

技術情報

アルブチンの経皮吸収メカニズム - ADSの考え方について -

資生堂基盤研究センター 太田直美、武岡永里子

1. はじめに - 当社の美白研究の考え方 -

紫外線による色素生成メカニズムに関する研究は、急速な進歩を遂げている。メラニンがメラノサイト内で酵素チロシナーゼの働きによって生成されることは古くから知られていたが、近年そのチロシナーゼを中心としてメラノサイト内シグナル伝達機構に関する分子レベルでの解明が積極的に行われてきた¹⁾。チロシナーゼ遺伝子の発現制御に関する研究から、現在では、その転写因子 MITF (microphthalmia-associated transcription factor) 及びその上流シグナルの解明にまで研究はおよんでいる²⁾。この領域では、当社は、MITFの転写因子としての働きを阻害する因子として、MITF結合蛋白質遺伝子の取得に成功した³⁾。また、チロシナーゼを遺伝子の転写レベルで強く抑制する植物抽出物の取得にも成功し、研究を加速させている⁴⁾。一方、紫外線による色素生成メカニズムに関する研究から、メラノサイトの増殖、メラニン合成はその周辺細胞であるケラチノサイト等によるパラクリン制御を受けていることが明らかになってきている。紫外線等の刺激によりこれら細胞から放出される主な因子として、bFGF⁵⁾、 α -MSH⁶⁾、ET-1⁷⁾、SCF⁸⁾、HGF⁹⁾、GM-CSF¹⁰⁾、PLA₂¹¹⁾、PGE₂及びLTC₄、D₄¹²⁾等が挙げられるが、これら因子が単一ではなく相互に作用した結果、メラノサイトは微妙な制御を受けていると考えられる。この領域では、当社では現在 α -MSHのレセプターであるMC1R (メラノコチン-1レセプター)の発現が α -MSHにより誘導され、チロシナーゼ活性との相関が高いことに着目し、MC1R遺伝子上流領域の取得、転写開始点およびプロモーター活性等の解析を実施している¹³⁾。

メラニン関連の研究は上述のように多岐にわたっているが、極めて重要なことは、如何なる情報伝達物質によってメラニン生成を促す情報が伝えられたとしても、概してそれらの情報はメラニン生成の律速酵素であるチロシナーゼの一点に集約されるという事実である。つまり、メラニンの生成を抑制するには、情報の全てが集約されるチロシナーゼの活性を阻害することが最も有効な手段であり、そのような薬剤は、多様なタイプの色素斑が対象となる点でも極めて有効であると考えられる。よって、当社ではあくまで、メラニン生成抑制の基本としてチロシナーゼ阻害を中心に置き、メラニン生成に関するその他の要因に対して、プラス として抑制効果を考慮するという方法が、最も効果的な美白対応と考え研究を進めている。そこで、まず、当社におけるチロシナーゼ阻害薬剤の中心的存在であるアルブチンについて概説する。

2. アルブチンについて

アルブチンは、資生堂が8年という開発期間を経て、1989年に「日やけによるシミ・ソバカスを防ぐ」効果効果を目的として厚生省より許可された医薬部外品有効成分である^{14) 15)}。その後、さらに多くの研究を積み重ね、1995年にはアルブチンの増量配合についても新たに薬事許可を取得している¹⁶⁾。

アルブチンは、化学名をハイドロキノン・D-グルコピラノシド(4-ヒドロキシフェニル・D-グルコピラノシド)といい、高山植物のコケモモの葉などに含まれる成分であることが知られている。アメリカでしみ治療薬(OTC薬)として登録されている医薬品であるハイドロキノン^{17) 18) 19) 20) 21)}にグルコースが結合した配糖体構造をとっている(図1)。

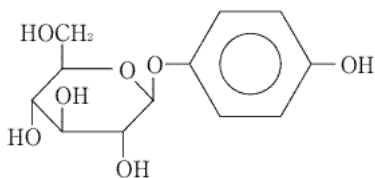


図1 アルブチン(ハイドロキノン・D-グルコピラノシド)の化学構造式

アルブチンのメラニン生成抑制の作用機序は、メラニン生成反応の律速酵素であるチロシナーゼの活性阻害である^{22) 23) 24) 25)}。アルブチンのチロシナーゼに対する阻害形式は、チロシナーゼの基質であるL-チロシンまたはL-DOPAとチロシナーゼの活性部位を奪い合う、典型的な拮抗阻害型である²⁶⁾。また、このようなアルブチンのメラニン生成抑制作用はハイドロキノンモノベンジルエーテルのようなメラノサイトに対する細胞毒性作用によるものではないこと、またハイドロキノンに代謝されて効果を表すものではないことも証明している²²⁾。アルブチンの臨床効果については、ヒト皮膚に紫外線を照射し誘導される色素沈着に対する抑制効果を二重遮蔽法により調べ、その有効性が報告されており^{27) 28) 29) 30)}、また、肝斑等のしみに対する臨床効果についても報告されている^{31) 32)}。

以上、述べたとおり、アルブチンはチロシナーゼを拮抗阻害によって選択的に阻害し、メラニンの生成を抑制する。その作用は可逆的であり³³⁾、化粧品原料としての安全性を確保しながら、優れた美白効果を発揮する薬剤である。

3. 薬剤をとどける技術への発展

メラニン生成においてチロシナーゼが重要な役割を果たしており、チロシナーゼ活性阻害効果を持ったアルブチンのような薬剤が、メラニン生成抑制に有効であることはこれまで述べたとおりである。しかし、優れた効果を持った薬剤も、目的となる細胞であるメラノサイトへ届かなければ効果を発揮することは出来ない。薬剤の皮膚への浸透における最も大きな障壁は角質層である。角質層は、ケラチノサイト由来の

角質細胞とその間を埋める細胞間脂質から構成されている³⁴⁾。細胞間脂質の主体はケラチノサイトの層状顆粒から放出されたセラミド、コレステロール、脂肪酸からなり、親水的部分と疎水的部分が層状に連続した構造をとるラメラ構造を形成し物質透過に対してのバリア機能を発現している。したがって、角質層を透過させ薬剤の経皮吸収性を高めるために、経皮吸収促進剤の開発研究が積極的になされている。しかしながら、一般的にそれらの経皮吸収促進剤の多くは目的とする薬剤の経皮吸収を促進すると共に、それ自体もまた皮膚へ浸透し、刺激を与えたりするなど不都合な点があり、使用上の制約を受ける場合がある。特にアルブチンのような水溶性美白成分をターゲットであるメラノサイトに届けるためには、この角質層というバリアを透過させるための製剤的な工夫が必要である。しかしながら、化粧品としての安全性を保つためには、角質層のバリア機能を著しく損なう製剤は好ましくなく、

角質層に留まり作用する経皮吸収促進剤
目的薬剤をターゲット部位で選択的にコントロールリリースする製剤

が望ましいと考えられる。

このうち、³⁵⁾について資生堂では、角質層に留まって作用する独自の浸透促進剤の開発を行い、すでに安全性が高く優れたアルブチン浸透促進効果を有するAEコンプレックスを開発している^{35) 36) 37)}。さらに³⁸⁾については、アルブチンという薬剤の特性にターゲットを絞って、皮膚内へ効率的にアルブチンを浸透させる方法を探索してきた結果、化粧品を構成する基剤の組成を変化させることによって、アルブチンの皮膚への浸透量が大きく変化することに着目、資生堂独自の製剤技術と皮膚浸透促進技術の発展によりアルブチンの皮膚浸透量を高めることが出来る、安全性にも優れた新製剤の開発に成功した³⁸⁾。

このAEコンプレックスと今回開発した新製剤によるアルブチンの浸透促進技術を、アルブ

チン デリバリー システム (ADS) と名づけた。「アルブチン デリバリー システム (ADS)」とは、角質層のみに作用するより安全性の高い促進剤であるAEコンプレックスによる浸透促進効果と、基剤デザインによるアルブチン選択的浸透促進効果を組合せたものである。ADSを応用した製品では、当社対照品と比較してアルブチンの皮膚浸透性が約1.5倍高くなっており(図2)、この技術によってアルブチンをより効率よく皮膚へ浸透させることが可能となった。以下、アルブチン デリバリー システムを構成するAEコンプレックスと新基剤についてそれぞれの基本的な考え方を説明する。

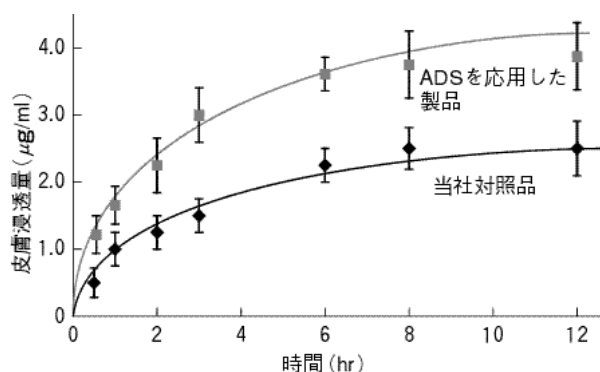


図2 アルブチン デリバリー システムによるアルブチン浸透促進効果

3・1．角質層で作用する浸透促進剤

ドデシル硫酸 Na (SDS)、ドデシルジメチルアミンオキサイド (DAO) は、それぞれ単独で経皮吸収促進剤として機能することが知られているが、両者を混合してコンプレックスを形成させると、低濃度で作用する安全性の高い経皮吸収促進剤となることが報告されている³⁵⁾。岡本らは、SDS・DAOコンプレックス、およびそれぞれ単独の角層への収着挙動と溶液物性に着目してその作用機序を検討している³⁶⁾。図3はSDS・DAO混合系でSDS・DAOの濃度比を変化させた場合のSDS、DAO、およびアルブチンのin vitro全層皮膚での皮膚透過量を示している。SDS・DAOのトータル濃度を1 mM (図3、a) および10mM (図3、b) として実験を行った。SDSおよびDAOをそれぞれ単独で使用した場合には、臨界ミセル濃度 (CMC ; SDS 約 8 mM、DAO 約 2 mM) 以下の1 mMでは、アルブチンの皮膚透過は認められない(図3、a)。CMCを超えた10mMではアルブチンの浸透が飛躍的に高くなるが、経皮吸収促進剤 (SDS、DAO) 自身も透過してしまう(図3、b)。一方、SDSとDAOを混合して用いた場合には、SDSとDAOの濃度比が1 : 1のときにそれぞれを単独で用いた場合よりも、コンプレックス形成により著しくCMCが低下 (1 mM

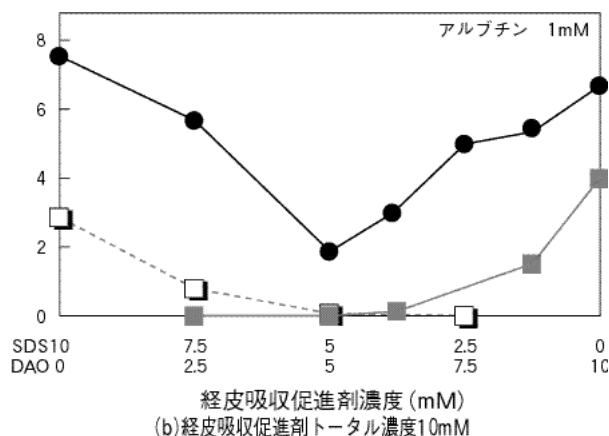
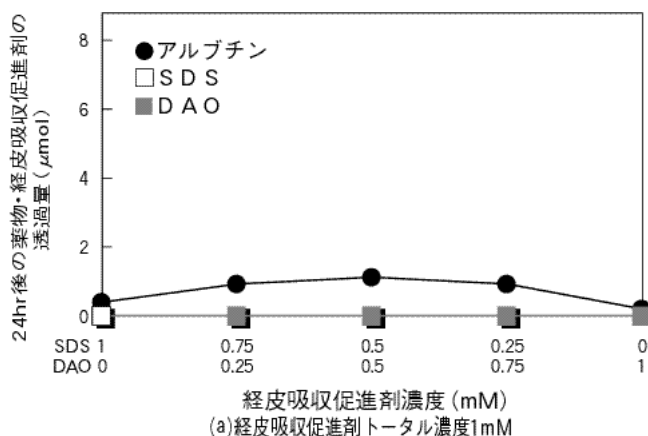


図3 SDS・DAOによる経皮吸収促進効果

アルブチン()、SDS()、DAO()の37、24時間後のin vitro全層皮膚透過量を測定した。
レセプター：PBS()、試料：アルブチン1 mM、経皮吸収促進剤トータル濃度1 mM、または10mMの水溶液)

以下)する。低濃度の場合は経皮吸収促進剤が角質層に飽和収着するため、図3、aに示したようにトータル濃度1 mM (SDS : 0.5mM、DAO : 0.5mM)でもアルブチンの浸透性が向上することが明らかになった。SDS・DAOコンプレックスは、10mM (SDS : 5 mM、DAO : 5 mM)まで経皮吸収促進剤濃度を上げてても促進剤自身の皮膚透過が認められず、その作用は皮膚浸透の最大のバリアである角質層レベルに限定されると考えられる^{36)、37)}。この経皮吸収促進剤の考え方を、さらに安全性の高い化粧品原料で置き換え、アルブチンの浸透促進成分として開発したものが、AEコンプレックスである。AEコンプレックスは、安全性が高く優れたアルブチン皮膚浸透促進効果を示す。

3・2．基剤デザインによるコントロールリリース

化粧品は、様々な効果を発揮する薬剤と、薬剤を溶解させている基剤から構成されている。基剤の構成成分を変化させることによってさっぱり、しっとりなどの使用感を変化させることができる。

アルブチンなどの薬剤の皮膚への浸透性は、皮膚や基剤に対する薬剤の親和性や拡散速度の影響を受ける。したがって、基剤の組成を最適化することで薬剤の皮膚浸透性を向上させることができる。基剤を構成する成分の組合せを変化させることで、目的薬剤の物性に応じて、皮

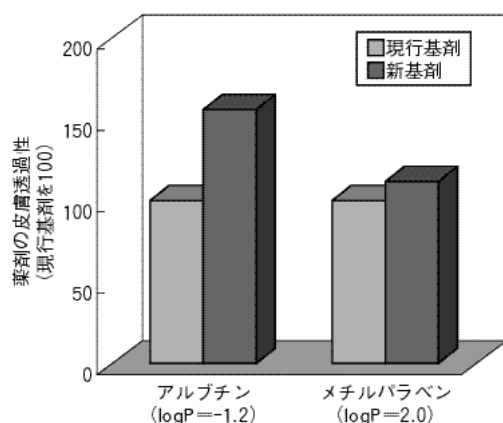


図4 薬剤の極性と基剤による浸透性の相違

膚へより多く浸透させたり、逆に浸透させにくくするといったコントロールリリースが可能となる。

図4に従来基剤と今回アルブチンの浸透を高めるために開発した新基剤をそれぞれ皮膚に塗布したときの、アルブチンとメチルパラベン(防腐剤)の皮膚浸透性を、in vitro全層皮膚での透過量として調べた結果を示す。親水性の高いアルブチンの浸透性は新基剤を用いることによって高まっているのに対し、親水性の低いメチルパラベンの浸透性はほとんど変化が認められない。皮膚に塗布された基剤はその揮発成分が経時的に蒸発していくため、徐々に薬剤濃度が変化し、薬剤の皮膚への浸透は基剤中の薬剤濃度が飽和溶解度に達したときに最大となる。薬剤浸透速度は、皮膚中での薬剤拡散性の影響を受ける^{39)、40)}。各基剤でアルブチンとメチルパラベンを飽和にして浸透性を比較すると、より新基剤でより親水性の高いアルブチンの浸透性は高まり、メチルパラベンの浸透性は従来基剤とほぼ同程度であった。新基剤は特に親水的な皮膚浸透ルートでの薬剤拡散性に対して影響を与えていると考えられ、極性によって薬剤の選択的な浸透のコントロールが可能であることが示された³⁸⁾。

4．最後に

これまで述べてきたように、メラニン生成に関する研究は非常に多岐に及んでいる。これまでは、色素細胞に対してメラニン生成抑制効果を示す薬剤の開発が盛んに行われてきた。しかし、これからは優れた効果を有する薬剤をどのように目的である細胞へ届けるかという、薬剤のターゲットリリースに関する研究の必要性もますます高まるであろう。今後は、シミの発生機序の更なる解明、さらに有効な薬剤の開発、そして薬剤のターゲットリリースを可能にする製剤技術の開発といった幅広い研究を推進することにより、さらに優れた効果を発揮する美白化粧品の開発が可能になるであろう。

<文献>

- 1) 柴原茂樹, 安元研一 : チロシナーゼファミリー遺伝子のクローニングと転写調節, FRAGRANCE JOURNAL, 臨時増刊No.14, 31-37, 1995
- 2) Tachibana M : MITF, A Stream Flowing for Pigment Cells, Pigment Cell Res., 13, 230-240, 2000
- 3) Aoki H, Ifuku O, Zervos AS : Identification of new microphthalmia(Mi)-interacting protein, rKr2, involved in the regulation of melanogenesis, 20th IFSCC Congress CANNES, 67, 1998
- 4) 田中直美, 佐藤 潔, 茂呂 修, 大田正弘 : インドネシア産生薬ルムプヤンのチロシナーゼ産生抑制効果, 日本化粧品科学会第24回学術大会要旨集, 60, 1999
- 5) Halaban R, Langdon R, Birchall N, Cuono C, Baird A, Scott G, Moellmann G, McGuire J : Basic fibroblast growth factor from human keratinocyte is a natural mitogen for melanocyte, J Cell. Biol., 107, 1611-1619, 1988
- 6) Abdel-Malek Z, Swope VB, Suzuki I, Ackali C, Harriger MD, Boyce ST, Urabe K, Hearing VJ : Mitogenic and melanogenic stimulation of normal human melanocyte by melanotropic peptides, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 92(5) 1789-1793, 1995
- 7) Imokawa G, Yada Y, Miyagishi M : Endothelins secreted from human keratinocytes are intrinsic mitogens for human melanocytes, J Biol. Chem., 267, 24675-24680, 1992
- 8) Grabbe J, Welker P, Dippel E, Czarnetzki BM : Stem cell factor, a novel cutaneous growth factor for mast cells and melanocytes, Arch. Dermatol. Res., 287, 78-84, 1994
- 9) Matsumoto K, Tajima H, Nakamura T : Hepatocyte growth factor is a potent stimulator of human melanocyte DNA synthesis and growth, Biochem. Biophys. Res. Commun., 176, 45-51, 1991
- 10) Imokawa G, Yada Y, Kimura M, Morisaki N : Granulocyte/macrophage colony-stimulating factor intrinsic keratinocyte-derived growth factor for human melanocyte in UVA-induced melanosis, Biochem J, 313, 625-631, 1996
- 11) Maeda K, Tomita Y, Naganuma M, Tagami H : Phospholipases induce melanogenesis in organ-cultured skin, Photochem Photobiol, 64(1) 220-223, 1996
- 12) Tomita Y, Maeda K, Tagami H : Melanocyte-stimulating properties of arachidonic acid metabolites : possible role in postinflammatory pigmentation, Pigment Cell Res., 5, 357-361, 1992
- 13) Moro O, Ideta R, Ifuku O : Characterization of the promoter region of the human melanocortin-1 receptor(MC1R) gene., Biochem. Biophys. Res. Commun., 262, 452, 1999
- 14) 富田健一, 福田 實, 川崎 清 : アルブチンの作用機序とヒトに対する有用性, FRAGRANCE JOURNAL, 18(6) 72-77, 1990
- 15) 富田健一, 浅原智久, 秋保 暁 : 資生堂ホワイトセスエッセンスについて, 資生堂インフォメーションレター, 90, 002, 6-12, 1990
- 16) 鹿子木宏之, 八木栄一郎 : 資生堂インフォメーションレター, 95, 001, 3-6, 1995
- 17) Fitzpatrick TB, Arndt KA, El-Mofty AM, Pathak MA : Hydroquinone and psoralens in the therapy of hypermelanosis and vitiligo, Arch. Dermatol., 93, 589-600, 1966
- 18) Kligman AM, Willis I : A new formula for depigmenting human skins, Arch. Dermatol., 111, 40-48, 1975
- 19) Bleehen SS : Skin bleaching preparations, J Soc. Cosmet. Chem., 28, 407-412, 1977

- 20) 濱田稔夫, 斎藤忠夫 : 色素沈着に対するHydroquinone 外用療法, 日皮会誌, 83, 382-383, 1973
- 21) 五十嵐 稔, 富田 靖, 清寺 真 : 肝斑に対するHydroquinone 療法, 皮膚臨床, 19, 761-765, 1977
- 22) 秋保 暁, 鈴木裕美子, 浅原智久, 藤沼好守, 福田 實 : アルブチンのメラニン生成抑制作用, B16メラノーマ培養細胞による生化学的研究, 日皮会誌, 101(6), 609-613, 1991
- 23) Maeda K, Fukuda M : In vitro effectiveness of several whitening cosmetic components in human melanocyte, J Soc. Cosmet. Chem., 42, 361-368, 1991
- 24) 前田憲寿, 福田 實 : アルブチンのメラニン生成抑制機序と美白効果, FRAGRANCE JOURNAL Special issue, 14, 127-132, 1995
- 25) Maeda K, Naganuma M : Depigmenting action of and its new aspects in cosmetic science, J Jpa. Cosmet. Sci. Soc., 20, 12-16, 1996
- 26) Maeda K, Fukuda M : Arbutin, Mechanism of its depigmenting action in human melanocyte culture, J Pharmacol. Exp. Ther., 276(2), 765-769, 1996
- 27) Akiu S, Suzuki Y, Fujinuma Y, Asahara T, Fukuda M : Inhibitory effect of arbutin on melanogenesis, Biochemical study in culture B16melanoma cells and effect on the UV-induced pigmentation in human skin, Proc. Jpn. Soc. Invest Dermatol, 12, 138-139, 1988
- 28) 長沼雅子 : 美白化粧品 - アルブチンの効果と作用機序 -, 細胞, 28(4), 43-47, 1996
- 29) 長沼雅子 : 美白剤の評価 - アルブチンについて -, 皮膚と美容, 28(3), 4803-4808, 1996
- 30) 長沼雅子 : 皮膚の老化(シミ・ソバカス)と老化防止化粧品, BIO INDUSTRY, 13(9), 15-27, 1996
- 31) 須貝哲郎 : アルブチンの肝斑に対する臨床効果, 皮膚, 34(4), 522-529, 1992
- 32) 長沼雅子 : 美白化粧品とその作用機序 - 日本における現状 -, Skin Surgery, 8(2), 2-7, 1999
- 33) 藤沼好守 : 新規美白剤アルブチンの開発, 化学と工業, 43(9), 96-98, 1990
- 34) Elias PM, Friend DS : The permeability barrier in mammalian epidermis, J Cell. Biol., 65, 180-191, 1975
- 35) 内川恵一, 宮沢 清, 富田健一 : アルブチンの皮膚透過に及ぼすラウリル硫酸ナトリウム - ラウリルジメチルアミノオキサイド混合物の影響, 日本薬学会第110回年会要旨集, 4, 118, 1990
- 36) 岡本 亨, 芝田和也, 内川恵一, 西山聖二, 中島英夫 : ドデシル硫酸ナトリウム - ドデシルジメチルアミノオキサイド混合系の経皮吸収促進作用と作用機序, 日本薬学会第117回年会要旨集, 4, 38, 1997
- 37) 岡本 亨 : 両親媒性物質と皮膚科学, 第46回界面科学部会秋季セミナーテキスト, 43, 1999
- 38) 高本隆一, 武岡永里子, 岡本 亨, 梁木利男, 中島英夫 : 基剤デザインによる水溶性美白成分の選択的コントロールリリースについて, Drug Delivery System, 15, 第16回日本DDS学会要旨集, 375, 2000
- 39) Ogiso T : Bull. Pharm. Res. Technol.Inst., Percutaneous absorption of drugs and factors influencing the absorption, 2, 1-24, 1993
- 40) Higuchi T : Current Problems in Dermatology, vol. 7, Kagel Bassel, 121-131, 1978