

PLGA ナノカプセルによる  
シワ改善効果の検証

Verification of Anti-Wrinkle Effect by PLGA Nanoparticles

笹井愛子\*<sup>1</sup>, 辻本広行\*<sup>2</sup>, 田中 萌\*<sup>3</sup>, 越智綾香\*<sup>4</sup>

シワに効く有用成分の多くは分子サイズが大きくターゲットの角質層内部への浸透は容易でない。本報では著者らの開発した角質層や毛穴・シワ内部への浸透性に優れた DDS キャリアである「PLGA ナノカプセル」によるシワ改善効果を紹介する。

## 1. はじめに

シワは皮膚の表皮のみで生じる小ジワ（乾燥によるシワ、ちりめんジワ）と真皮組織の変性による大ジワ（真皮ジワ）に大別される。前者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することで形成される。角質層の乾燥が原因であるため、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）などの保湿成分を皮膚表面に塗布し肌の保湿力を高めていくことである程度の改善が見込める。中でもヒアルロン酸はその保湿力の高さと元々皮膚組織中の水分保持機能を司り乾燥による小ジワ対策化粧品に多用されているが、角質細胞間隙と比べ大きすぎる分子サイズを有するため角質層深部へ入り込むことができず、角質表層に留まり皮膚深部から蒸散してくる水分を担持することで角質層表面にわずかな保湿

帯を形成するのみである。さらに、角質表層のヒアルロン酸は物理的にも剥がれ易いという欠点があり、保湿効果の持続性の観点からの課題が多い。

他方、大ジワは真皮層を構成するコラーゲンやエラスチンの減少による真皮組織の変形により生じ、そのため保湿等の対症療法では改善が容易ではなく、真皮中でコラーゲンやエラスチンの新規産生を促し、肌土台を修復することによって真皮ジワの改善が必要である。図1に真皮ジワ改善のスキームを示す。コラーゲンやエラスチンの産生細胞は基底層や真皮層に存在するため有用成分を角質層バリアを超え真皮層まで到達させ、線維芽細胞へ取り込ませて初めてコラーゲンやエラスチンが産生される。他方、ここで求められる有用成分（Active ingredient）である機能性ペプチドや成長因子類は巨大分子であるので、角質層バリアに阻まれ易い。そのため角質層を通過できず、成分単体塗布においての高いシワ改善効果は見込めない。

\*<sup>1</sup>Aiko Sasai ホソカワミクロン(株) マテリアル事業部 製薬・美容科学研究センター 副センター長

\*<sup>2</sup>Hiroyuki Tsujimoto ホソカワミクロン(株) マテリアル事業部 製薬・美容科学研究センター 取締役、執行役員、センター長

\*<sup>3</sup>Moe Tanaka ホソカワミクロン(株) マテリアル事業部 製薬・美容科学研究センター 研究員

\*<sup>4</sup>Ayaka Ochi ホソカワミクロン(株) マテリアル事業部 製薬・美容科学研究センター 研究員

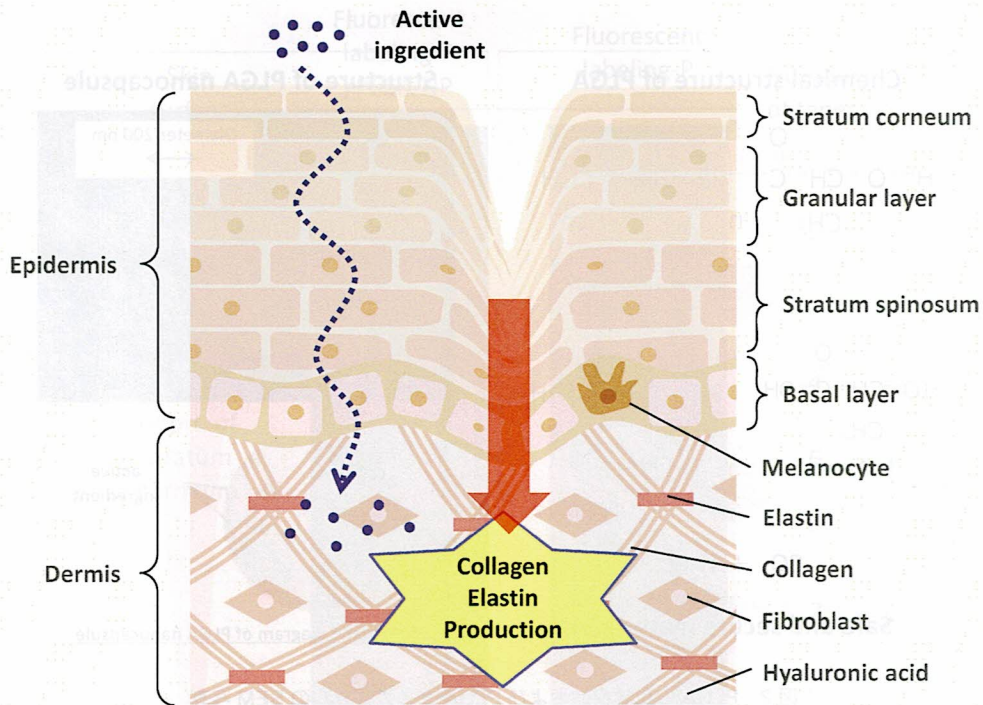


図1 シワ改善メカニズムのイメージ図

これらの課題に対し、有効な解決策として当社が提案し続けているのが有用成分の①皮膚浸透性、②放出持続性、③細胞取り込み性に優れたDDS（ドラッグデリバリーシステム）キャリアである『PLGA（乳酸・グリコール酸共重合体）ナノカプセル』である。

## 2. PLGA ナノカプセル

### 2.1 PLGA の特長<sup>1)</sup>

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吸収・排出される。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性や細胞毒性などもない安心・安全な化粧品原料である（FDA 認可、医薬部外品・添加剤として承認取得済）（図2）。

### 2.2 毛穴・シワへの集積能

図3はモデル粒子として蛍光標識成分封入したPLGA ナノカプセル（蛍光/PLGA CP）を顔面に塗布し皮膚測定機器（VISIA<sup>®</sup>, Canfield Scientific 社製, UV 写真）で撮影した。蛍光/PLGA CPを塗布した右顔全体が黄緑色に呈色し、特に毛穴、シワ部分での蛍光が強く観察されており蛍光/PLGA CPは毛穴やシワに特異的に集積することが示唆された。このことからPLGA ナノカプセル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<sup>7)</sup>。

### 2.3 皮膚浸透能<sup>2~6)</sup>

脂溶性ビタミンC誘導体（VC-IP：テトラヘキシルデカン酸アスコルビル）を封入したPLGA ナノカプセル（VC-IP/PLGA CP, 平均粒子径215 nm）を用いた皮膚浸透性試験では、対照群のVC-IP 乳化製剤（従来技術）と比べVC-IPの真皮への浸透量は10倍以上向上した（塗布後4

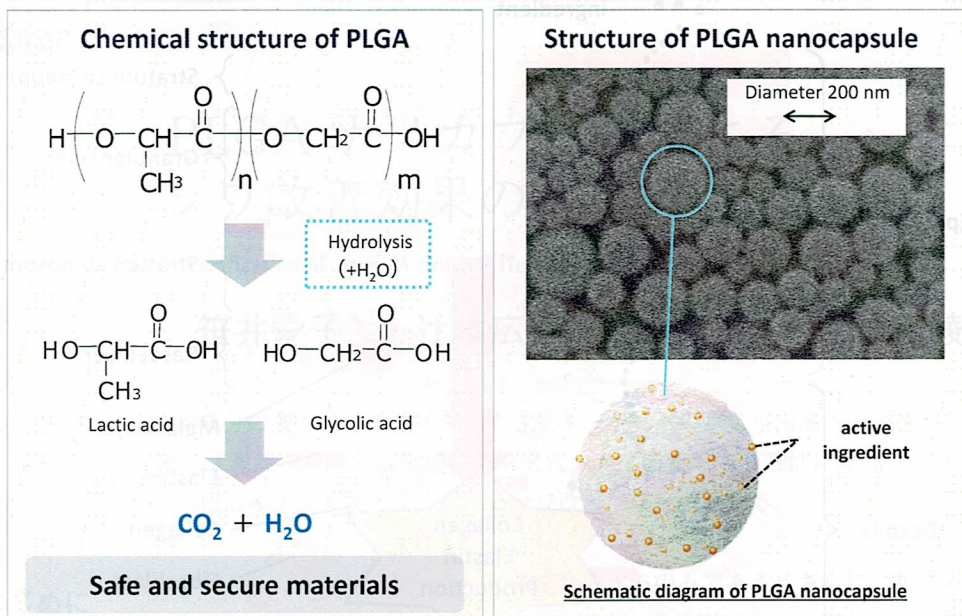


図2 PLGAの化学構造およびPLGA ナノカプセルのSEM写真

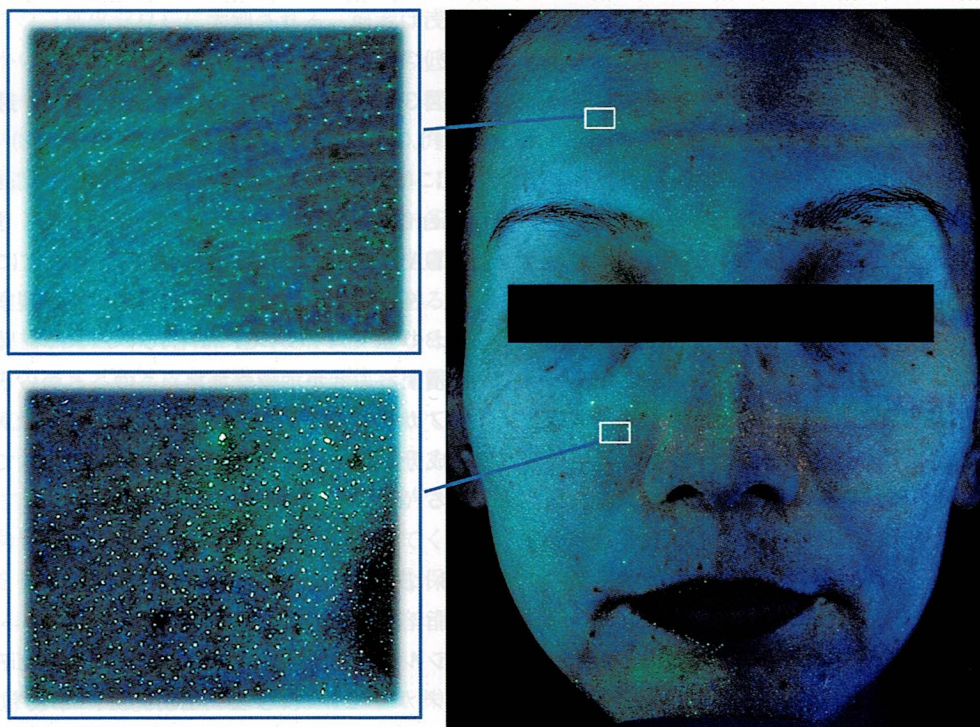


図3 PLGA ナノカプセルの部位集積性（女性，44才）

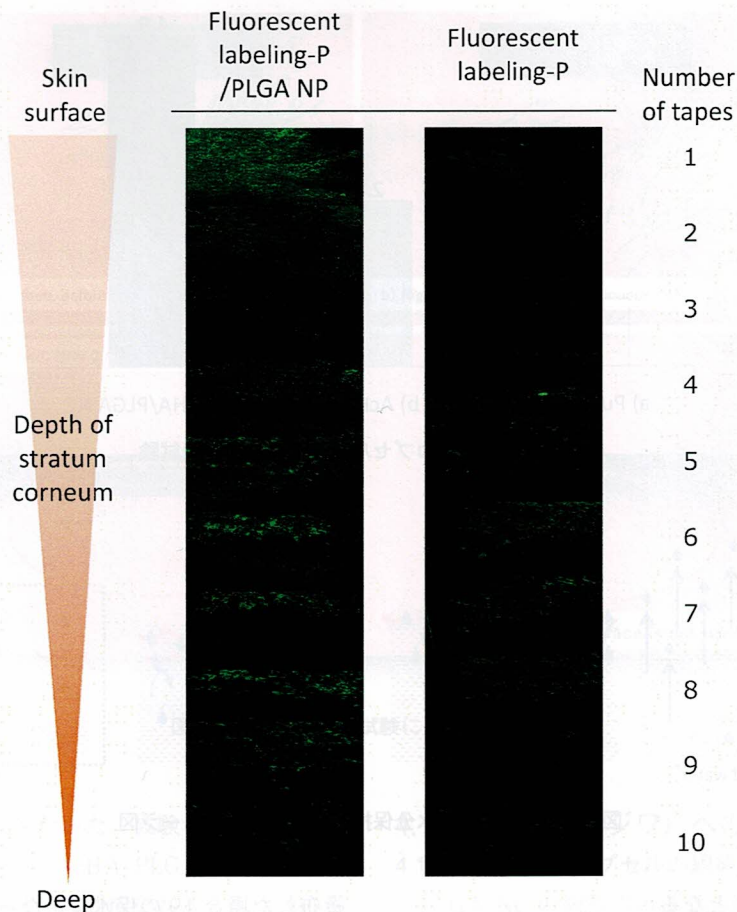


図4 PLGA ナノカプセルの角質浸透性評価

時間の累積値)。さらに真皮中の VCIP は乳化製剤塗布群 (PLGA ナノカプセルなし) の場合、塗布後7時間経つと VC-IP 量 (真皮中) は検出限界以下であったが、VC-IP/PLGA CP 塗布群では48時間後も検出された。これは角質層内に分配された PLGA ナノカプセルから VC-IP が長時間に渡り真皮へと拡散していくためである。

#### 2.4 高分子・大分子化合物の角質層浸透能

PLGA ナノカプセルを用いた高分子・大分子化合物の角質層への浸透評価試験として、蛍光標識結合タンパク質 (蛍光標識-P; 約 66 k Da) を封入した PLGA ナノカプセル (蛍光標識-P/PLGA CP, 平均粒径 190 nm (動的光散乱法による)) を用いた角質層テープstripping法で

検証した。蛍光標識-P 水溶液および蛍光標識-P/PLGA CP 水分散液を被験者前腕に塗布し、30分後にテープstripping処理で角質層を剥離 (10層) して、各テープに付着した角質層を蛍光顕微鏡 (BZ-X800, KEYENCE 社製) 観察した。その結果、蛍光標識-P 水溶液は角質層において蛍光が殆ど観察されなかった。他方、蛍光標識-P/PLGA CP 水分散液では角質層全体に蛍光が分布しており浸透量は蛍光標識-P 水溶液よりも440%も高い結果であった (図4)<sup>8)</sup>。

このように通常角質層を通過できないサイズの成分であっても PLGA ナノカプセルに封入することで角質層深部へ浸透させることができ、小ジワのターゲットである角質層内のみならず、大ジワの根源である基底層や真皮層へと有用成分を供

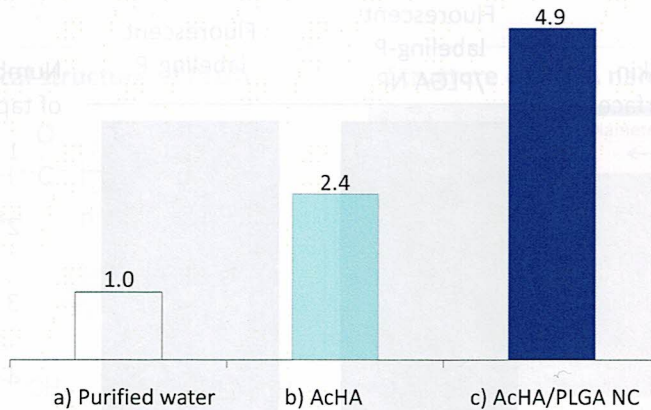


図5 PLGA ナノカプセルによる保水力評価試験

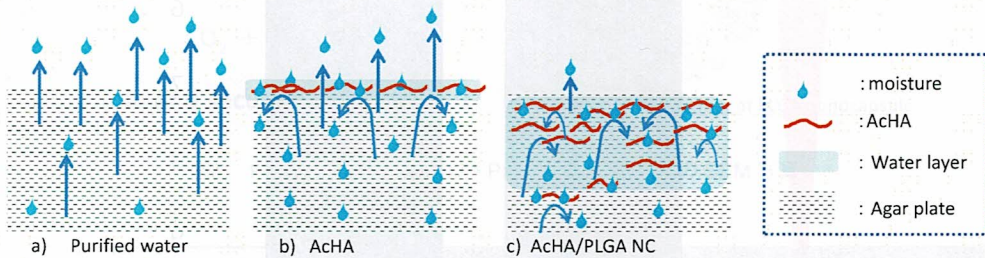


図6 AcHA による水分保持メカニズムのイメージ図

給することが可能となる。

### 3. 乾燥による小ジワへのアプローチ

#### 3.1 ヒアルロン酸封入 PLGA ナノカプセルによる角質層の保湿力変化

ヒアルロン酸（アセチル化ヒアルロン酸：AcHA、株資生堂製）を PLGA ナノカプセルに封入し角質層の保湿性を調べた。角質層構造を模した濃厚な寒天プレート（2 wt%）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 封入 PLGA ナノカプセル（AcHA/PLGA NP、平均粒径 165 nm（動的光散乱法）、成分濃度：20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）をそれぞれ塗布後、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測定した。

図5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/PLGA NPを

塗布した場合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残存し水和層を形成してプレート内部からの水分蒸散を抑制している（図6b）。他方、AcHA/PLGA NPを塗布した場合、PLGA ナノカプセルは寒天ゲルの網目構造よりも有意に小さく寒天ゲル内部へ浸透することが可能である。そこでPLGA ナノカプセルから徐放化したAcHAは単体では到達できないゲル内部に拡がり水和層を形成するのでAcHA単体の2倍を越える保水効果を示したものと考えられる（図6c）。

#### 3.2 AcHA 封入 PLGA ナノカプセルによる抗シワ効果（ヒトモニター試験）

次にAcHA/PLGA NPの抗シワ効果をヒトモニター

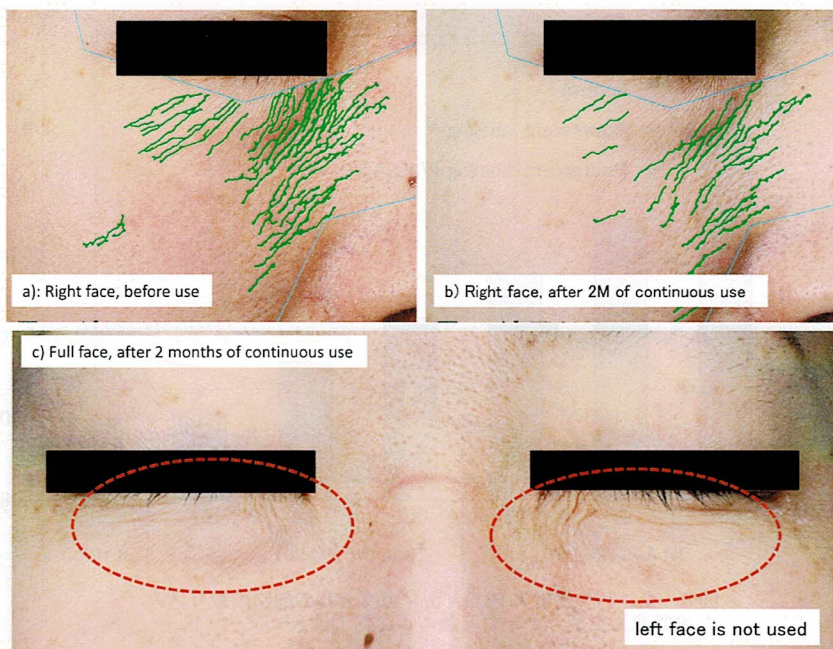


図7 ヒトモニター試験によるシワの改善

ター試験での検証を行った。被験者6名（男性：2名，女性：4名）にAcHA/PLGA NP（AcHA/PLGA NP 配合クリーム製剤を朝晩2回片顔の目周りに塗布し，使用前後の目元のシワの数を皮膚測定器（VISIA<sup>®</sup>，Canfield Scientific社製）のシワ判定モードで計測した。

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となった。著効例を図7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2ヶ月連用後(b)は顕著に減少した。さらにAcHA/PLGA NP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認められた(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/PLGA NP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と言える。

#### 4. 真皮ジワ（大ジワ）へのアプローチ

##### 4.1 PLGA ナノカプセルの線維芽細胞賦活効果

PLGA NCの細胞内取り込み能は2.4節と同様の蛍光標識-P/PLGA NCとヒト皮膚線維芽細胞（NHDF：Normal Human Dermal Fibroblasts）で評価した。

NHDFに蛍光標識-P/PLGA NCを添加後，一定時間培養させ細胞内の蛍光量を測定すると，どちらも経時的に取り込み量は増大してゆき，24 h後の蛍光量は蛍光標識-P/PLGA NCが成分単体に比べ約1.5倍高い値を示していた（図8）。

次にWST-1評価法を用いてPLGA NCによるNHDF増殖促進効果を調べてみた。「加水分解卵殻膜（HESM：Hydrolyzed Egg Shell Membrane，(株)キューピー製）」を封入したPLGA NP（HESM/PLGA NP，平均粒子径201 nm（動的光散乱法））をNHDFに添加し7時間暴露後，通常培地に交換しさらに17時間細胞培養した。培地除去後WST-1を添加し，4時間のインキュベーション後，マイクロプレートリーダーで吸光度を

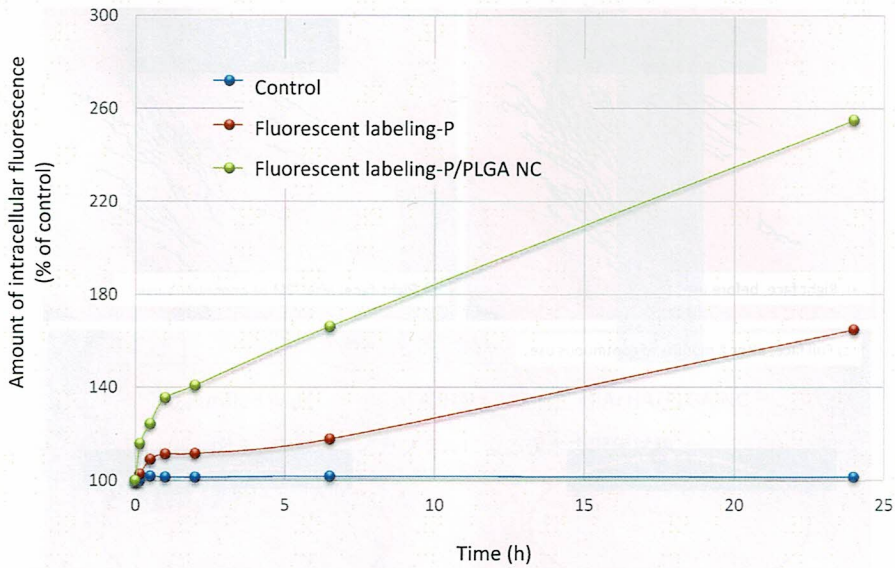


図8 タンパク質封入 PLGA ナノカプセルの細胞内取り込み

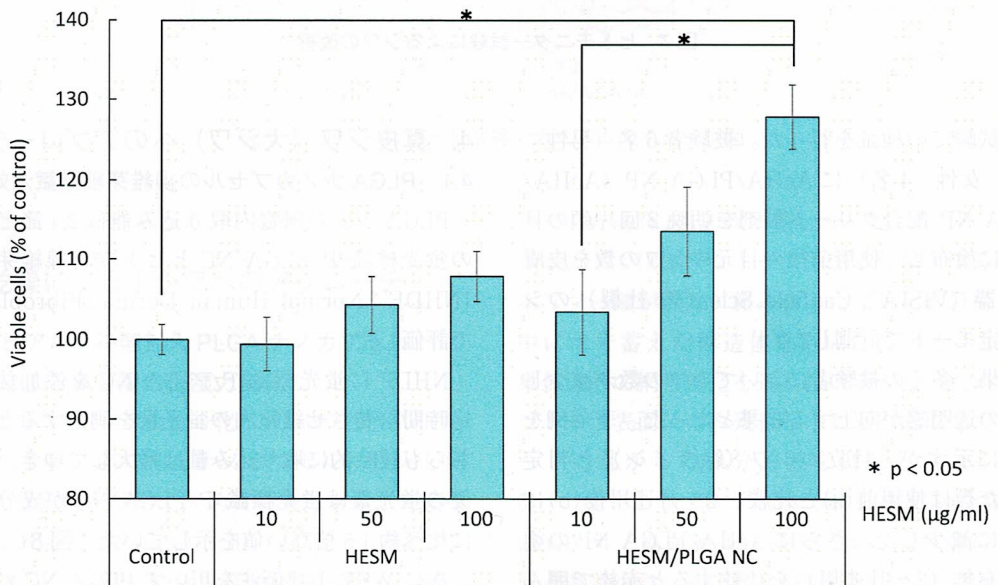


図9 PLGA NCによる細胞増殖促進効果

測定した。

結果, HESM 単体群でコントロールと比べわずかに細胞増殖を示した (Max.108%) (図9) が, HESM/PLGA NP 群では顕著な細胞増殖が見られ PLGA NP による有意な細胞賦活作用が示された (Max.127%)。

ELISA 法を用いて HESM/PLGA NC による I 型コラーゲン (COL1) 産生効果も検証している。前項と同様に培養し, 一次抗体 (抗 COL1 抗体) と酵素標識二次抗体を添加し, 培地中の COL1 量を測定した (吸光度法)。結果, HESM 単体群ではコントロールと比較し最大 125%, HESM/

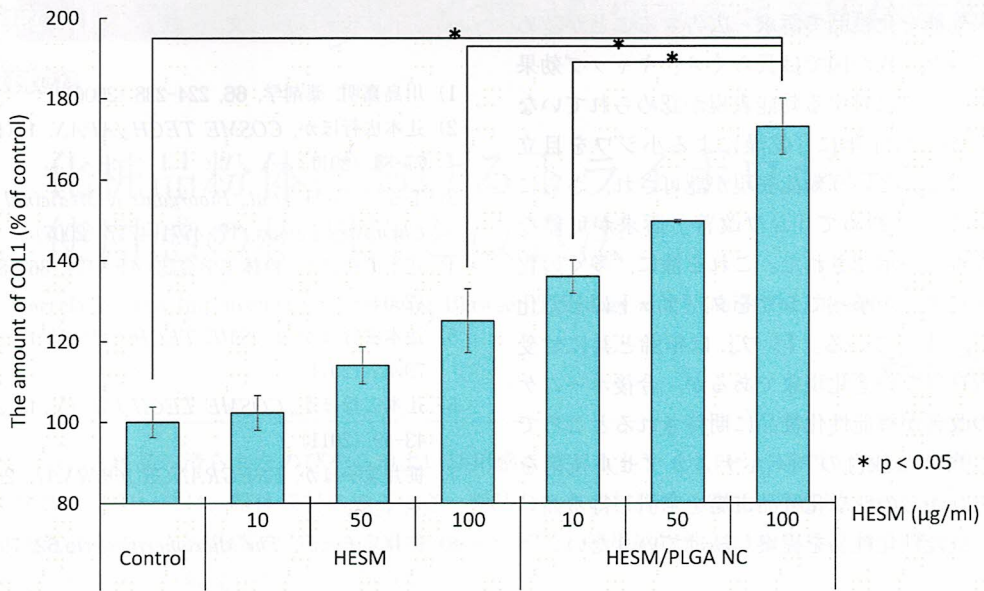


図10 PLGA NCによる1型コラーゲン産生促進効果

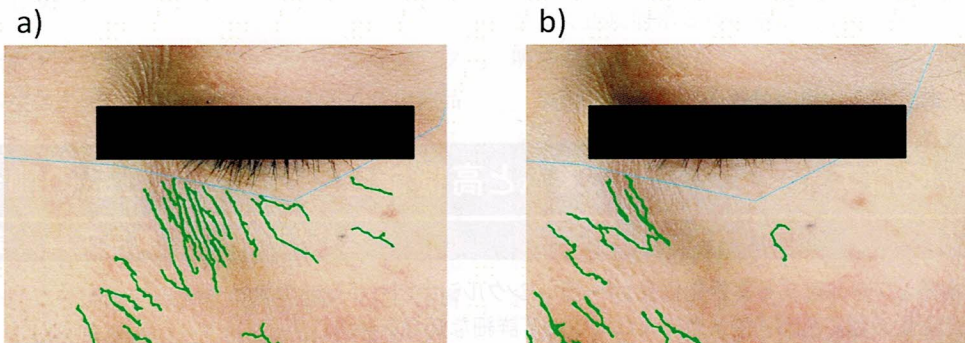


図11 PLGA NCを用いた真皮ジワ改善効果

a) 塗布前, b) 2週間塗布 (HESM/PLGA NC水溶液)

PLGA NC 群では最大173%のCOL1が産生されていた(図10)。細胞賦活試験の結果を考慮すれば1細胞当たりのCOL1産生量は増大しており、PLGA NCによる細胞賦活作用およびCOL1産生促進作用が示された。

#### 4.2 HESM封入PLGAナノカプセルによる抗シワ効果(ヒトモニター試験)

HESM/PLGA NCによる真皮ジワの改善検証をヒトモニター試験で評価した。被験者4名にHESM/PLGA NC水溶液(ブチレングリコール

20%配合)を朝晩2回片顔に塗布し、使用前後のシワを皮膚測定器(VISIA®, Canfield Scientific社製)のシワ判定モードで測定した。結果、著効例ではわずか2週間の連用で目立つシワ(緑ライン)が顕著に減少し、HESM/PLGA NCによるシワ改善効果が確認された(図11)。

#### 5. おわりに

シワはいつの時代も加齢・老化の代名詞とされ、シワの予防や改善効果のある化粧品は世界的にもニーズが高く、欧米ではいち早くシワに対す



る効果効能を化粧品で訴求・広告することが認められていた。我が国では長らくメーキャップ効果を除き、シワに対する効能表現が認められていなかったが、2011年に「乾燥による小ジワを目立たなくする」という効能表現が認可され、さらに2016年7月に初めて「シワ改善」訴求が可能な医薬部外品が承認された。これを機に、多くの化粧品メーカーが挙ってシワをターゲットにした化粧品を上市している。『シワ』は年齢と共に甘受せざるを得ない老化現象であるが、今後ホームケアでの改善が機能性化粧品に期待される場所である。当社は独自のPLGA ナノカプセル技術を基にこれからのシワ化粧品市場を牽引し得る高い抗シワ機能性化粧品を提案し続けていきたい。

文 献

- 1) 川島嘉明, 薬剤学, 66, 224-238 (2006)
- 2) 辻本広行ほか, COSME TECH JAPAN, 1 (1), 77-84 (2011)
- 3) Tsujimoto H. et al., Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 17, 4771-4777 (2007)
- 4) 辻本広行ほか, 粉体工学会誌, 41 (12), 867-875 (2004)
- 5) 辻本広行ほか, COSME TECH JAPAN, 1 (3), 79-85 (2011)
- 6) 辻本広行ほか, COSME TECH JAPAN, 1 (2), 43-49 (2011)
- 7) 笹井愛子ほか, FRAGRANCE JOURNAL, 2, 32-38 (2017)
- 8) 笹井愛子ほか, The Micromeritics, No.62, 79-85 (2019)

## 最新皮膚エイジングメカニズムと高機能性シワ改善化粧品の開発

監修：正木 仁(東京工科大学)

- ★日本初シワを改善する薬用化粧品 ポーラ「リンクルショット」が空前の大ヒット!
- ★老化を引き起こす因子やメカニズムについて詳細な知見を紹介!
- ★国内第一線の研究者が徹底解説!

<p>【第I編 老化の定義】</p> <p>第1章 皮膚の老化 シワ・タルミおよび老人性色素斑の発生メカニズム</p> <p>第2章 毛髪老化</p> <p>第3章 口唇の老化</p> <p>【第II編 シワ発生メカニズム】</p> <p>第4章 紫外線によるシワたるみ発生の分子生物学的メカニズム</p> <p>第5章 ブルーライトによる光老化のメカニズムと予防</p> <p>第6章 近赤外線は皮膚老化の増悪因子となるのか?</p> <p>第7章 皮膚の乾燥はシワ形成の加速因子になるのか?</p> <p>第8章 糖化反応生成物が及ぼす表皮脂質代謝異常により皮膚の乾燥が誘導される</p> <p>第9章 真皮マトリックスの酸化が及ぼすコラーゲン線維、エラスチン線維の代謝への影響</p> <p>第10章 光老化におけるコラーゲン取込受容体Endo180の関与</p> <p>第11章 光老化によるシワ発生メカニズム</p> <p>第12章 光老化に対応したアミノ酸とキトサン誘導体のスキンケア成分としての有用性</p> <p>第13章 ヒアルロン酸分解に着目したシワ形成メカニズムとその改善アプローチ</p> <p>【第III編 老人性色素斑発生のメカニズム】</p> <p>第14章 色素斑形成メカニズム</p> <p>第15章 老人性色素斑形成における真皮線維芽細胞の関与</p>	<p>第16章 メラノソームを可視化するM-INK</p> <p>第17章 色素沈着とメラノソームの分解</p> <p>【第IV編 機能性化粧品素材のアンチエイジング化粧品への応用】</p> <p>第18章 皮膚の内側と外側から多角的アプローチでシワを改善する新規化粧品原料の提案</p> <p>第19章 トラネキサム酸のアンチエイジング効果</p> <p>第20章 ヘキサシル3-グリセリルアスコルビン酸(VC-HG)によるメラノサイト内のメラノソーム輸送阻害</p> <p>第21章 フラーレンの抗酸化作用と化粧品への応用</p> <p>第22章 アグアヘエキスの女性ホルモン様作用成分とその効果</p> <p>【第V編 光老化防御の最前線にある太陽光線の防御】</p> <p>第23章 紫外線吸収剤の現状</p> <p>第24章 光ストレスによるエイジングの分子メカニズムとその防御</p> <p>第25章 紫外線・近赤外線を防ぐ複合粉体加工プロセス</p> <p>【第VI編 高機能シワ改善化粧品の開発事例】</p> <p>第26章 ポーラ リンクルショットメディカルセラム</p> <p>【第VII編 アンチエイジング評価の現状】</p> <p>第27章 医薬部外品申請を踏まえたin vivo 抗シワ効果の評価</p> <p>第28章 医薬部外品申請を踏まえたin vitro 抗シワ効果の評価</p> <p>第29章 抗酸化評価法の現状</p>
--	---

■体裁/B5判・327頁 ■発行/2020年6月 ■定価62,700円(本体57,000円)

申込 FAX: 03(3293)2069 <https://www.cmbooks.co.jp/>

シーエムシー出版