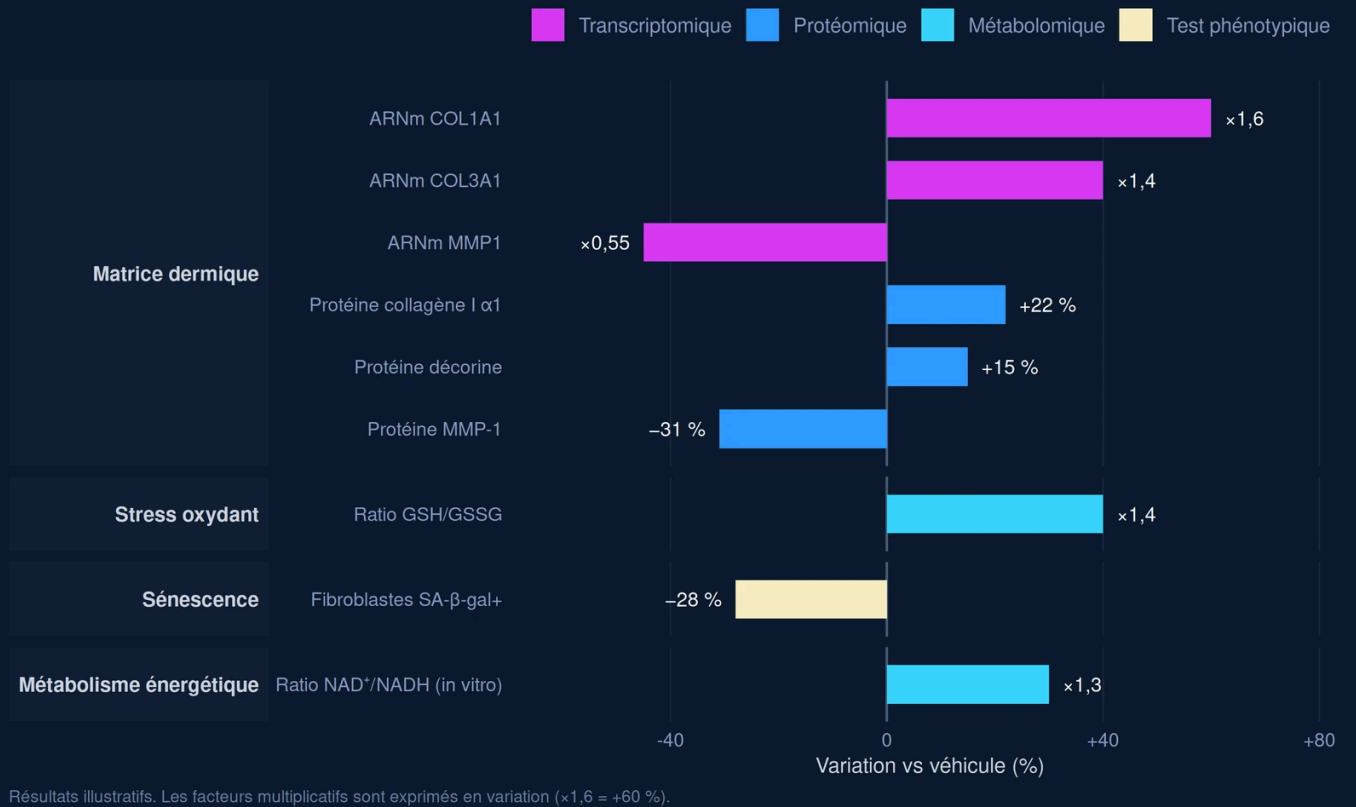
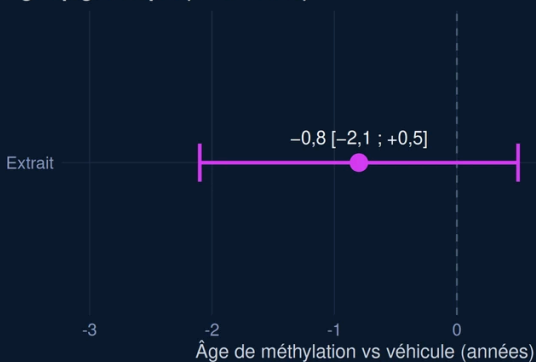


Figure 6. Effets sélectionnés de l'extrait. Variation par rapport au véhicule pour les mesures clés, colorée par couche de données et regroupée par voie : collagène et décorine en hausse et MMP-1 en baisse aux niveaux gène et protéine, ratio GSH/GSSG plus élevé (capacité antioxydante), moins de fibroblastes sénescents, et ratio NAD⁺/NADH plus élevé in vitro. Les facteurs multiplicatifs sont exprimés en variation (x1,6 = +60 %). Résultats illustratifs.

Ce que l'extrait ne fait pas

Âge épigénétique (4 semaines)



Résultats illustratifs. Barre = IC 95 %.

Réponse matricielle vs rétinol

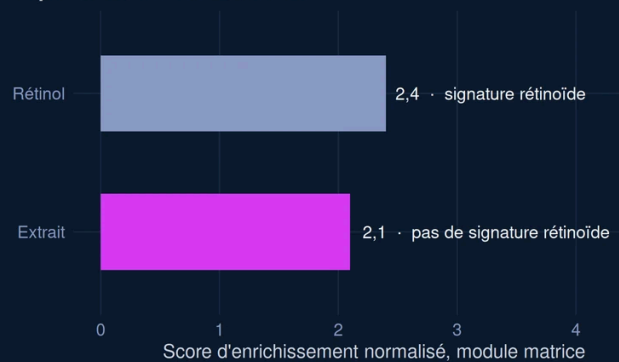


Figure 7. Ce que l'extrait ne fait pas. À gauche : après 4 semaines, l'âge de méthylation est inférieur de 0,8 an à celui du véhicule, mais l'IC à 95 % (-2,1 à +0,5) inclut zéro : aucun effet sur l'âge épigénétique n'est revendiqué. À droite : la réponse matricielle de l'extrait est proche de celle du rétinol (NES 2,1 contre 2,4), sans la signature rétinol que porte le rétinol. Résultats illustratifs.

04 Interpréter : mécanisme d'action et preuves pour les allégations

Mécanisme d'action. Dans leur ensemble, les données étayent un mécanisme en trois volets : (1) activation de la réponse antioxydante NRF2, qui limite les dommages oxydatifs induits par les UV ; (2)

atténuation du phénotype sécrétoire associé à la sénescence, qui réduit la dégradation de la matrice par les MMP ; (3) soutien de la synthèse du collagène et de la décorine dans le derme. Aucune signature de réponse rétinéoïde n'a été détectée : l'extrait reproduit une partie de la réponse matricielle observée avec le rétinol via un profil moléculaire distinct.

TABEAU 3. DES PREUVES AUX ALLÉGATIONS

Allégation candidate (formulation « modèle »)	Preuves	Conclusion
« Aide à préserver la matrice dermique de la peau humaine exposée aux UV (ex vivo) »	Collagène I et décorine ↑ aux niveaux génique et protéique ; MMP-1 ↓ ; marquage du collagène ↑	Confirmée : 3 couches, 2 modèles
« Aide à protéger les cellules cutanées contre le stress oxydant (in vitro, ex vivo) »	Cibles de NRF2 ↑ ; GSH/GSSG ↑ ; lipides oxydés et ROS ↓	Confirmée : 2 couches + phénotype
« Réduit les marqueurs de sénescence cellulaire (in vitro) »	SA-β-gal ↓ ; transcrits et protéines sécrétées du SASP ↓	Confirmée
« Agit via un profil moléculaire non rétinéoïde »	Aucune signature de réponse rétinéoïde détectée, contrairement au comparateur rétinol	Confirmée : positionnement mécanistique
« Soutient le métabolisme énergétique cellulaire (in vitro) »	NAD ⁺ /NADH ↑ dans les fibroblastes seulement	Restreinte : une couche, un modèle ; formulation strictement limitée à l'in vitro
« N'altère pas significativement la composition ni le profil fonctionnel d'une communauté microbienne cutanée dans ce modèle »	Aucune variation statistiquement significative de composition ou de fonction dans la peau 3D colonisée	Restreinte : propre au modèle ; étude sur volontaires requise pour une allégation in vivo
« Inverse l'âge épigénétique / biologique »	-0,8 an ; IC à 95 % -2,1 à +0,5	Non confirmée : non revendiquée

Au titre du règlement (UE) n° 655/2013 de la Commission, les allégations cosmétiques doivent satisfaire six critères communs, dont l'existence de preuves et la sincérité. Les modèles de laboratoire peuvent étayer des allégations mécanistiques formulées comme des résultats in vitro ou ex vivo ; les allégations d'efficacité perceptible par le consommateur, comme la réduction visible des rides, exigent des études sur volontaires. La formulation finale des allégations reste de la responsabilité de l'équipe réglementaire du client.

Ce que le client a reçu

- Une **matrice allégations–preuves** reliant chaque allégation candidate à ses données, à son modèle et à son niveau de soutien.
- Une **synthèse du mécanisme d'action** et des figures prêtes à publier pour le dossier technique, les présentations clients et le dossier d'information sur le produit (DIP).
- Des **jeux de données intégrés et contrôlés** (FASTQ, fichiers MS bruts, matrices traitées) et un rapport statistique complet.
- Une **liste documentée des allégations non étayées par les données**, dont l'inversion de l'âge épigénétique et les énoncés sur le NAD⁺ allant au-delà du modèle in vitro, pour protéger la marque contre des allégations insuffisamment étayées.

- Une **recommandation pour l'étape suivante** : une étude sur volontaires avec tape-strips et écouvillons, pour relier les résultats moléculaires à la peau in vivo.

CALENDRIER INDICATIF (ENVIRON 16 SEMAINES)

Semaines 0–2	Conception de l'étude, choix des modèles, cytotoxicité et recherche de dose
Semaines 2–7	Traitements 2D et 3D ; collecte et culture des explants (selon disponibilité des tissus)
Semaines 5–12	Génération des données omiques : RNA-seq, protéomique, métabolomique, méthylation, métagénomique
Semaines 10–14	Analyse par couche, intégration et inférence du mécanisme
Semaines 14–16	Matrice allégations–preuves, rapport final et figures

Pourquoi cette approche fonctionne

- **Partir de l'allégation, puis choisir le modèle.** Chaque niveau de modèle répond à une question différente ; ensemble, ils constituent le dossier de preuves.
- **Mesurer plus d'une couche.** ARN, protéines et métabolites racontent chacun une partie de l'histoire ; la convergence entre couches rend un mécanisme plus crédible.
- **Définir les voies avant de regarder les données.** Des modules de vieillissement prédéfinis réduisent le risque de construire un récit après avoir vu les résultats.
- **Se comparer à une référence.** Un bras rétinol montre comment un actif se situe par rapport à une référence bien documentée, et en quoi son profil biologique diffère.
- **Dire ce que les données n'étaient pas.** Écarter une allégation faible ne coûte rien au laboratoire ; une allégation indéfendable peut coûter cher à une marque.

Au-delà de cet exemple

La même démarche peut s'appliquer à d'autres questions cosmétiques et dermatologiques :

- **Autres allégations** : réparation de la barrière et hydratation (lipidomique des céramides, différenciation épidermique et marqueurs de barrière comme FLG, LOR et CLDN1), apaisement et peaux sensibles (médiateurs neurosensoriels et inflammatoires), uniformité du teint (mélanogenèse), protection contre la pollution et la lumière bleue, et équilibre du microbiome.
- **Autres modèles** : peau 3D pigmentée ou immunocompétente, follicules pileux, sébocytes, co-cultures et modèles colonisés par le microbiome.
- **Passerelle vers l'in vivo** : tape-strips (transcriptomique, protéomique, lipidomique) et écouvillons (métagénomique) prélevés sur des panels de volontaires, pour relier les mécanismes de laboratoire à la peau réelle.
- **Types d'ingrédients** : extraits botaniques et fermentés, peptides, postbiotiques et autres actifs issus des biotechnologies.

Références

1. Commission Regulation (EU) No 655/2013 of 10 July 2013 laying down common criteria for the justification of claims used in relation to cosmetic products. OJ L 190, 11.7.2013.
2. Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council of 30 November 2009 on cosmetic products. OJ L 342, 22.12.2009.
3. Kafi R, et al. Improvement of naturally aged skin with vitamin A (retinol). *Arch Dermatol.* 2007;143:606–612.
4. López-Otín C, et al. Hallmarks of aging: an expanding universe. *Cell.* 2023;186:243–278.
5. Fisher GJ, et al. Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. *Arch Dermatol.* 2002;138:1462–1470.
6. Horvath S, et al. Epigenetic clock for skin and blood cells applied to Hutchinson Gilford Progeria Syndrome and ex vivo studies. *Aging (Albany NY).* 2018;10:1758–1775.
7. Coppé JP, et al. The senescence-associated secretory phenotype: the dark side of tumor suppression. *Annu Rev Pathol.* 2010;5:99–118.
8. Meier F, et al. diaPASEF: parallel accumulation–serial fragmentation combined with data-independent acquisition. *Nat Methods.* 2020;17:1229–1236.
9. Naba A, et al. The matrisome: in silico definition and in vivo characterization by proteomics of normal and tumor extracellular matrices. *Mol Cell Proteomics.* 2012;11:M111.014647.
10. Covarrubias AJ, et al. NAD⁺ metabolism and its roles in cellular processes during ageing. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2021;22:119–141.
11. Byrd AL, Belkaid Y, Segre JA. The human skin microbiome. *Nat Rev Microbiol.* 2018;16:143–155.
12. Love MI, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol.* 2014;15:550.
13. Subramanian A, et al. Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102:15545–15550.
14. Garcia-Alonso L, et al. Benchmark and integration of resources for the estimation of human transcription factor activities. *Genome Res.* 2019;29:1363–1375.
15. Argelaguet R, et al. Multi-Omics Factor Analysis, a framework for unsupervised integration of multi-omics data sets. *Mol Syst Biol.* 2018;14:e8124.
16. Kensler TW, Wakabayashi N, Biswal S. Cell survival responses to environmental stresses via the Keap1–Nrf2–ARE pathway. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2007;47:89–116.
17. Dimri GP, et al. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995;92:9363–9367.

Besoin de preuves moléculaires pour une allégation ?

Présentez-nous votre ingrédient actif, l'allégation visée et les modèles disponibles. Nous vous proposerons un plan de preuves, échelle de modèles, couches omiques et comparateurs, avant de traiter le moindre échantillon. genxmap.com/contact