

皮膚角層細胞間脂質のリアルタイム変化に着目した外用剤・化粧品・ 経皮吸収型製剤の開発

Application of Time Resolved Analysis of Lipid Lamellar Structure in Stratum Corneum to Development of Topical, Transdermal/Cosmetic Formulation

小幡 誉子^a, 太田 昇^b, 八木 直人^b, 八田 一郎^b, 高山 幸三^a
Yasuko Obata^a, Noboru Ohta^b, Naoto Yagi^b, Ichiro Hatta^b, Kozo Takayama^a

^a 星薬科大学, ^b(財)高輝度光科学研究センター

^a Hoshi University, ^b SPring-8/JASRI

ヒト皮膚組織から剥離した角層を用いて外用剤・経皮吸収型製剤および化粧料の基剤として繁用されるミリスチン酸イソプロピル(IPM)、イソプロパノール(IPA)、1-メチル-2-ピロリドン(NMP)に着目して実験を行った。IPMではわずかにソフトケラチンとの相互作用が示唆された。NMPではソフトケラチンで著明な変化が観察された。IPAでは、時間の経過とともに六方晶の割合が増大しIPAが斜方晶に優先的に働きかけて液晶化を促す可能性があることを意味している。

キーワード： 角層細胞間脂質、ラメラ構造、製剤成分

背景と研究目的：

社会全体が高齢化への歩みを進めるなかで、より快適な生活を目指すうえで医薬品による疾病の治療のみならず、身体的外観をより若く美しく保つアンチエイジング志向を含めたヘルスケア関連製品に対する関心が高まっている。一方、現在注射に代わる薬物投与方法として経皮吸収型製剤が注目されているが、これは、注射の痛みから解放されることを願う患者さんの強い要望や、医療従事者の負担の軽減といった医療現場のニーズを反映し、すでに市販されている製剤が高い評価を受けていることがその背景となっている。このような化粧品や経皮吸収型製剤の適用による皮膚表面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。薬物が皮膚を通過して体内へ入る場合、その律速段階となるのが、皮膚表面の角層の透過であると考えられており、製剤の適用時に生じる皮膚表面、すなわち角層の変化は大きいと予想される。しかしながら、これまでは角層の微細構造の重要性についての認識はあるものの、調べる手段が限られており、直接構造を明確にすることは困難だった。物質の構造を調べる手段としてX線回折があげられるが、通常のX線回折装置では、角層から得られる細胞間脂質の回折は非常に強度が小さく、製剤成分の適用による変化を議論することはできなかった。最近、SPring-8で行われている溶液セル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。そこで、この手法を利用して、細胞間脂質のラメラ構造の変化に着目した解析を行った。

実験：

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：

我々はすでに溶液セルを用いた実験により、エタノールや*d*-リモネンでその作用機構を明らかにすることができたが[1]、今回は、外用剤・経皮吸収型製剤および化粧料の基剤として、主成分の溶解補助の目的等で製剤成分として繁多されるミリスチン酸イソプロピル(IPM)、イソプロパノール(IPA)、1-メチル-2-ピロリドン(NMP)に着目して実験を行った。とくに、脂質の側方充填に着目して、六方晶および斜方晶の回折が重なってあらわれる $S=2.4 \text{ nm}^{-1}$ 、斜方晶のみに回折があらわれる $S=2.7 \text{ nm}^{-1}$ の回折ピークを解析した。さらに、これらの積分強度の比($R = [\text{Intensity at } 2.4 \text{ nm}^{-1}] / [\text{Intensity at } 2.7 \text{ nm}^{-1}]$)より、作用しやすい充填構造の推定を試みた[1,2]。まず、IPM では、いずれのピークの積分強度も僅かに減少し、ピーク位置は若干低角へ移行したが、積分強度の比はほとんど変化がなかった。またそれぞれの時間で得られた回折ピークと化合物適用直後の回折ピークの差を求めた差分解析からは、IPM がわずかにソフトケラチンと相互作用する可能性が示唆された。また、図 1 に示すようにソフトケラチン由来の $S=1.0 \text{ nm}^{-1}$ 付近の回折が変化していることがわかる。広角側のピークの増大は、NMP 自体の散乱の一部が重なって表れているためである。これに対して臨床的には上限 8%まで製剤への添加が認められている NMP では、細胞間脂質への影響は小さかった一方で、ソフトケラチンに対してはすでに大きな影響を与えることが報告されているエタノールに類似した挙動が観察された(図1)。また、エタノールよりも皮膚に対する刺激性が小さいとされ、外用剤で薬物溶解補助のための基剤として用いられている IPA では、広角領域にあらわれる側方充填の積分強度はいずれも減少したが、それらの比の値(R)は時間の経過とともに少しずつ上昇する傾向を示した(図2)。これは、すなわち IPA が斜方晶に優先的に働きかけて液晶化を促す可能性があることを意味している。エタノールではこの比はほとんど一定だったことを考えると同じアルコール類でも、その物理化学的性質によって、細胞間脂質との相互作用の仕方が異なるといえる。以上の結果から、製剤開発において、主成分の作用する部位に合わせた製剤成分の選択により、効果を高めることができる可能性が示唆された。

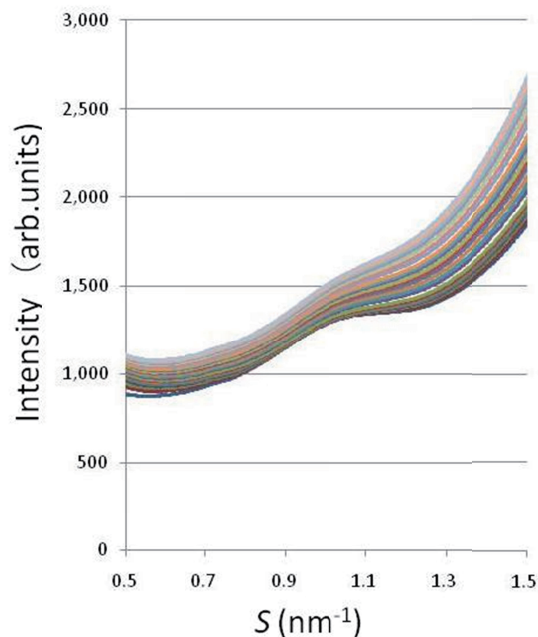


図1 NMPの適用による角層の中角X線回折プロファイルの変化

(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。)

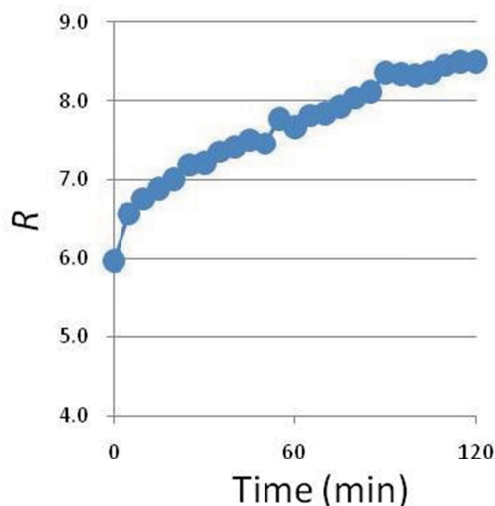


図2 IPAの適用による $S=2.4 \text{ nm}^{-1}$ および $S=2.7 \text{ nm}^{-1}$ の積分強度比(R)の変化

今後の課題：

これまでに製剤に繁用されてきた成分の角層への影響について直接かつ定量的に調べた研究は報告例が少ない。しかしながら、今回の実験からは製剤成分の適用により生じる角層表面の変化は成分によって大きく異なる可能性が示されたことから、製剤の主成分の目的とする作用部位に変化を与える成分を戦略的に配合すれば、より効果の高い製剤が開発できると考えられる。

参考文献：

- [1] I.Hatta, H.Nakazawa, Y.Obata, N.Ohta, K.Inoue, N.Yagi, *Chem.Phys.Lipids.*, **163**, 381-389 (2010).
- [2] Y.Obata, I.Hatta, N.Ohta, N.Kunizawa, N.Yagi, K.Takayama, *J.Contr.Rel.*, **115**, 275-279 (2006).