



## ヒアルロン酸を内包した PLGA ナノ粒子による 抗シワ効果検証

### Verification of Anti-wrinkle Effect by PLGA Nanoparticles Encapsulating Hyaluronic Acid as Moisturizing Ingredient

笹井 愛子<sup>1</sup>, 鈴木 貴弘<sup>1</sup>, 杉井 祐太<sup>1</sup>, 辻本 広行<sup>2</sup>  
Aiko SASAI<sup>1</sup>, Takahiro SUZUKI<sup>1</sup>, Yuta SUGII<sup>1</sup>, Hiroyuki TSUJIMOTO<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ホソカワミクロン株式会社 マテリアル事業部 製薬・美容科学研究センター  
<sup>2</sup> 同 センター長

<sup>1</sup> Pharmaceutical & Beauty Science Center (PBSC), Material Business Division, Hosokawa Micron Corporation, JAPAN

<sup>2</sup> Center Manager, PBSC, Material Business Division, Hosokawa Micron Corporation, JAPAN

#### 抄 録

“シワに効く”化粧品のニーズはいつの時代も高く、「乾燥による小ジワを目立たなくする」、「シワの改善」などの効能が謳われた化粧品は良く売れている。乾燥による小ジワの予防・改善する一般法はヒアルロン酸などの保湿成分を皮膚表面に吸着させ、そこに水分を留めて皮膚の乾燥を防ぐものである。しかし、ヒアルロン酸は親水性であり、脂分の多い皮膚（角質層）表面には長時間滞留できない。また、その分子サイズ（一般的なヒアルロン酸では、～4000 nm 程度）も角質細胞間隙（数十 nm）と比べて非常に大きくなるので角質層内部への浸透も起りにくい。

他方、著者らの開発した生体適合性・生分解性の「乳酸・グリコール酸共重合体（PLGA：Poly-Lactide-co-Glycolide Acid）ナノ粒子」は直径 160 nm 程度の単分散粒子（粒子表面は両親媒性）として顔面上で挙動する<sup>[1]</sup>ので、角質層や毛穴・シワ内部への浸透性に優れた DDS（ドラッグデリバリーシステム）キャリアとして応用できる。単体では十分浸透させることのできなかつた有用成分を本粒子へ内包し用いることで角質層深くにデリバリーできるようになった。そこでヒアルロン酸に本技術を適用して、これまで角質層表層にのみ形成されていたヒアルロン酸の保湿帯を角質層深部まで拡張することができ、これにより新発想の保湿効果が体感できるようになった。本報では本保湿効果、抗シワ効果の検証結果を紹介する。

#### ABSTRACT

In recent years, the needs of cosmetic products possessing anti-wrinkle effects are rapidly increasing, and the cosmetic products appealing it's efficacy sell well. It is common technique to possess moisture on skin surface by adsorbing moisturizing ingredients in order to improve fine wrinkle. The hyaluronic acid widely used as moisturizing ingredients in cosmetics is difficult to retain on skin having oil contents for a long time because of its high hydrophilicity. Also hyaluronic acid molecular size is too large comparing interstitial cells, hence the penetration into horny internal parts is not easy.

The PLGA (Poly-Lactide-co-Glycolide Acid) nanoparticle that we developed has DDS (Drug Delivery System) function such as excellent permeability to the stratum corneum and slow release of encapsulated content

in the particle. By using this technology, the hyaluronic acid can be easily delivered deep into the stratum corneum. Therefore, it was thought that the moisturizing zone formed by hyaluronic acid is expected to expand not only the surface layer but also the deep layer of the stratum corneum which tend to the new moisturizing effect.

In this paper, we introduce the test result of the skin moisturizing effect and anti-wrinkle effect by using PLGA nanoparticles encapsulating hyaluronic acid.

## 1 はじめに

「シワ」の原因は複数あるが紫外線による線維芽細胞老化に起因する「真皮ジワ」と乾燥による角質層の水分量低下に起因する「小ジワ」に大別される。近年、医薬部外品の効果・効能に「シワの改善」が認められたことで大手化粧品メーカーが挙って「真皮ジワ」をターゲットにした化粧品を上市し始めており、シワは年齢と共に甘受せざるを得ない対象から外れていく。

年齢を重ねるにつれて目の下や目尻などに行われる、俗に言う「ちりめんジワ」は浅くて細かい表皮性の小ジワであり、新陳代謝の低下や皮膚中のヒアルロン酸量が減少することで特に表皮の保水性が低下してシワが形成されている。ちりめんジワに悩む女性は20~30代頃より徐々に増えてくるため、言うなれば肌老化現象の初期症状ともいえる。

乾燥性小ジワを防ぐ有効な手段は多価アルコール（グリセリン、1,3-ブチレングリコールなど）や多糖類（ヒアルロン酸など）を皮膚表面に塗布し肌の保湿度を高めていくことである。中でもヒアルロン酸は保湿度の高さと皮膚組織中に元来存在し保湿

機能を司る優秀な成分のため化粧品に多用されてきた。しかし、ヒアルロン酸の分子サイズは角質細胞間隙と比べ大きすぎるため角質層内部へ浸透することができず皮膚表面に留まり皮膚深部から蒸散してくる水分を自身が担持することで角質層表面に保湿帯を形成するのみである。また、皮膚表面のヒアルロン酸は物理的にも剥がれ易いという欠点を有し、保湿効果の持続性の観点から課題も多く、ヒアルロン酸の親水基の一部を親油性のアセチル基に置き換えることで皮膚表面へのアンカー効果を高めたアセチル化ヒアルロン酸（AcHA）なども化粧品原料として上市されている。

## 2 PLGA ナノ粒子

### 2.1 PLGA ナノ粒子の機能性

PLGA は乳酸とグリコール酸がエステル結合によってランダムに共重合した構造をもつ生体親和性ポリマーである。エステル結合部位は水存在下で容易に構成単位まで加水分解し最終的にはTCA回路（Tri-Carboxylic Acid cycle）を経て水と二酸化炭素にまで完全分解され体外へ排出される（図1）。そのため昨今ナノ粒子で懸念されているような体内残留

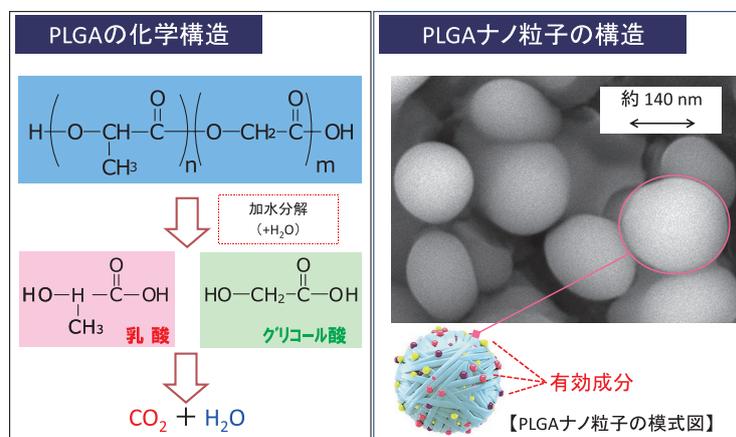


図1 PLGAの化学構造およびPLGAナノ粒子のSEM写真  
Fig. 1 PLGA chemical constitution and SEM image of the PLGA nanoparticles.

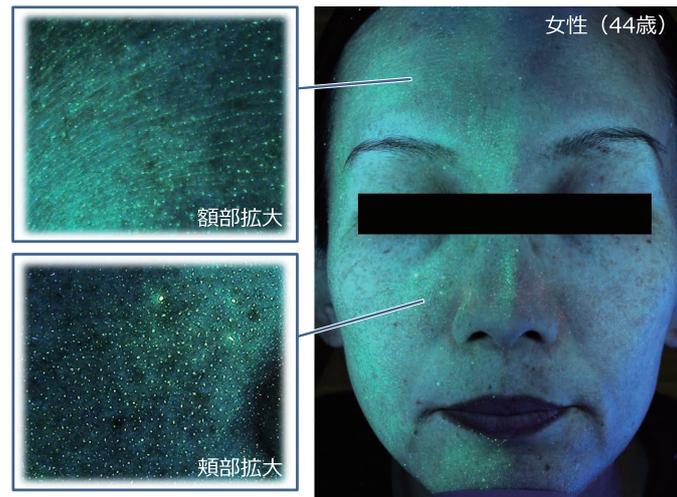


図2 PLGA ナノ粒子の毛穴集積性評価  
Fig. 2 Evaluation of pore accumulation of PLGA nanoparticles.

性は無く、極めて安全な材料であり化粧品原料としての各種安全性が証明されている<sup>[2]</sup> (FDA 認可, 医薬部外品・添加剤として承認取得済み)。

著者らの研究ではこれまで PLGA ナノ粒子が内包成分の皮膚 (角質層) 浸透性を高め, 内包成分の徐放化による効果・効能の持続性があることを皮膚浸透試験等<sup>[3,4,5]</sup> で実証し機能性化粧品開発へと応用してきた<sup>[6,7]</sup>。

図2はモデル粒子として蛍光標識成分を内包した PLGA ナノ粒子を顔面に塗布し皮膚測定機器 (VISIA®, Canfield Scientific 社製, UV 写真) での撮影結果である。PLGA ナノ粒子を塗布した右顔全体が黄緑色に呈色し, 特に毛穴, 額のシワの発光が強いことから PLGA ナノ粒子は毛穴やシワに集積することが示唆されている。これらのことから PLGA ナノ粒子はシワなどのウィークポイントへ有用成分を効率的に送達できるキャリアとして働き得る。

## 2.2 PLGA ナノ粒子の角質層への浸透性および内包成分の徐放性

PLGA ナノ粒子の角質層への新たな浸透性評価として, ウラニン (蛍光標識剤) を内包した PLGA ナノ粒子を用いた角質層テープストリッピング法を実施した。

①ウラニン水溶液 (成分濃度: 80 µg/mL), ②ウラニン内包 PLGA ナノ粒子の水分散液 (成分濃度: 80 µg/mL) を被験者 (女性・37 歳) の前腕に塗布し, 各塗布部位で一定時間毎にテープストリッピング処

理を 15 回行い, 各テープに付着した角質層を蛍光顕微鏡 (BZ-X800, KEYENCE 社製, 蛍光写真) で観察した。※ウラニン内包 PLGA ナノ粒子: 平均粒子径 146 nm (動的光散乱法による, 図3)。

図4はテープに付着した一定面積当たりの角質層から検出されたウラニンの定量結果である。①ウラニン単体では, 塗布直後に一時的に角質層中へのウラニン浸透量が高まるものの (B1), 塗布 3 時間後には角質層上部 (テープストリッピング 1~5 枚目) のみで蛍光があり (B2), 塗布 24 時間後には検出限界以下 (B3) となった。これらの結果からウラニンの皮膚浸透速度は比較的速やかに皮下組織へ移行するため角質層に留まりにくい性質があることが判った。

他方, ②ウラニン内包 PLGA ナノ粒子の場合, 塗布 3 時間後にはウラニン由来の蛍光は角質層上部から下部 (テープストリッピング 10~15 枚目) まで

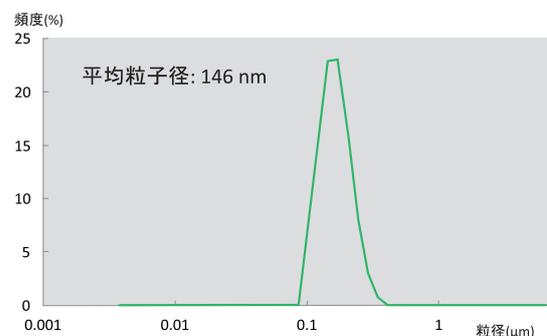


図3 ウラニン内包 PLGA ナノ粒子の粒度分布  
Fig. 3 The particle size distribution of PLGA nanoparticles encapsulating Uranine.

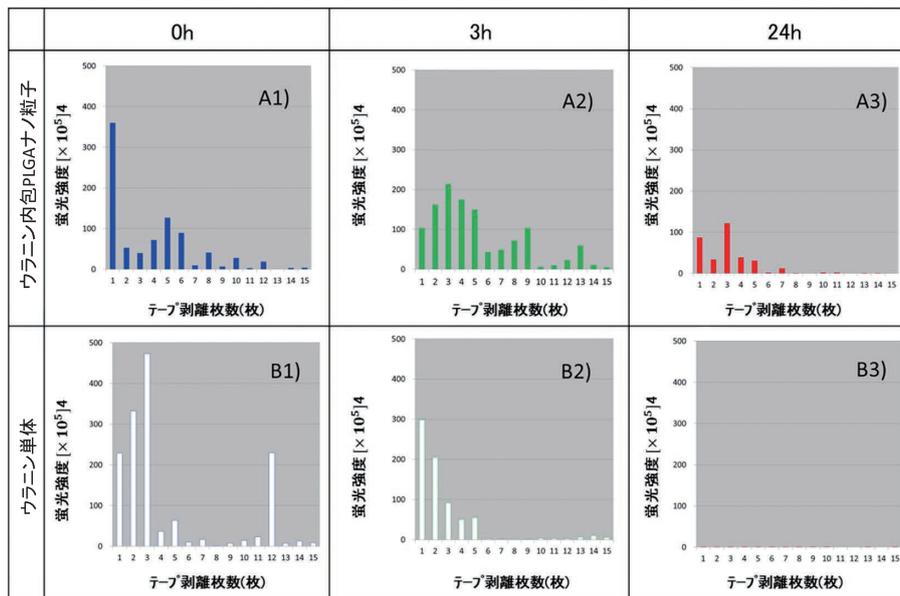
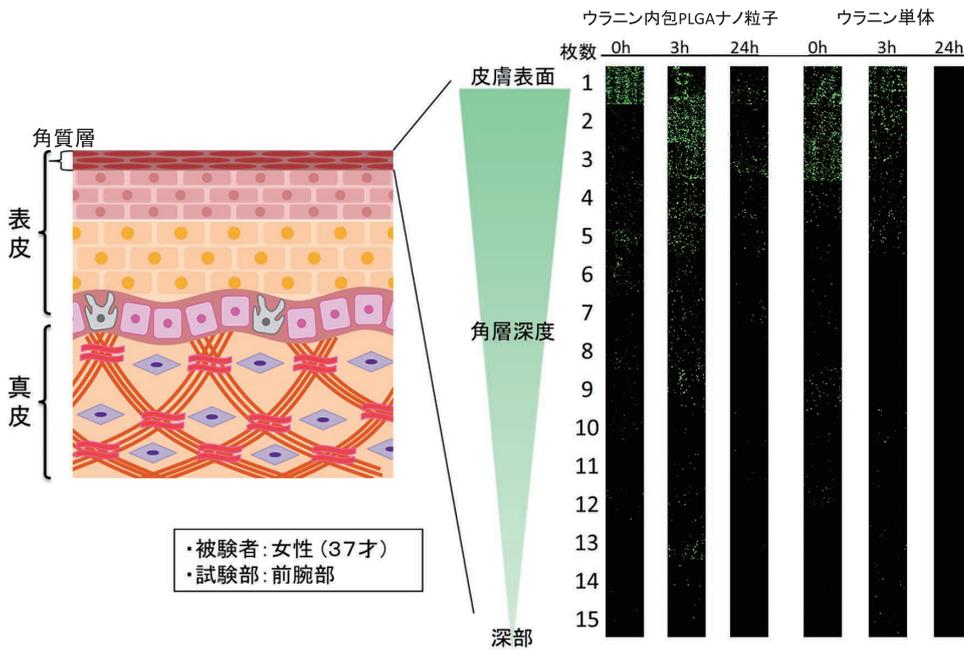


図 4 PLGA ナノ粒子の角質浸透性評価

Fig. 4 Permeability evaluation of PLGA nanoparticles into stratum corneum.

全体に分布していた (A2)。さらに塗布 24 時間後にも角質層上部から中部 (テープストリッピング 5 ~ 10 枚目) に蛍光が分布 (A3) しており, ウラニン単体の角質層への吸収速度の速さを考慮すると, これらの蛍光は PLGA ナノ粒子に内包されているウラニンに由来したものと考えられ, PLGA ナノ粒子の角質層中部程度までの送達を示唆された。

### 2.3 AcHA 内包 PLGA ナノ粒子による保湿力向上

前段の結果から PLGA ナノ粒子によって角質層

深部へ有用成分を送達できるので, ここではヒアルロン酸を PLGA ナノ粒子に内包し保湿能を評価した。ヒアルロン酸はアセチルヒアルロン酸ナトリウム (AcHA, (株)資生堂製) を用いた。角質層構造を模した濃厚な寒天プレート (2wt%) を用い, プレート表面に①精製水, ② AcHA 単体 (成分濃度: 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), ③ AcHA 内包 PLGA ナノ粒子 (成分濃度: 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) をそれぞれ塗布した後, 同一環境下で静置・風乾し経時的に重量を測定することで寒天プレートからの水分蒸散量を求めた。※ AcHA 内包 PLGA ナ

ノ粒子：粒径 165 nm（動的光散乱法による，図 5）。

図 6 に静置 6 日目の結果を示す。精製水を塗布した系の保水量を 1.0 とした場合，AcHA 単体を塗布した系は 2.4，さらに AcHA 内包 PLGA ナノ粒子を塗布した系では 4.9 の保水量となった。

寒天ゲルはガラクトースを基本骨格とする多糖ポリマー鎖が複雑に絡み合った三次元網目構造の中に水を蓄えた構造体を形成している。AcHA 単体はそ

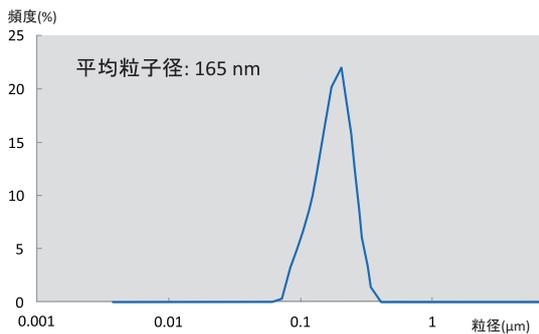


図 5 AcHA 内包 PLGA ナノ粒子の粒度分布  
Fig. 5 The particle size distribution of PLGA nanoparticles encapsulating AcHA.

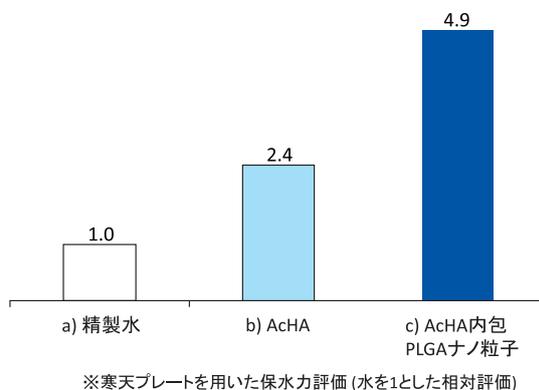


図 6 PLGA ナノ粒子による保水力評価試験  
Fig. 6 The effect of water retention using PLGA nanoparticles.

の網目構造を通り抜けられないため寒天プレート表面にのみ分布し水和層を形成することでプレート内部からの水分蒸散を抑制していると考えられる (図 7-b)。他方，AcHA 内包 PLGA ナノ粒子を塗布した場合，PLGA ナノ粒子は寒天ゲルの網目構造よりも優位に小さいため寒天ゲル内部にまで浸透することが可能であって，そこで PLGA ナノ粒子から徐放された AcHA は単体では到達できないゲル内部に広い水和層を形成し AcHA 単体の 2 倍を越える保水効果を示したものとする (図 7-c)。

#### 2.4 AcHA 内包 PLGA ナノ粒子による抗シワ効果 (ヒトモニター試験)

次に AcHA 内包 PLGA ナノ粒子の抗シワ効果を検証するためにヒトモニター試験を行った。被験者 6 名 (男性：2 名，女性：4 名) に AcHA 内包 PLGA ナノ粒子を配合したクリーム製剤を朝晩 2 回片顔の目周りに塗布し，使用前後の目のシワの数を皮膚測定器 (VISIA<sup>®</sup>，Canfield Scientific 社製) のシワ判定モードを用いて計測した。

結果，多くの被験者においてシワの数が減少し皮膚の透明感が向上する結果が得られた。著効例を図 8 に示すが，目立つシワ (緑ライン) と判定された数は使用前 (a) と比較して 2 ヶ月連用後 (b) では顕著に減少した。さらに AcHA 内包 PLGA ナノ粒子配合クリーム製剤の塗布の有無 (2 ヶ月連用) を比較すると赤枠で囲んだ目下部に大きな差異が観察された (c)。左顔 (塗布無) で深く目立つシワが見られたのに対し右顔 (塗布有) のシワは少なく涙袋もふっくらとしていた。以上の結果から AcHA 内包 PLGA は角質層に対する高い保水能を有し，乾燥による小ジワを抑制する効果があることが明らかとなった。

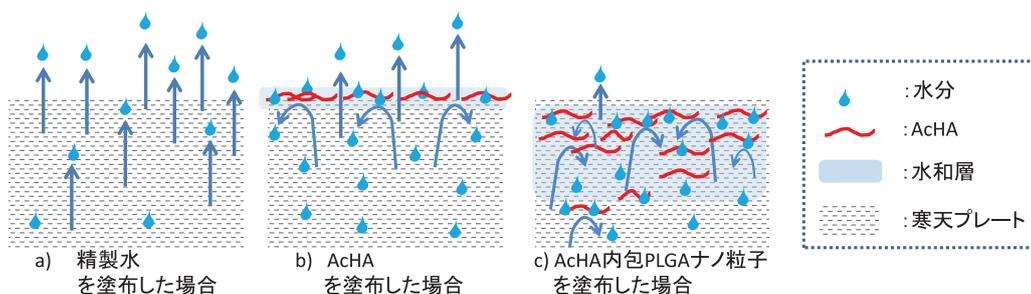


図 7 AcHA による水分保持メカニズムのイメージ図  
Fig. 7 Image of water retention mechanism by AcHA.

テクニカルノート

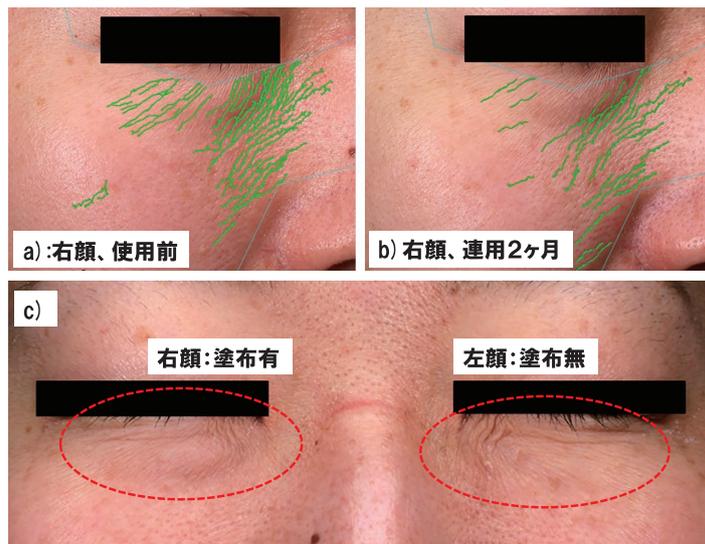


図8 ヒトモニター試験によるシワの改善画像

Fig. 8 Image of improving wrinkle by human monitor test, a) Right face, before use, b) Right face, after 2 months of continuous use, c) Full face, after 2 months of continuous use (left face is not used).

### 3 おわりに

PLGA ナノ粒子の2大特徴は内包成分の浸透性の向上と成分の徐放による効果・効能の持続性である。今回報告した新規技術では古くから化粧品に保湿成

分として多用のヒアルロン酸と PLGA ナノ粒子を組み合わせることで、保湿（保水）機能性を向上させることに成功した。今後も PLGA ナノ粒子を活用した高い効果・効能を有する機能性化粧品が提案できるよう研究・開発に邁進したい。

### References

- [1] 笹井 愛子, 辻本 広行, 山本 浩充, 川島 嘉明, 三羽 信比古, DDS 機能をもつ PLGA ナノ粒子によるニキビ・毛穴トラブルの改善技術, FRAGRANCE JOURNAL, 45(2) (2017) 32-38.
- [2] 川島 嘉明, PLGA ナノスフェアの設計と DDS への展開, 薬剤学, 66 (2006) 224-238.
- [3] 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(12) (2004) 867-875.
- [4] Tsujimoto H., Hara K., Tsukada Y., Huang C.C., Kawashima Y., Arakaki M., Okayasu H., Mimura H., Miwa N., Evaluation of the permeability of hair growing ingredient encapsulated PLGA nanospheres to hair follicles and their hair growing effects, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 17 (2007) 4771-4777.
- [5] 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(1) (2011) 77-84.
- [6] 辻本 広行, 坂東 容平, 三羽 信比古, 川島 嘉明, スキンケア技術への応用, COSME TECH JAPAN, 1(2) (2011) 43-49.
- [7] 辻本 広行, 原 香織, 三羽 信比古, 川島 嘉明, PLGA ナノ粒子の育毛剤への応用, COSME TECH JAPAN, 1(3) (2011) 79-85.

〈著者紹介〉



笹井 愛子 Aiko SASAI

〔経歴〕 2009年岩手大学大学院 博士後期課程修了，博士（工学）。同年ホソカワミクロン株式会社入社。2010年より製薬・美容科学研究センターにて勤務。主任研究員。

〔専門〕 ナノマテリアル。PLGA ナノ粒子の医薬品・化粧品開発業務に従事。



鈴木 貴弘 Takahiro SUZUKI

〔経歴〕 2017年神戸大学大学院工学研究科博士前期課程修了。同年ホソカワミクロン株式会社入社。2017年から現職。

〔専門〕 ナノ粒子のドラッグデリバリーシステム。

最近は，化粧品開発にも取り組んでいる。



杉井 祐太 Yuta SUGII

〔経歴〕 2012年関西大学大学院理工学研究科博士前期課程修了。同年ホソカワミクロン株式会社入社。粉体システム事業本部での勤務を経て，2014年から現職。

〔専門〕 ナノマテリアル。化粧品開発業務に従事。



辻本 広行 Hiroyuki TSUJIMOTO

〔経歴〕 1988年 中央大学大学院理工学研究科博士前期課程修了。博士（工学）。同年ホソカワミクロン株式会社入社。粉体工学研究所，粉体システム事業部等を経て，2008年よりマテリアル事業部長，製薬・美容科学研究センター長，執行役員。

〔専門〕 粉体工学，化粧品，育毛剤開発等 PLGA ナノ粒子の実用化開発の国家プロジェクト等多数。