### 機能性化粧品「アスタリフトジェリーアクアリスタ」リニューアル開発

中畝 明菜\*,河野 貴胤\*,北岡 弘行\*,杉島 明典\*\*,大村 現\*\*,織笠 敦\*,景山 茂樹\*,柳 輝一\*,境野 佳樹\*,永田 幸三\*

# Development of the Renewed Functional Skin Care Product "ASTALIFT JELLY AQUARYSTA"

Akina NAKAUNE\*, Takatsugu KAWANO\*, Hiroyuki KITAOKA\*, Akinori SUGISHIMA\*\*, Gen OMURA\*\*, Atsushi ORIKASA\*, Shigeki KAGEYAMA\*, Terukazu YANAGI\*, Yoshiki SAKAINO\*, and Kozo NAGATA\*

#### **Abstract**

We have developed the renewal product of "ASTALIFT JELLY AQUARYSTA", which contains our unique nanoscale dispersion called "human-type nano-acylceramide". Acylceramides are essential components of the long periodicity phase (LPP) lamellar structures of intercellular lipids localized in the stratum corneum. These molecules are important for skin permeability barrier maintenance. The amount of skin acylceramides gradually decreases with aging, which may contribute to age-associated skin drying. Here we developed 20 nm diameter "human-type nano-acylceramide" and confirmed that this dispersion both accelerates the restoration of surfactant-damaged LPP lamellar structures and improves skin barrier functions. Finally, we demonstrated that the application of "ASTALIFT JELLY AQUARYSTA" makes skin appearance like "Attractive Elegant skin".

#### 1. はじめに

われわれは、写真分野で培ったコラーゲン研究、抗酸化技術、ナノ化技術、光解析技術など「美しい写真をつくる」技術を「美しい肌をつくる」ために応用し、機能性化粧品の開発を進めてきた。2010年、さまざまな肌トラブルの発端になる肌の乾燥を根本から改善するスペシャルケアアイテムとして独自のナノ乳化に成功した「ヒト型ナノセラミド」配合のアスタリフトシリーズ「ジェリーアクアリスタ」を発売した。それから5年を経て、2015年9月、肌が本来もつ保湿・バリア機能をさらに追及し、「進化したセラミド技術」を盛り込んだ「ジェリーアクアリスタ」をリニューアル発売した(Fig. 1)。

本報告では、当リニューアルで新規配合した「ヒト型ナノアシルセラミド(ヒト型アシルセラミドのナノ分散液)」の 肌に対する有効性研究について報告する。



Fig. 1 The renewed ASTALIFT JELLY AQUARYSTA

本誌投稿論文(受理2015年12月2日)

- \*富士フイルム(株) R & D統括本部 医薬品・ヘルスケア研究所 〒258-8577 神奈川県足柄上郡開成町牛島577
- \* Pharmaceutical & Healthcare Research Laboratories Research & Development Management Headquarters FUJIFILM Corporation Ushijima, Kaisei-machi, Ashigarakami-gun, Kanagawa 258-8577, Japan
- \*\*富士フイルム(株)R&D統括本部 解析技術センター 〒250-0193 神奈川県南足柄市中沼210
- \*\* Analysis Technology Center Research & Development Management Headquarters FUJIFILM Corporation Nakanuma, Minamiashigara, Kanagawa 250-0193, Japan

#### 2. 皮膚のバリア機能とセラミド

#### 2.1 角層の構造とセラミド

皮膚は外的刺激や異物の侵入を阻止し、体内からの水分蒸散を防止するバリア機能をもっている。その主な担い手は皮膚の最外層に位置する角層である。角層は角層細胞と角層細胞間脂質とからなり、角層細胞間脂質の主成分として約50wt%を占めるセラミド<sup>1)</sup>の量とバリア機能とには直接的な相関があることが報告されている<sup>2)</sup>。このことから、セラミドはバリア機能において重要な成分であるといえる。

#### 2.2 長周期ラメラ構造とアシルセラミド

このセラミドが担うバリア機能が発揮されるためには、セラミドの量だけでなく、構造も重要である。それが、長周期ラメラ構造、「LPP (Long Periodicity Phase) 構造」である。LPP構造はセラミドを初めとした角層細胞間脂質が約13 nmの規則的な周期をもって配列した構造として知られている。そして、角層細胞間脂質の中でこのLPP構造に必須の構成成分といわれているのがアシルセラミドである(Fig. 2)3)4)。

セラミドは脂肪酸とスフィンゴイド塩基がアミド結合した 構造であるが、アシルセラミドは脂肪酸の末端がヒドロキシ 化され、そこに脂肪酸がエステル結合していることが構造的 特徴である(Fig. 3)。 アトピー性皮膚炎や魚鱗癬, 乾癬等のバリア機能不全を有する各種皮膚疾患においては, アシルセラミド量が少なく, LPP構造も減少していることが, 約20年前から報告されている $^{50}$ 。また, 健常肌においても加齢や季節変動でアシルセラミド量は減少し $^{60}$   $^{80}$ , それに伴い, LPP構造も少なくなることが確認されている $^{90}$ .  $^{100}$ 。したがって, アシルセラミドを効果的に角層に補填することができれば, LPP構造およびバリア機能が修復されることが期待できる。しかし, そのような報告は未だない。

そこで、われわれは、肌が本来もつバリア機能を強化し、より本質的な乾燥改善を目指し、角層に確実に浸透し、角層細胞間にLPP構造を修復可能なアシルセラミド外用製剤を開発することを目標とした。

## 長周期ラメラ構造を修復させる高浸透性「ヒト型ナノアシルセラミド」の開発

#### 3.1 「ヒト型ナノアシルセラミド」の作製

セラミドの立体構造に着目すると、スフィンゴイド塩基は少なくとも2つの不斉炭素を有し (Fig. 3)、理論上4種の立体異性体が存在し得る $^{11}$ 。しかし、生体内に存在するセラミドの立体配置は (2S、3R) 体の $^{11}$ 。香粧品原料においての他の異性体は検出されていない $^{11}$ 。香粧品原料において

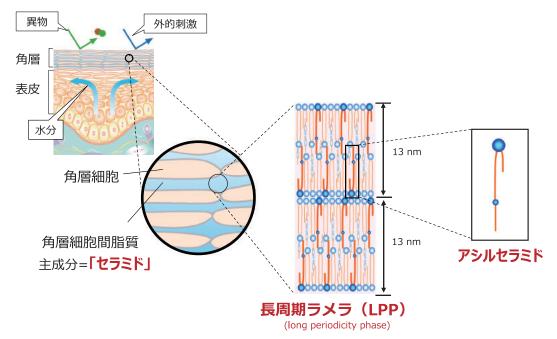


Fig. 2 Localization and structure of long periodicity phase (LPP) lamellar consists of acylceramides

Fig. 3 Molecular structure of human-type of acylceramide

#### (a)外観像

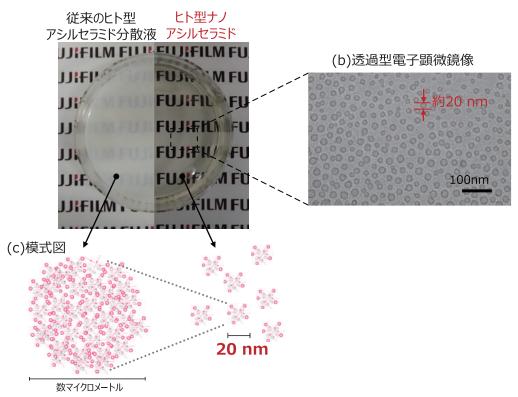


Fig. 4 (a) Appearance images, (b) transmission electron microscope (TEM) image, and (c) schematic diagrams of human-type acylceramide dispersion

は、このような生体内に存在するセラミドと同様の構造を有するセラミド(以下、「ヒト型セラミド」と呼ぶ)の他、その配糖体やセラミド類似物質も用いられている。モデル角層脂質を用いて、セラミド類似物質、ラセミ体、ヒト型セラミドのバリア機能を比較したところ、ヒト型セラミド以外のセラミドでは、バリア機能を低下させる場合もあることが報告されており<sup>11)</sup>、セラミドが角層細胞間脂質成分としてバリア機能に寄与するにはその立体構造が重要であることが示唆されていた。そこで、われわれは、LPP構造修復が最も期待できる「ヒト型アシルセラミド」を選択した。

ヒト型アシルセラミドの角層浸透性を上げるために、われわれはナノサイズで均一に分散した水系のナノ分散液を作製することとした。しかし、ヒト型アシルセラミドは従来から配合しているヒト型セラミドよりアシル鎖が長いため、溶解性が低く結晶性が高いことから、水系への配合はより困難であった。われわれは独自のナノ分散技術を用いて、従来のヒト型アシルセラミド分散液(粒径数  $\mu$  m)と比較し、透明な外観を擁し、平均粒径約20 nmの均一な水系ナノ分散液を作製することに成功した(Fig. 4)。

#### 3.2 「ヒト型ナノアシルセラミドの」角層浸透性評価

次に、作製した「ヒト型ナノアシルセラミド」が狙い通り、 角層に浸透するのかを確認した。ヒト摘出皮膚に「ヒト型ナ ノアシルセラミド」、もしくは従来型ヒト型アシルセラミド 分散液をそれぞれ塗布し、閉塞6時間静置後、テープストリッ ピングにて角層の2~6層目を回収し、LC-MSにて定量した。 いずれの層においても「ヒト型ナノアシルセラミド」の方が

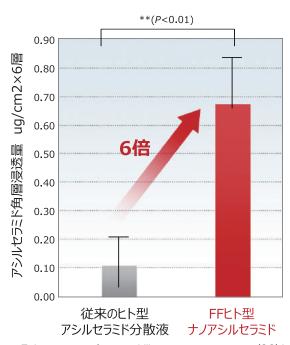


Fig. 5 Enhancement of permeability to stratum corneum (SC) by "human-type nano-acylceramide"

角層浸透量は有意に多く、トータルで約6倍浸透量が向上することを確認した(Fig. 5)。

#### 3.3 「ヒト型ナノアシルセラミド」のLPP構造修復効果

角層に浸透したヒト型アシルセラミドがLPP構造を修復するのかを確認した。培養表皮モデルの角層側から1%ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)水溶液を15分間添加し、「ダメー

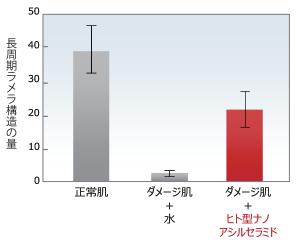


Fig. 6 LPP structure restoration effect by application of "humantype nano-acylceramide" to sodium dodecyl sulfate (SDS) -treated SC

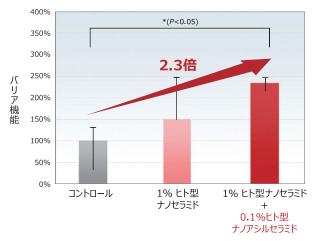


Fig. 8 Enhanced improvement of skin barrier function by "humantype nano-acylceramide"

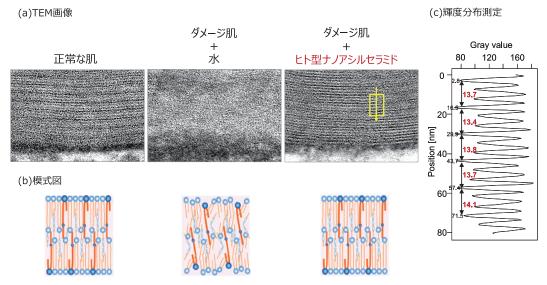


Fig. 7 (a) Observation of LPP structure restoration effect by application of "human-type nano-acylceramide" to SDS-treated SC by TEM (a) TEM images, (b) schematic diagrams, and (c) the gray scale scanned in the yellow box (a)

ジ肌モデル」とした。ここに、「ヒト型ナノアシルセラミド」もしくは水(コントロール)を角層側から添加し、2日間培養を続けた。トリプシン処理により剥離した角層を、22℃、50%相対湿度環境下に24時間静置後、小角 X線回折(SAXS)測定に用い、LPP構造に相当する回折ピークの面積からLPP量を求めた(Fig. 6)。SDS処理により減少したLPPは「ヒト型ナノアシルセラミド」の適用で修復されることを見出した。

次に、TEMでの観察を行った。LPPは四酸化オスミウム、四酸化ルテニウムで染色すると、約13 nmの周期性をもった白黒の縞模様として観察されることが知られている $^{12}$ )。この方法を用いて、SAXS測定と同条件で作製したサンプルにて、TEM観察を行った。SDS処理なし(Fig. 7a左)では鮮明な縞模様が観察されたのに対し、SDS処理を行うと、縞模様が消失した(Fig. 7a中央)。さらに、「ヒト型ナノアシルセラミド」を適用したモデルでは再び規則的な縞模様が復元した(Fig. 7a右)。この規則的な縞模様の輝度分布を解析し、約13 nmの繰り返し構造であることを確認した(Fig. 7c)。Fig. 7b にこのときの分子構造変化を模式的に示した。

このように、SAXS測定で定量的に得られた結果と一致する「ヒト型ナノアシルセラミド」のLPP構造修復効果を視覚的にも捉えることができた。

これまでにアシルセラミドの外用モデルでLPP構造修復を確認できた例はなく、われわれは初めてLPP構造が修復可能な外用製剤「ヒト型ナノアシルセラミド」の開発に成功した。

#### 3.4 「ヒト型ナノアシルセラミド」のバリア機能効果

培養表皮モデルの角層側に当社従来開発1%「ヒト型ナノセラミド」と新規開発0.1%「ヒト型ナノアシルセラミド」を添加し、2日間培養した。その後、角層上の余剰な溶液を除去し、経上皮電気抵抗値(TER)を用いてバリア機能を測定した。バリア機能は、1%「ヒト型ナノセラミド」単独添加と比較し、0.1%「ヒト型ナノアシルセラミド」と併用することでさらに向上し、コントロール(水適用)に対して約2.3倍にまで増強させることができた(Fig. 8)。

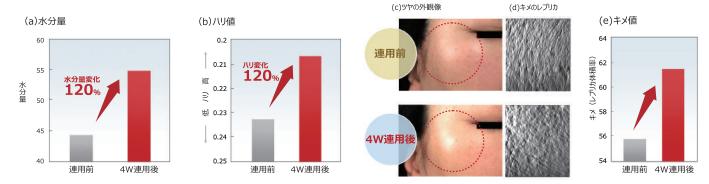


Fig. 9 Change in skin condition of (a) water content, (b) firmness, (c) glossy appearance, (d) replica images of grit, and (e) grit quantification

#### 4. 「ジェリーアクアリスタ」製剤の効果

「進化したセラミド技術は"魅映え"を変える」を商品コンセプトに、肌が本来もつバリア機能をさらに追及し、従来配合の「ヒト型ナノセラミド」に加え「ヒト型ナノアシルセラミド」を配合したのがリニューアルした「ジェリーアクアリスタ」である。

「ジェリーアクアリスタ」のヒト皮膚への効果を検証する ため、40歳以上55歳未満の日本人女性45名での試験を実 施した。1日2回朝晚,28日間の連用前後に皮膚水分量,ハリ, キメ状態など測定を実施した。連用前後の比較で,皮膚水分 量およびハリ値は有意な改善が見られた。特に、乾燥群9名 (連用前の皮膚水分量が50以下)において,顕著な改善効果 が認められた (Fig. 9a, b)。また、キメ状態を表すキメレプ リカ体積率も有意に改善した(Fig. 9c)。以上のように、「ジェ リーアクアリスタ」の28日間連用により肌が潤い、ハリが 増し、キメが整うことが示された。肌の改善例として、Fig. 9d, eに頬部のキメレプリカ像と外観像を示す。連用前のキ メは不明瞭で一方向に流れていたが、連用後はいろいろな方 向のキメが明瞭になり、キメが整った肌に特徴的な多くの小 さな三角形が見られるようになった (Fig. 9d)。また、連用 後は全体的に頬部が明るくなり、ツヤが増し、見た目のハリ 感などの「魅映え」が改善した(Fig. 9e)。

#### 5. まとめ

「ジェリーアクアリスタ」のリニューアルでは乾燥の根本改善を目指し、肌が本来もつバリア機能をさらに追及した。その結果、写真技術で培ったナノ分散技術を応用した「ヒト型ナノアシルセラミド」により角層のLPP構造を修復させることに初めて成功した。それは、肌機能を改善させるだけでなく、見た目にも変化がわかるスキンケアとして確かな効果を提供できるものである。

今後も、このような富士フイルムの独自技術を駆使し、お客様にこれまでにない新たな価値、確かな効果実感を提供できる機能性化粧品の開発を続けていきたい。

#### 参考文献

- 1) 芋川玄爾. "セラミド". 最新皮膚科学大系 第7巻 角化異常性疾患. 中山書店, 2002, p.68-75.
- 2) Gerhard, Grubauer et al. The Journal of Lipid Research. 1989,30(1), p.89-96.
- 3) Bouwstra, JA. et al. The Journal of Lipid Research. 1998, 39(1), p.186–196.
- 4) Bouwstra, JA. et al. Acta Dermato-Venereologica, Supplementum. 2000, 80(208), p.23-30.
- 5) Van Smeden, J. et al. Biochimica et Biophysica Acta. 2014, 1841(3), p.295-313.
- 6) Imokawa, Genji et al. Journal of Investigative Dermatology. 1991, 96(4), p.523-526.
- 7) Rogers, J. et al. Archives of Dermatological Research. 1996, 288(12), p.765-770
- 8) Ishikawa, Junko et al. Archives of dermatological research. 2013, 305(2), p.151-162.
- 9) Bouwstra, Joke, A. et al. Biochimica et Biophysica Acta. 2006, 1758(12), p.2080-2095.
- 10) Schreiner, Volker et al. Journal of investigative dermatology, 2000, 114(4), p.654-660.
- 11) 石田賢哉. セラミド 基礎と応用 ここまできたセラミド 研究最前線. セラミド研究会, 食品化学新聞社, 2011, p.149-161.
- 12) Bouwstra, J.; G. Gooris; Maria, Ponec. Journal of biological physics, 2002, 28(2), p.211-223.

#### 商標について

・本論文中で使われている会社名,システム・製品名は,一般に各社の商標または登録商標です。