

## GAG およびそのナノ製剤の皮膚浸透性

徳留 嘉寛

城西大学 薬学部 皮膚生理学講座

【目的】ヒアルロン酸 (hyaluronan: HA) は全身に存在する HA の約 50% が皮膚に存在し、水分保持や弾力性維持に関わり、抗炎症作用、免疫抑制作用を有する。紫外線を長期暴露した光老化皮膚中の HA 量は著しく減少するため、皮膚の弾力低下や、シワの形成が促される。したがって、紫外線や加齢などにより減少した HA を補うことは重要である。しかし、皮膚に塗布された HA は水溶性高分子であるため、皮膚に浸透しにくい。現在市販されている HA 化粧品は、皮膚表面に留まることで皮膚からの水分蒸散を防ぎ、その結果として皮膚表面の保湿の目的で用いられている。

今回はポリイオンコンプレックス技術を用いてヒアルロン酸ナノ粒子 (hyaluronan nano particle: HANP) を作製し、有効性、皮膚浸透性などについて評価を行ったので紹介する。

【方法】HANP の調製は HA 水溶液 (平均分子量 1,200 kDa) とプロタミン (protamine: PRT) 水溶液を同濃度で攪拌混合することによって得た。調製した HANP 水溶液および比較対照群である HA 水溶液、精製水適用群および未処理群に群分けし、UVB 照射および経表皮水分損失量 (transepidermal water loss: TEWL) を測定し、試験終了後に皮膚凍結切片を作製、HE 染色を行い、皮膚形態観察を行った。乳化製剤はペミレンで乳化したのちに HANP を添加することで得た。HANP の皮膚浸透性はヘアレスマウスの皮膚を介した *in vitro* 試験により行った。【結果】調製した HANP は粒子径約 70 nm、ゼータ電位約 -30 mV であった。UVB 連続照射 66 日目のマウス皮膚において、Control 群と比較し HANP 水溶液適用群において TEWL 上昇が有意に抑制された。しかし、非粒子化状態の HA 適用群との大きな差は認められなかった。また、UVB 連続照射 10 週間後のマウス皮膚において、

HA および HANP 水溶液適用群では、Control 群と比較して表皮の肥厚が抑制された。蛍光 HANP 乳化製剤を適用することで、皮膚深部にまで FL-HA 由来の蛍光が浸透する画像が観察された。皮膚中に存在する HANP を蛍光 HPLC で定量したところ、FL-HANP 乳化製剤を適用することによって、皮膚中の FL-HA 量は高値を示した。【考察】皮膚の最外層に位置する角層は、皮膚最大のバリアであり、角層細胞間隙は 50~70 nm と考えられている。今回の HANP は粒子径約 70 nm、ゼータ電位約 -30 mV の負電荷を有するナノ粒子であった。この HANP を用いて最初に皮膚バリア機能改善効果を評価した。UVB 連続照射マウスに HANP 水溶液を適用することで TEWL の上昇および表皮肥厚は抑制された。このことから HANP は UVB によって低下した皮膚バリア機能を改善することが示唆された。更なる改善効果および浸透促進が期待できる乳化製剤技術を応用し、HANP を製剤化した。In vitro 皮膚浸透試験において、非粒子化状態の FL-HA 乳化製剤と比較し、FL-HANP 乳化製剤の適用により、皮膚深部にまで蛍光が観察された。また、皮膚中 FL-HA 量は高値を示した。適用した FL-HANP が粒子形態を維持、または何らかの因子によって分解されて FL-HA として浸透しているかは不明であるが、FL-HANP を油と併用して適用することにより、皮膚浸透性が向上する可能性が示された。

【まとめ】HANP は非粒子化 HA と比較し、効率的に HA を皮膚中に送達できる可能性がある。また、この技術は、医薬品や化粧品に応用可能であることが考えられ、今後の詳細な検討が期待される。