

PLGAナノ粒子によるスカルプケア，スキンケア技術と商品開発 Developments of Skincare and Scalp Cosmetic Technologies Using PLGA Nanoparticles

辻本 広行

Hiroyuki TSUJIMOTO, Dr.

株式会社 ホソカワ粉体技術研究所 美容科学研究所 所長
Laboratory Manager, Beauty Science Laboratory,
Hosokawa Powder Technology Research Institute

1. はじめに

DDS（ドラッグデリバリーシステム）は、1）必要な薬物を必要な部位にデリバリーすること（ターゲティング）、2）必要な量、必要な速度で投与すること（コントロールリリース）、3）安全、確実に吸収させること（吸収改善）の要素からなっており、その応用分野は多岐にわたっている。当社では生体適合性・生体内分解性の乳酸グリコール酸共重合体（PLGA）のナノ粒子の機能性に着目し、DDS製剤・医療デバイスや機能性化粧品の開発に応用している。

本誌ではDDS製剤・デバイス開発について紹介後、スキンケア化粧品への応用を概説する。美容成分を封入したPLGAナノ粒子を皮膚に塗布すると、従来技術では困難であった皮膚深部への美容成分の送達ができ、かつ粒子の加水分解に伴う封入成分の徐放により、皮膚深部で持続的なスキンケア効果が得られる。本技術はさまざまなスカルプ・スキンケア化粧品への応用が可能になってきている。

2. PLGAナノ粒子を用いたDDS製剤，デバイス開発

PLGAをナノ化してその中に薬物を担持・封入させ、体内の必要な場所（患部）へ送達し、そこでPLGA自体の加水分解に伴う持続的な薬物放出により治療効果を高めようとするDDS技術が研究されている。近年では疾患発症要因の最上流に位置する標的遺伝子の発現を制御するデコイオリゴヌクレオチドや

small interfering RNA (siRNA)、アンチセンス等の核酸医薬品は標的分子に対して特異性が強いことから副作用なしに強い薬理作用を有する医薬品となりうると期待を集めているが、酵素等に対する安定性や細胞膜透過性が低く、実用製剤の作製にPLGAナノ粒子をキャリア粒子¹⁾として利用する研究が進んでいる。すなわち、PLGAの高分子マトリックス内へ物理化学的な手法により核酸薬剤を封入し複合体にして投与することで体内及び細胞内の動態を制御して治療効果を高めることができると期待されている。

当社はこれらの基礎技術を導入し、現在いくつかの大学等と「肺がん・肺繊維症・肺高血圧症」、「アトピー性皮膚炎・乾癬」、「心筋梗塞・心臓病（薬剤溶出ステントによる経皮的冠動脈血行再建術）」等の治療のための医療システムの構築を進めている。

PLGAナノ粒子を実際の投与ルートに即した製剤にしていくには、このナノ粒子の諸機能を消失することなく予め機械的にナノコンポジット化しておくための粒子加工技術がきわめて重要となる。特にPLGAはガラス転移点が45℃程度と低く、加水分解性でもあるので粉末バルクとしては保存安定性が良くない。そこでナノ粒子の長所は生かしながら短所をカバーする手法として、賦形剤等がマトリックスでPLGAナノ粒子が分散相として構造制御されたマイクロサイズのPLGAナノコンポジット粒子が開発された。これにより通常の製剤バルクとして取扱えるようになってきた。このPLGAナノコンポジット粒子は水と用時混合するとマトリックスが即溶しナノ粒子がすぐさま再生されてナノ粒子本来の機能が発揮されるため、従来

の溶液やミクロン粒子を使った場合よりも吸収性や徐放性、安定性に優れた製剤となる。図1はPLGA ナノ粒子の水中再生分散時の粒度分布と写真およびPLGA ナノコンポジット粒子の模式図を示す。

2.1 PLGAナノ粒子を利用したナノメディシンに関する研究例

1) 機能性化粧品への応用

PLGA ナノ粒子は肺（経肺製剤）や腸壁（経口製剤）からだけでなく皮膚（経皮製剤）からも吸収しやすいことがヒト皮膚摘出片を用いた実験からも明らかにされている²⁾。図2は蛍光物質クマリン6を微細化し水に分散させて皮膚に塗布した場合とPLGA ナノ粒子へ封入し、それを分散塗布した場合の比較を示す。後者の方がはるかにクマリン6の吸収性が良く表皮から真皮まで達しており、しかも4時間経過してもそれが滞留していることが伺える。同様に図3ではPLGA ナノ粒子にビタミンC誘導体を封入しそれを水に分散させて塗布すると、ビタミンC誘導体を単に水中分散（乳化）して塗布した場合よりも真皮に吸収されたビタミンC量ははるかに大きくなった。しかもその効果が持続するためにビタミンCの積算効果は10倍以上になっている。このようにPLGA ナノ粒子は角質内へ分配され、内包成分を真皮へと拡散し、薬物の経皮送達性を向上させる²⁾。

著者らはこの特徴を利用して、PLGA ナノ粒子を用いた美白美容液「ナノクリスフェア」（図4）や頭皮料「ナノインパクト」を上市³⁾した。高齢社会が急激に進行している現在、“しみ、しわ、たるみ、脱毛”

などの肌・毛髪の老化に起因する症状に対し、アンチエイジングケアプロダクトとしてのこれら機能性化粧品の社会的役割や意義は今後とも大きなものになるものと考えている。本応用の詳細は後記する。

2) 経皮製剤への応用

PLGA ナノ粒子による薬物の経皮吸収性の向上を利用したDDS製剤の検討例として、人工核酸NFkB Decoy Oligodeoxynucleotide (NDON, 分子量約14,000)を封入したPLGA ナノ粒子は難治性抗アトピー性皮膚炎DDSとして、優れた表皮・真皮細胞（肥満細胞（マスト細胞））内移行性を有し、従来型の製剤に比べ著効が示されている。

このNDONとは炎症に関するサイトカインやアポトーシス抑制因子の遺伝子発現を誘導する転写因子NFkBに、“おとり”となって細胞質内で特異的に結合しうる配列をもつ20塩基対のDNAである。この結合によりNFkBの核内移行は妨げられるので、NFkBを介した炎症関連遺伝子の発現が抑制され、炎症が沈静化⁴⁻⁷⁾する。炎症が病態の主たるメカニズムであるアトピー性皮膚炎、炎症性腸疾患、大動脈瘤は従来治療では未だ治療困難な疾患であるがNDONの治療薬剤としての有用性が報告されている。とくに抗アトピー性皮膚炎は動物実験や臨床研究で明らかにされ、現在アンジェスMG社により臨床治験（第2フェーズ）が行われている。NDON配合ワセリン軟膏製剤の臨床例では、重症顔面病変や掻爬による糜爛局面など角質層が薄いかそれが欠落している部位での治療効果は高いものの、体幹や四肢等の皮膚・角質層バリアーが

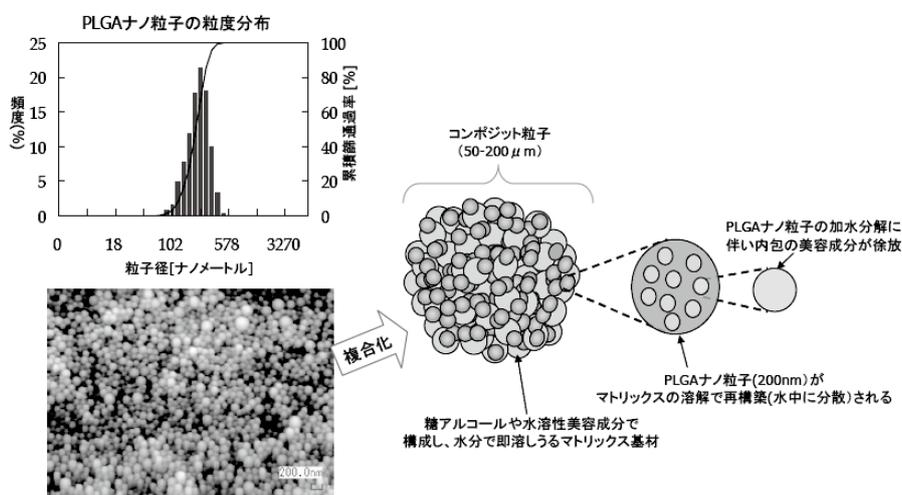
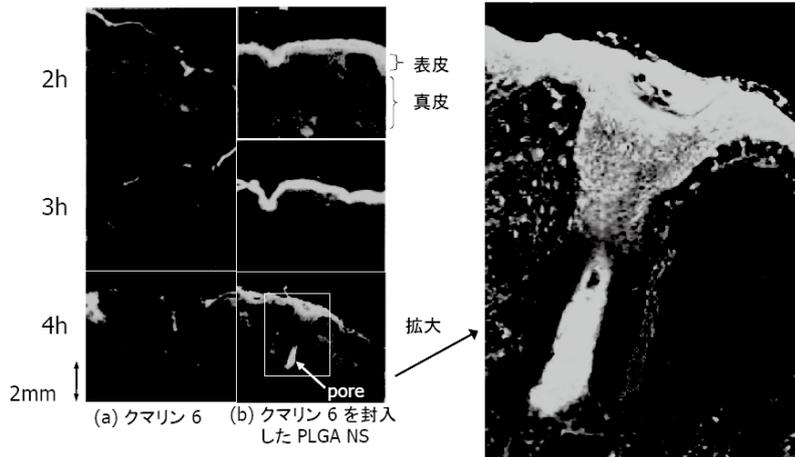
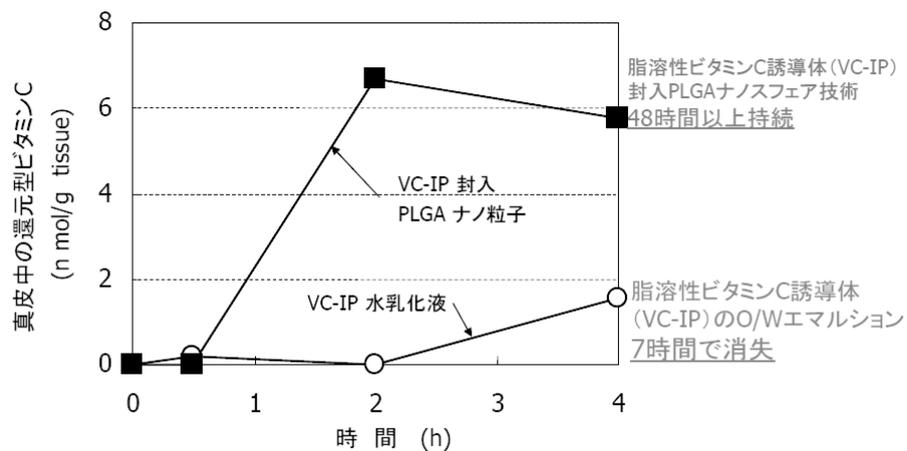


図1 PLGA ナノ粒子の水中再生分散時の粒度分布と原子間力顕微鏡写真及びナノコンポジット粒子の構造模式図



(a) クマリン 6 (conc.10wt%) の水分散液 (界面活性剤: Pluronic F68 0.5wt%)。塗布量: 0.3ml。
 (b) クマリン 6 封入 PLGA ナノ粒子の水分散液。PLGA ナノスフェアの濃度は0.2wt%
 クマリン 6 の PLGA 内の封入率は0.05wt%。
 クマリン 6 の水中濃度は0.0001wt% (10万分の1 封) (a) 塗布量: 0.3ml。
 ヒト皮膚摘出片 (35歳女性, 脇下部 / 6個の小片に分割)
 註) 角質層 (皮膚表面から~0.01mm), 表皮 (同~0.1mm), 真皮 (同~1.7mm)
 (写真 & 評価: 県立広島大学・環境資源学部 / 三羽研究室)

図 2 ヒト皮膚摘出片を用いた PLGA ナノ粒子の浸透性の比較



(ヒト皮膚摘出片: 52歳女性・上脛) (写真 & 評価: 県立広島大学・環境資源学部 / 三羽研究室)

図 3 真皮中で VC-IP から変換されたアスコルビン酸(還元型ビタミンC)量の比較

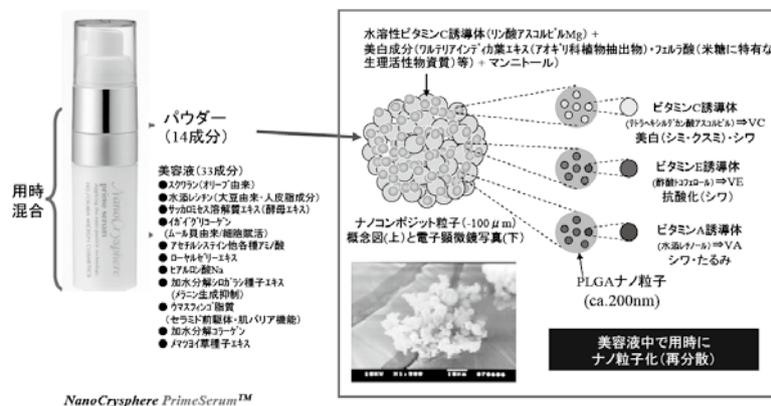


図 4 PLGA ナノ粒子配合スキンケア商品 ナノクリスフェア プライムセラム™ の機能性 PLGA ナノコンポジット粒子の構造

存在するところでは全身はもちろんのこと、局所においても標的部位、細胞に薬効の発現に必要な量のNDONが送達できないと危惧されている。

NDONの標的組織や細胞への取り込み効率を改善していくにはDDSが必要でありPLGAナノ粒子の適用研究⁸⁾が進行中である。経皮投与時のNDONの取り込み効率は、マウス/Ovalbumin(OVA)誘発遅延型アレルギー(DTH)モデルが用いられ、DTH反応を有意に抑制できたNDON含有単純ワセリン軟膏の最小有効濃度は1.5~2.0%であった。これに対して、NDON含有PLGAナノ粒子(PLGAナノ粒子の内部と表面にNDONを担持した粒子⁹⁾)のクリーム製剤では0.2%以下の濃度であった。このことからNDON製剤のコストを抑えつつ、皮膚バリアー能の高い箇所への適用拡大の可能性が示唆されている。

3) 経肺製剤への応用

糖尿病疾患用インスリン封入PLGAナノコンポジット製剤を経肺全身循環ルートで送達させる方法として、インスリン封入PLGAナノ粒子(200nm)/糖アルコール系のナノコンポジット製剤が開発され、ビーグル犬に吸入させた実験¹⁰⁾では、血中グルコース濃度下面積は皮下注射の3.5倍に当たり高い薬理効果と持続性が示された。これはインスリンをPLGAナノ粒子に封入し徐放化できたことと、コンポジット化により即効吸収性部位の肺胞へ効果的に送達され局所でナノ粒子が再生できたことによると考えられている。肺局所DDSとしては、細気管支上皮、肺胞上皮、肺損傷、線維化部位、あるいは肺癌細胞に対し、特異的に標的分子を制御する方法として、siRNAやplasmid DNAを封入したPLGAナノ粒子を新規な噴流層バイナグレス造粒法¹¹⁾で粉末吸入製剤(DPI)用のコンポジット製剤にして、経肺投与型DDSで核酸を直接疾患部位へ送達させうる新技術の開発を進めている。また、PLGAナノ粒子のDPI製剤の実用に向けては経肺ルートの体内動態を細胞・組織学的に評価しているところである¹²⁾。

4) 医療デバイス(ステント)への応用

PLGAナノ粒子は細胞に取込まれやすいことが知られている。たとえば、江頭らは非貪食細胞である血管平滑筋細胞や血管内皮細胞に対してもPLGAナノ粒子が効率よく取込まれることを見出し^{13, 14)}、この特徴を利用してステントのほかに虚血性疾患(冠動脈疾

患¹⁵⁾、重症下肢虚血¹⁶⁾)への応用も進めている。

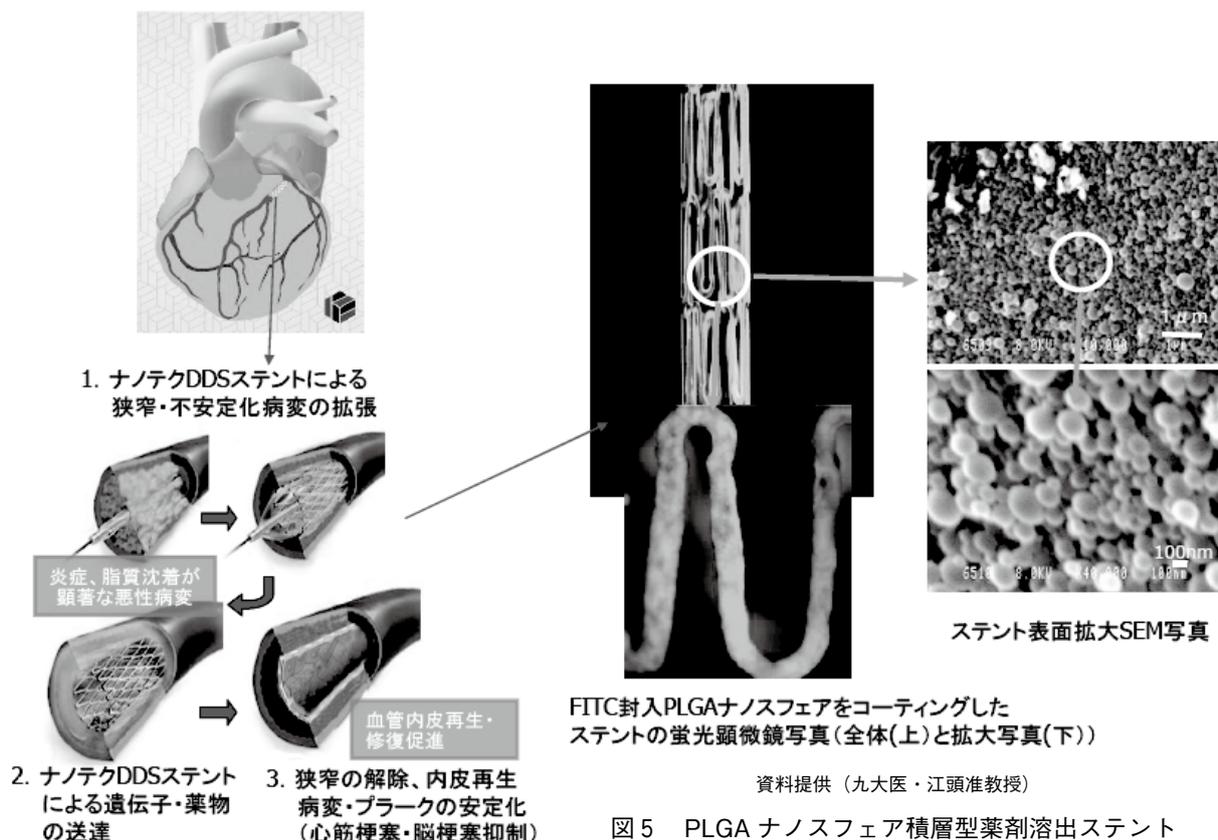
ステントは冠動脈の狭窄防止に用いられるデバイスであるが、江頭らはこのステント表面をPLGAナノ粒子で積層・固定化¹⁷⁾した画期的な薬剤溶出ステント(DES; Drug Eluting Stent, 図5)の開発を進めている^{13, 14)}。

経皮的冠動脈形成(血行再建術, PCI)は、日本国内で年間15万例、世界的に年間150万例以上実施されており、ステントによる治療が85%を占めている。通常のベアメタルステント(BMS; Bare Metal Stent)留置術では20-30%の割合でいったん拡張した血管内腔は新生内膜の過増殖等により狭窄し、狭心症や急性心筋梗塞の再発を来す。この再狭窄率は免疫抑制剤(シロリムス/CypherTM, 2003年FDA認可, 日本2004年認可)や抗がん剤(パクリタキセル/TaxusTM, 2004年FDA認可)がコーティングされたDESの出現により劇的に低下し¹⁸⁾、現在では世界的にDESが普及している。しかしながら、DESでは内膜増殖(血管平滑筋細胞)の抑制とともにステント留置部位の内皮細胞にも非特異的な抗増殖作用を示すため、再内皮化が遅延し、それに伴う晩期ステント内血栓症の頻度はBMSに比べ高いという有害事象が報告¹⁹⁾されていて近年大きな問題となっている。

現状のステントへの薬剤/ポリマーコーティング技術では、脂溶性高分子がマトリックス機剤であるので親水性薬剤(核酸・遺伝子含む)のコーティングは容易ではなく、今後、再内皮化や繊維性癒着も抑制せず、新生内膜の増殖のみを抑制するような薬剤の組合せや溶出のタイミングなどの改良が求められている。

これらの諸課題に対し、考案されたコーティング法では、キトサン修飾PLGAナノ粒子に核酸・遺伝子や水溶性薬剤を封入し、このナノ粒子の懸濁液中に金属ステントを浸し、直流を通電して電気泳動でステント表面(-)にナノ粒子(+)を積層させる。従来型DESの薬剤コーティングは単に薬液にステントを浸す“ディップ方式(受動的コーティング)”やスプレー方式であったため複雑な形状のステント表面への均一コーティングは難しかったが、本法では均一コーティングが可能となった。また、電流やナノ粒子の表面電荷を調節することでナノ粒子上のコーティング層の厚さ、薬剤の量を能動的に制御でき、複数薬剤を用いた多層コーティングなども考えられる。

本法で江頭らはDESを試作し次の研究成果を報告している^{13, 14)}。本DES(図6, 例えば長さ15mmス



ステンレス製 (SUS316L) マルチリンク様ステント) の表面を SEM 観察すると, PLGA ナノ粒子の粒子形状が壊れずに積層し固定化されていた。次に培養ヒト冠動脈平滑筋細胞の培養液にこのステントを浸したところ, ステントから遊離したナノ粒子の細胞への取込みが確認されている。従来の DES ではステント表面から徐放した薬剤が細胞内へ拡散されていくのに対し, 開発した DES では薬剤は PLGA ナノ粒子に内包されたまま細胞内へ送達され, 細胞質内で薬剤が徐放することが見出されている。本 DES をブタの冠動脈に留置する実験も行われており, ステント表面の PLGA ナノ粒子の優れた細胞内送達能と細胞内長期滞留が見出されている。新生内膜の平滑筋細胞の遊走・増殖はステント留置 7~14 日後より始まることが知られており, 従来のコーティング技術では治療標的の発現に一致した治療因子の局所送達は困難と考えられてきたが, 本 DES 技術ではそれが可能となる。また, 本 DES の開発によって送達できる薬剤の選択の幅が広がり, チロシンキナーゼ阻害薬など内膜の再生を阻害せず平滑筋細胞の増殖のみを抑制する薬剤や遺伝子を持続的に細胞内に送達できる革新的血管内医療デバイスとして現在, 開発が進められている。

3. PLGA ナノ粒子の機能性スキンケア化粧品への応用

化粧品利用における PLGA ナノ粒子の機能性と美容液や育毛剤などへの応用例を記す。

3.1 PLGA ナノ粒子の安全性

PLGA ナノ粒子としての安全性は GLP に準拠した ①単回投与毒性 (ラット LD₅₀>2,000mg/kg), ②皮膚一次刺激性試験 (ウサギ), ③連続皮膚刺激性試験 (ウサギ), ④感作性試験 (モルモット), ⑤光毒性試験 (モルモット), ⑥眼刺激性試験 (ウサギ), ⑦変異原性試験, ⑧ヒトパッチ試験, ⑨光感作性試験 (モルモット, PLGA には紫外吸収応答なし) において全て陰性結果で安全性が証明されている。年内には医薬部外品・新添加剤として承認取得が見込まれている。

本基材は皮膚内で加水分解し乳酸とグリコール酸へと分解され, 最終的には水と炭酸ガスになり排泄される。昨今ナノ粒子の体内残留性が問題視されているが本基材は体内残留がなく, 安全性に優れている。さらに化粧品基材として皮膚へ連日塗布する見地から, PLGA ナノ粒子がメラノーマ (転移性の激しい皮膚が

ん)の他臓器への転移及び基底膜の浸潤に及ぼす影響についても独自に評価しているが、メラノーマのそれらの活動を推進することはなく安全性が確認^{20, 21)}されている。

3.2 PLGAナノ粒子の皮膚浸透性

2.1 1)で記したように、PLGA ナノ粒子の皮膚浸透性は優れている。図3は朝に化粧し、紫外線の強くなる4時間後の日中時にはすでに皮膚深部に還元型ビタミンCが十分に備わっているということを意味している。すなわち、ビタミンCは紫外線由来の活性酸素を除去しうるフロントディフェンダーとして皮膚防護に供しうる。PLGA ナノ粒子の皮膚浸透性については、さらに以下の評価も行っている。

1) PLGA ナノ粒子の内包薬剤の皮膚浸透性評価 (マウス/水平拡散セル)

図6はモデル薬物として低分子量で皮膚浸透性のあるケトプロフェン(分子量254.28g/mol, 消炎鎮痛剤)を封入したPLGA ナノ粒子のラット皮膚(ヘアレスラット腹部皮膚を剃毛処理後、左右から1枚ずつ摘出(ストリッピングは行わない))に対する12時間後の透過性を水平拡散セル(面積:0.95cm²)で評価したものである。PLGA ナノ粒子で薬剤を内包(s-1~3)すると、コントロールとした薬剤単体の懸濁液(リン酸緩衝液)より皮膚浸透性は2-8倍充進した。特に浸透性はナノ粒子表面の粘膜付着性を有するキトサンを

修飾(s-2,s-3)し、かつ粒子径を小さくする(s-3)ことで高値を示した。粒子表面電荷の影響は明らかではないが、ゼータ電位は液中でのナノスフェアの分散安定性の指標となる。カチオン性なキトサン修飾ナノ粒子は特に皮膚膜表面(角質層)へと局在化し、角質層内へナノ粒子が分配されナノ粒子・薬剤の濃度が高まる結果、ナノ粒子ないし封入薬物が表皮内へと拡散し、皮膚膜を透過した結果と考えている。

2) 溶液成分の皮膚浸透性評価 (3次元人工皮膚/フラントツ型拡散セル)

PLGA ナノ粒子への封入成分の皮膚浸透性充進は前記の通りであるが、化粧品ではナノ粒子を化粧水や美容液等の液中に分散させて使用する。このときPLGA ナノ粒子と相互作用する液中水溶性成分は、ナノ粒子自体の皮膚浸透性により、浸透性は向上すると考えられる。

本評価例として、PLGA ナノ粒子の分散媒(=水あるいは美容液処方液)中に溶解できるモデル水溶性薬物(分子量157g/mol)はアミノ基を持ち、PLGA ナノ粒子のカルボキシル基とイオンの相互作用する。本薬物水溶液の透過性に及ぼすPLGA ナノ粒子添加の影響については、(1)PLGA ナノ粒子が0.5wt%となるように薬物(2.5wt%)水溶液に加えた場合と、さらに化粧品処方の影響を考慮して、(2)薬物(2.5wt%)水溶液にPLGA ナノ粒子(0.5wt%)と美容液成分のリン酸アスコルビルMg(3%)とマン

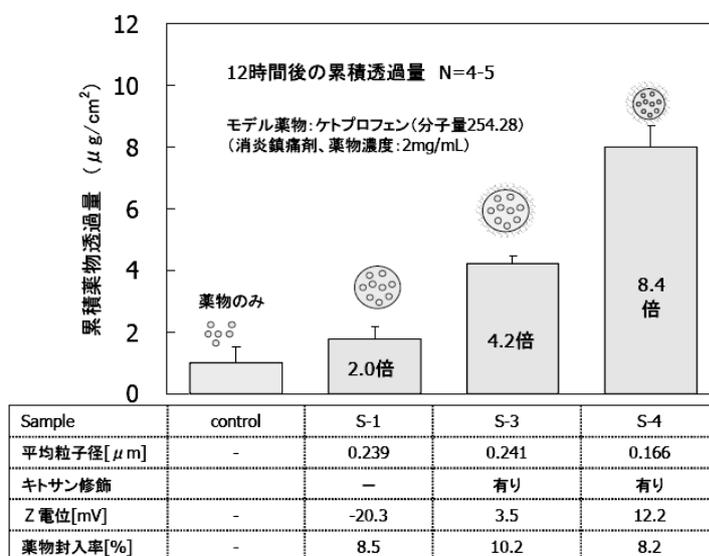


図6 PLGA ナノ粒子によるケトプロフェンの皮膚浸透・透過性評価(水平拡張セル)

ニトール (0.5%) を加えてみた場合の三次元ヒト皮膚培養モデル (TESTSKINTM (LSE, TOYOBO)) に対する透過性をフラント拡散セル (面積: 0.64cm²) で評価したところ、本薬物の皮膚透過性は PLGA ナノ粒子の添加により2.5倍亢進した。さらにリン酸アスコルビル Mg とマンニトールを加えると、ドナー溶液の浸透圧が高まるためか薬物の透過性は約4倍まで向上していた。PLGA ナノ粒子には脂溶性成分が封入しやすいが、水溶性成分でもナノ粒子と相互作用する場合には浸透性を亢進できることが示唆された。以上のような実験的検証から例えば、ビタミンC誘導体封入 PLGA ナノ粒子を顔に塗布すれば、皮膚深部へのビタミンC供給能が増し、図7のような効果が期待できる。

3.3 化粧品用PLGAナノコンポジット粒子の例

PLGA ナノ粒子の化粧品用への適用においては封入する成分により様々な特徴的な機能性ナノ粒子 (バルク) の調製が可能となっている。当社の PLGA ナノコンポジット粒子のラインナップとしては、①美白・アンチエイジング用、②敏感肌 (アトピー性皮膚炎) 用、③育毛・養毛 (男女別) 用に大別している。①ではビタミンC・E・Aの誘導体、②ではビタミンC誘導体、ステビア発酵エキス、スフィンゴミエリン (セラミド前駆体)、③では生薬エキス (キナエキス、クララエキス、ヒノキチオール)、ビタミンE誘導体、グリチルレチン酸を封入している。

これらのバルクの使用例としては当社 (ホソカワミクロン化粧品) からの美容液 (ナノクリスフェア・プ

ライムシリーズ (美白・アンチエイジング)、センシティブシリーズ (敏感肌用) と頭皮料 (ナノインパクト) 等がある。

3.4 PLGAナノ粒子のスキンケア、スカルプケア技術

1) スキンケア技術

脂溶性ビタミンC誘導体 (VC-IP) 封入 PLGA ナノ粒子は表皮下部の基底層辺りに効率良く内包ビタミンを送達させるので、美白作用 (ヒト由来メラニン産生細胞 HMV- II によるメラニン産生抑制作用やモニター試験)、しみ・しわの改善・抑制効果 (高速シワ人為的生成システムによる評価^{22, 23)}) のあることが検証されている。

ヒト由来メラニン産生細胞 HMV- II を用いて評価した VC-IP 封入 PLGA ナノ粒子配合美容液 (ナノクリスフェアプライムセラム) の美白効果の結果を図8 (上段) に示す。HMV- II は茶葉含有カフェイン様物質であるテオフィリンで処理されることにより、メラニンが産生し黒褐色を呈す。これは紫外線を浴びて数日後に肌が黒くなる原理を *in vitro* で再現したものである。一方、テオフィリン処理の4時間前に予め本製品を塗布した細胞ではテオフィリン未処理の細胞とほぼ変わらずメラニン産生が抑制されていた。このことから本製品では PLGA ナノ粒子からビタミンC等が徐放されるため、塗布後4時間後におけるメラニン産生活動の誘導に対しても抑制効果を示したと考えられる。

つぎに、アンチエイジング効果の評価とした高速シワ人為的生成システムにより、ヒト摘出皮膚片を生存

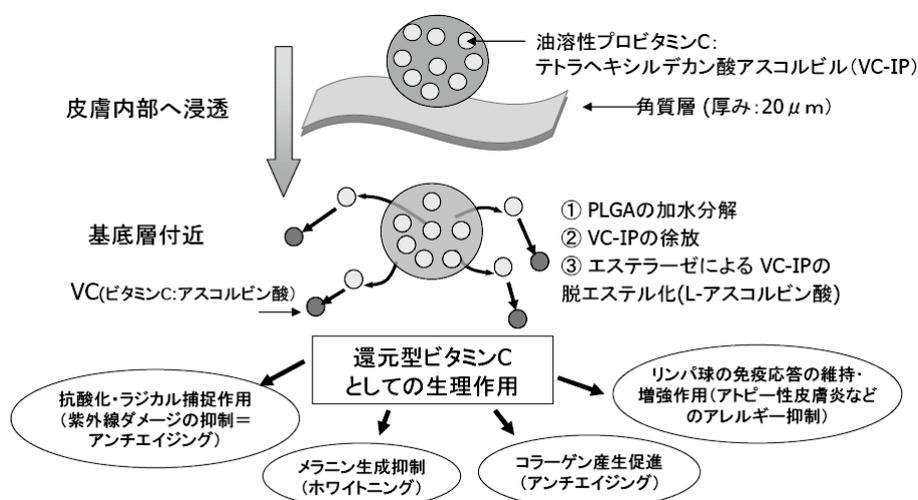


図7 VC-IP封入 PLGA ナノ粒子による皮膚深部へのビタミンC送達システム

させたまま細胞を死滅させない程度の臨界線量の紫外線の断続照射により、短時間で人為的シワを形成させ、本製品の添加によるシワ形成防御活性を評価した。図8（下段）は、ヒト抽出皮膚片（55歳女性、耳介周囲部皮膚）を等分割し、改変 Bronaugh 拡散チャンバーで1日2回、UV-Aを3J/cm²で5日間反復照射したあとの皮膚表面のレプリカを示す。UV-A照射すると深い陰影を落とす大シワ、ならびに狭い幅であるが鋭い切れ込みの小シワが随所に認められ、ラインヒストグラム評価においても不規則形で皮溝、皮溝を示す凹凸が確認されていた。一方、UV-A照射前に本製品を塗布しておいた場合、大シワ、小シワの形成はほとんど認められず、ラインヒストグラムでも規則的で細い皮溝（キメ）が形成されていた。これはPLGA ナノ粒子の働きにより、内包成分のビタミン誘導体が真皮まで浸透し、シワ形成を促進するUV-A由来の活性酸素を消去したためと考えられる。

2) PLGA ナノ粒子配合の機能的化粧品（敏感肌用バルクの使用例）

比較的軽度なアトピー性皮膚炎に対する従来のスキンケア技術では、角質バリア機能の再生を目的として、細胞間脂質の50%を占めるセラミド（細胞と細胞の接着剤）を補給するために、美容液やクリームにセラミドを配合している。この種のセラミド配合化粧品

を1～2週間連続的に塗布すると、肌水分量は大幅に増大（回復）し皮膚の状態も改善傾向となるが、数日間塗布を停止すると水分量は低下してくる場合が多い。

敏感肌用のPLGA ナノ粒子を配合した化粧品（図9）は、液側には従来コンセプトと同様にセラミドが配合されており、角質の外側からセラミドを補給する役割をもつ。さらに、ビタミンC誘導体、ステビア発酵エキス、スフィンゴミエリン（セラミド前駆体）の3種の成分を封入したPLGA ナノ粒子が肌深部へと浸透し、細胞へ取り込まれる。そうして表皮・真皮細胞は、①ビタミンCにより免疫力（アトピー性皮膚炎免疫異常改善）が高められ、②ステビア発酵エキスによって賦活化される。さらに、③セラミド成分の原料のスフィンゴミエリンが積極的に取りこまれることで、細胞内から持続的なセラミド産生が促され、正常な角質層が再構築され、長期にわたり水分保持が可能となってくる。このようにPLGA ナノ粒子を用いると肌内部（細胞レベル）からの持続的なスキンケアが可能となる。

3) スカルプ技術

PLGA ナノ粒子のスカルプケア技術への応用としては、毛穴深部の毛乳頭への育毛成分の送達能力は従来技術に比べ3～5倍以上高くかつ持続的に成分を放出

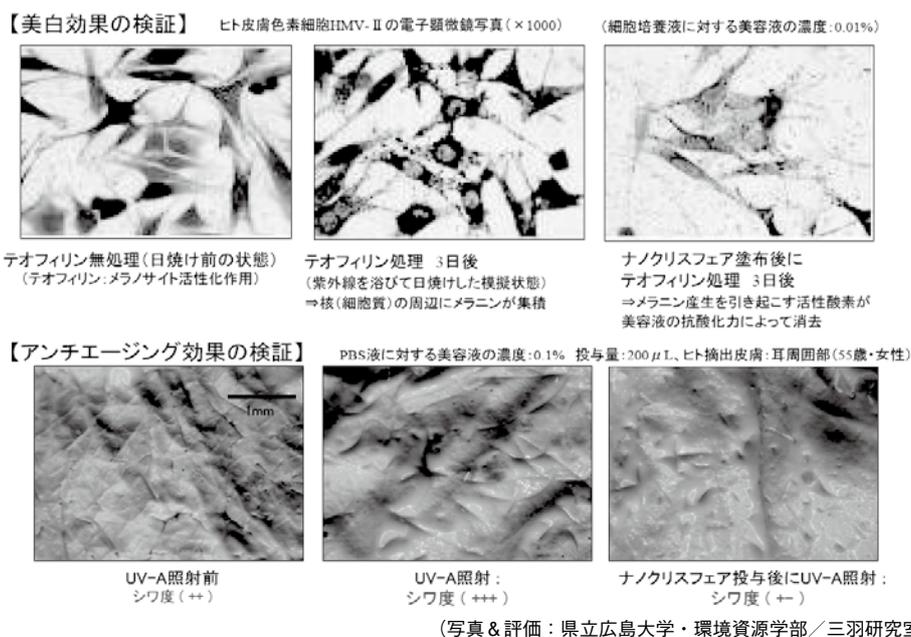


図8 機能的美容液（ナノクリスフェア プライムセラムTM）による美白・アンチエイジング効果の検証例

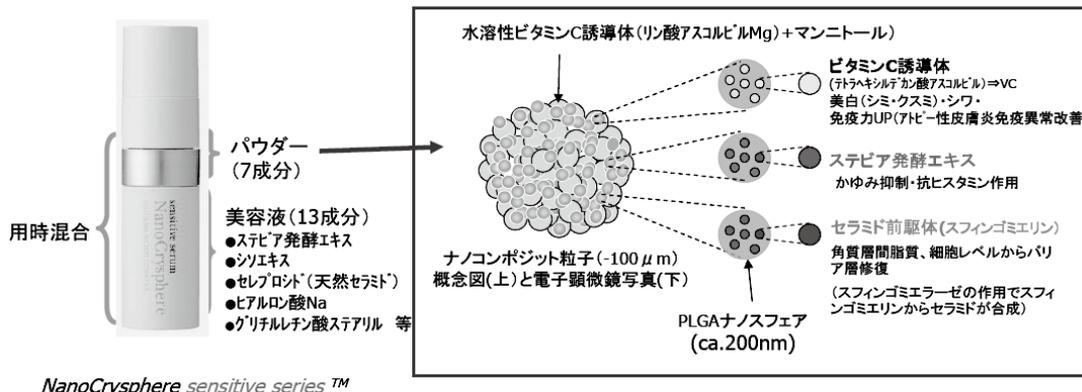


図9 生体適合性ナノコンポジット粒子を使った機能性化粧品ナノクリスフェア・センシティブセラムとそれに使われている機能性 PLGA ナノコンポジット粒子の構造

し続ける²⁴⁾ことを明らかにした。このことから本技術を使えば、育毛用 PLGA ナノ粒子を育毛ローションと用時調製し、夜1回の塗布において一日中、毛根部に育毛成分を微量塗布し続けているのと同程度の育毛剤の開発が可能となってきた。

育毛効果は毛穴深部での細胞賦活作用，血流促進作用，男性ホルモン抑制作用の他，毛穴入口部での抗炎症・抗菌作用，保湿作用など総合的な作用により得られるものであり，これらの効能を有する成分をバランスよく処方し効率よく吸収させることが重要である。

図10に例示するように，いくつかの植物抽出成分については古くから育毛作用が知られており，多くの市販育毛剤にも配合されている。そこでこれら植物抽出成分を皮膚浸透性に優れた PLGA ナノ粒子に封入した育毛技術の開発を検討した。図11には40歳の健常女性の頭部から摘出した皮膚片に植物抽出成分の一つであるヒノキチオールの水溶液と，ヒノキチオールを PLGA ナノ粒子に封入した分散液をそれぞれ塗布し，4時間経過後の毛穴部の断面画像とヒノキチオールによる発光の強度を頭皮表面からの毛包の深さ方向へと

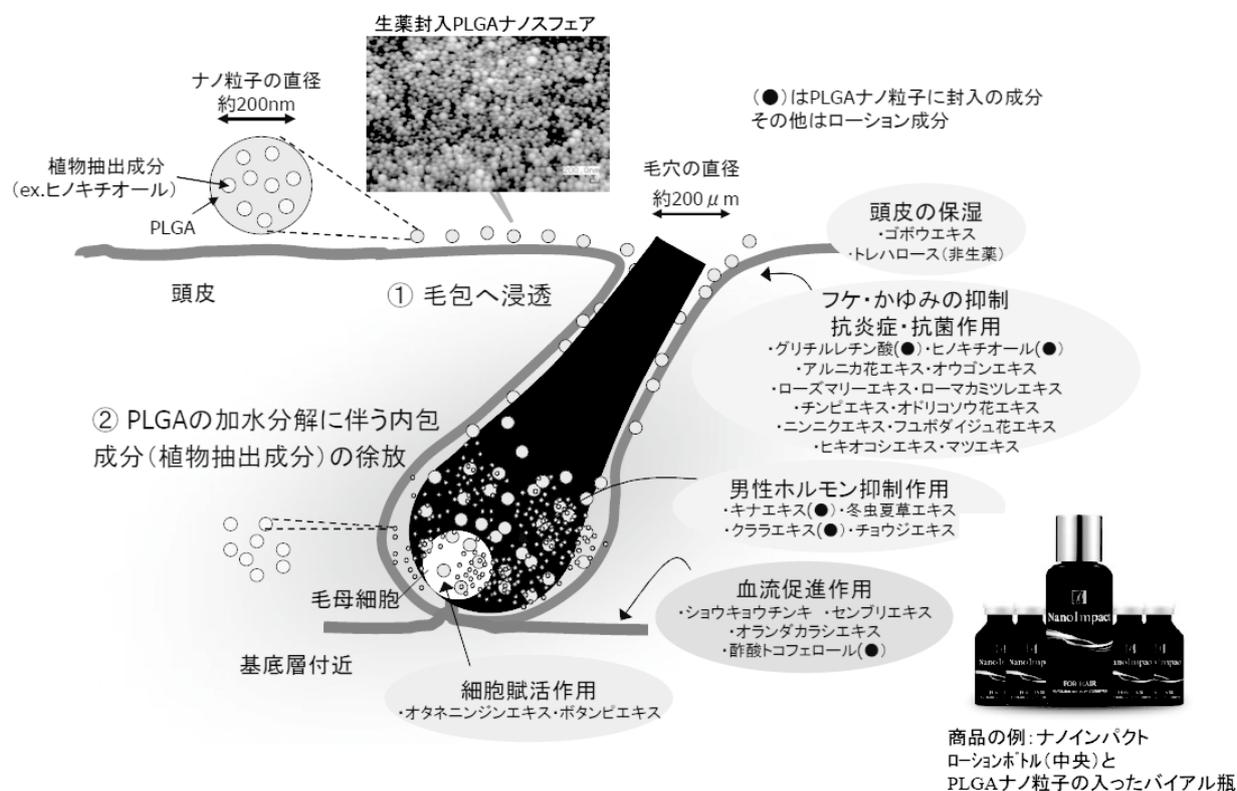
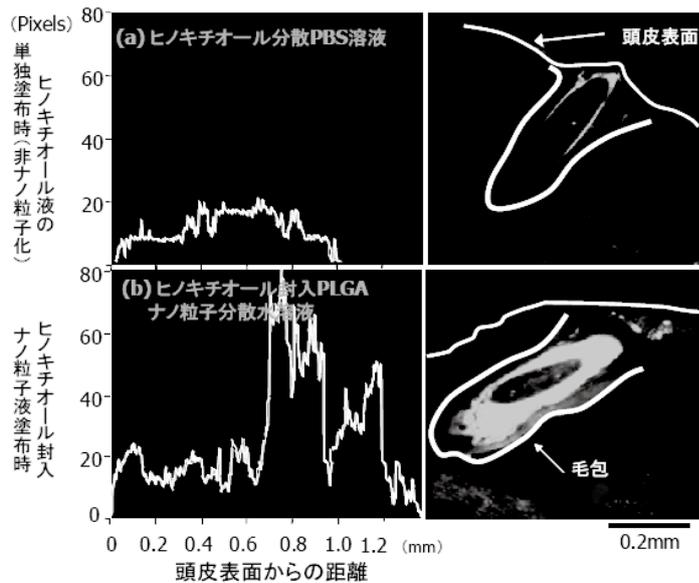


図10 PLGA ナノ粒子を用いた植物抽出成分の毛包送達システム



撮影評価：塗布 4 hr 後の評価，ヒト皮膚片：40歳女性，頭部
 ヒノキチオール濃度：0.036%，頭皮塗布量：20 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$
 (撮影：県立広島大学三羽研究室)

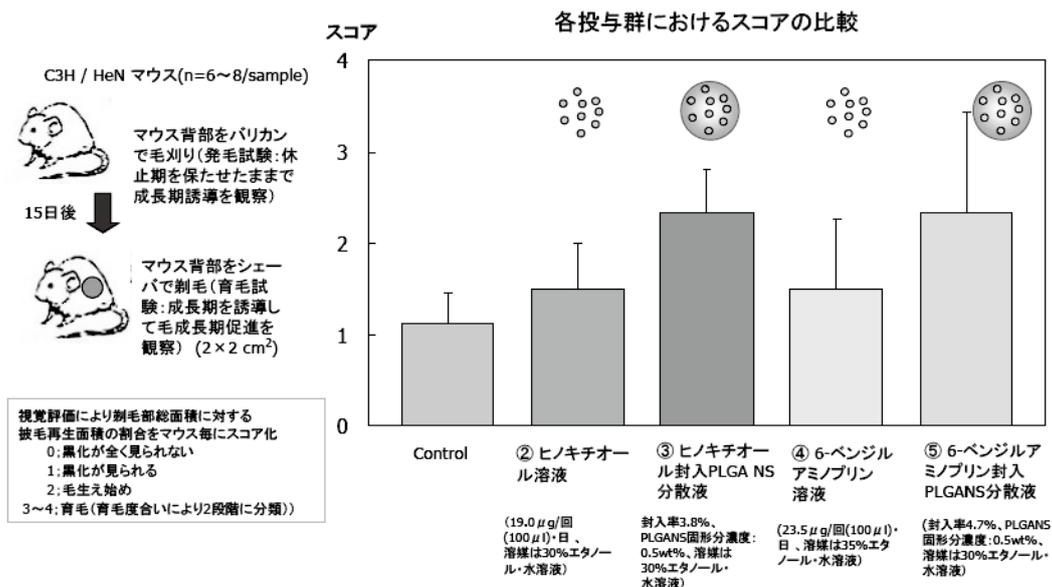
図11 ヒノキチオール封入 PLGA ナノ粒子の毛穴への浸透性評価

測定した結果を示している。前記のクマリンと同様に PLGA ナノ粒子に内包することで、特に毛包付近を中心にして皮膚表面から深部までヒノキチオールの浸透性が大きく改善している。また、発光強度の深さ方向への分布（面積値）からヒノキチオールの PLGA ナノ粒子化による浸透量の促進効果はこの写真でとらえ

ている毛包部までで3倍程度であり、さらに毛根部までの差は拡大していると考えられる。このように PLGA ナノ粒子は植物抽出成分などの毛根部への送達キャリアとしても優れていることが明らかとなった。PLGA は毛穴内部へ浸透すると毛包内の水分で徐々に加水分解され、PLGA に封入した成分は長時間にわたって放出され毛根から頭皮にかけてその薬効を最大限に発現すると期待される。

つぎに、この PLGA ナノ粒子の *in vivo* 検証には、同調した成長期毛を有し、剃毛後しばらく休止期に入るため育毛試験に汎用されている C3H マウスの背部下半部の毛を刈り取り、翌日に剃毛し、その後1日1回薬剤を塗布することで、毛包を休止期から成長期に移行させる能力の多寡を調べた結果を図12に示す。塗布開始15日後、植物抽出成分の単独塗布に比べ、PLGA ナノ粒子にその成分を封入することで毛成長が顕著で毛周期の休止期から成長期への変換活性が認められた²⁴⁾。

さらに、約70名の薄毛男性モニターによる試験を実施し、総合的な育毛と頭皮改善効果も確認され、PLGA ナノ粒子によるスカルプケア技術が確立されている。



マウス背部皮膚毛胞を休止期から成長期に移行させる能力の多寡を評価
 (評価：県立広島大学・環境資源学部/三羽研究室)

図12 C3H マウスによる PLGA ナノスフェアの育毛評価例

4. おわりに

生体内分解性と安全性と機能性に優れた PLGA ナノ粒子による微粒子 DDS の開発研究は、核酸・遺伝子を用いたナノメディシンへの応用が進められており、当社の研究例を紹介した。DDS 研究を進める当社のコア技術を応用して開発された機能性化粧品用 PLGA ナノ粒子は、従来困難とされてきた多くの有用成分の皮膚浸透性の充進を実現し、美白、アンチエイジング、敏感肌改善、育毛等を目的とする化粧水、美容液、育毛頭皮料などに採用が進んでいる。

参考文献

- 1) 川島嘉明, “PLGA ナノスフェアの設計と DDS への展開”, 薬剤学, 66, 224-238 (2006).
- 2) 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の経皮浸透性評価”, 粉体工学会誌, 41, 867-875 (2004).
- 3) Hoskawa Micron Cosmeics, NanoCryosphere, NanoImpact, www.nanocryosphere.com.
- 4) R.Morishita, M.Aoki, Y.Kaneda, “Oligonucleotide-based Gene Therapy for Cardiovascular Disease: Are Oligonucleotide Therapeutics Novel Cardiovascular Drugs?”, *Current Drug Targets*, 1, 15-23 (2000).
- 5) R.Morishita, “Perspective in Progress of Cardiovascular Gene Therapy”, *J.Pharmacol. Sci.*, 95, 1-8 (2004).
- 6) H.Nakamura, M.Aoki, K.Tamai, M.Oishi, T. Ogihara, Y.Kaneda, R.Morishita, “Prevention and Regression of Atopic Dermatitis by Ointment Containing NF- κ B Decoy Oligodeoxynucleotides in NC/Nga Atopic Mouse Model”, *Gene Therapy*, 9, pp.1221-1229 (2002).
- 7) K.Tamai, K.Hashimoto, Y.Kaneda, R.Morishita, “Research Concerning the Developments of Novel Curative using Gene-related Drugs for Severe Atopic Dermatitis”, *General Report of Research with Health and Labour Sciences Research Grants* (2004).
- 8) 辻本広行, 塚田雄亮, 坂口誠, 佐藤利之, “NDON (NF κ B Decoy Oligodeoxynucleotide) 封入 PLGA ナノスフェアの開発とそのアトピー性皮膚炎へ応用”, 第22回 DDS 学会要旨集, p366 (2006.7).
- 9) 辻本広行, 塚田雄亮, 原香織, 川島嘉明, “NF κ B Decoy Oligodeoxynucleotide 担持型 PLGA (乳酸・グリコール酸共重合体) ナノスフェアの粒子設計とその調製法”, 粉体工学会誌, 44, 453-458 (2007).
- 10) 辻本広行, 原香織, 川島嘉明, “インスリン封入 PLGA ナノコンポジット製剤のビーグル犬への経肺投与による血中グルコース濃度の評価”, 粉体工学会誌, 42, 765-772 (2005).
- 11) 辻本広行, 原香織, 塚田雄亮, 川島嘉明, 羽多野重信, “噴流層型バイナグレス造粒法を用いた粉体吸入製剤用 PLGA ナノコンポジット粒子の調製”, 粉体工学会誌, 44, (6) 掲載 (2007).
- 12) 辻本広行, 原香織, 塚田雄亮, 川島嘉明, 堤雅弘, “経肺吸収を目的とした PLGA ナノスフェアのラット気管支内投与時の細胞・組織学評価”, 第23回 DDS 学会要旨集, (2007. 6).
- 13) 船越公太, 江頭健輔, “ナノ DDS 制御コーティング技術の創製による次世代ステント内再狭窄対策の開発”, *Mebio* Vol.24 No.4 106-117 (2007. 6).
- 14) 中野覚, 江頭健輔, 増田征剛, 船越公太, 木村聡, 辻本広行, 原香織, 川島嘉明, 富永隆治, 砂川賢二, “電着ナノ粒子コーティング技術による新しい生体吸収性ナノ粒子ポリマーを用いた次世代型薬剤, 遺伝子溶出型ステントの開発”, *Jpn J Interv Cardiol*, 22, 3, 201-210 (2007).
- 15) 久保満樹, 江頭健輔, 井上敬測, 辻本広行, 原香織, 川島嘉明, 砂川賢二, “ナノテクノロジーを用いたスタチンの局所デリバリーによる新しい治療的血管新生療法”, 第71回日本循環器学会, 298 (2007).
- 16) 江頭健輔, 辻本広行他, “ステントのコーティング法”, 特許出願中
- 17) Babapulle MN, Eisenberg MJ. Coated stents for the prevention of restenosis : Part II. *Circulation*. 106, 2859-66 (2002).
- 18) Joner M, Finn AV, Farb A, Mont EK, Kolodgie FD, Ladich E, Kutys R, Skoriya K, Gold HK, Virmani R. Pathology of drug-eluting stents in humans : delayed healing and late thrombotic risk. *J Am Coll Cardiol*. 48 : 193-202 (2006).
- 19) 辻本広行, 原香織, 三村晴子, 三羽信比古; “生体適合性高分子 乳酸・アスパラギン酸共重合体

- (PAL) ナノスフェアの皮膚がん浸潤 *in vitro* 評価”, 粉体工学会誌, 43巻, 2号86-91 (2006).
- 20) Kaori Hara, Hiroyuki Tsujimoto, C.C. Huang, Yoshiaki Kawashima, Haruko Mimura, Nobuhiko Miwa; “The Effect of Poly (Aspartic Acid-co-Lactic Acid) Nanospheres on the Lung Metastasis of B16BL6 Melanoma Cells by Intravenous Administration”, *Oncology reports*, 16, 1215-1220 (2006).
- 21) 三羽信比古 編著: “美肌・皮膚防護とバイオ技術”, CMC出版 (2003).
- 22) 辻本広行: “DDSを応用した機能性スキンケア・スカルプケア化粧品の開発”, *Drug Delivery System*, 7, 405-415 (2006).
- 23) Hiroyuki TSUJIMOTO, Kaori HARA, Yusuke TSUKADA, C.C. Huang, Yoshiaki KAWASHIMA, Minoru ARAKAKI, Hajime OKAYASU, Haruko MIMURA, Nobuhiko MIWA; “Evaluation of the permeability of hair growing ingredient encapsulated PLGA nanospheres to hair follicles and their hair growing effects”, *Bioorganic & medicinal chemistry letters* (2007) in press.

Captions

- Fig. 1 Photo of 13wt% VC-IP loaded PLGA NS having an average particle size of 215nm measured by dynamic light scattering method and its construction of nano-composite particle
- Fig. 2 Photos of permeability of PLGA particles into human skin biopsies of under arm skin of 35-year-old woman. (a) Coumarin 6 (conc.10wt%) dispersed in aqueous solution with surfactant (Pluronic F68) of 0.5wt%. Spread : 0.3ml. (b) Aqueous dispersion of coumarin 6 loaded PLGA particles (conc. 0.2wt %). PLGA : Coumarin6 = 2000 : 1. Coumarin 6 conc. in aqueous dispersion is 0.0001wt%. Spread:0.3ml.

(Photo & evaluation prefectural Hiroshima Univ. Miwa laboratory)

- Fig. 3 Reduced vitamin C converted from VC-IP in dermis of eyelid of 52 -yeas-old woman
- Fig. 4 Photo of functional cosmetics “NanoCryosphere prime serum” (HOAOKAWA MICRON COSMETICS) and its functional composite particle construction
- Fig. 5 PLGA nanoparticle coated drug eluting stent (Photo, Kyushu Univ. Prof. Egashira)
- Fig. 6 Permeability evaluation of PLGA particles into mouse skin
- Fig. 7 Vitamin C delivery system to epidermis and dermis by VC-IP encapsulated PLGA nanosphere
- Fig. 8 Evaluation of whitening and ant-wrinkles effect of functional cosmetics “NanoCryosphere prime serum”. (Photo & evaluation prefectural Hiroshima Univ. Miwa laboratory)
- Fig. 9 Photo of functional cosmetics “NanoCryosphere sensitive serum”(HOAOKAWA MICRON COSMETICS) and its functional composite particle construction
- Fig. 10 Crude drug delivery system to hair root by crude drug encapsulated PLGA nanoparticle
- Fig. 11 Cross-section photographs of human scalp biopsies and follicles of a 40-year-old woman taken 4 hrs after applying (a) the hinokitiol solution; and (b) the liquid dispersion of Hinokitiol encapsulated PLGA nanospheres
- Fig. 12 Promotion effect of hair growth of C3H mice by the use of PLGA NS Photos of hair growth effects at 15 days later after administration (Photo & evaluation prefectural Hiroshima Univ. Miwa laboratory)