

角層細胞間脂質の動的構造変化に基づく 医薬品・化粧品の開発研究

Development of pharmaceutical and cosmetic formulations based upon dynamical structural change of lipid lamellar in stratum corneum

小幡誉子^a, 押村英子^b, 池田直哲^b, 築瀬香織^c, 國澤直美^d, 佐野則道^e,
酒井恵^e, 八田一郎^f, 太田昇^f, 八木直人^f, 渡邊大至^a, 高山幸三^a
Yasuko Obata^a, Eiko Oshimura^b, Naoaki Ikeda^b, Kaori Yanase^c, Naomi Kunizawa^d,
Norimichi Sano^e, Megumi Sakai^e, Ichiro Hatta^f, Noboru Ohta^f, Naoto Yagi^f,
Hiroshi Watanabe^a, Kozo Takayama^a

^a星薬科大学, ^b味の素(株), ^cクラシエホームプロダクツ(株), ^d株資生堂,
^eプロクター・アンド・ギャンブル・ジャパン(株), ^f高輝度光科学研究センター
^aHoshi University, ^bAjinomoto Co., Inc., ^cKracie Home Products, Ltd.,
^dShiseido Co., Ltd., ^eProctor & Gamble Japan K.K., ^fSPring-8/JASRI

角層細胞間脂質のラメラ構造は、体内水分蒸散抑制や異物侵入のバリアとして機能している。本課題では、化粧品や医薬品(外用剤)に含まれる化合物が角層成分に及ぼす影響について、溶液セルを用い小角・広角 X 線回折同時測定により検討した。その結果、水の適用では短周期ラメラの膨潤が確認された。このように変化を受けやすい構造や微細な変化を高感度かつ系統的な解析することが可能になった。

キーワード： ヒト角層、角層細胞間脂質、ラメラ構造、充填構造、溶液セル

【背景と研究目的】

すでに高齢社会への移行が進行している今日、医薬品による疾病の治療のみならず、日常生活におけるヘルスケア関連製品への関心が高まっている。本課題では、化粧品、医薬品および材料メーカーを含む研究組織を構築し、皮膚角層の構造変化に関する共同実験を通じて得られた基礎的知見を製品開発に生かすことを目的とした。現在皮膚表面を快適に保つ目的で利用される化粧品については、青年層を中心に女性だけでなく男性の消費もあきらかな増加傾向にあり、化粧品や医薬品の製造に用いられる化合物の適用により引き起こされる皮膚角層構造の変化を調べることは、今後の製品開発において重要である。しかしながら、これまでは角層について調べる手段が限られており、細胞間脂質の構造を直接明確にすることは困難であった。最近、SPring-8 で行われている溶液セル[1]を使用した角

層細胞間脂質の構造解析から多くの結果が得られている[2-4]。化粧品や医薬品に繁用される化合物が惹起する角層細胞間脂質の構造解析を行う産業基盤技術の確立は急務であり、溶液セルを使用した研究はきわめて有効であると考えられる。本研究では、化粧品や医薬品に配合される代表的な化合物を適用した際の角層の回折プロファイルのデータベース構築を主な目的として以下の実験を行った。

【実験方法】

角層の剥離・処理：トリプシン処理により皮膚組織より剥離したヒト角層 (BIOPREDIC International, Rennes, France) を洗浄・乾燥後、予め 25% の水分量に調節して溶液セルに充填し、種々の化合物をセル内に注入して直ちに測定を開始した。

X線回折測定：SPring-8 ビームライン BL40B2 において小角・広角 X線回折測定を行った。波長 0.83 nm (15 keV)、試料から検出器までの約 500 mm を真空引きし、300 mm×300 mm のイメージングプレートを用いて回折像を取得し解析を行った。データ解析：得られた回折像を一次元化してから、それぞれの回折ピークをガウス関数にフィッティングして解析した。また、詳細な変化を追跡する目的でそれぞれの回折プロファイル間での差分解析を行った。

【結果および考察】

図 1 に角層に水を 2 時間適用した際の小角 X線回折プロファイルを示す。3 分に 1 回測定を行い 40 回の測定結果をすべて重ねて表示した。一番下の曲線が適用開始直後、一番上の曲線が適用 2 時間後のプロファイルである。 $S=0.16 \text{ nm}^{-1}$ 付近のピークは短周期ラメラ (約 6.25 nm) 由来の回折で、時間の経過とともにピーク頂点がわずかながら低角側へと移行していることから、短周期ラメラが水によって膨潤していると考えられる。さらに、 $S=0.24 \text{ nm}^{-1}$ 付近のピーク

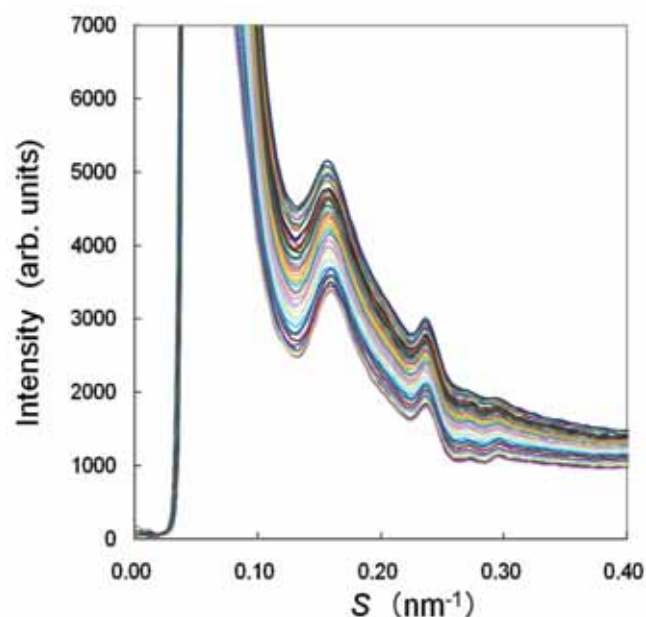


図1 水の適用による角層の小角X線回折プロファイルの変化

(各プロファイルを識別するためにカラー表示した。時間の経過に伴ってプロファイルは上方へと移行した。)

は長周期ラメラ (約 12.6 nm) の 3 次回折と推定でき、これは時間の変化に関わらずピーク位置の変動はほとんど認められなかった。したがって、長周期ラメラは水による影響を受けないことが示唆された。さらに、これらのピークのベースラインが時間の経過とともに増大し、角層細胞への水の流入に

よるのではないかと考えられる。一方、図2に示した広角プロファイルからは細胞間脂質が斜方晶および六方晶に充填されている様子が明確である。 $S=2.4 \text{ nm}^{-1}$ および $S=2.65 \text{ nm}^{-1}$ 付近のピークはそれぞれ斜方晶、六方晶の重なりおよび斜方晶に由来すると考えられており、実験開始時におけるこれらのピークの積分強度比 $R_{\text{H}_2\text{O}}$ の値は3.68であったことから今回実験に用いたヒト角層中の六方晶の割合は約45.7%と推定される[5]。広角領域の差解析の結果からは、 $S=2.4 \text{ nm}^{-1}$ および $S=2.65 \text{ nm}^{-1}$ 付近

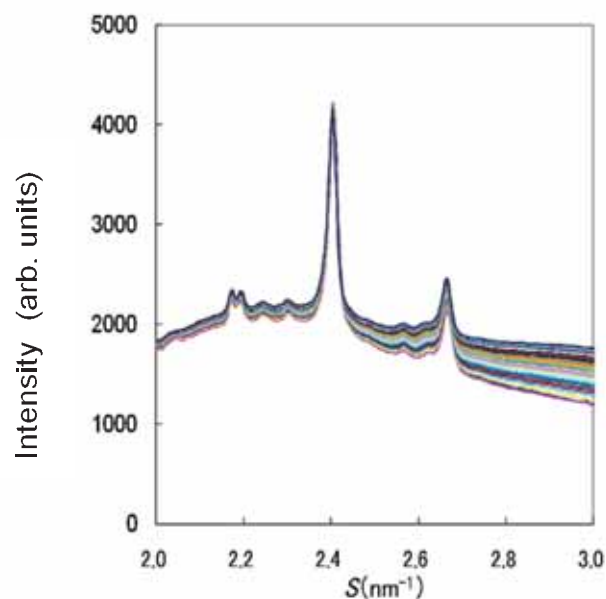


図2 水の適用による角層の広角X線回折プロファイルの変化
(各プロファイルを識別するためにカラー表示した。
時間の経過に伴ってプロファイルは上方へと移行した。)

のピークいずれも僅かに低角側への移行が認められたことから充填構造が水の適用によって僅かに膨潤する可能性がある。

表1には今回実験を行った化合物により得られた結果を示した。保湿剤として繁用されるグリセリンを低濃度溶液として適用した場合には、角層細胞の膨潤にともなう広角領域の強度の増大が緩和される傾向が認められた。この結果から、グリセリンの保湿作用は、角層内に水分が貯留するためではなく、角層に作用したグリセリンが体内からの水分蒸散阻止能を高めることによって発現している可能性が示唆された。2008A1784の実験においてはグリセリンの濃度が高すぎたことでその作用を類推することが困難であったが、より低い濃度で行った今回の実験の結果から、これまでに知られていなかった保湿作用の一部を分子レベルで明らかにすることができたと考える。グリセリン濃度の影響はほとんどなかったことから、グリセリンの保湿作用は製剤に5%程度添加することで十分に発揮されるものといえる。また、保湿剤として用いられる1,3-ブチレングリコールを適用した場合も、グリセリンと同様に低濃度の水溶液の作用として、広角領域の強度の増大を緩和する傾向が認められたことから、これらの保湿剤は類似の作用機構により保湿作用を発現すると推察された。

【今後の課題】

今回は水混合系での化合物の影響の系統的検討を試みたが、これらの系では水の影響が支配的であることが明らかになった。今後は化粧品や医薬品の製剤化に重要な水以外の化合物を基剤として検討を行いたいと考えている。

表 1 種々の化合物の適用による細胞間脂質由来の広角X線回折プロファイルの変化の解析結果

Chemical(s)	WAXD	
	Orthorhombic & Hexagonal (2.4 nm ⁻¹)	Orthorhombic (2.7 nm ⁻¹)
Water	Intensity : ↓	Intensity : ↓
	Position : 僅かに小角側へ移行	Position : 僅かに小角側へ移行?
Glycerol (5% Solution)	Intensity : ↓	Intensity : ↓
	Position : 僅かに小角側へ移行	Position : 僅かに小角側へ移行
Glycerol (10% Solution)	Intensity : ↓	Intensity : ↓
	Position : 僅かに小角側へ移行	Position : 僅かに小角側へ移行
Glycerol (30% Solution)	Intensity : ↓	Intensity : ↓
	Position : 僅かに小角側へ移行	Position : 僅かに小角側へ移行
1,3-Butyleneglycol (5% Solution)	Intensity : ↓	Intensity : ↓
	Position : 僅かに小角側へ移行	Position : 僅かに小角側へ移行
1,3-Butyleneglycol (10% Solution)	Intensity : ↓	Intensity : ↓
	Position : 僅かに小角側へ移行	Position : 僅かに小角側へ移行
1,3-Butyleneglycol (30% Solution)	Intensity : ↓	Intensity : ↓
	Position : 僅かに小角側へ移行	Position : 僅かに小角側へ移行

【参考文献】

- [1] 特願 2006-269164: 発明者:八田一郎、涌井義一
- [2] 小幡誉子、平成 19 年度 SPring-8 重点産業利用課題成果報告書(2007A1888)、pp.9-10.
- [3] 小幡誉子他、平成 19 年度 SPring-8 重点産業利用課題成果報告書(2007B1803)、pp.12-14.
- [4] 小幡誉子他、平成 20 年度 SPring-8 重点産業利用課題成果報告書(2008A1784)、pp.48-52.
- [5] Y.Obata, I.Hatta, N.Ohta, N.Kunizawa, N.Yagi, K.Takayama, *J.Contr.Rel.*, **115**, 275-279 (2006).