

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：34504

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2023

課題番号：19K08803

研究課題名(和文)角層水分量に着目した電場による経皮吸収促進メカニズムの解明研究

研究課題名(英文)Research to the enhanced mechanism of transdermal absorption focusing on stratum corneum water content

研究代表者

中沢 寛光 (Nakazawa, Hiromitsu)

関西学院大学・理学部・教育技術主事

研究者番号：70411775

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：経皮投与(塗り薬)による投薬は、飲用や注射などと比べてより患者負担の低い投薬方法として期待されている。本研究では経皮投与の最大の問題点である経皮浸透性の向上を目的とし、そのメカニズムを解明すべく、外部刺激の効果や皮膚角層内に含まれる水分量の影響などを詳細に解析した。放射光X線を用いることにより、皮膚のバリア機能に重要な役割を果たす、すなわち薬物の経皮浸透性を阻害する角層細胞間脂質の構造やその変化を捉えることができる。本研究においてこれを詳細に解析したところ、角層の含有水分量や外部刺激が細胞間脂質の構造をわずかに変化させることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、電場などの外部刺激や、生体や薬剤の基本物質である水が、皮膚角層バリア機能に重要な役割を果たす細胞間脂質の側方配列構造に少なからず影響を与えていることが明らかとなり、経皮吸収促進作用のメカニズム解明につながる貴重な情報を得ることができた。細胞間脂質は疎水的な性質が強く、水と関係していることを示す実験データはこれまであまり得られておらず、これらの情報は学術的にも貴重なものであると考えられる。

今後、本研究を遂行することにより、皮膚角層の構造と経皮吸収現象の関係性がより明らかとなり、従来よりも浸透しやすい薬剤やその投薬方法の新規開発に重要な知見を提供することができると期待される。

研究成果の概要(英文)：Transdermal absorption is expected to be a more convenient method of medication administration for patients compared to oral administration or injection. In this study, the effects of external actions and the effect of water content in the stratum corneum on transdermal absorption were analyzed with the aim of improving the performance of transdermal penetration and elucidating its mechanism.

High flux synchrotron X-ray beams can make clear the packing structure and structural changes of the intercellular lipids in the stratum corneum, which plays a crucial role for the skin barrier function. Detailed analysis in this study revealed that the water content in the stratum corneum and external actions affects the structure of intercellular lipids, which also inhibit the transdermal absorption of drugs.

研究分野：生物物理

キーワード：皮膚 角層 細胞間脂質 経皮吸収 X線回折

様式 C - 19、F - 19 - 1(共通)

1. 研究開始当初の背景

人体の最外層を覆う皮膚角層は、皮膚のバリア機能に対して重要な役割を果たす。この角層は主に、角化の過程で扁平状に変形した角質細胞と、その周りの領域を取り囲む細胞間脂質から構成され、それらが秩序性を持った複合構造を形成することで、高いバリア性が発揮されていると考えられている¹⁾²⁾。また角層内で細胞間脂質は、分子自身が持つ疎水相互作用により、脂質ラメラ構造を形成し、その内部には流動相やヘキサゴナル相、オーソロンビク相が伴っていることが、近年の放射光 X 線回折や電子回折、中性子線回折、近赤外分光などの手法を用いた研究から明らかとなっている³⁻⁶⁾。さらにこれらの報告では、細胞間脂質の量や存在割合、細胞間脂質の炭化水素鎖の鎖長や側方配列構造が、皮膚のバリア機能と関係していることが指摘されており、両者の関係性が徐々に明らかにされつつある^{2,7-10)}。

一方で、経皮浸透性の医薬品や化粧品(医薬部外品)を体内へ浸透させたい場合には、この皮膚のバリア機能は大きな障壁と考えられる。特に、角層内で連続相を形成する細胞間脂質の領域は、主要な薬物の浸透ルートと考えられ、よってより浸透しやすい製剤を開発するためには、製剤と細胞間脂質の相互作用を詳細に解析する必要があるが、現在のところこれらの情報は不足している。

また、正常な状態の角層にはおおよそ 20 ~ 30 wt% 程度の水が含まれており、この水が多くても少なくとも角層の構造は乱れ、バリア機能は低下することが示唆されている¹¹⁻¹³⁾。生体の基本物質である水は、塗布する医薬品や化粧品の基剤としても広く利用されており、よって、皮膚のバリア機能や経皮吸収現象を考える際には、角層の構造と水の相互作用も詳細に解析しておくことが必要不可欠となる。

2. 研究の目的

本研究では、より浸透しやすい薬剤やその投薬方法の開発、あるいは関連する業界への基礎情報の提供を目的とし、それらに必須となる皮膚角層と製剤の分子レベルの相互作用、さらにはそこに影響する外部刺激や水分子の作用特性を明らかにすることを試みた。

3. 研究の方法

試料にはヒト皮膚角層(Biopredic 社、フランス)を用いた。採取された皮膚を実験に用いることについて、被験者からインフォームドコンセントが得られており、法令に基づいて皮膚が採取されていることなどが、同社において確認されている。さらに、関西学院大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究安全倫理審査委員会においても、当角層試料の実験使用が、問題ないことが承認されている。

試料保持装置には開発した斜入射セル(特許:5904835号)を用いた(図1)。斜入射セルを用いることで、角層のようなシート状の試料を入射 X 線に対して 45° 程度傾けて設置し、試料の表裏の環境を自在に制御しつつ、同時に X 線回折等による構造解析が実施可能となる。さらに、試料の上下に板状の電極を組み込み、電場刺激下における角層の構造変化解析も可能となった¹⁴⁾¹⁵⁾。

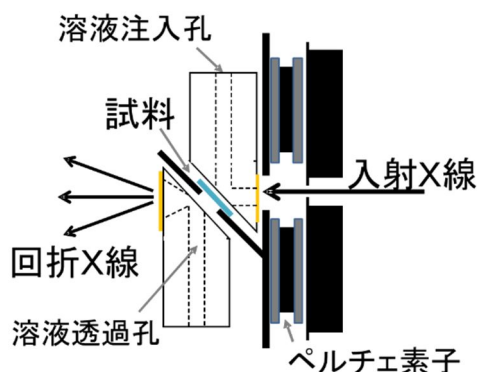


図 1. 斜入射セルの概略図

放射光 X 線回折実験は、SPring-8(BL03XU(第2ハッチ)、BL40B2、BL43IR)と、高エネルギー加速器研究機構 PF(BL6A、BL10C)で実施した。X 線のエネルギーを 15 keV、カメラ長を 50 cm 程度に設定し、小広角同時 X 線散乱実験を実施した。

4. 研究成果

斜入射セルにヒト皮膚角層を設置、セルの上部に湿度コントローラーを接続して、試料周りの湿度環境を変化させながら、連続的に角層の放射光 X 線散乱像を取得したところ、湿度変化に伴う角層の微細な構造変化を捉えることに成功した。これらの結果は、角層内に水が入ると細胞間脂質ラメラを構成する細胞間脂質分子の側方間隔が広がり、また乾燥するとその間隔が狭くなることを示唆していた。細胞間脂質は疎水的な特性が強く、そもそも水と相互作用を示さないとする文献も多くみられるが、本研究では両者の相互作用を的確にとらえることに成功した。また本試料セルを用いることにより、製剤の塗布による、さらには電場の印加による細胞間脂質の構造特性の変化も捉えることに成功し、これを用い

ることで、より浸透しやすい製剤やその投薬方法の開発にも応用できる可能性が示された。今後、さらに当検討を進め、詳細なデータを取得していく予定である。

<引用文献>

- [1] Elias PM, *J. Invest. Dermatol.* 80, 44-49 (1983)
- [2] G.S.K. Pilgram et al., *J. Invest. Dermatol.*, 117, 710-717 (2001)
- [3] S.H. White et al., *Biochemistry* 27, 3725-3732 (1988)
- [4] J.A. Bouwstra et al., *J. Invest. Dermatol.* 118, 606-617 (2002)
- [5] F. Damien, M. Boncheva, *J. Invest. Dermatol.* 130, 611-614 (2010)
- [6] M. Boncheva et al., *Biochim. Biophys. Acta*, 1778, 1344-1355 (2008)
- [7] J.A. Bouwstra et al., *Int. J. Pharm.* 84, 205-216 (1992)
- [8] Y. Obata et al., *J. Control Release*, 115, 275-279 (2006)
- [9] H. Nakazawa et al., *Polymers* 11 (5), 829 (2019)
- [10] G.S.K. Pilgram et al., *J Microsc.* 189, 71-78 (1998)
- [11] G. Imokawa et al., (1991) *J. Invest. Dermatol.* 96, 845-851 (1991)
- [12] T. M. Suhonen et al., *J. Control. Rel.* 59, 149-161 (1999)
- [13] H. Nakazawa et al., *Chem. Phys. Lipids* 165, 238-243 (2012)
- [14] H. Nakazawa, *Fragrance J.*, 503 (50-5), pp.42-47 (2022)
- [15] H. Nakazawa, *Fragrance J.*, 504 (50-6), pp.17-21 (2022)

<謝辞>

本研究は SPring-8 (BL40B2、BL03XU、BL43IR) (課題番号: 2021B1529、2022A1099、2022A1183、2022B1529、2023A1443、2023A1461) および高エネルギー加速器研究機構 PF (BL6A、BL10C) (課題番号: 2021G138、2022G620、2023G078) にて実施されました。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

| | |
|--|---------------------|
| 1. 著者名 H. Nakazawa, T. Imai, I. Hatta, S. Kato | 4. 巻 1864 |
| 2. 論文標題 Low-flux electron diffraction study on body site dependence of stratum corneum structures in human skin. | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Biochim. Biophys. Acta | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbamem.2022.183933 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Hiromitsu Nakazawa | 4. 巻 504 |
| 2. 論文標題 Analyzing the interactions between transdermal substances and the skin stratum corneum. | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Fragrance J. | 6. 最初と最後の頁 17～21 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Hiromitsu Nakazawa | 4. 巻 503 |
| 2. 論文標題 Analysis of the behavior of water in the stratum corneum, a factor important for understanding the skin barrier function. | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Fragrance J. | 6. 最初と最後の頁 42～47 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |
| 1. 著者名 P. N. Paramitha, R. Zakaria, A. Maryani, Y. Kusaka, B. B. Andriana, K. Hashimoto, H. Nakazawa, S. Kato, H. Sato | 4. 巻 22 |
| 2. 論文標題 Raman study on lipid droplets in hepatic co-cultured with fatty acid. | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Int. J. Sci. | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms22147378 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 I. Hatta, H. Nakazawa, Noboru Ohta, Tomonobu Uchino, Kaori Yanase | 4. 巻 55 |
| 2. 論文標題 Stratum Corneum Function: A Structural Study with Dynamic Synchrotron X-ray Diffraction Experiments. | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Oleo Science | 6. 最初と最後の頁 1181 ~ 1199 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5650/jos.ess21159 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 D. Tsukamoto, M. Yamashita, J. Kamimoto-Kuroki, M. Sudo, H. Hayase, H. Nakazawa, S. Kato, Y. Konno | 4. 巻 55 |
| 2. 論文標題 Development of a Bicelle Lotion Containing a High Concentration of Ceramide. | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 J.Soc.Cosmet.Chem.Jpn | 6. 最初と最後の頁 249 ~ 254 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5107/sccj.55.249 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名 Nakazawa Hiromitsu, Imai Tomohiro, Suzuki Mika, Akakabe Natsuki, Hatta Ichiro, Kato Satoru | 4. 巻 11 |
| 2. 論文標題 Simultaneous Measurements of Structure and Water Permeability in an Isolated Human Skin Stratum Corneum Sheet | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Polymers | 6. 最初と最後の頁 829 ~ 829 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/polym11050829 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計15件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件)

| |
|---|
| 1. 発表者名 中沢寛光 |
| 2. 発表標題 化粧剤と皮膚角層の相互作用の解析 |
| 3. 学会等名 技術教育出版セミナー (保湿化粧品・保湿剤の基礎と研究開発・技術動向 -皮膚科学的アプローチ・皮膚分析・各種保湿剤・角層構造解析 -) (招待講演) |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 中沢 寛光、田端 友紀、横山 慶子、松永 瑞希、井上 慎介、太田 昇、加藤 知 |
| 2. 発表標題 放射光マイクロビームX線による毛髪内水浸透挙動の可視化 |
| 3. 学会等名 第60回高分子と水に関する討論会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 前澤 健一、飯田 祐輔、中沢 寛光 |
| 2. 発表標題 深層学習を用いた人の表皮画像からの肌パラメータ診断手法の開発 |
| 3. 学会等名 電気情報通信学会 信越支部大 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 中沢 寛光、加藤 知、田端 友紀、井上 慎介、平野 明良 |
| 2. 発表標題 ヒト皮膚角層内に浸透する水の透過挙動の解析 |
| 3. 学会等名 第121回日本皮膚科学会総会 |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 中沢寛光 |
| 2. 発表標題 化粧品製剤と皮膚角層の相互作用の解析 |
| 3. 学会等名 技術教育出版セミナー（肌荒れ手荒れ防止・保湿化粧品開発と最新技術）(オンライン) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 黒木純子, 山下美香, 大成宏樹, 池田裕, 中沢寛光, 加藤知 |
| 2. 発表標題 リポソーム製剤が形成するラメラ構造に着目した肌効果メカニズムの解明 |
| 3. 学会等名 第87回SCCJ研究討論会 (オンライン) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 J. Kamimoto, M. Yamashita, H. Ohnari, H. Nakazawa, S. Kato |
| 2. 発表標題 Elucidation of the skin care mechanisms of liposomes, focusing on the lamellar structures they form. |
| 3. 学会等名 The 35th Conference of the European Colloid and Interface Society (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 中沢 寛光, 田端 友紀, 平野 明良, 井上 慎介, 加藤 知 |
| 2. 発表標題 ナノサイズ水クラスターの角層内浸透メカニズムの解析研究 |
| 3. 学会等名 第120回日本皮膚科学会総会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Junko Kamimoto-Kuroki, Hiroki Onari, Mutsumi Yamanoi, Miho Hirai, Hiromitsu Nakazawa, Satoru Kato |
| 2. 発表標題 Electron diffraction analysis of intercellular lipids in human lip stratum corneum |
| 3. 学会等名 2021日本油化学会 第8回若手研究者奨励賞招待講演 (招待講演) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 中沢寛光、田端友紀、平野明良、井上慎介、加藤知 |
| 2. 発表標題 ナノサイズ水クラスターが皮膚角層の構造に与える影響 |
| 3. 学会等名 SPRING-8フロンティアソフトマター開発専用ビームライン産学連合体第10回成果報告会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 中沢寛光、田端友紀、平野明良、井上慎介、加藤知 |
| 2. 発表標題 Synchrotron X-ray analysis of the permeation behavior of nanoscale water clusters into human stratum corneum. |
| 3. 学会等名 第71回コロイドおよび界面化学討論会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Junko Kamimoto-Kuroki, Mutsumi Yamanoi, Miho Hirai, Hiromitsu Nakazawa, Satoru Kato |
| 2. 発表標題 Electron diffraction analysis of the intercellular lipid in human lip stratum corneum |
| 3. 学会等名 第59回日本油化学会年会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Junko Kamimoto-Kuroki, Mika Yamashita, Osamu Sakata, Daisuke Tsukamoto, Haruna Hayase, Kenji Aramaki, Hiromitsu Nakazawa, Satoru Kato, Yoshikazu Konno |
| 2. 発表標題 Identification of ternary composition regions and functional evaluation of bicelles containing intercellular lipids |
| 3. 学会等名 33rd Conference of the European Colloid and Interface Society (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Kenta Moriwaki, Hiromitsu Nakazawa, Satoru Kato |
| 2. 発表標題 Comparative study on organizations of human stratum corneum intercellular lipids collected from various body sites |
| 3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 中沢 寛光、赤下部 奈月、加藤 知 |
| 2. 発表標題 X線マイクロビームを用いたヒト角層モデル膜の構造解析 |
| 3. 学会等名 2019フロンティアソフトマタービームライン研究発表会 |
| 4. 発表年 2019年 |

〔図書〕 計1件

| | |
|--|-----------------|
| 1. 著者名 朝倉浩一、五十嵐崇訓、行場次朗、岩橋弘恭、占部 駿、江連美佳子、大野木涼乃、大橋慶丈、小田義士、加治 恵、勝山雄志、近藤慎也、齋藤隆儀、鈴木律裕、関本奏子、平 あき津、田村英子、中沢 寛光、中橋 浩、中山和紀 他 | 4. 発行年 2022年 |
| 2. 出版社 技術教育出版社 | 5. 総ページ数 282 |
| 3. 書名 化粧品の機能創製・処方・素材開発・解析評価技術と美容理論 | |

〔出願〕 計1件

| | | |
|---------------------------------|--------------|------------------|
| 産業財産権の名称 口唇荒れの評価方法 | 発明者 中沢寛光 | 権利者 学校法人 関西学院 |
| 産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-182278 | 出願年 2020年 | 国内・外国の別 国内 |

〔取得〕 計0件

〔その他〕

電場などの外部刺激を利用した経皮吸収促進技術の開発
<https://wakasapo.nedo.go.jp/seeds/seeds-1965/>
AIR AQUA / News
https://air-mag.jp/news_info_20210618_nano.html
ナノサイズ微細水粒子の機能解明と皮膚適用の可能性
https://publish.m-review.co.jp/files/tachiyomi_J0102_0703_0051-0054.pdf
研究者業績
<http://researchers.kwansei.ac.jp/view?u=200000368>
KEK PF 2022年度後期採択課題一覧（G型）
<https://www2.kek.jp/imss/pf/use/list/2022-2g.html>

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|