

(様式5)

学 位 論 文 要 旨

西暦 2021 年 8 月 23 日

学位申請者

(山口 和弘) 印

学位論文題目

紫外線吸収剤の皮膚に対する傷害性を抑えた日焼け止め化粧料の開発

学位論文の要旨

紫外線(UV)がシワやたるみ、しみといった皮膚の老化の原因になることが明らかになるにつれ、UV 防御意識は高まり、多くの人々が日焼け止め化粧料を日常的に使用するようになった。一方、一部の使用者には UV 曝露時に生じる皮膚傷害の発生が見られる。これは、主に日焼け止め化粧料に配合される UV 吸収剤に起因するとされている。よって日焼け止め化粧料中の UV 吸収剤の配合濃度を下げることができれば、皮膚傷害が起こるリスクは減ると考えられる。しかし、単に UV 吸収剤濃度を下げるとは UV 防御能の低下を意味し、消費者の UV を防御したいというニーズを満たせない。この相反する要素である「皮膚障害性の抑制」と「UV 防御能の保持あるいは向上」の両立は日焼け止め化粧料を開発する上での重要な問題である。

したがって本研究では、問題解決に向けて以下の2点に着目した。

- ・日光曝露中、UV 吸収能が低下する「光劣化」
- ・皮膚に塗布する際の塗布膜厚さ不均一性により、防御能を十分発揮できていないこと

上記は日焼け止め化粧料の配合基剤の基礎的検討により改善の可能性があるとして仮説を立て、処方最適化により問題解決しようと考え、本研究テーマを進めるに至った。

具体的には、UV 吸収剤の組合せによる光曝露下の光劣化の抑制、さらに日焼け止め化粧料の油相の粘度に着目した塗布時の均一性の改善を行い、低濃度の紫外線吸収剤で高い防御効果を得るための研究を行った。

現在、配合許可されている BMDM(*tert*-butyl methoxydibenzoylmethane)は、UVA 領域の幅広い吸収スペクトルと高いモル吸光係数を有することから皮膚における光老化の進行防止に効果的として世界中で日焼け止め化粧料の UVA 吸収剤として汎用されている。しかし、長時間の UV 曝露中に UVA を吸収する能力が低下する「光劣化」を生じる欠点についても知られており、欠点を改善するために過去にも多くの研究が行われてきた。UVA 吸収剤である BMDM は UVB 吸収剤と組合せて配合されることが多いため、従来から BMDM と UVB 吸収剤の組合せ時の光劣化(吸光度の低下)に関する挙動について研究されてきた。しかし、日光曝露時に BMDM から発生するラジカルが皮膚に及ぼす影響については研究が不十分であり、光劣化時に生ずるラジカルや生成される ROS、および ROS と BMDM の光毒性の関連性について他の UV 吸収剤配合時の挙動を含めた知見は報告されていない。

そこで、第2章では BMDM が UV 曝露時に光劣化の度合いを研究するとともに、合わせて UV 照射時の光毒性も観察し、ROS 発生や光毒性を抑えながら高い吸光度が得られるような UVB 吸収剤の組合せを提案することを試みた。

最初に UV 照射下で BMDM から生成されるラジカル種の ESR スペクトル(electron spin

resonance)の測定を行った。その際 BMDM から生成されるラジカル種由来の ESR シグナルは SOD (superoxide dismutase) 添加により消失したことから、UV 曝露により BMDM から生成されるラジカル種はスーパーオキシドアニオンラジカル($\cdot O_2^-$)であることが示された。

また、HaCaT ケラチノサイトを用いた *in vitro* 細胞毒性試験を行った。BMDM の存在下で UVA 曝露した HaCaT ケラチノサイトにおいて細胞生存率の著しい低下が認められた。この結果は、BMDM の光劣化にともなって生成される化学種あるいは BMDM から生成されるスーパーオキシドアニオンラジカルが HaCaT ケラチノサイトの生存率を低下させ、これら化学種が皮膚に傷害を引き起こす可能性を示唆している。さらに、BMDM は UV 照射下における光劣化に伴い UVA 吸光度の低下を示した。そこで、UV 照射下における BMDM からの $\cdot O_2^-$ の生成、細胞傷害性、さらには UVA 吸光度低下に対する解決法を提案すべく、BMDM に等量の BP3 (2-hydroxy-4-methoxybenzophenone) あるいは OCR (octocrylene) を配合して、2 種の吸収剤組合せの $\cdot O_2^-$ 生成量、細胞毒性、吸光度変化を観察した。その結果、OCR を配合した BMDM は UV 照射下における細胞傷害性と吸光度低下が抑制された一方で、 $\cdot O_2^-$ の生成は抑制されなかった。それに対して BP3 を配合した BMDM は、UV 照射下における $\cdot O_2^-$ の生成、細胞傷害性と吸光度低下のすべてを抑制した。

以上、第 2 章では BP3 の配合が、UV 曝露中に引き起こされる BMDM の光劣化を抑制すると同時に BMDM の皮膚に対する傷害性を抑制するために有効な手段であることを明らかにした。

第 3 章では、日焼け止め化粧料が皮膚に塗布時に形成される膜厚の均一性に与える油相粘度の影響、および UV 防御能に与える影響を明らかにすることを試みた。Lambert-beer の法則から日焼け止め化粧料の UV 防御能は、塗布膜の厚さに依存する。また、UV 防御能を高めるには、凹凸のある皮膚表面状に均一な厚さの塗布膜を形成することが極めて重要である。皮膚の表面には肌理(キメ)とよばれる凹凸があり、凹凸のある皮膚上に均一な厚さに化粧料を塗布することは非常に困難である。さらに、UV 吸収剤の多くは油溶性であるため、主に油性基材へ溶解して日焼け止め化粧料へ配合される。そして、多くの日焼け止め化粧料は油中水型あるいは水中油型のエマルジョンである。日焼け止め化粧料を皮膚へ塗布した場合、水と揮散性の油分が揮散した後に UV 吸収剤が溶解した油膜が皮膚上に塗布膜として形成される。そこで、以下の仮説を提案し、その正当性を検証した。

仮説：UV 吸収剤が溶解している油相の粘度を高めることで、UV 吸収剤が溶解している油の皮溝への流れ込みを抑制し、均一な膜厚の塗布膜が形成される。それにより、日焼け止め化粧料の UV 防御能を向上できる。

しかし、これまでヒト皮膚上の化粧料塗布膜の膜厚均一性を測定した報告はほとんどなく、日焼け止め化粧料の塗布膜厚は、*in vivo* SPF 値から類推するのみであった。これは、ヒトの皮膚表面は平滑ではないこと、塗布状態をヒト皮膚上で固定することが困難であることが原因であった。本研究では、ヒトの皮膚表面形態を模した樹脂製プレート (SMS : skin-mimicking substrate) に日焼け止め化粧料を塗布することにより、その塗布膜厚の厚さの分布を測定した。検証には日焼け止め化粧料の油相に増粘剤を配合し油相粘度の異なる日焼け止め化粧料を調製し、SMS 上へ塗布して、膜の UV 吸光度、皮丘領域および皮溝領域の塗布膜厚の分布について測定を行った。また、第 3 章においては、吸光度および膜厚均一性を評価するため、光劣化の程度が極めて小さい UVA 吸収剤、DHHB (Hexyl 2-(4-N,N-diethylamino-2-hydroxybenzoyl)-benzoate) を 2.0wt% 濃度で用いた。

まず、各増粘剤を配合した油相粘度をずり速度を変化させて測定した。検討した増粘剤は、過去知見から油増粘性の知見が分かっているワセリン、パルミチン酸デキストリン、シリル化シリカ、およびオルガノクレイの 4 種を用いた。シアレート制御粘度測定にて油増粘剤の増粘挙動を観察した結果、オルガノクレイやシリル化シリカは皮膚表面への塗布を想定したストレスをかけた後であっても、低ずり速度域の粘度が高いことが確認され、配合量の増加に伴う粘度上昇も確認された。次に増粘剤の濃度調整により油相粘度を変化させた日焼け止め化粧料の UV 防御能を SMS 上に形成させた日焼け止め化粧料塗布膜の吸光度を測定した。オルガノクレイとシリル化シリカは SMS 上に形成された日焼け止め化粧料塗布膜の吸光度を増粘剤濃度依存的に増加させた。4 種の油増粘剤配合した日焼け止め化粧料を SMS に塗布し、SMS の丘部分と溝部の塗布膜厚を UVA 照射時の蛍光画像から観察したところ、オルガノクレイとシリル化シリカ配合品は、ワセリン、パルミチン酸デキストリンよりも溝部分と丘部分との蛍

光強度の差が小さく、均一な塗布膜であることが確認された。そこで、共焦点レーザー顕微鏡を用いてオルガノクレイ配合日焼け止め化粧料の膜厚均一性の計測したところ、オルガノクレイ配合量が増加するほど、膜厚の標準偏差は減少し、SMS 上の膜厚均一性は増加していることが確認された。重力場で液体の流動性が低ずり速度域の粘度に依存することはレオロジーの分野では知られている。よって、低ずり速度における油相粘度を高めることは凹凸を有する SMS の溝への流れ込みによる偏在化を抑制し、オルガノクレイ配合日焼け止め化粧料を SMS 上に塗布した塗布膜は均一性の高い塗布膜の形成に由来する高い UV 吸光度をもたらしたと考察された。

最後に、油相粘度を高めることが高い UV 防御能を維持しながら UV 剤配合濃度の低減につながる可能性について検証を行った。DHHB 配合濃度を 1.0wt%に減少させオルガノクレイ 2.0wt%配合した日焼け止め化粧料の UV 防御能を吸光度測定にて評価した。オルガノクレイ配合 1.0wt%DHHB 配合日焼け止め化粧料は、SMS 上においてオルガノクレイ無配合 2.0wt%DHHB 配合日焼け止め化粧料の吸光度と同等以上の高い吸光度を示した。

以上より、第 3 章では増粘剤の配合により油相粘度を高めることが日焼け止め化粧料塗布膜の吸光度を高め、UV 防御能を向上させることを明らかにした。この結果は、日焼け止め化粧料の UV 防御能を改善するための有効な基剤特性の方向性を示している。また、この方法は油溶性の UV 吸収剤であれば、UV 吸収剤の種類を問わない普遍的な改善策であると考えられる。

本研究は、UV 吸収剤 BMDM の UV 照射下での皮膚傷害性および光劣化を改善する UV 吸収剤 2 種の適切な組合せと、日焼け止め化粧料中で UV 吸収剤を効果的に機能させる基剤特性を明らかにした。前者は BP3 との組合せであり、後者は油相の低ずり速度域の粘度を高めることである。これらの知見は、高い UV 防御能を維持しながら UV 吸収剤配合濃度を低く抑えることにつながる。

本研究の成果は、UV 吸収剤の皮膚傷害のリスクを抑制したより安全性の高い日焼け止め化粧料の製剤化技術の進歩に貢献するものと期待される。

(様式6)

S u m m a r y

Applicant for degree :
(Kazuhiro Yamaguchi)

Title of thesis :
Development of safe sunscreen cosmetics to reduce the risk of contact dermatitis

Most sunscreen cosmetics contain ultraviolet (UV) light absorbers that can cause contact dermatitis. Reducing the UV absorber concentration in sunscreens would minimize the risk of contact dermatitis, however, this might also reduce the protection against UV light, thereby affecting the effectiveness of sunscreen cosmetics. Our research aimed to attempt the suppression of photodegradation of UV absorbers and improve the absorption ability of sunscreen films.

To date, no study has investigated the toxicity of reactive oxygen species (ROS) produced during photolysis of *t*-butyl methoxy-dibenzoyl-methane (BMDM), which is widely used as a long-wavelength ultraviolet (UVA) absorber. Therefore, we assessed the ROS generation, phototoxicity, and photodegradation suppression of BMDM. Our findings suggested that combining BMDM and the short-wavelength ultraviolet (UVB) absorber 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone (BP3) can effectively and simultaneously suppress the photodegradation of BMDM, ROS generation, and resulting phototoxicity.

Additionally, we attempted to improve the uniformity of film thickness for sunscreen cosmetics to maximize UV protection while maintaining minimum contact with the UV absorber. We used a resin plate as a skin-mimicking substrate (SMS), which mimics the morphology of the human skin surface to measure the absorbance of the sunscreen film and its non-uniform thickness. We measured the oil-phase viscosity using a rheometer. The use of thickeners such as organoclay increased the oil-phase viscosity over the low shear-rate range and suppressed the uneven distribution of film-thickness on the SMS. Our findings indicated an improvement in the absorption ability of the sunscreen film with an even distribution of the UV absorbers.

Our findings suggest that combining the existing UVA absorber (BMDM) with the UVB absorber (BP3) would provide adequate UV protection while minimizing the adverse effects on the skin. Moreover, a novel finding of our study is that oil-phase viscosity is crucial for better functioning of UV absorbers in sunscreens. These findings would help formulate safe sunscreen cosmetics with lower risk of contact dermatitis.