

## 最新のヒト幹細胞培養液を配合したまつ毛育毛技術の開発 —M再生クリニックとのコラボレーション—

### Development of Eyelash Growth Technology with The Latest Human Stem Cell Culture Supernatant —Collaboration with M Regenerative Clinic—

越智 綾香<sup>1</sup>, 田中 萌<sup>1</sup>, 笹井 愛子<sup>1</sup>, 辻本 広行<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup> 同 取締役, 執行役員, マテリアル事業本部長

Ayaka OCHI<sup>1</sup>, Moe TANAKA<sup>1</sup>, Aiko SASAI<sup>1</sup>, Hiroyuki TSUJIMOTO<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>Material Business Division Director, Director & Operating Officer, Hosokawa Micron Corporation, JAPAN

#### 抄 録

コロナ禍でマスクが必須アイテムとなった昨今, マスクに隠れない目元, 特にまつ毛がその人の第一印象を左右する重要な要素になっている。まつ毛を太く長く育てることを目的に, 再生医療から派生した化粧品原料である「ヒト幹細胞培養液」が注目されている。これに含有される多様な成長因子類やサイトカインが毛髪の細胞を強力に活性化することで育毛効果をもたらす一方, 分子サイズが大きいためまつ毛育毛のターゲット部位である毛穴深部への浸透性や持続性が課題である。本稿では, この課題を解決しうる当社が長年にわたり研究開発を積み重ねてきたDDS (Drug Delivery System) 技術とヒト幹細胞培養液を掛け合わせた際のまつ毛育毛効果について報告する。

#### ABSTRACT

Recently, masks have become a must-have item due to the COVID-19 problem. The eye area not covered by mask, especially the eyelashes, has become an important part of a person's first impression. In recent years, human stem cell culture supernatant has been attracting attention as a new cosmetic ingredient born from regenerative medicine technology for the purpose of growing eyelashes thicker and longer. The various growth factors and cytokines contained in the supernatant powerfully activate cells involved in hair growth, producing a strong hair-growing effect. However, due to the large molecular size of the supernatant contents, it has been difficult to penetrate the supernatant contents to the cells deep inside the pores, the target site for eyelash hair growth. In this paper, we focus on this human stem cell culture supernatant and report on its eyelash growth effect by combining it with PLGA nanoparticles' DDS (Drug Delivery System) technology we have built which can deliver supernatant contents to the target site well.

## 1 はじめに

世界的な新型コロナウイルス感染症の流行におけるマスクの習慣化により、これまで以上に目元のおしゃれに関心が集まっている。中でも第一印象を左右するまつ毛のケアを始める人が増えており、世界のまつ毛美容液の市場規模は2021年に4億2,513万米ドル、2021年～2028年には4.9%のCAGR（年平均成長率）で成長し2028年には5億9,329万米ドルに上ると予想されている<sup>[1]</sup>。

毛髪（Hair）は表皮上層の毛幹（Hair shaft）、表皮下層の毛根（Hair root）から構成され、毛根部の最下層に毛球（Hair bulb）が存在する。バルジ領域（Bulge area）に存在する毛包幹細胞（Hair follicle stem cells）は毛髪を生成する際に必要な発毛因子を作り出して毛母細胞（Hair matrix cells）へと供給している。さらに毛球では毛髪の元となる毛母細胞が毛乳頭細胞（Dermal papilla cells）からの指示を受け分裂・増殖することで毛髪を産生しており、これによって毛髪は押し出されるように伸長することが知られている（図1）。よって、まつ毛の本数を増やし、1本1本を太く・長く育てることを目的とするまつ毛美容液は「毛乳頭・毛母細胞の賦活成分」や毛乳頭細胞への栄養供給を企図した「血流・血行促進成分」、脱毛シグナル抑制を企図した「男女ホルモン様成分」などで成分構成されるのが一般的である。

他方、図1に示した通りこれら育毛成分のターゲット部位は毛穴深部に存在していることから、まつ毛育毛の効果を最大化するには育毛成分を毛穴の奥へ浸透・滞留させる必要がある。また、仮に成分が毛穴内部に浸透したとしても毛穴内部の角質層は組織的に極端に粗な構造であるため育毛成分は速やかに皮内へ吸収され、有効濃度を長時間維持し続けることは難しい。

また、まつ毛の毛周期は頭髪（約290週間）の1/10以下と非常に短く、成長期も毛周期全体の25%程度（頭髪の成長期は毛周期全体の90%程度）しかない。そのため、まつ毛育毛の優劣は1.5か月程度の短い成長期の間にとどれだけ太く長く育てることができるかで決まってくる。

今回の高機能性まつ毛美容液の開発では、高い細胞賦活効果を有するヒト幹細胞培養液に着目し、その効果を最大化しうる当社が長年の頭髪用育毛剤の研究開発で培ってきたドラッグデリバリーシステム（DDS、必要な場所（毛穴深部）に必要な（育毛）成分を必要なだけ届け続ける）技術と掛け合わせることを試みた。

## 2 PLGA NP

### 2.1 PLGA NP の特徴

PLGA（乳酸・グリコール酸共重合体）は乳酸と

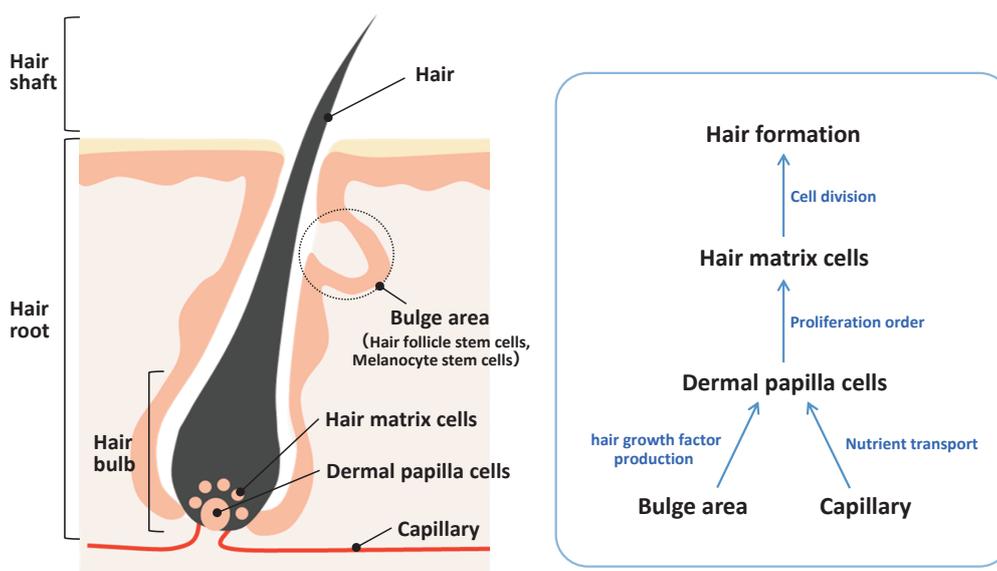


図1 毛穴の断面図と毛髪の生成メカニズム

Fig. 1 Cross-section of a pore and the mechanism of hair formation.

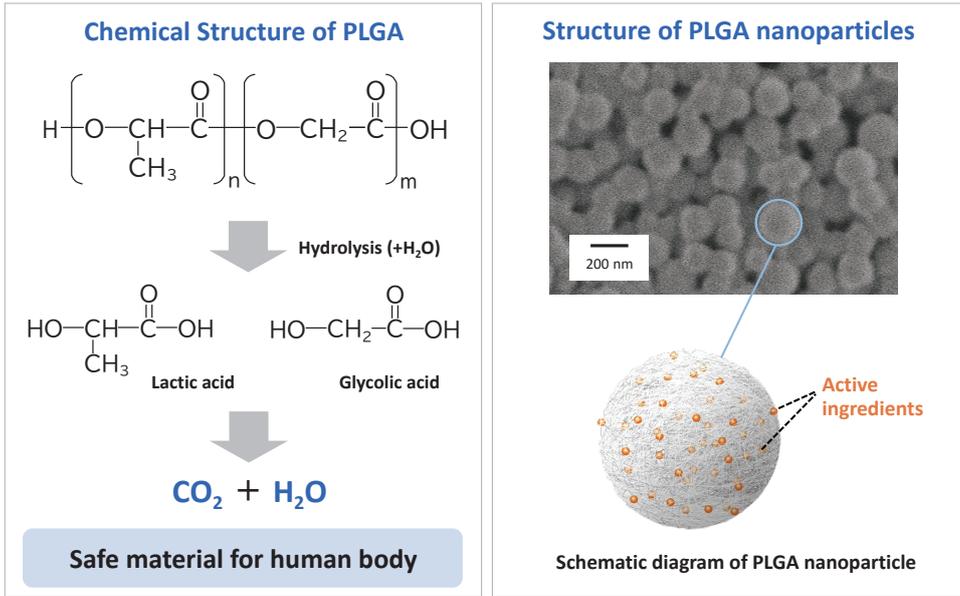


図2 PLGAの化学構造およびPLGAナノ粒子のSEM写真  
 Fig. 2 PLGA chemical constitution and SEM image of the PLGA nanoparticles.

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単鎖構造をもつ生体適合性ポリマーである。エステル結合部位は水存在下で加水分解しTCA回路（Tri-Carboxylic Acid cycle）を経て最終的には水と二酸化炭素にまで分解され体外へ排出される。そのため理論的に体内蓄積性や、他のナノ粒子で懸念される細胞毒性などは無く、安全・安心な化粧品原料である<sup>[2]</sup>（FDA認可、医薬部外品・添加剤として承認取得済）（図2）。

このPLGAポリマーによって構成されたPLGAナノ粒子（PLGA NP）は物理的サイズから毛穴や皮膚内部へ浸透でき、皮膚の水分によりPLGAが徐々に加水分解することによって封入成分を徐放するため、成分の作用効果を持続させることができる。

## 2.2 PLGA NPの細胞内移行性

ヒト表皮角化細胞（Normal Human Epidermal Keratinocytes: NHEK）を用いた共焦点顕微鏡（Carl Zeiss AG, Germany）観察ではPLGA NPの経時的な細胞内移行性が示された<sup>[3]</sup>。またヒト皮膚線維芽細胞（Normal Human Dermal Fibroblasts: NHDF）を用いた細胞内蛍光量評価において、蛍光成分封入PLGA NPが成分単体に比べて約1.5倍高い値を示しており<sup>[4]</sup>、PLGA NPの高い細胞内移行性が示されている。

## 3 ヒト幹細胞培養液封入PLGA NPによる育毛効果

### 3.1 ヒト幹細胞培養液

科学的根拠に基づき効果が検証された化粧品を機能性化粧品といい、消費者はより確実な効果を化粧品に求め始めている。ここ最近の急速な再生医療技術の発展を背景に、再生医療成分の一つとして化粧品市場で注目されているのがヒト幹細胞培養液である。幹細胞とは自分とまったく同じ能力を持った細胞に分裂することができる能力（自己複製能）と自分の体を作るさまざまな細胞を作り出す能力（分化能）をもつ細胞のことを指す。この幹細胞を抽出・培養し、その培養液から幹細胞を取り出して滅菌処理した上澄み液のことを「ヒト幹細胞培養液（Human Stem Cell Culture Supernatant: HSCCS）」と呼ぶ。HSCCSは幹細胞の培養方法や培地、幹細胞が採取される臓器（脂肪や歯髄、臍帯など）に応じて含まれる成分の種類や濃度が異なるものの、HSCCSには数百種類にも及ぶ成長因子類（細胞増殖促進因子）やサイトカイン（生理活性物質）などが含有されている。それらは、皮膚や毛髪の細胞を強力に活性化することで、シワ改善や美白効果、育毛効果などをもたらす。このとき、HSCCSの効果を最大限に発揮させるには真皮層に存在する繊維芽細胞（シワ改

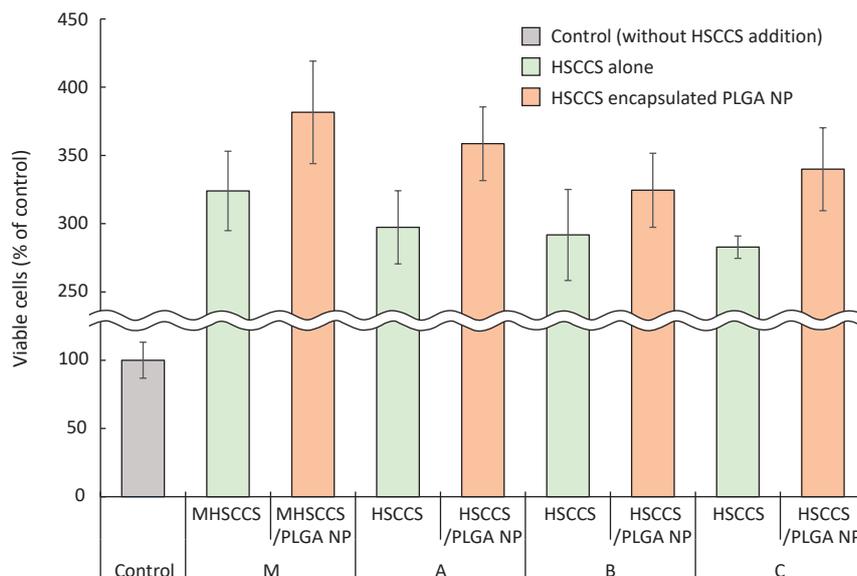


図3 PLGA NP によるヒト毛乳頭細胞増殖促進効果

Fig. 3 The amount of viable cells in HFDPC cells by different HSCCS manufacturer. Viable cells was measured after incubation for 24 h.

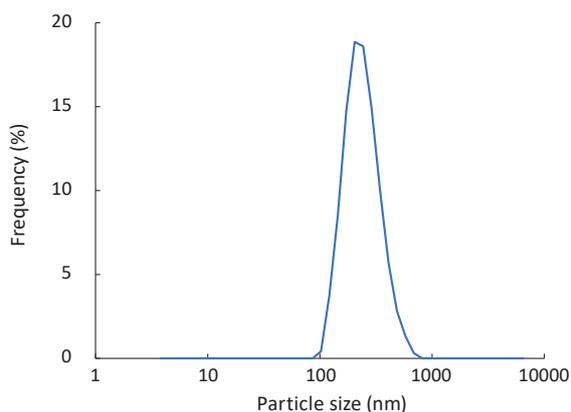


図4 M再生クリニック製ヒト幹細胞培養液封入 PLGA ナノ粒子の粒子径分布

Fig. 4 Particle size distribution of MHSCCS encapsulated PLGA nanoparticles.

善)や表皮基底層にあるメラノサイト(美白)、毛穴深部に存在する毛乳頭細胞(育毛)まで HSCCS を直接届けていく必要がある。

当社は2021年より「医療法人社団啓神会 M再生クリニック」と化粧品用の HSCCS 開発を進めている。M再生クリニックは脂肪細胞由来の幹細胞を使用した再生治療を専門としており、併設の研究所では東京大学医科学研究所とも連携され、海外との幅広いネットワークを活かし先端の幹細胞研究を

行っている。以下に M再生クリニックが作製したヒト脂肪由来 HSCCS の効果を検証した。

### 3.2 毛乳頭細胞賦活

本ヒト脂肪由来 HSCCS の育毛効果の検証を目的として、ヒト毛乳頭細胞(Human Follicle Dermal Papilla Cells: HFDPC)に対する細胞賦活効果を調べた。

ヒト毛乳頭細胞(PromoCell)は96穴プレートに播種され、基礎培地で24時間培養後、そこに HSCCS が固形分濃度で  $85 \mu\text{g/ml}$  となるように添加された。24時間培養後、WST-1 を用いたミトコンドリア活性評価により HFDPC 賦活活性を測定した。化粧品原料として販売されている複数社の HSCCS と比較した結果、M再生クリニック製の HSCCS 群の増殖率が最も高く 324% を示した(図3)。

次に各 HSCCS を PLGA NP に封入し、HFDPC 増殖促進効果を先ほどと同様の方法で調べた。その結果、HSCCS 封入 PLGA NP は全ての培養液において HSCCS 単体群よりも顕著な細胞増殖が見られ、PLGA NP により細胞賦活作用が高まっている。これは、PLGA NP の高い細胞内移行性によるものであると考えられる。また、HSCCS 単体と同等に M再生クリニック製 HSCCS 封入 PLGA NP (MHSCCS/PLGA NP, 平均粒子径 211 nm (図4)) 群が最も高く、

382%の増殖率を示した(図3)。

これらの結果から、MHSCCSは既存のHSCCSを凌駕する性能を有し、さらにPLGA NPに封入することで細胞賦活効果を増強した。実際のヒトへの使用を想定すると、皮膚や毛穴への塗布後のターゲット細胞への成分送達においては、DDS化され皮膚浸透性に優れたMHSCCS/PLGA NP技術の有意性がさらに強調されてくると考えられる。

### 3.3 MHSCCS/PLGA NPのまつ毛美容液への応用

そこでMHSCCS/PLGA NPのまつ毛美容液への適用を検討した。MHSCCS/PLGA NPを配合したまつ毛美容液を20~60代の女性10名の被験者に1ヶ月1日1回アイメイクなしの状態ですまつ毛と根本に塗布してもらい、使用前後のまつ毛の評価を実施した。評価は肌診断器VISIA®(Canfield Scientific社製)を用いたまつ毛の長さや密度測定、モニターアンケートにより行った。

その結果、著効例では4か月の連用で未塗布時と比較して9%まつ毛が伸長し、MHSCCS/PLGA NPによるまつ毛の育毛効果が確認された(図5)。またアンケートにおいては、使用2週間という短期間で過半数のモニターにおいてまつ毛の太さやハリコシなどへの効果が実感されていた(図6)。

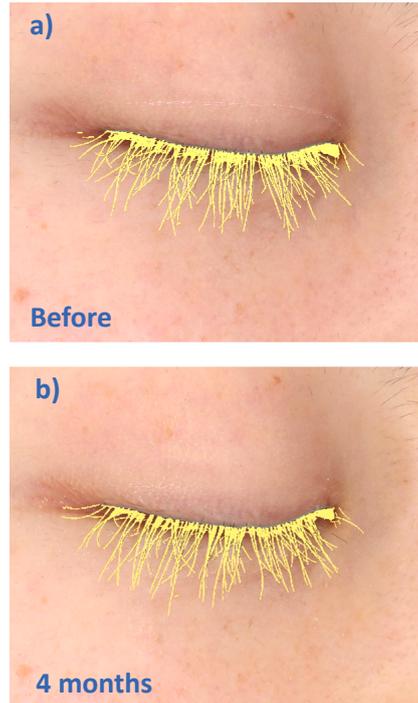
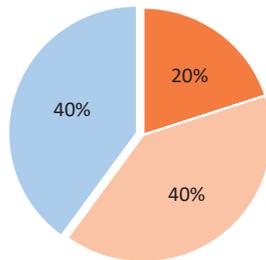


図5 PLGA NPを用いたまつ毛育毛効果  
a) 塗布前, b) 4か月塗布 (MHSCCS/PLGA NP 配合まつ毛美容液)

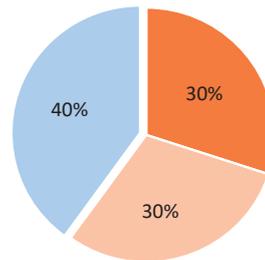
Fig. 5 Eyelash growth effect using MHSCCS/PLGA NP in human monitor test.

a) Right eye, before use, b) Right eye, after 4 months of continuous use.

Do you feel your eyelashes are thicker?



Do you feel your eyelash volume has increased?



Do you feel your eyelashes impart body and stiffness?

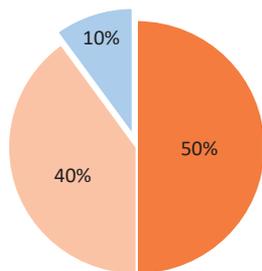


図6 まつ毛美容液のモニター試験アンケート結果 (2週間時点, 回答者10名)

Fig. 6 Results of the eyelash serum monitor test questionnaire (As of 2 weeks, participants n=10).

## 4 おわりに

本稿では PLGA NP 技術を用いた HSCCS のまつ毛育毛効果について示した。再生医療技術の発展とその応用展開に伴い、今後 HSCCS 市場はさらなる拡大が見込まれる。毛穴や皮膚への浸透持続性に優れた PLGA NP により HSCCS を DDS 化することで育毛だけでなくシミやシワといった肌症状の改善など多様なスキンケア技術の向上に役立てるものができると考えている。

## References

- [1] Eyelashes Enhancing Agents Market Forecast to 2028—COVID-19 Impact and Global Analysis, The Insight Partners, 2022.
- [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.  
<https://doi.org/10.14843/jpstj.66.224>
- [3] 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”, 粉碎 The Micromeritics, 64 (2021) 62–68.  
<https://doi.org/10.24611/micromeritics.2021014>
- [4] 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”, 粉碎 The Micromeritics, 65 (2022) 80–85.  
<https://doi.org/10.24611/micromeritics.2022016>

## 著者紹介



### 越智 綾香 Ayaka OCHI

〔経歴〕2020 年愛媛大学大学院農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。2020 年から現職。

〔専門〕PLGA ナノ粒子技術を応用した医薬品・化粧品の研究・開発。

〔連絡先〕aochi@hmc.hosokawa.com



### 田中 萌 Moe TANAKA

〔経歴〕2019 年大阪薬科大学薬学部薬学科卒業。同年ホソカワミクロン株式会社入社。2019 年から現職。

〔専門〕PLGA ナノ粒子技術を応用した機能性育毛剤・化粧品の研究開発。

〔連絡先〕moetanaka@hmc.hosokawa.com



### 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。副センター長。

〔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。

〔連絡先〕ayasutake@hmc.hosokawa.com



### 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, マテリアル事業本部長, 執行役員, 取締役。

〔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。

〔連絡先〕hysujimoto@hmc.hosokawa.com