

## 機能的化粧品及び皮膚科用剤に関する医療薬学的研究

内野 祥宏

福岡大学薬学部薬学疾患管理学教室, 814-0180 福岡市城南区七隈8丁目19-1

### **Nifedipine prevents sodium caprate-induced barrier dysfunction in human epidermal keratinocyte cultures**

**Yoshihiro Uchino**

Department of Pharmaceutical Care and Health Sciences, Faculty of Pharmaceutical Sciences,  
Fukuoka University, 8-19-1 Nanakuma, Jonan-ku, Fukuoka 814-0180, Japan

#### **Abstract**

Tight junctions (TJs) of the epidermis play an important role in maintaining the epidermal barrier. TJ breakdown is associated with skin problems, such as wrinkles and transepidermal water loss (TEWL). Clinical studies have reported that topical nifedipine is effective in reducing the depth of wrinkles and improving TEWL. However, it remains unknown whether nifedipine influences the TJ function in the epidermis. In the present study, we investigated the effect of nifedipine on epidermal barrier dysfunction in normal human epidermal keratinocytes (NHEKs) treated with sodium caprate (C10), a TJ inhibitor. Nifedipine reversed the C10-decreased transepithelial electrical resistance values as a measure of disruption of the epidermal barrier. Immunocytochemical observations revealed that nifedipine improved the C10-induced irregular arrangement of claudin-1, a key protein in TJs. Taken together, these findings suggest that nifedipine prevents epidermal barrier dysfunction, at least in part, by reconstituting the irregular claudin-1 localization at TJs in C10-treated NHEKs.

**Keywords:** epidermal barrier function, nifedipine, sodium caprate, transepithelial electrical resistance, normal human epidermal keratinocyte

#### **【緒言】**

調剤薬局の業務は処方せん応需での調剤業務以外にも多岐にわたり、現在では処方医との病薬連携の推進、在宅医療への参画、健康相談窓口、セルフメディケーションの推進など地域の健康づくりの拠点としての役割が求められている。来局者や患者の健康相談では、十分な問診を行い、病院受診の勧告やOTC薬の推薦、健康食品やサプリメント提案を行う必要がある。

近年の健康志向およびアンチエイジングへの関心の高まりは、機能的健康食品などの経口摂取製品のみならず、機能的化粧品、ドクターズコスメ、コスメシューティカルといった名称で医療と美容が融合した製品開発の活況をもたらしている。これらの製品に使用されている有効成分や技術は、保湿、抗しわ、美白、抗酸化、新陳代謝の活性化などに関して、医師や大学研究者との産学連携による科学的かつ医学的な研究成果を背景に開発・商品化され、高価にも関わらず需要が高い。しかし製品上市までの規制は、医薬品開発時の規制と比較して緩やかであること、臨床での成果は健常成人を対象としていることを考慮すれば、調剤薬局においてこれらの皮膚適用剤を取り扱う際には、企業からの有効性および安全性情報

を批判的に吟味し、特に皮膚疾患を有する患者に対して適応する場合にはより慎重な対応が必須となる。

本研究の第1章では、皮膚疾患を有する患者を対象に3種の化粧品の安全性、有効性について使用試験を行った。

皮膚は外界からの刺激を受容、防御し、生体の恒常性を維持する最前線の器官として重要である。皮膚のバリア機能は、最外層の角質層による物理的バリアが最も重要で、他に表皮に内在する免疫担当細胞による免疫学的バリアが存在する。最近、表皮角質層の下層にある顆粒層に密着結合（タイトジャンクション：TJ）構造が見いだされ、新たなバリア構成要素として注目されている。TJは血液脳関門などで高度に発達しており、脳への物質移行を厳密に制限する生体防御機構の1つである。皮膚TJの生理機能などは未解明な部分が多いが、物質移行の制御、水分量（蒸散量）の調節および紫外線などによる傷害の標的となっているなどの報告が続いている。また免疫学的バリアと連携し、外界からの異物の侵入防御機能を補完しているとの報告もある。上述の皮膚適応剤などの有効成分にもTJに対する作用を明らかにし、バリア機能充進による保湿、紫外線防御などの「機能性」を指向した製品がある。しかし皮膚の生理機能にTJがどの程度寄与しているかは不明な点が多く、皮膚適応剤含有の有効成分と皮膚バリア機能およびTJ機能との関係についての研究は少ない。本研究の第2章では、臨床試験において抗シワ効果が報告されたニフェジピンクリーム（本邦未発売）に着目し、皮膚バリア機能に及ぼす影響についてヒト皮膚表皮細胞を用いて基礎検討を行った。

## 第1章 皮膚疾患患者を対象とした低刺激性スキンケア製剤の使用試験

### 【方法】

当薬局に来院した10代～80代までの200例を対象に、低刺激性スキンケア製品

- ・ノブフェイスローション(L) III〈さっぱり〉
- ・ノブフェイスローション(R) III〈しっとり〉
- ・2e(ドゥーエ) [化粧水]

をそれぞれ顔面に1日1回洗顔後2週間連続使用する試験を実施した。

評価項目として皮膚所見、使用感について、問診およびアンケート調査を行った。

### 【結果・考察】

2e(ドゥーエ) [化粧水]、ノブフェイスローション(R) III〈しっとり〉、ノブフェイスローション(L) III〈さっぱり〉の有害事象の発現は以下ようになった(Table 1-3)。

有効性についても同様の結果が得られ、2e(ドゥーエ) [化粧水]、ノブフェイスローション(R) III〈しっとり〉、ノブフェイスローション(L) III〈さっぱり〉の順に有効性と安全性が確認された。さらに、皮膚の乾燥症状等の改善効果があることが示された。

以上より、3種類ともに、特に皮膚にトラブルのない患者、乾燥肌、脂性肌、軽症のニキビを有する患者、軽症のADを有する患者など様々なタイプの皮膚に安全に使用でき、かつ治療の妨げにならずに、これらの製品は様々なタイプの皮膚に対し有用なスキンケア製品であることが推察された。

**Table 1.** Summary of adverse events of NOV III FACE LOTION(L)

年齢(歳)	性別	症状	程度	発現日	因果関係	転帰
36	女性	乾燥	軽度	1日目	あり	回復
21	女性	痒み・炎症	中等度	3日目	あり	回復
40	女性	乾燥	軽度	1日目	あり	回復
54	女性	痒み・炎症	中等度	2日目	あり	回復
33	女性	乾燥	軽度	2日目	あり	回復
68	女性	湿疹・炎症	中等度	8日目	あり	回復
55	女性	乾燥	軽度	1日目	あり	回復
47	女性	乾燥	軽度	1日目	あり	回復
35	女性	乾燥	軽度	2日目	あり	回復

**Table 2.** Summary of adverse events of NOV III FACE LOTION(R)

年齢(歳)	性別	症状	程度	発現日	因果関係	転帰
21	女性	痒み・炎症	中等度	3日目	あり	回復
54	女性	痒み・炎症	中等度	1日目	あり	回復
68	女性	湿疹・炎症	中等度	3日目	あり	回復
23	女性	乾燥	軽度	3日目	あり	回復
35	女性	乾燥	軽度	1日目	あり	回復
58	女性	乾燥	軽度	1日目	あり	回復

**Table 3.** Summary of adverse events of 2e LOTION

年齢(歳)	性別	症状	程度	発現日	因果関係	転帰
33	女性	乾燥	軽度	2日目	あり	回復
60	女性	乾燥	軽度	1日目	あり	回復

## 第2章 皮膚バリア機能に及ぼすニフェジピンの影響

### 【方法】

実験には、ヒト表皮角化細胞NHEK細胞(Normal Human Epidermal Keratinocytes)を用いた。NHEK細胞は、37℃・5% CO<sub>2</sub>存在下、HuMedia-KG2培地で培養、維持した。Ca刺激により分化誘導し実験に供した。経皮吸収促進剤である sodium Caprate (C10) 処置してバリア機能を減弱した細胞を評価モデルとした。

Transwell<sup>®</sup>にて培養中の細胞に任意の濃度のニフェジピンを添加し、経日的にTEER測定を行った。また最終日に細胞を固定しTJタンパク質の免疫染色を行った。

### 【結果・考察】

NHEK細胞をC10処置すると、TJの免疫染色像ではzo-1タンパク質の局在に変化が認められた。また濃度依存的に透過性(TEER値)が低下した(Fig.1)。C10処置によるバリア機能低下はTJタンパク質への影響により起こることから、本モデルを評価モデルとした。

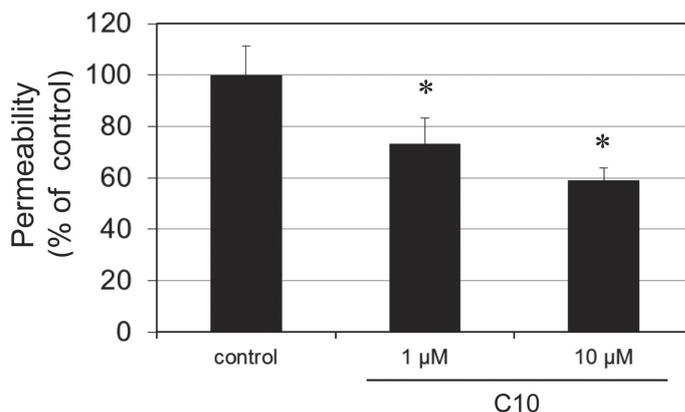


Fig. 1 Influence of C10 on the TEER of NHEK Cultures

この評価モデルを用いてニフェジピンのNHEK細胞バリア機能に及ぼす影響を調べた。C10処置によるTEER値の低下は、ニフェジピン0.2 μM処理により有意に抑制された(Fig.2)。

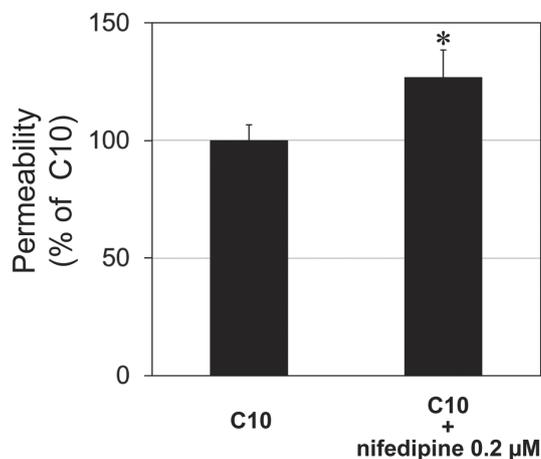
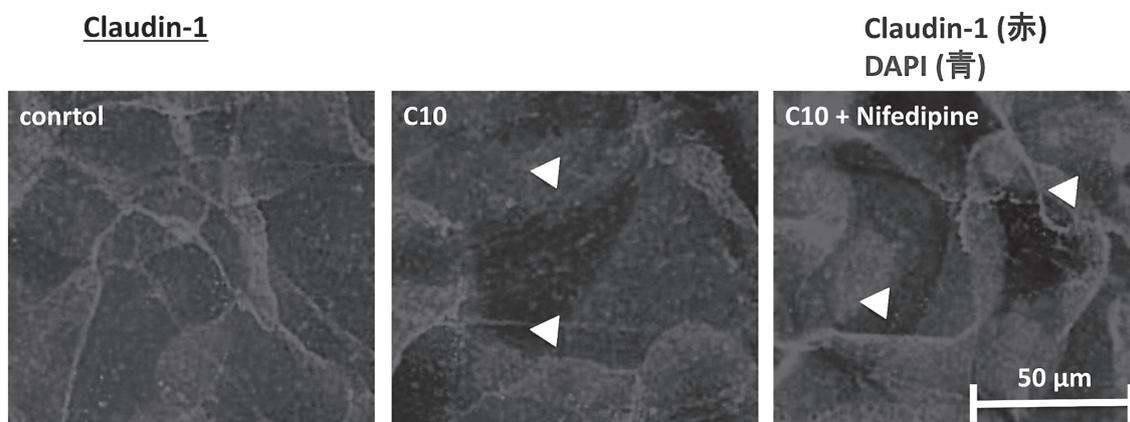


Fig. 2 Effect of Nifedipine on the C10-Induced Barrier Impairment in NHEK Cultures

また、このときの免疫組織染色像では、C10によるTJタンパク質の1つであるClaudin 1の局在変化が、ニフェジピンにより回復した(Fig.3)。



**Fig. 3** Immunofluorescence staining for claudin-1 in NHEKs

本研究は、すでにヒトにおいて報告されたニフェジピンクリーム of 皮膚局所作用の機序について、*in vitro*で皮膚バリア機能改善作用を有することを示した。作用機序についてさらに検討が必要であるが、ニフェジピンはTJ脆弱化を修復する作用を有することが示唆された。

#### 【総括】

以上、本研究では①皮膚疾患患者への化粧品適応可否に関する使用試験を実施し、当該化粧品が有用かつ安全に使用できることを明らかにした。また②ニフェジピンクリーム製剤がTJに作用し、皮膚バリア機能を改善することを示した。

皮膚疾患患者に化粧品を提供するにあたっての情報量は十分でない場合がある。本研究の使用試験はエビデンスレベルこそ低い、臨床上的有用性は高い。また有効成分の作用機序を明らかにすることは、有用性、安全性を考慮する上で欠かすことのできない情報となる。本研究は、皮膚疾患患者への化粧品適応に関する情報構築の一助となる。薬局薬剤師は能動的に研究を立案遂行し、医療に貢献する責務があるだろう。

#### 【参考文献】

1. Segre JA. Epidermal barrier formation and recovery in skin disorders. *J. Clin. Invest.*, 116, 1150-1158 (2006).
2. Madison KC. Barrier function of the skin: "la raison d'être" of the epidermis. *J. Invest. Dermatol.*, 121, 231-241 (2003).
3. Eberting CL, Coman G, Blickenstaff N. Repairing a Compromised Skin Barrier in Dermatitis: Leveraging the Skin's Ability to Heal Itself. *J. Allergy. Ther.*, 5, 187 (2014).
4. Innocenti M, Ramoni S, Doria C, Antropoli C, Garbagna N, Grossi E, Veraldi S. Treatment of periorcular wrinkles with topical nifedipine. *J. Dermatolog. Treat.*, 21, 282-285 (2010).
5. Calabrò G, De Vita V, Patalano A, Mazzella C, Lo Conte V, Antropoli C. Confirmed efficacy of topical nifedipine in the treatment of facial wrinkles. *J. Dermatolog. Treat.*, 25, 319-325 (2014).
6. Lee SH, Elias PM, Proksch E, Menon GK, Mao-Qiang M, Feingold KR. Calcium and potassium are important regulators of barrier homeostasis in murine epidermis. *J. Clin. Invest.*, 89, 530-538 (1992).

7. Kurasawa M, Kuroda S, Kida N, Murata M, Oba A, Yamamoto T, Sasaki H. Regulation of tight junction permeability by sodium caprate in human keratinocytes and reconstructed epidermis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 381, 171-175 (2009).
8. Furuse M, Hata M, Furuse K, Yoshida Y, Haratake A, Sugitani Y, Noda T, Kubo A, Tsukita S. Claudin-based tight junctions are crucial for the mammalian epidermal barrier: a lesson from claudin-1-deficient mice. *J Cell Biol.* 156(6), 1099-1111 (2002).
9. Sugibayashi K, Onuki Y, Takayama K. Displacement of tight junction proteins from detergent-resistant membrane domains by treatment with sodium caprate. *Eur J. Pharm. Sci.* 36(2-3), 246-53 (2009).
10. Suzuki T, Hara H. Difuctose anhydride III and sodium caprate activate paracellular transport via different intracellular events in Caco-2 cells. *Life Sci.* 79(4), 401-10 (2006).
11. Kuroda S1, Kurasawa M, Mizukoshi K, Maeda T, Yamamoto T, Oba A, Kishibe M, Ishida-Yamamoto A. Perturbation of lamellar granule secretion by sodium caprate implicates epidermal tight junctions in lamellar granule function. *J. Dermatol. Sci.* 59(2), 107-14 (2010).