

PLGA ナノ粒子技術による育毛の新たなエビデンス

New Evidence of Hair Growth with PLGA Nano-Sphere Technology

東郷 智美¹, 高田 真穂¹, 笹井 愛子¹, 辻本 広行², 山本 浩充³

¹ ホソカワミクロン株式会社 マテリアル事業本部 製薬・美容科学研究センター

² 同 取締役, 執行役員, マテリアル事業本部長

³ 愛知学院大学 薬学部 教授

Tomomi TOGO¹, Mao TAKATA¹, Aiko SASAI¹, Hiroyuki TSUJIMOTO², Hiromitsu YAMAMOTO³

¹Pharmaceutical & Beauty Science Research Center, Material Business Division, Hosokawa Micron Corporation, JAPAN

²Material Business Division Director, Director & Operating Officer, Hosokawa Micron Corporation, JAPAN

³Professor, School of Pharmacy, Pharmaceutical Engineering, Aichi Gakuin University, JAPAN

抄 録

「PLGA ナノ粒子を利用したナノ DDS 型の育毛剤」は、それを利用しない従来技術製剤に比べて高い育毛実感を得られやすい。本稿では、その効果の裏付けデータとなる *in vitro* (細胞試験) 検証結果を報告する。本細胞試験では、育毛に欠かせない毛周期の正常化や毛包形成・成長において中心的な役割を担う毛乳頭細胞を用い、細胞賦活や育毛促進を司る遺伝子の発現、並びに脱毛に関連する遺伝子発現の抑制作用について評価している。結果として、育毛成分を封入した PLGA ナノ粒子では毛穴深部まで育毛成分を浸透させ、作用部位で持続的にその効果を発現させることができるため、毛乳頭細胞が賦活化し、毛周期の正常化や毛包形成の促進、血流促進、休止期移行 (脱毛) 防止といった育毛ケアにとって必要かつ重要な作用が増強されていることが明らかになった。

ABSTRACT

The “Nano DDS-type hair-growth agent with PLGA nanospheres” is our core technology and has a high hair-growth effect, and has been actually used for hair growth in humans. In this report, we present the results of an *in vitro* test using dermal papilla cells, which play a central role in the normalization of the hair cycle, which is essential for hair growth, and in the formation and growth of hair follicles. In experiments using cells, we evaluated cell activating effects, gene expression of hair growth-promoting factors, and expression-suppressing effects of genes related to hair loss. The results showed that PLGA NS, which contains hair-growth components, has effects on the activation of papilla cells, normalization of the hair cycle, promotion of hair follicle formation, promotion of blood flow, and prevention of telogen effluvium transition (hair loss). These effects indicate that PLGA NS is an extremely useful delivery technology that allows hair-growth ingredients to penetrate deep into the pores and remain at the site of action for a sustained effect.

1 はじめに

育毛剤の開発は1980年代から化粧品会社を中心に進み、主に医薬部外品として市場が形成されてきた。当社は2004年より、コア技術で高い毛穴浸透性と効果持続性に優れた独自のPLGA（乳酸・グリコール酸共重合体）ナノ粒子（PLGA NS）を応用した「ナノDDS型育毛剤」の開発を進め、製品を上市している。

近年コロナ禍に拡大してきた育毛剤TVCMの影響や定着化したオンライン会議で自身の頭髪を意識しだしたビジネスパーソンの急増などによって育毛剤を購入する動きが活発化しており、発毛・育毛剤を含む国内ヘアケア市場は広がりを見せている。ターゲットは壮年・老年男性だけでなく女性向けや若年者向けなどへも拡大し、育毛剤の社会的役割は高まっている。

ナノDDS型育毛剤は高い育毛効果を実感できる育毛剤としてユーザーの期待に応えてきた。現在上市されている製品もヒトモニター試験評価結果（毛髪径の増大や単位面積あたりの毛髪数の増加）等により確かなエビデンスを示してきた^[1]（図1）。しかしながら、ナノDDS型育毛剤の効果が、育毛や脱毛の仕組みに対してどのように作用しているかについては、十分な検証はなされていなかった。そこ

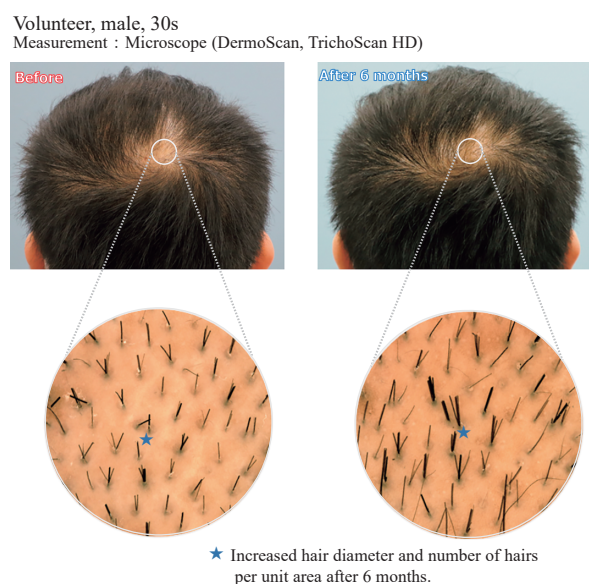


図1 モニター試験結果
Fig. 1 Results of the clinical study.

で、本稿ではこれまでの *in vivo*（ヒト）効果の裏付けとなり得る *in vitro*（細胞試験）試験結果について報告する。

2 育毛剤と育毛効果

2.1 育毛剤と育毛効果

育毛剤は「脱毛の防止及び育毛を目的とする外用剤」と定義され、その効果には直接的作用と間接的作用がある。直接的作用とは毛包由来細胞などの増殖や賦活により毛周期を正常化、活性化させつつ育毛や発毛促進を促していくものである。他方、間接的作用では男性ホルモン作用の阻害や血流促進、炎症抑制などの間接的な方法で毛の成長や頭皮に良い環境を構築して育毛効果を得るものである。育毛効果の最適化には両作用を踏まえたアプローチが重要であり、当社では多角的な視点で育毛作用力を高めうるアプローチを重ね、PLGA ナノ粒子技術を最大限活用した新たな育毛剤製品の開発を進めてきた。

2.2 毛周期と毛包細胞

毛髪（毛幹）は皮膚の付属器官である毛包でつくられる（図2）。毛包は成長期、退行期、休止期からなる毛周期（ヘアサイクル）を形成しており、一定周期で組織の再生と退縮を自律的に繰り返し、周期ごとに毛の世代が交代する（図3）。成長期は毛母細胞が盛んに増殖して毛が伸長するが、退行期は毛母細胞の細胞分裂が停止し、アポトーシス（細胞

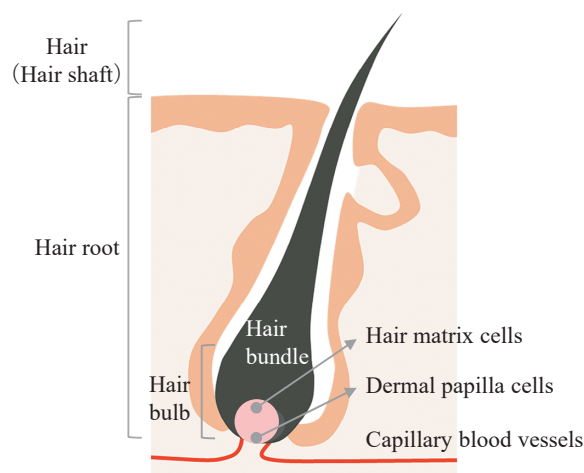


図2 毛髪の構造
Fig. 2 Hair structure.

死) が起こり毛の成長が止まる。成長期の短縮や退行期への誘導が脱毛の一因であるため、脱毛防止には毛周期の正常化が必須である。そして育毛には退行期から成長期への移行促進や成長期の維持が重要であることは明らかである。

毛包はいくつかの細胞から構成されるが、主に上皮系細胞と間葉系細胞の2種に大別される。それぞれに代表される細胞は、毛母細胞と毛乳頭細胞である。毛の成長は、この上皮系細胞と間葉系細胞との相互作用により維持、進行していく。毛が伸長して太く長い毛を形成する成長期では、上皮系細胞が増殖・分化するが、退行期へ移行する際、上皮系細胞にアポトーシスが起こり、増殖が停止する。毛の長さは成長期期間の長さに、そして毛の太さは毛包の

大きさにそれぞれ比例するが、毛包も成長期期間の長さに比例して大きくなるので、太く長い毛の形成には上皮系細胞の増殖と分化が重要である。

この上皮系細胞の増殖と分化の「司令塔」、すなわち毛包再生や毛周期の移行において中心的な役割を果たすのは、間葉系細胞である毛乳頭細胞である。毛乳頭細胞は、毛包最底部に存在し、毛包上皮幹細胞を活性化させるシグナルを送っている。毛乳頭細胞から毛包上皮に働くシグナルについても解明が進められてきており、毛包再生の誘導、成長期誘導、成長期の活性化および維持、退行期への移行阻害などにかかわる多くの重要なシグナル因子や遺伝子が判明してきている(図4)。また毛乳頭細胞の数が、毛包上皮細胞の細胞数や毛幹の太さを決定するとも

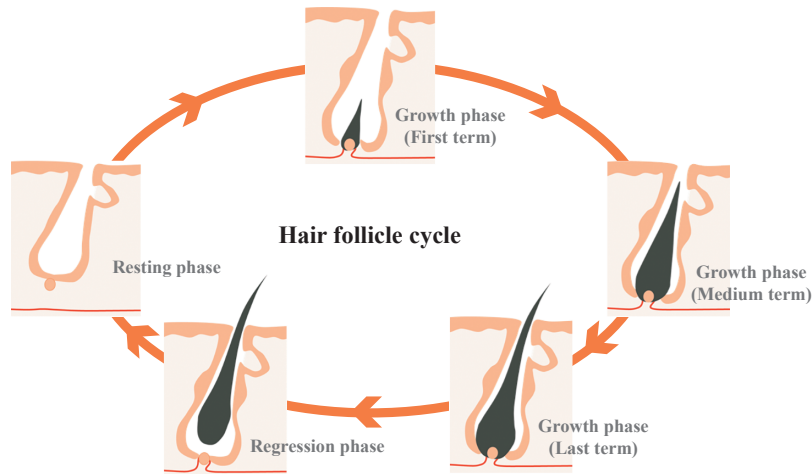


図3 毛周期
Fig. 3 Hair follicle cycle.

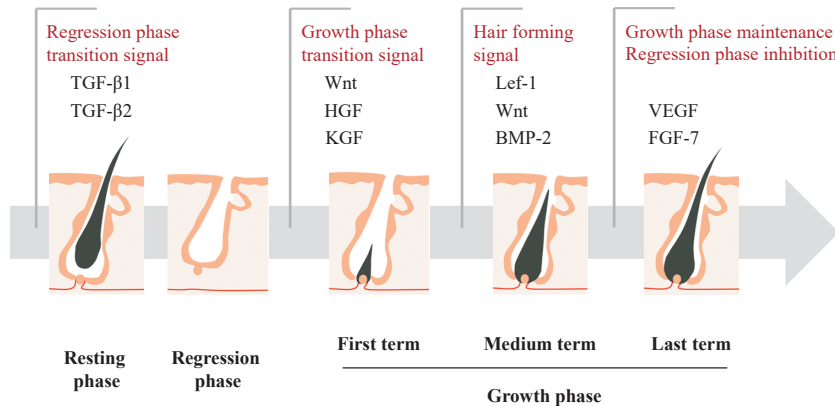


図4 毛乳頭細胞における毛周期に関わるシグナル
Fig. 4 Signals involved on the hair cycle in dermal papilla cells.

考えられており、育毛効果の向上には、塗布する育毛成分が毛乳頭細胞の増殖（賦活作用）や毛周期の正常化に寄与するものでなければならない。

3 当社の機能性育毛剤

3.1 PLGANS によるナノ DDS 型育毛剤の開発

PLGA は乳酸とグリコール酸がエステル結合によりランダムに共重合した直鎖状の生体適合性ポリマーである。このエステル結合部位は水の共存下において容易に加水分解し、最終的には水と炭酸ガスへと分解された後、体外に排出されるため、理論上安全な DDS (ドラッグデリバリーシステム) 材料である。医療分野では前立腺・乳がん用長期徐放性の皮下埋込み型注射製剤 (リュープリン[®], 1989 年上市, 武田製薬工業) のマイクロ粒子 (約 30 μm) 基剤として長年臨床応用されており、DDS としての有用性と安全性が実証されている。

当社の PLGA NS は直径約 140 nm と、上記製剤に比べ微細である。そのため毛穴 (穴の口径は数 10 μm) への高い浸透性を示す。そして、添加される液水分や、毛穴や皮膚の水分によって徐々に加水分解しながら粒子内に封入した育毛成分を継続的に徐放するため、毛穴の深部で高い育毛作用の発現が期待できる^[2,3] (図 5)。我々はこれまで PLGANS を応用した化粧品や医薬部外品を開発してきた経験から、DDS 機能 (浸透ターゲティング, 効果の持続性) の優れたスキンケア・ヘアケア製剤を上市し、現在 8 代

目の自社ブランド育毛剤を販売し、育毛実感が得られる育毛剤としてユーザーから評価を頂いている。

3.2 毛乳頭細胞を用いた育毛効果の検証

上記のような背景のもと、毛乳頭細胞による育毛 (脱毛防止) に対してナノ DDS 型育毛剤がどのように作用するのかについて検証することとした。

当社のナノ DDS 型育毛剤の PLGA NS には、ポタンエキス (毛乳頭細胞賦活), カッコネエキス (成長期移行シグナル増強), ゴボウエキス (血流促進) など、前述した毛乳頭細胞の育毛 (脱毛防止) 作用に効果が期待される成分を封入している。これらの効果成分は PLGA NS に封入されたまま毛穴深部まで浸透し、PLGA NS の優れた細胞内移行性によって毛乳頭細胞内に取り込まれ、この細胞内で封入された成分が徐放するものと考えられる。すなわち、封入成分が細胞内に直接働きかけることのできる育毛剤であり、高い効果が期待される所以である。PLGA NS の細胞内移行性については、ヒト皮膚細胞を用いた研究で実証されている^[4,5]。皮膚線維芽細胞 (Normal Human Dermal Fibroblasts: NHDF) を用いた実験では、蛍光成分を単体で使用した場合に比べ、蛍光成分 (蛍光標識-P) を封入した PLGA NS は約 1.5 倍高い細胞内移行性を示した (図 6)。

次に、毛乳頭細胞を用いた育毛 (脱毛防止) 効果の検証を行った。評価した育毛促進作用として、細胞賦活や毛周期において休止期から成長期へ誘導する増殖因子である「Wnt」「HGF」「KGF」、成長期

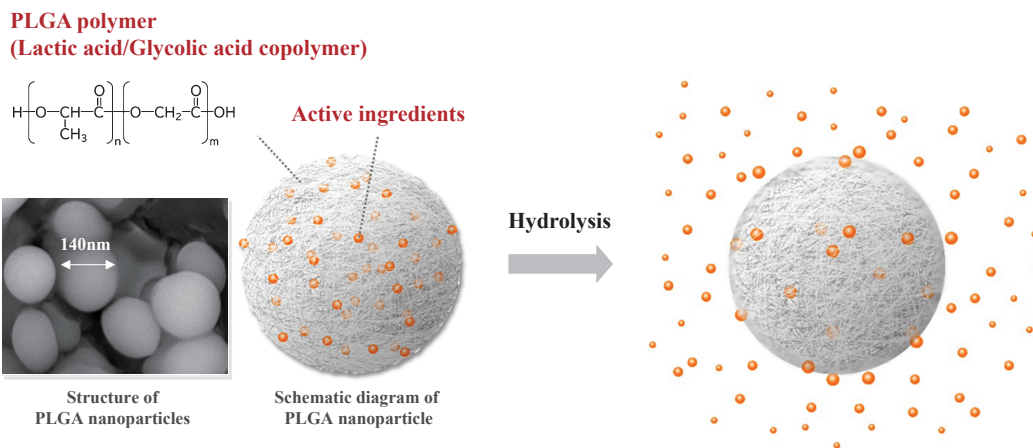


図 5 PLGANS の構造
Fig. 5 Schematic diagram of PLGANS.

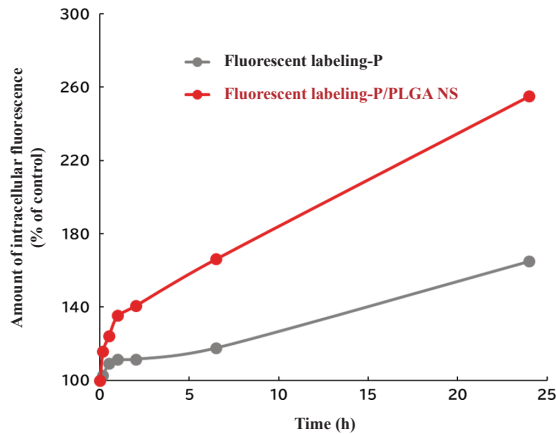


図6 PLGA NS の細胞内移行性
Fig. 6 Intracellular translocation of PLGA NS.

移行後に毛母細胞の増殖と分化を促進し血流促進により成長期の維持や退行期への移行阻害に働く「VEGF」「FGF-7」、成長期において毛母細胞の増殖・分化を促し毛包形成を進行させる「Lef-1」「Wnt」「KGF」「BMP-2」、毛乳頭細胞の細胞外基質として細胞の機能維持に働く糖タンパク質複合体である「VCAN」の各遺伝子発現の増加・増強作用について評価した。一方、育毛を抑制する作用としては、男性ホルモンにより惹起される退行期への移行シグナルである「TGF-β1」「TGF-β2」の遺伝子発現阻害を評価した (図7)。

3.3 検証結果と効果に関する考察

ヒト毛乳頭細胞 (Human Follicle Dermal Papilla Cells: HFDPC) を用いてナノ DDS 型育毛剤の細胞増殖能を測定 (WST 法) し、細胞賦活作用ならびにリアルタイム PCR 法を用いた、育毛促進作用を示す因子の遺伝子発現促進効果、抑制因子の遺伝子発現阻害効果について評価した。得られた結果を、それぞれ 図8、図9、図10 に示す。

PLGA NS は、Control (基礎培地) と比較し約 150% の毛乳頭細胞増殖作用が確認された (図8)。さらに、育毛促進作用を示す各遺伝子において発現の増加が見られ、特に成長期移行シグナルである「Wnt」、毛母細胞の増殖・分化に働く「Lef-1」「KGF」、血流促進により毛包形成を促す「VEGF」は Control と比べ3倍以上増加していた (図9)。一方、細胞外基質である「VCAN」については、有意な発現量の増加は認められなかった。

これらの結果から PLGA NS に封入した育毛剤が、毛乳頭細胞において成長期移行や毛包形成、血流促進の効果を発揮していることが明らかになった。これは、前述の細胞内移行性に起因し、PLGA NS により封入成分が毛乳頭細胞に直接作用している可能性が高い。

また育毛効果として「Lef-1」は毛母細胞の増殖・分化だけでなく「Wnt」シグナルの下流に位置し、毛包発生の起点となる転写因子としても知られてい

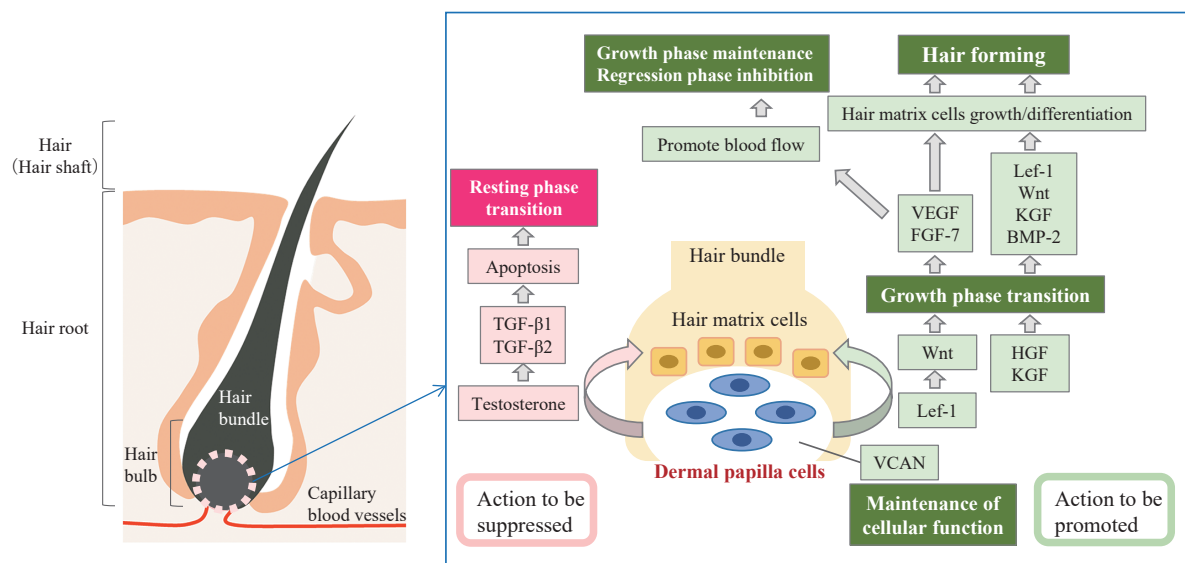


図7 本実験で検証した育毛作用
Fig. 7 Hair growth action verified in this study.

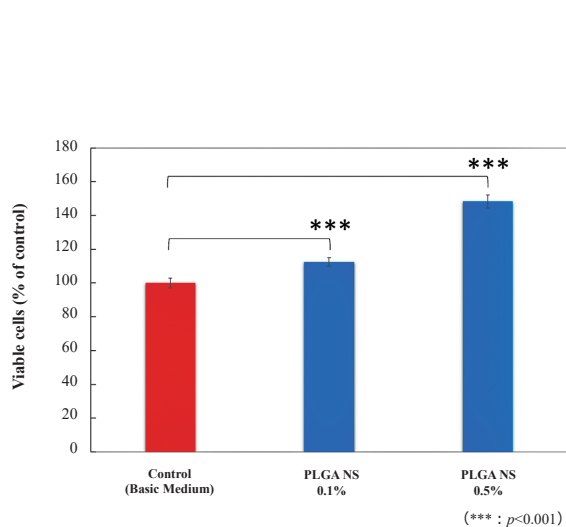


図 8 PLGA NS による毛乳頭細胞増殖促進作用

Fig. 8 The promotes growth of hair papilla cells by PLGA NS. Viable cells were measured after incubation for 24 hours.

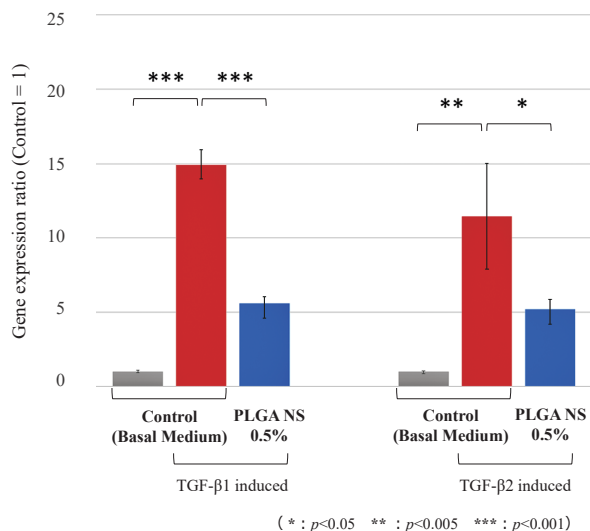


図 10 PLGA NS による毛乳頭細胞の遺伝子発現抑制作用

Fig. 10 The suppresses gene expression of hair papilla cells by PLGA NS. Gene expression were measured 24 hours after induction.

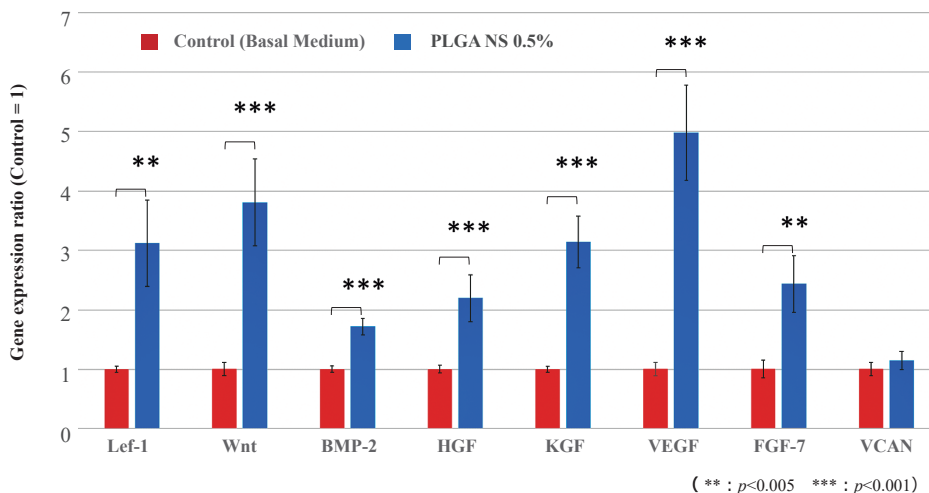


図 9 PLGA NS による毛乳頭細胞の遺伝子発現促進作用

Fig. 9 The promotes gene expression of hair papilla cells by PLGA NS. Gene expression were measured after incubation for 24 hours.

る。そのため PLGA NS が特に成長期移行に強く作用することで、毛周期の正常化に寄与している可能性が示唆された。

さらに、発現を誘発させ増加した脱毛因子である TGF-β1 および TGF-β2 に対し、PLGA NS がそれらの発現量を大幅に減少させており (図 10)、成長期への移行促進だけでなく、退行期への移行に対しても抑制的に働き、脱毛を防止する効果を有することが検証された。

4 おわりに

本検証により、「PLGA ナノ粒子を配合したナノ DDS 型育毛剤」では毛乳頭細胞の育毛 (脱毛防止) 機能につながる重要な過程において、毛乳頭細胞の賦活化、毛周期の正常化、毛包形成の促進、血流促進、休止期移行防止に作用することが明らかとなり、ヒトでの育毛効果 (毛髪径の増大や単位面積あたり毛髪数の増加) や育毛実感の裏付けとなるエビデ

スを得ることができた。そして PLGA ナノ粒子が育毛剤製剤において極めて有用なデリバリー技術として機能し、育毛効果を最大限に引き出していることが示唆された。

今後は、本知見をベースにさらに研究を重ね、より効果の高いナノ DDS を応用した育毛剤を開発していく。

References

- [1] Tanaka M., Ochi A., Sasai A., Tsujimoto H., Development of New Hair Tonics Containing PLGA Nanoparticles, *The Micromeritics*, 66 (2023) 65–71. 田中 萌, 越智 綾香, 笹井 愛子, 辻本 広行, “PLGA ナノ粒子を利用した育毛剤の開発”, *粉砕*, 66 (2023) 65–71. <https://doi.org/10.24611/micromeritics.2023014>
- [2] 辻本 広行, 安武 愛子, 坂東 容平, 三羽 信比古, 川島 嘉明, “化粧品原料としての PLGA ナノ粒子の特徴”, *Cosme Tech Japan*, 1 (2011) 77–84.
- [3] Tsujimoto H., Hara K., Yokoyama T., Yamamoto H., Takeuchi H., Kawashima Y., Akagi K., Miwa N., Huang C.C., Percutaneous absorption study of biodegradable PLGA nano-spheres via human skin biopsies, *Journal of the Society of Powder Technology, Japan*, 41 (2004) 867–875. 辻本 広行, 原 香織, C.C. Huang, 横山 豊和, 山本 浩充, 竹内 洋文, 川島 嘉明, 赤木 訓香, 三羽 信比古, “球形晶析法で調製した乳酸・グリコール酸共重合体ナノスフェア (PLGA NS) の経皮浸透性評価”, *粉体工学会誌*, 41 (2004) 867–875. <https://doi.org/10.4164/sptj.41.867>
- [4] Suzuki T., Sasai A., Tsujimoto H., Yasunaga T., Ogawa N., Yamamoto H., New Hair Growth Application of the PLGA NP Processing Accelerated Production of Type XVII Collagen, *The Micromeritics*, 64 (2021) 62–68. 鈴木 貴弘, 笹井 愛子, 辻本 広行, 安永 峻也, 小川 法子, 山本 浩充, “17 型コラーゲン産生促進効果を有する PLGA ナノ粒子の新型育毛剤への応用”, *粉砕*, 64 (2021) 62–68. <https://doi.org/10.24611/micromeritics.2021014>
- [5] Ochi A., Suzuki T., Sasai A., Tsujimoto H., Verification of anti-wrinkle effect by PLGA nanoparticles, *The Micromeritics*, 65 (2022) 80–85. 越智 綾香, 鈴木 貴弘, 笹井 愛子, 辻本 広行, “PLGA ナノ粒子によるシワ改善の有効性検証”, *粉砕*, 65 (2022) 80–85. <https://doi.org/10.24611/micromeritics.2022016>