

摘出ヒト皮膚を用いた化粧品製剤の皮膚浸透性に関する研究 Skin Penetration Study of Cosmetic Formula Using Excised Human Skin

坂 貞徳, 中間 満雄, 小椋 彩子
Sadanori Ban, Mitsuo Nakama, Ayako Ogura

日本メナード化粧品(株)総合研究所
Research Laboratories, Nippon Menard Cosmetic Co., Ltd.

摘出ヒト皮膚への化粧品製剤の適用による角層細胞間脂質の構造変化について、小角・広角 X 線回折実験を行った。その結果、摘出ヒト皮膚への製剤適用によって細胞間脂質の構造が乱れることを見出した。この結果は、三次元培養ヒト皮膚への製剤適用によって細胞間脂質の自己組織化が起こる前回の結果[1]とは異なる。以上から、化粧品製剤の適用による細胞間脂質の構造変化は、用いる皮膚組織の細胞間脂質構造の違いによりその挙動が異なることが明らかとなった。

キーワード： 摘出ヒト皮膚、皮膚浸透性、細胞間脂質

背景と研究目的：

皮膚角層中の細胞間脂質は、セラミド、脂肪酸、コレステロールを主な構成成分としており、外界からの刺激に対する皮膚バリア機能としての重要な役割を果たしている。化粧品開発においては、バリア機能を有する角層の構造が、化粧品製剤の浸透によりどのような影響を受けるかを明らかにすることが重要である。現在、動物の代替として、三次元培養ヒト皮膚モデルや摘出ヒト皮膚を用いた皮膚浸透性試験が実施されている。これらの皮膚組織を用いた試験法を確立する上では、化粧品製剤の角層構造に及ぼす影響についての類似点、相違点を理解することが重要である。我々は、2008B 期の課題において、三次元培養ヒト皮膚モデルにおける細胞間脂質の構造がヒト皮膚と比較して不完全であると共に、コレステロールの回折ピークが見られることを明らかにした。また、皮膚モデルに化粧品製剤を適用することにより、コレステロールの回折ピーク強度が強まり、さらに細胞間脂質の周期構造が現れることを見出した[1]。これらの結果は、エタノール等の経皮吸収促進剤を摘出ヒト皮膚あるいはヘアレスラット皮膚に適用することにより細胞間脂質の構造が乱れる結果[2, 3]とは異なり、化粧品製剤の適用によって、細胞間脂質の自己組織化が起こることを示す。しかしながら、これらの現象は、三次元培養ヒト皮膚モデル特有のものであるか、構造的に問題のないヒト皮膚においても起こるものであるかは明らかでない。そこで、本研究においては、摘出ヒト皮膚への化粧品製剤の適用による細胞間脂質の構造変化を明らかにし、三次元培養ヒト皮膚モデルと比較することにより、これらの皮膚組織を用いた化粧品製剤の浸透試験を行う際の科学的根拠となるデータを得ることを目的とした。

実験：

摘出ヒト皮膚(BIOPREDIC International 社)をフランス型拡散セル(パーメギア社)に挟みこみ、角層側から化粧品製剤を適用し、24 時間後に皮膚を回収した。0.1%トリプシン溶液に浸して角層のみを剥離し、脱水後に水を加えて角層中の水分量が 20%になるように調製し、測定試料とした。測定試料はキャピラリーチューブ($\phi 1$ mm; W. Muller 製)に詰め、チューブを密閉した。脂質系のラメラ構造と脂質の充填構造を同時に測定するために、小角・広角 X 線回折同時測定、さらに示差走査熱量計による同時測定のできるビームライン BL40B2 を使用した。測定条件は、X 線の波長 0.1 nm、カメラ長は 500 mm で行った。カメラは RAXIS(リガク製)を用い、IP は 300×300 mm を使用した。

結果および考察：

図 1 および図 2 は、摘出ヒト皮膚の角層試料における、小角 X 線および広角 X 線回折プロファイルを示す。図 1 に示す小角領域では、非適用試料において短周期ラメラ構造を示す $S=0.164$ nm^{-1} (6.10 nm)、長周期ラメラ構造を示す $S=0.294$ nm^{-1} (3.40 nm)および $S=0.588$ nm^{-1} (1.70 nm)にそれ

ぞれ回折ピークが見られた[4]。また、摘出ヒト皮膚への製剤適用によって、これらのピーク強度は弱まった。図2に示す広角領域では、非適用試料において $S = 2.41 \text{ nm}^{-1}$ (0.41 nm) および $S = 2.66 \text{ nm}^{-1}$ (0.38 nm) に回折ピークが見られ、これらのピークは細胞間脂質の充填構造と一致した[4]。また、製剤の適用によって、 $S = 2.41 \text{ nm}^{-1}$ のピーク強度は弱まってブロードになり、 $S = 2.66 \text{ nm}^{-1}$ のピークは見えなくなった。以上から、細胞間脂質の周期構造が完全である摘出ヒト皮膚においては、化粧品製剤の適用により細胞間脂質の構造が乱れることが明らかとなった。

我々は、2008B 期の課題において、細胞間脂質の構造がヒト皮膚よりも不完全である三次元培養ヒト皮膚モデルへの化粧品製剤の適用により、細胞間脂質の自己組織化が起こることを見出している[1]。本課題においては、摘出ヒト皮膚への化粧品製剤の適用による細胞間脂質の構造変化を観察した。その結果、三次元培養ヒト皮膚モデルの結果とは異なり、摘出ヒト皮膚への製剤適用により、細胞間脂質の構造が乱れることが示された。これらの結果より、化粧品製剤の適用による細胞間脂質の構造変化は、用いる皮膚組織の細胞間脂質構造の違いにより、その挙動が異なることが明らかとなった。以上から、三次元培養ヒト皮膚モデルおよび摘出ヒト皮膚を用いた浸透性試験は、得られる結果が異なる可能性があることを認識した上で、実施しなければならないと考えられる。

今後の課題：

本研究の結果は、化粧品製剤の適用によって起こる細胞間脂質の構造変化が、三次元培養ヒト皮膚モデルと摘出ヒト皮膚とで異なる可能性があることを示唆するものである。今後は、これらの細胞間脂質構造に及ぼす製剤の剤型の違いについても検討する必要があると考えられる。

参考文献：

- [1] 坂貞徳, 平成 20 年度 SPring-8 重点産業利用課題成果報告書(2008B1895): 三次元培養ヒト皮膚モデルを用いた経皮吸収試験
- [2] 高山幸三, 平成 20 年度 SPring-8 重点産業利用課題成果報告書(2008A1784): 放射光 X 線回折を利用した角層細胞間脂質の構造解析に基づく医薬品・化粧品の開発
- [3] 小幡誉子, 平成 17 年度下半期 先端大型研究施設戦略活用プログラム成果報告書(2005B0828): 皮膚角層脂質ラメラ構造に及ぼす外用剤製剤成分の影響
- [4] Bouwstra, J. A., et al, J. Lipid Res., 36, 496-504 (1995): Characterization of stratum corneum structure in reconstructed epidermis by X-ray diffraction.

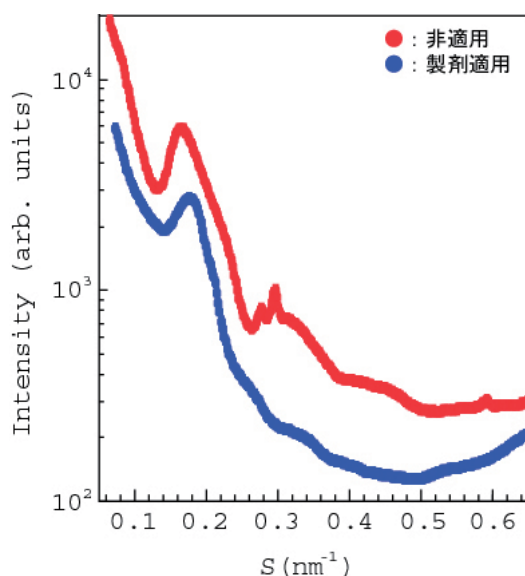


図1. 小角 X 線回折プロファイル

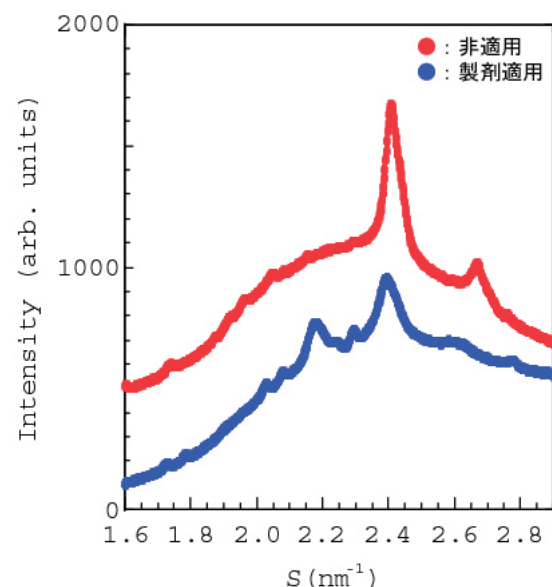


図2. 広角 X 線回折プロファイル