

技術情報

「コーニファイドエンベロープの成熟を促すスキンケア:dプログラムの有用性」

資生堂ライフサイエンス研究センター 平尾哲二

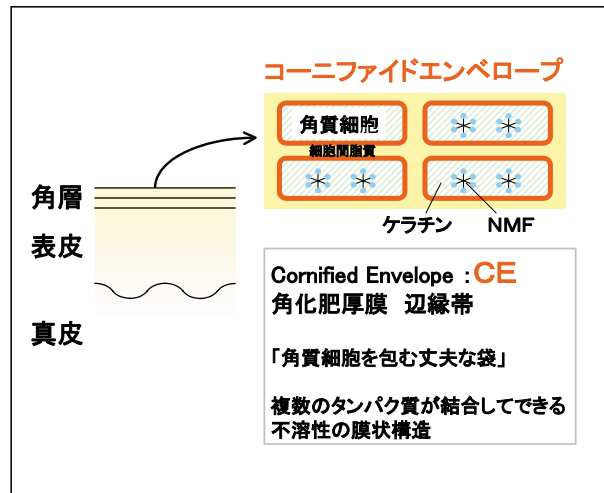
1. 角層のバリア機能と

コーニファイドエンベロープ (CE)

皮膚は生体の最外層に位置し、外界との境界を形成している。とりわけ、角層はわずか20ミクロンという薄さにもかかわらず、バリア機能、保湿機能という生物学的に重要な機能を担っている。その構造は、しばしばブロックとモルタルに例えられるように、ブロックに相当する扁平な角質細胞と、その間を埋めるモルタルに相当する細胞間脂質から構成される。角質細胞にはケラチン線維が充満しており、また、前述の保湿機能に重要な役割を演じているアミノ酸を主体とするいわゆる天然保湿因子NMFも含まれている。一方、細胞間脂質は、セラミド、コレステロール、遊離脂肪酸などから構成されるラメラ構造を組織している。これらの脂質の量的、あるいは質的な変化や配向の乱れなどによって、バリア機能が大きく変動することから、細胞間脂質が角層のバリア機能に重要な役割を演じていると考えられている。

角質細胞の構造で、最近注目されているのが、コーニファイドエンベロープ (cornified envelope : CE) である。CEはインボルクリンやロリクリンなどの様々なタンパク質同士が架橋して不溶化して形成されるもので、角質細胞を包む袋状の構造である (図1)。従来より、電子顕微鏡による観察などにより同定され、角化肥厚膜、あるいは辺縁体などとも呼ばれる。最近の分子生物学などの進歩に伴って、CEを構成するタンパク質が同定されるとともに、生化学的な解析も長足の進歩を遂げ、CEの構造と機能に関する知見が集積してきた¹⁾。

図1 CEの模式図



インボルクリン、ロリクリンなど、CEを構成する前駆体タンパク質は、表皮ケラチノサイトの分化にしたがって有棘層上層から顆粒層にかけて発現する。角層に至る過程で、それらのタンパク質のリジン残基とグルタミン残基との間にイソペプチド結合が形成されることにより、架橋・不溶化し、CEが出来上がる。この反応は、これまた表皮ケラチノサイトの分化に伴って産生される酵素トランスグルタミナーゼ (TGase) により、触媒される。さらに、CEの外側の分子 (インボルクリンなど) にはヒドロキシセラミドなどの特殊な脂質がエステル結合している。このように成熟したCEは非常に堅牢な構造を取るとともに、脂質修飾により疎水性を獲得し、細胞間脂質が整然と配向するための土台を提供していると考えられている。

2. CE成熟度の非侵襲的評価法の確立

健康な皮膚を維持するためにバリア機能の維持向上は重要な課題のひとつである。特に、スキンケアの主な対象となる顔面は、多様性を示

すヒトの部位の中でも、バリア機能が低下している（あるいは低下しやすい）部位である。そこで、私たちは、バリア機能が低下する皮膚状態においては、CEに何らかの性状の変化があるのではないかという仮説を立て、CE成熟度を評価する非侵襲的な方法の確立を行った²⁾。具体的には、最外層の角層をテープストリッピングにより採取し、CEを調製し染色に供した。染色は抗インボルクリン抗体を用いた蛍光免疫染色と、疎水性環境下において蛍光を発するナイルレッドによって行った。成熟度の低い未熟CEには、インボルクリン抗原性が多く残存しているために、抗体によって明瞭に染色され、FITC(フルオレセインイソチオシアネート)の黄緑色の蛍光を発する。一方で、成熟したCEでは、前駆体タンパク質同士の架橋の進行や脂質による修飾によってインボルクリン抗原性が消失するとともに、疎水性が付与され、結果としてナイルレッドの赤色の蛍光を発する。これを蛍光顕微鏡で観察することにより、容易にCEの成熟度を評価することが可能となった(図2)。

図2 CE成熟度の新しい評価法



この評価法の最大の特徴は、まもなく垢となって剥がれていく最外層のわずかな角層サンプルを用いて評価をすることができることである。これによって、さまざまな状態の皮膚への

適用が可能となり、多くの知見を集積することができた。

3. 肌状態と部位差

まず、部位差について検討したところ、バリア機能の低い顔面において未熟CEが高頻度に検出されることが明らかとなった。一方、体幹や四肢など、被覆部位では成熟CEが大半を占めていた(図2)。また、実験的バリア破壊を惹起した場合にも、未熟CEが出現することを確認した。

次に、バリア機能低下を伴う炎症性皮膚疾患におけるCEの挙動について調べた。東北大学医学部皮膚科の協力を得て、乾癬、アトピー性皮膚炎の角層試料を採取して調べたところ、これらの炎症性皮膚疾患の病変部位において、未熟CEが出現することが判明した(図3、4)。なお、近傍の無疹部ではCEはほとんど成熟型であった。

図3 乾癬皮疹部に検出される未熟CE

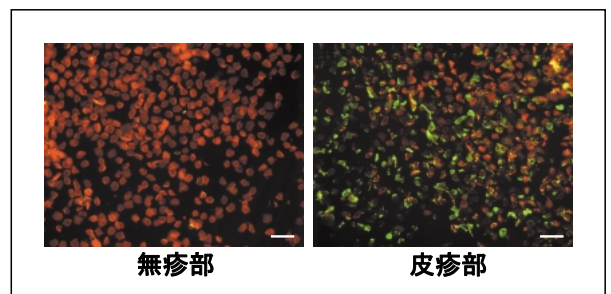
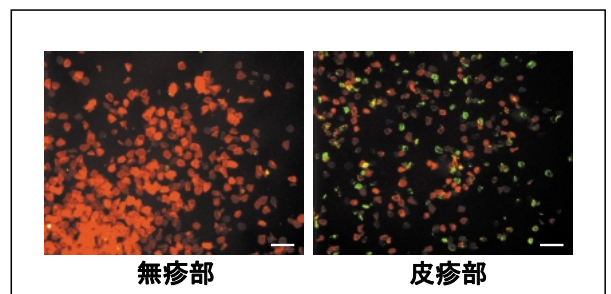


図4 アトピー性皮膚炎皮疹部に検出される未熟CE



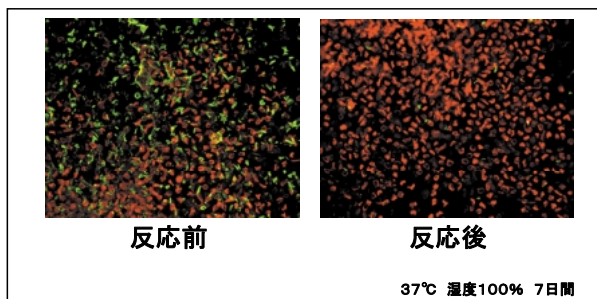
これらの知見は、バリア機能の低下とCE成熟度の低下との関連を実証していることに他な

らない。なお、詳細は割愛するが、不全角化の指標として汎用されてきている有核細胞と未熟CEとは、概ね相関して検出されるが、個々の細胞レベルでは必ずしも一致しないという興味深い知見も得られている。

4. 未熟CEは成熟する能力を有している

未熟CEを含む顔面の角層をテープストリッピングにより採取して、一定条件下で放置後、CE成熟度の評価を実施してみた。すると、採取時には未熟CEが多量に検出されたが、反応後には、ほとんどが成熟CEに変化した(図5)。

図5 ex vivoにおけるCE成熟反応



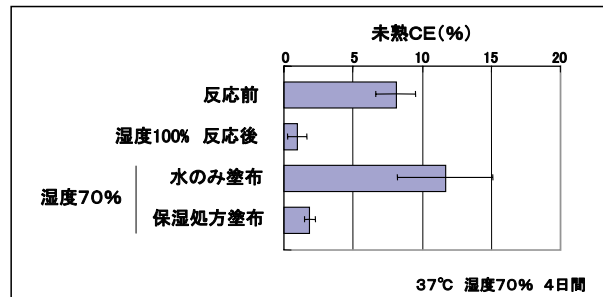
すなわち、極めて興味深いことに、ex vivoにおいてCE成熟反応が観察されたことになる。この成熟反応について生化学的な解析を加えたところ、TGaseの関与が明らかになり、加えて、低湿度環境下ではCE成熟反応が進行しないことも判明した。

この事実は、顔面に観察される未熟CEであっても、CEの基質タンパクやTGase活性は十分に存在しており、条件さえととのえば成熟に至る潜在能力を有していること、乾燥がCE成熟の阻害要因であることを明確に示している。

皮膚の乾燥に対するスキンケアの対応として、まず保湿剤の補給が考えられる。そこで、保湿剤によるCE成熟促進作用について検討したところ、グリセリンとエリスリトールを中心とした保湿処方系に優れたex vivo CE成熟促進効果が認められた(図6)。この保湿処方はデリケート肌のための「dプログラム」

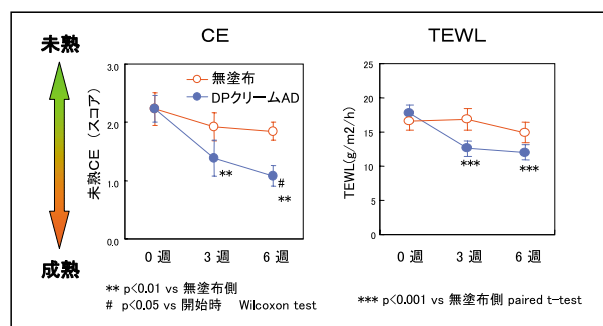
に配合されている処方であり、その優れた保湿効果から「ハイドロスタビライジングフォーミュラ」というニックネームを付けた。

図6 保湿処方によるCE成熟促進効果



次に、ヒト試験による検証を試みた。本試験は、東北大学医学部皮膚科学教室 田上教授、菊地克子医師との共同研究により実施したものである。健康な女性15名に参画いただき、顔面の片側にはdプログラムクリームADを連日6週間にわたって塗布していただき、反対側には何も塗布しないといういわゆるハーフフェイス試験を実施した。連用3週間後、6週間後において、クリーム塗布側では、角層水分量の上昇、TEWLの低下、微弱炎症の指標である角層中IL-1ra/IL-1 比の低下に加えて、未熟CEの減少が認められた(図7)。すなわち、dプログラムクリームによるスキンケアによって、CEの成熟促進効果が検証された。このことは、ex vivoにおけるCE成熟促進効果がin vivoにおいても実証されたことを示している。

図7 dプログラムクリーム連用によるCE成熟促進とバリア機能の向上



5 . おわりに

デリケート肌には、様々な要因やタイプが混在しているが、健常肌には何も引き起こさないような微弱な刺激に対しても応答してしまう肌と理解することができる。その状態を改善するためには、適切なスキンケアによってバリア機能の維持向上を図ることが重要であり、その観

点から、dプログラムは多くのお客さまから好評をいただいている。本研究を通じて、私たちは、角層におけるCE成熟を促すことによりバリア機能を強化するという新しい考え方をスキンケアに取り入れることができた。本稿がdプログラムの有用性をご理解いただく一助となれば幸いである。

参考文献

- 1) Nemes Z, Steinert PM: Exp Mol Med 31, 5-19, 1999
- 2) Hirao T, Denda M, Takahashi M: Exp Dermatol 10, 35-44, 2001