

化粧品・皮膚外用剤における脂質応用の指針と展望

エスエス製薬(株) 鈴木敏幸

1. はじめに

日常の健康に関する意識や悩みにおいて、肌の健康や状態に関する意識は非常に高い。皮膚の状態に影響を与える因子としては、生活要因、加齢要因、環境要因など様々な者があるが、健康で美しい皮膚の維持には皮膚最外層の角層中の脂質が大きく寄与している。化粧品や皮膚外用剤における脂質の応用例と作用をふり返り、今後の指針と展望について述べたい。

2. みずみずしい肌を保つしくみ（皮膚の保湿と分子集合体）

健康で美しい皮膚（健常肌）の最外層の角層では、核のない角層細胞が整然と重なり合って配列しており、そこには20～30%の水分が保持されている。この一定量の水分を保持するしくみは、皮膚が本来持っている生理機能で“保湿作用”と呼ばれている¹⁾。皮膚の保湿機構は、①皮脂腺から分泌されて皮膚表面を覆っている皮脂膜の水分蒸散抑制作用、②角層細胞中にあるアミノ酸、尿素、塩類などの天然保湿因子(NMF)の保水性、③角層細胞間に存在する両親媒性の脂質（角層細胞間脂質）の保水およびバリア作用の3つの因子により保たれている。中でも細胞間脂質に関する研究は近年進み^{2)~4)}、その機能が注目されている。

角層細胞間脂質は表皮細胞が分化して角層細胞になる過程で細胞内から供給されるため、その構成成分は皮脂由来の皮表脂質とは大きく異なり、細胞膜構成リン脂質の酵素分解生成物であるセラミドをはじめ、コレステロール、脂肪酸など、分子内に親水基と親油基を併せ持つ両親媒性の脂質から構成されている（表1）。図1は表皮の断面写真と細胞間脂質の電子顕微鏡像およびそのモデルである。脂質2分子膜と水からなる層状の分子集合体を形成し、

	皮表脂質	細胞間脂質
スクワレン	10 wt %	—
トリグリセリド	25	—
モノ、ジグリセリド	10	—
ワックス	22	—
脂肪酸	25	20
コレステリルエステル	2.5	10
コレステロール	1.5	15
セラミド	—	50
糖セラミド	—	5
その他	4	—

表1 皮表脂質と細胞間脂質の組成

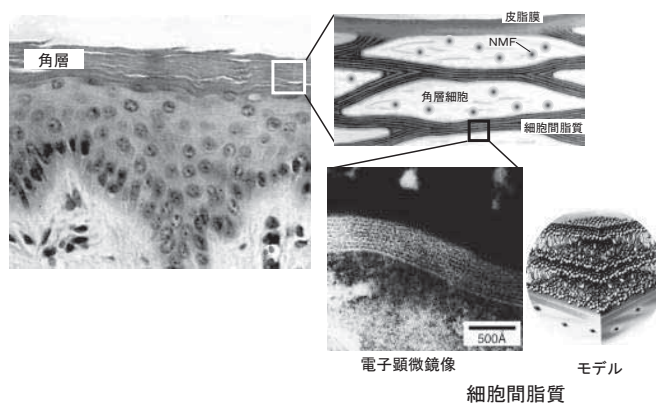


図1 皮膚と角層細胞間脂質

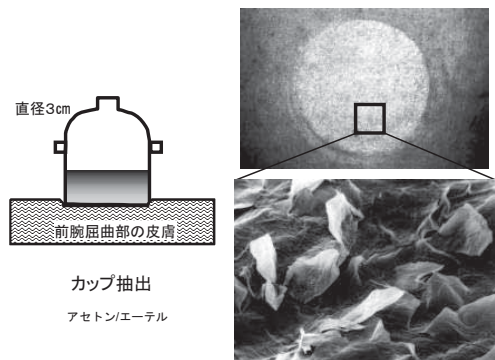


図2 溶剤抽出による荒れ肌誘発

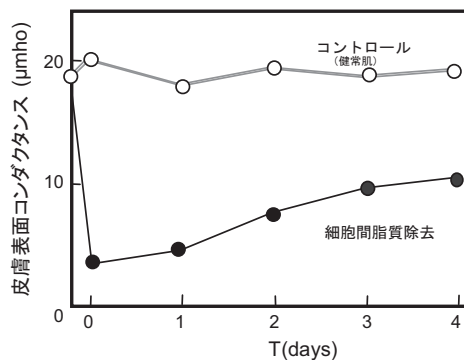


図3 溶剤抽出による皮膚コンダクタンス低下

水分保持の他、角層細胞同志の接着や外部の刺激に対するバリアとしても寄与している。保湿機能が低下した皮膚では細胞間脂質の働きが不十分であり、角層水分量も10%以下で、角層の形態が乱れた荒れ肌となる。この時、皮膚のバリア能も低下して外部の刺激を受けやすくなっている。溶剤抽出により細胞間脂質を除去しても、同様の荒れ肌が誘発される(図2)。角層の水分保持能を示す皮膚表面コンダクタンスの値は低下し、この状態は1週間以上回復しない(図3)⁵⁾⁶⁾。皮膚のターンオーバー、すなわち細胞の分化により新たな角層細胞が生成し、それにもなって細胞間脂質が補充されるまで保湿機能の低下は続く。一方、水分保持能が低下した荒れ肌に健常皮膚から抽出により取り出した細胞間脂質を戻すと、皮膚の水分保持機能が回復する事が確認されている⁷⁾。したがって細胞間脂質は美しい皮膚の維持には欠かせない要素であり、これを補うことができれば、生体と同じ仕組みで皮膚を健常に保てる可能性があることが示唆された。

3. 生体脂質に学ぶ素材開発 (生体類似脂質の開発と分子集合体形成による機能発現)

皮膚の保湿性を向上させ、荒れ肌を改善させるためには、細胞間脂質の機能を補うことが必要である。しかしながら細胞間脂質の主成分セラミドは、自然界では動物の脳など限られたところに微量存在する成分であるため、化粧品や皮膚外用剤においては図4に示す疑似セラミド(SLE)のような合成脂質が利用されることが多い。SLEは2本の長鎖アルキル基と複数の水酸基および主鎖中のアミド基など、天然のセラミド(タイプ2)⁸⁾⁹⁾と非常に類似した

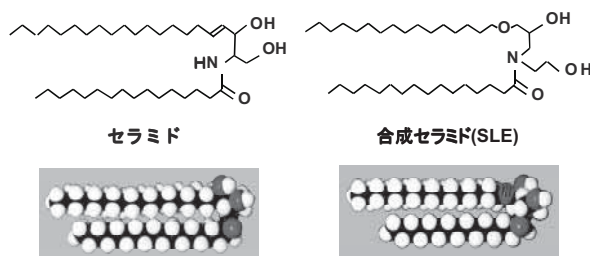


図4 セラミドと疑似セラミドの分子構造

両親媒性の分子であり、立体配座も2本の長鎖アルキル基がアミド基の存在する平面に対して垂直かつ平行に並びラメラ構造を形成するのに有利な構造となっている(図5)。しかしながら飽和長鎖アルキル基を有する高純度脂質であるため結晶性が高く、単独では分子集合体を形成してその親水部に水を保持することはできない。会合構造を安定化

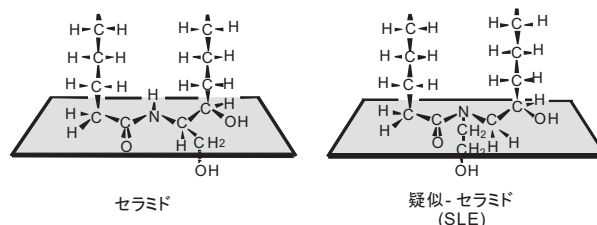


図5 立体配座

させてその親水部に水を保持させるためには結晶化を抑制する必要がある。親水部同士の親和力を維持したまま疎水部の構造を立体的に乱して分子の運動性を高めるという観点から、生体の細胞間脂質の構成成分である脂肪酸、コレステロールなどの両親媒性脂質が導入され、結晶化の抑制や会合構造の安定化に利用されている¹⁰⁾¹¹⁾。図6は合成脂質SLEに対する共存両親媒性脂質の作用を示

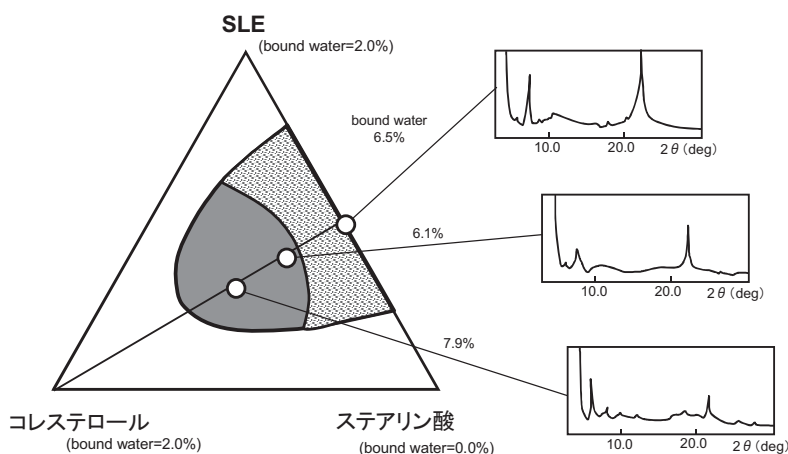
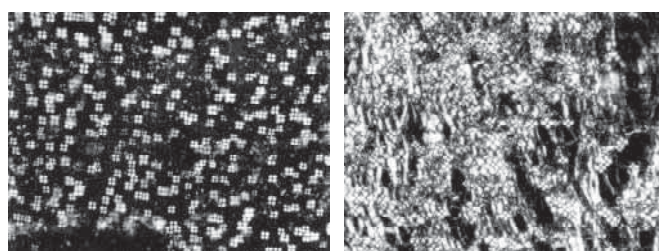


図6 SLEにおよぼす両親媒性脂質添加効

す状態図で、混合脂質結晶の構造変化を示すX線回折曲線も添付している。図中曲線で囲まれた領域ではラメラ構造が形成され、そこにはラメラ非形成領域に比べて多くの水が結合水として保持される。脂肪酸の添加により合成セラミドの結晶構造は変化し、Bragg 間隔 4.15 \AA ($2\theta = 21.5^\circ$) に 1 本のシャープな回折ピークを示す α ゲルの状態となって、ラメラ構造が安定化される。またコレステロールの添加にともない、 4.5 \AA ($2\theta = 19.5^\circ$) に緩慢なハローが出現し、アルキル鎖の運動性が高まっていることがわかる。特にコレステロールの導入と共に脂質の融解エントロピーが低下して、状態が液体に近づいてくる (図7)。コレステロールは脂質分子が共存して配列したときに分子空隙率が大きく、隣接する分子の運動性を高める作用 (立体効果) により結晶性を抑制する。こうした両親媒性脂質間の相互作用により、安定なラメラ構造を有する人工角層細胞間脂質が形成される。

図8は水和させた抽出細胞間脂質と表2の組成の混合脂質の偏光顕微鏡組織像であるが、どちらもラメラ液晶特有のモザイクテクスチャーを示している。SLE/脂肪酸/コレステロールおよびコレステロールエステルを混合した脂質は人工細胞間脂質としての作用が期待される。



抽出細胞間脂質

SLEを用いた脂質混合物

図8 脂質の偏光顕微鏡組織像

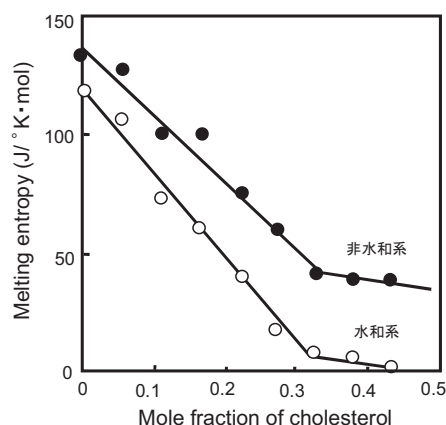


図7 混合脂質の融解エントロピー変化

擬似セラミド(SLE)	10.0 wt%
ステアリン酸	6.0
コレステロール	3.0
コレステリルイソステアレート	1.0

表2 混合脂質の組成

4. 細胞間脂質の機能を生かした製剤開発 (脂質エマルジョンの調製)

4-1 ラメラ構造を維持した乳化粒子の保湿機能

脂質分子間の相互作用を利用して得た人工細胞間脂質を、日常生活において皮膚に適用しやすいクリームや乳液などのエマルジョン製剤とするための検討を行った。人工細胞間脂質を主成分とするエマ

	細胞間脂質 エマルジョン	通常の エマルジョン
合成セラミド(SLE)	10.0 wt%	—
ステアリン酸	6.0	—
コレステロール	3.0	—
イソステアリン酸コレステリルエステル	1.0	—
ワセリン	—	20.0
スクワラン	10.0	10.0
ヘキシルデシルリン酸モノアルキニン	0.5	0.5
グリセリン	3.0	3.0
精製水	66.5	66.5
	100.0	100.0

表3 エマルジョンの組成

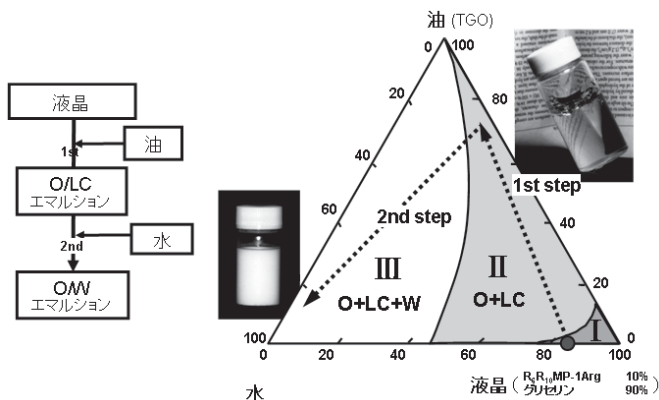


図9 液晶乳化のプロセス

ルシオンとワセリンを主成分とする通常の油剤を用いたエマルジョン（表3）の機能比較をする目的で液晶乳化法を用いた¹²⁾。液晶乳化法は、界面活性剤（R6R10MP-Arg 10wt%/グリセリン）の液晶中に分散相（ここでは人工角層脂質を主成分とする油相および通常の油剤）を分散・保持させて微細な乳化粒子を生成させる技術である。この方法を用いると、温度や被乳化油の極性(所要HLB)にほとんど影響を受けることなく微細な粒子径のエマルジョンを生成させることができるため、角質層脂質のようにかなり高温までペースト状を保っている脂質類の乳化には都合がよい。図9は乳化のプロセスを示す流れ図とそれに対応する相状態変化を相図上の矢印で示している。乳化は三角図底辺上の丸印で示した液晶領域から始まり、矢印で示した2段階で行われる。第1ステップでは液晶に油相を添加して、液晶中に油が保持されたゲル状のO/LC (oil-in-liquid crystal)エマルジョンを得る。第2ステップでは、ゲルに水相を加えてO/Wエマルジョンとする。

液晶乳化で興味深いのは、同一の液晶を用いながら非常に広範囲の油剤に適用することができる点である。図10は、界面活性剤/グリセリン水溶液系のラメラ液晶10ml中に性質の異なる油剤がどのくらい保持されるかを調べた結果である。油剤の比重が大きく異なるため、縦軸は油保持される油剤の容積 (ml) で示している。原子種の異なる油剤として、炭化水素系のスクワラン、シリコン油のジメチルポリシロキサン(DMPS)、フッ素系の油剤であるパーフルオロポリエーテル(PFPE)。外観は液晶と油剤の屈折率の差により、透明～白濁した状態となっている。液晶の油保持能は油剤の違いにより異なるが、何れの場合も60wt%グリセリン水溶液を含む液晶系で最大の油保持能が発揮され、これらのエマルジョンは全て内相である油相の比率が95%を超える高内相比のエマルジョンとなっている。エマルジョン生成のポイントとなる油/液晶界面における液晶膜の状態を解析するために、生体膜の挙動解析に用いられるスピンプローブを用いた電子スピン共鳴 (ESR) 解析を行った¹³⁾。スピンプローブ法は、ニトロキシドラジカルのような不対電子スピンを持つプローブ周辺の局所環境をESRスペクトルにより調べる方法であり、図11-aに示したようなラジカル位置の異なる脂肪酸型のスピンプローブを用いると、アルキル鎖の各場所の運動性が解析できる¹⁴⁾¹⁵⁾。図11-bに液晶のESRスペクトルの例を示した。ESRスペクトルのより分子運動性を示すオーダーパラメーター(Sn)の値が求められ、これにより液晶膜や液晶に油剤を導入したO/LCエマルシ

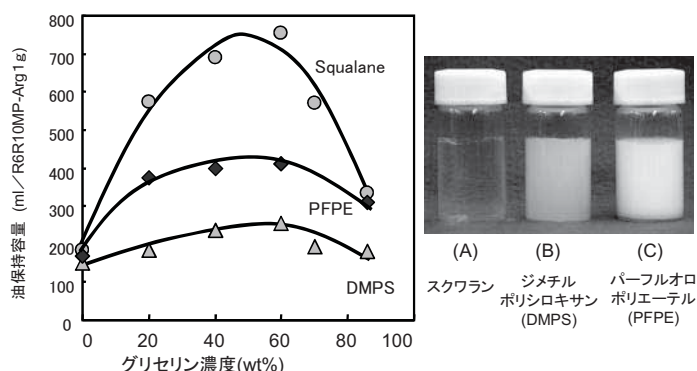


図10 液晶エマルジョンの油保持容量

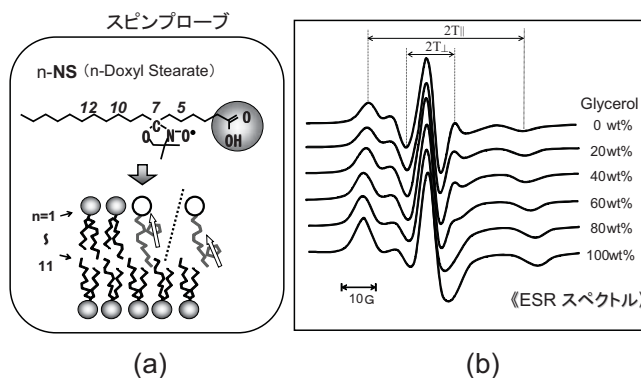


図11 ESRスピンプローブ法による液晶膜の解析

ンに油剤を導入したO/LCエマルシ

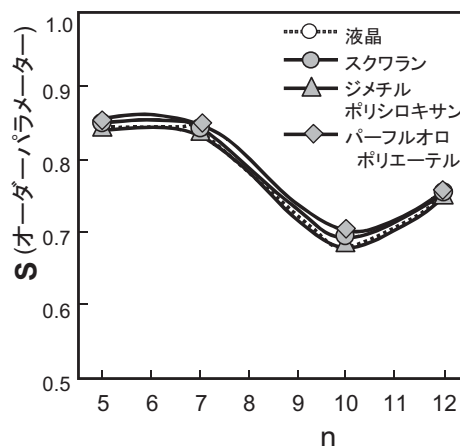


図12 液晶膜の運動性

ヨンの油/水界面における液晶膜の運動性が解析できる。図 12 は、膜の運動性をスピンドラベル I(m,n)の親水基から数えたメチレン基の位置を示す n の関数として示したものである。液晶の 2 分子膜中のアルキル鎖の硬さに対応する S_n は n の増加とともに低下している。これは極性部から遠ざかるにつれ、分子運動性が高まるためである。興味深いのは、液晶単独系でも液晶に油剤を添加した O/LC エマルション系でも、S 曲線が全く同じ曲線となっていることと、油剤が異なるエマルションの場合も同様に変化が無いという点である。これは液晶相が水相および油相とは独立して存在していることを示唆しており¹⁶⁾、液晶乳化が油剤の種類にほとんど影響されずに、油滴は強固な液晶相によって保持されているため、95%を超える高内相比の条件でも安定な乳化粒子が生成されるものと考えられる。液晶乳化を用いると油剤の種類を変えたエマルションを同一条件で生成させ比較することができる。人工細胞間脂質を主成分とするエマルションの外観は通常のエマルションと同様であるが、個々の乳化粒子が光学異方性を示す(図 13)。図 14 は細胞間脂質エマルションの電子顕微鏡写真(凍結割断レプリカ法)であるが、各乳化粒子は細胞間脂質と同様の多重層状構造を形成していることが確認された¹⁷⁾¹⁸⁾。

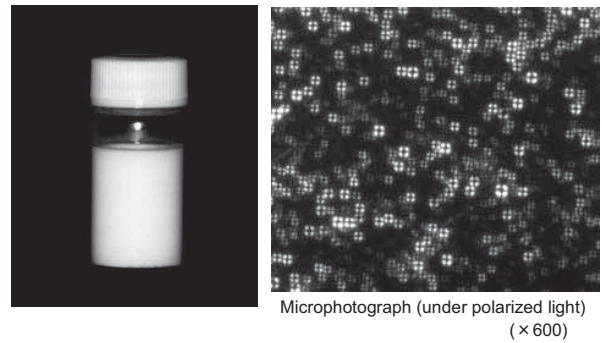


図 13 脂質エマルションの外観と偏光顕微鏡像

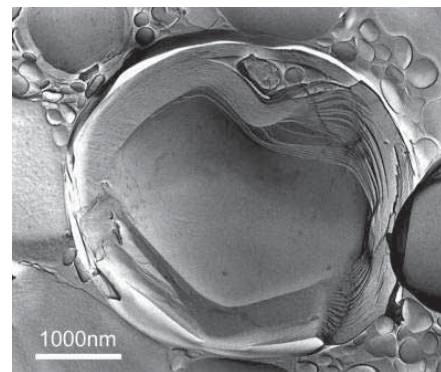


図 14 脂質エマルションの電子顕微鏡像

脂質エマルションを乾燥荒れ肌に適用すると、皮膚の水分保持機能を示す指標である皮膚表面コンダクタンス値が健常肌レベルに回復し、肌荒れが改善されることが確認された。人の前腕部から生検剥離した角層シートをデシケーター内で異なる水和度に調湿し、 -40°C から 10°C まで DSC 測定を行うと、 0°C 近傍に水の融解に伴う吸熱ピークが得られる。面積から算出した融解エンタルピー (ΔH) を水分量に対してプロットすると、外挿値から結合水分量が得られる。健常皮膚の角層には約 33%の水が結合水として存在しており、細胞間脂質除去によってそれが 19%まで低下する。結合水量が低下した皮膚に脂質エマルションを処理すると、結合水は 30%まで回復する(図 15)。他方、ワセリンを主基剤として用いた通常のエマルション処理では、結合水の回復は認められない。これは自己組織性の高次構造を形成している脂質エマルションの油相が角層中へ浸透し、角層細胞間を満たし、水を結合水として保持しているためである。実際、エマルション適用後の皮膚角層中に存在する天然および疑似セラミド SLE を定量分析すると、荒れ肌では、細胞間脂質が欠如した量に相当する程度の人工細胞間脂質が浸透・保持されており、この時、角

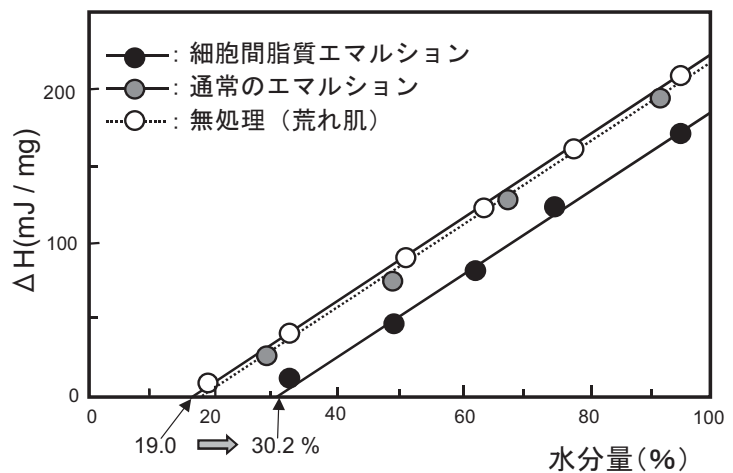


図 15 脂質エマルション適用による結合水の回復

層細胞間には天然の細胞間脂質と同様のラメラ構造が再構築されていることが確認された。すなわち、脂質エマルションは細胞間脂質と同様の機構で水を結合水として皮膚角層に保持することができる。

4-2 規則的に配列したナノサイズエマルション粒子のジェル製剤

脂質の機能を効率よく発揮させるための製剤技術の開発研究が精力的に進められている。通常の乳化粒子（1～100 μm 程度）に比べて微細なナノサイズの粒子径を有するエマルションは、皮膚浸透性などの向上が期待される。均一なナノサイズ乳化粒子を生成させることにより、同一組成のエマルションでは流動性を示す系が、コロイド結晶に変化するという現象が発見された¹⁹⁾。

油成分として SLE とイオン性界面活性剤を含む脂質エマルションを高圧乳化機（280MPa）で7回以回数が少ない時は低粘度の液状エマルションであるが、ナノサイズ脂質エマルションとなると系は透明ジェル状とり、24nm 程度の均一な乳化粒子規則正しく配列している様子が見られる

（図 16）。これは、同一体積の粒子を微細化していくと、粒子が密に充填して粒子間距離が小さくなるため、粒子間静電反発力が増大しコロイド結晶と同様の規則的な充填構造が形成されることによるものと考えられる。

このナノ粒子のエマルション結晶は、マイクロエマルション製剤に比べて界面活性剤濃度が低濃度で形成が可能であり、脂質濃度が高い系でも得られるため、新しい製剤として今後の応用が期待される。

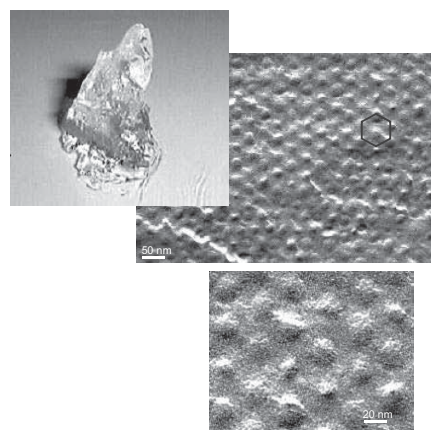


図 16 脂質ナノエマルションの外観と電子顕微鏡像

5. 細胞間脂質機能を向上させるための課題と今後

美しい肌を保つ生体の基本要素の一つとして、細胞間脂質のラメラ構造形成による保湿の機構および、セラミド類似合成脂質と両親媒性脂質との分子間相互作用を利用した水分保持能の発現について過去の開発研究例をふり返った。脂質分子の高次構造形成をより容易にすること、また水分保持能を高め、生体脂質の機能を効率良く補うことが今後の課題であろう。そのためには、素材としての脂質分子の設計と開発および、有効製剤開発の両面からの展開が不可欠である。

近年は、セラミドの前駆体であるスフィンゴシンと類似の分子構造をもつ両親媒性の脂質（擬似スフィンゴシン：PSP(図 17)）が合成され、SLE との分子間相互作用が研究されている²⁰⁾⁻²³⁾。PSP を乳酸中和した PSP 乳酸塩は SLE とく強く相互作用し、ラメラ構造を安定に保ち、広い範囲でラメラ液晶や層状の α 結晶の親水部に多量の水を保持した α-ゲルを形成する。そして特別な界面活性剤を用いることなく脂質の組み合わせだけでマルチラメラ型のエマルションが生成することが確認された。この脂質エマルションで興味深いのは、SLE および PSP をそれぞれ天然のセラミド（Ceramide3）とフィトスフィンゴシン

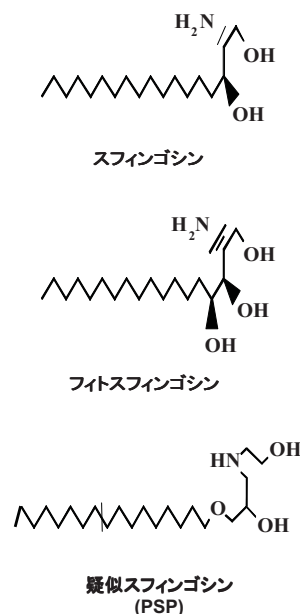


図 17 スフィンゴシン類

に置き換えても、同様のマルチラメラ型エマルジョンが得られる点である。両親媒性脂質の分子間相互作用を用いたエマルジョン製剤は優れたスキンケア効果をしめすことから、今後のスキンケア製剤開発の指針となり得る。

化粧品や皮膚外用剤における脂質の応用について、過去の開発事例や最近の研究例を照会したが、両親媒性脂質間の相互作用をうまく利用することにより、生体の脂質と同様の機構で皮膚の保湿機能やバリア機能を高めることが可能となる。また分子間の水素結合性や立体効果というような脂質分子間の相互作用の効率を高めるような分子設計と開発も行われて、分子集合体の形成や会合構造の制御もさらに進むものと考えられる。

参考文献

- 1) I. H. Blank, *J. Invest. Dermatol.*, 18, 443 (1952)
- 2) P. M. Elias, *Arch. Dermatol. Res.*, 270, 95 (1981)
- 3) M. A. Lampe, A. L. Urlingame, J. Whitney, M. I. Williams, B. E. Brown, E. Roitman and P. M. Elias, *J. Lipid Res.*, 24, 120 (1983)
- 4) P. Elias, *J. Invest. Dermatol.*, 80, 44 (1983)
- 5) G. Imokawa, H. Kuno and M. Kawai, *J. Invest. Dermatol.* 96, 845 (1991)
- 6) G. Grubauer, K.R. Fingold, R. M. Harris and P. M. Elias, *J. Lipid Res.*, 30, 89 (1989)
- 7) G. Imokawa, S. Akasaki, H. Hattori and N. Yoshizuka, *J. Invest. Dermatol.* 87, 758 (1986)
- 8) P. W. Wertz and D. T. Downing, *J. Lipid Res.*, 24, 759 (1983)
- 9) P. W. Wertz, E. S. Cho and D. T. Downing, *Biochim. Biophys. Acta*, 753, 350 (1983)
- 10) H. Mizushima, J. Fukasawa, T. Suzuki *Lipids* 30, 327 (1995)
- 11) H. Mizushima, J. Fukasawa, T. Suzuki *J. Lipid Research* 37, 361 (1996)
- 12) T. Suzuki, H. Takei and S. Yamazaki, *J. Colloid Interface Sci.*, 129, 491 (1989)
- 13) 鈴木敏幸、岩井秀隆 (日本油化学会界面活性剤評価・試験法編集委員会 編) “界面活性剤評価・試験法” p.206-223、日本油化学会 (2002)
- 14) H. M. McConnell, B. G. McFarland, *Q. Rev. Biophys.*, 3, 91 (1970)
- 15) S. Ohnishi, *Adv. Biophys.*, 8, 35 (1975)
- 16) T. Suzuki, K. Yoda, H. Iwai, K. Fukuda, H. Hotta “*Studies Surface Science and Catalysis*” (Proc. Int. Conference Colloid Surface Sci.), 132, 1025, Elsevier (2001)
- 17) 鈴木敏幸、芋川玄爾、川俣 章、日化、1107 (1993)
- 18) T. Suzuki, H. Iwai, *IFSCC Magazine* 9, (3), (2006)
- 19) H. Iwai et. al *The Proceedings of 223rd ACS National Meeting*, COLL73 (2002)
- 20) K. Kodama, M. Tanahashi, Y. Yamamoto, H. Nagasawa, Y. Suzuki, K. Iwata, Y. Takema, *Proc. 22th IFSCC Congress*, Edinburgh (2002)
- 21) 佐野友彦、*Fragrance Journal* 34(9), 44 (2006)
- 22) 岡田讓二、山本弓子、長澤英弘、*Fragrance Journal* 32(11), 33 (2004)
- 23) 高木 豊、岡田讓二、*Fragrance Journal* 33(10), 42 (2005)