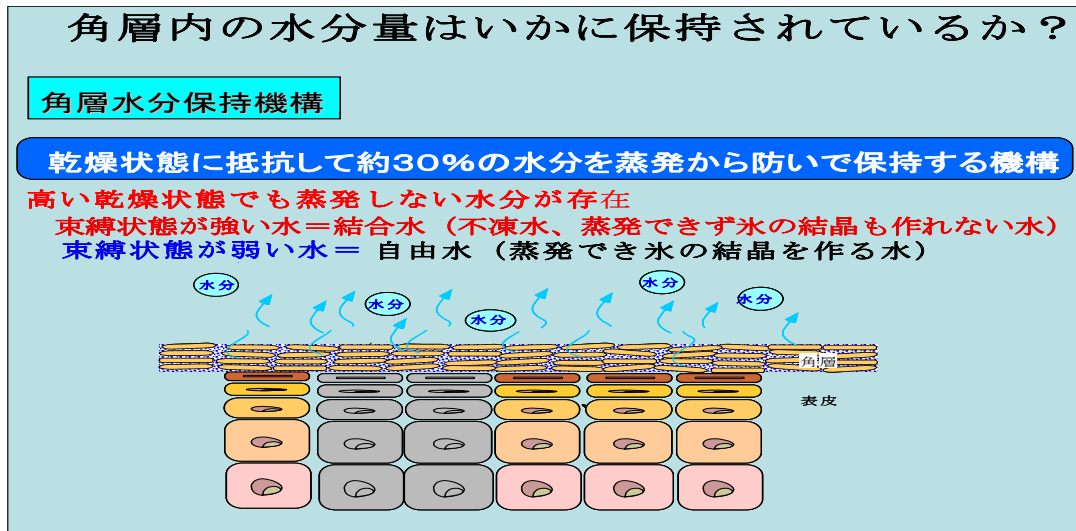


1. 皮膚の生来の乾燥防御メカニズム

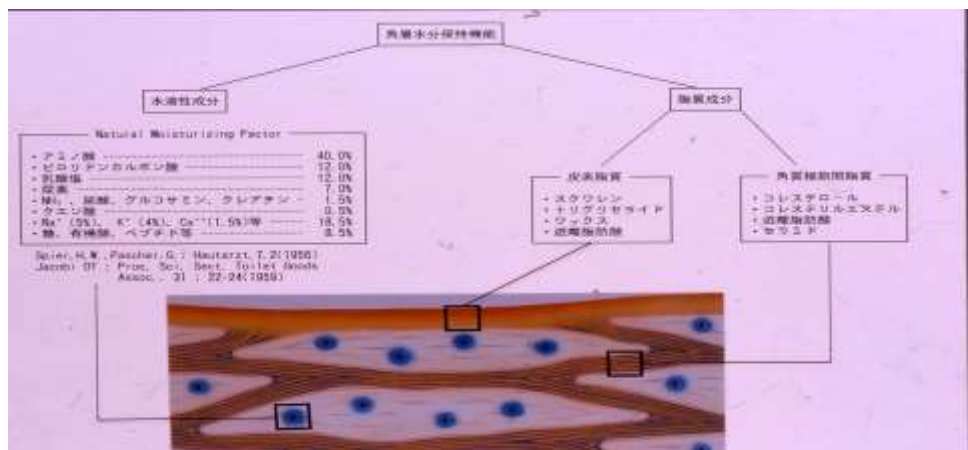
角層内に保持されている水分は約30%と少量ながら、角層の柔軟性、潤い、また乾燥防止に大きく寄与しており、種々の乾燥性皮膚疾患（乾皮症、アトピー性皮膚炎）で、角層内の水分保持機能の低下が報告されている (Jacobi 1959, Tagami, Ohi et al. 1980) 【o-16, 17】。この水分は角層内にしっかりと組み込まれ、たとえ皮膚が高い乾燥状態におかれても簡単には失われない性質を持っていることから、角質層内部には何らかの水を抱えて離さない特別な機構が存在することが、従来より推察されており【図-1】、角質層内部のこの水分保持機構に関する物理化学的因子

図-1 :



としては、従来より角層の構成成分【図-2】の中ではアミノ酸などの水溶性低分子物質 (natural moisturizing factor, NMF) が主に考えられていた (Jacobi 1959) 【o-16】。

図-2 :



1-1. 角質細胞間脂質溶出と角層水分保持機能の低下

われわれは角質層の水分保持機能に關与する因子を解析する目的で以下の如き実験を行った (Imokawa and Hattori 1985, 芋川玄爾 1987, 芋川玄爾 1990, 芋川玄爾 1990, 芋川玄爾 1990, 芋川玄爾 1991) 【a-10, d-8-12】。アセトン/エーテルなどの有機溶媒で皮膚表面を処理すると、その処理時間に依存して数日間持続する肌あれが出現する。すなわちアセトン/エーテル処理の1分間程度ではまったく肌あれは生じないが、5分間以上の処理で初めて肌あれが出現し、約20分で肌あれの強度は飽和に達する。角層表面の水分含量をインピーダンスメーターで測定すると、この肌あれの程度に比例する形で、角層水分含量は、アセトン/エーテル処理1分では無処理に比べ有意な水分量の低下は認められないが、5分以上の処理で、有意な水分量の低下が観察され、10分以上の処理では処理4日後においても有意な著しい水分量の低下が観察される【図-3】。このアセトン/エーテル処理では全くアミノ酸等の角層内水溶性物質は溶出されてきていないので【e-2】、従来主に角層内の水分保持因子として考えられてきていた、水溶性のNMF成分の溶出による水分保持機能の低下はこの場合考えにくく、また除去された皮表皮脂は皮脂腺からの皮脂分泌により数時間で完全に回復することから、本処理により起きてくる数日間持続する水分量の低下の原因を説明できない。一方、角質層内部からは脂質が溶出してきており、溶出された脂質を薄層クロマトグラフィで解析すると、水分保持機能の有意な低下がまだ生じていな

図-3 :

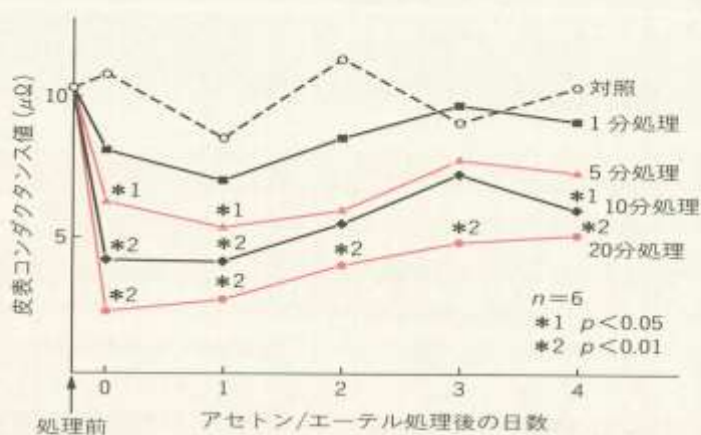
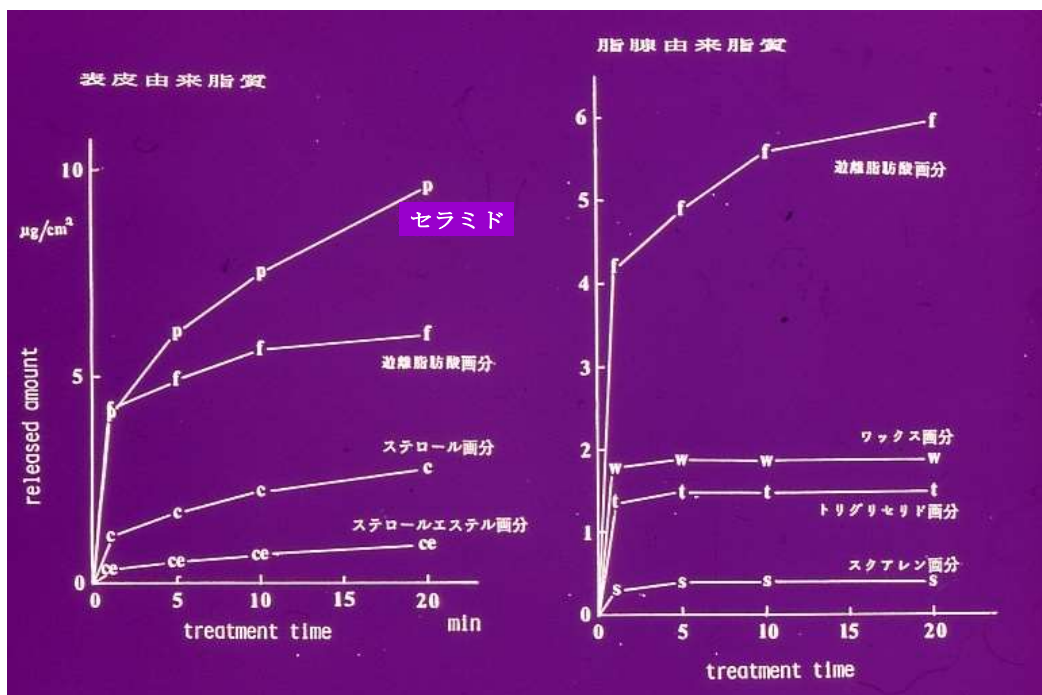


図-3: ヒト前腕皮膚をアセトン/エーテル (1/1) 溶媒で異なる時間処理した後に誘導される水分量の減少インピーダンスメーターで測定。

い1分処理では、皮脂腺由来の脂質であるスクアレン、ワックスエステル、トリグリセライドが主に溶出し、その溶出量はすでに飽和に達しているのに対し、水分保持機能の有意な低下が生じ始める5分処理からは角質層由来の脂質であるコレステロール、コレステロールエステル、脂肪酸、スフィンゴ脂質 (セラミド) が溶出さ

れ、これらの溶出量は水分量の低下の程度と比例し、処理時間が長くなるに従い増加した【図-4】。従ってアセトン/エーテル処理により角層の水分保持機能が失われる原因としては、これら角質層由来の脂質の除去が重要な関連を有していることが推察された。

図-4 :



1-2. 角層由来脂質の局在と微細構造

通常の電子顕微鏡の固定法であるグルタルアルデヒド-オスミン酸固定-エタノール脱水過程では試料から脂質成分が溶出する傾向が強く、角層由来脂質の存在は不明確で、角質細胞間は通常エンピティスペースとして存在する【図-5】。グルタルアルデヒド液での固定を、脂質が溶出しにくいアクロレインペーパーによる蒸気固定【e-1】に変えることにより、角層由来脂質は明瞭な電子濃染帯として角質細胞間に存在することが判明した。【図-6】はヒト前腕角層の角質細胞間に存在する脂質層のアクロレインペーパー法による観察結果で、角層間に太い脂質帯を認めることができる。アクロレインペーパー法では角質細胞間の脂質の存在は観察が容易であるが、その微細構造までは観察できない欠点がある。この点を改良したものが四酸化ルテニウム染色法【a-13】で、本法では【図-7】のごとくヒト前腕皮膚角層の角質細胞間に多数のラメラ構造よりなる脂質層が明瞭に観察できる(1, 2)。すなわち角質細胞間に存在する脂質は電子濃染層と電子淡染層が交互に配列した層状構造をとり、電子顕微鏡下のこれらの染色像がいかなる脂質の配列構造にもとづくものなのかが Downing らにより明らかにされている【o-7】。それによると、電子濃染層は細胞間脂質のアミド基や水酸基よりなる極性部に電子淡染層は細

胞間脂質のアルキル基よりなる親油部にそれぞれ相当し、我々の実験結果と併せて考えると、【図-8】のごとく、水分子は脂質2重層に構造水として組み込まれ、蒸発および凍結することなく角層の水分保持機能に重要な役割を果たしている事がわかる。

図-5：



図-6：



図-7：

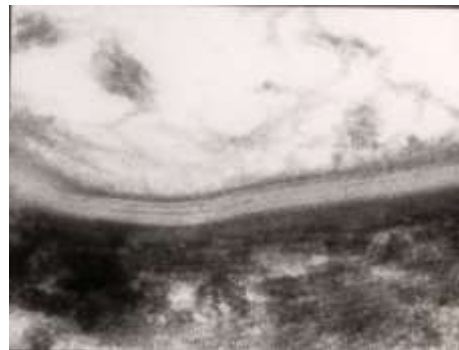
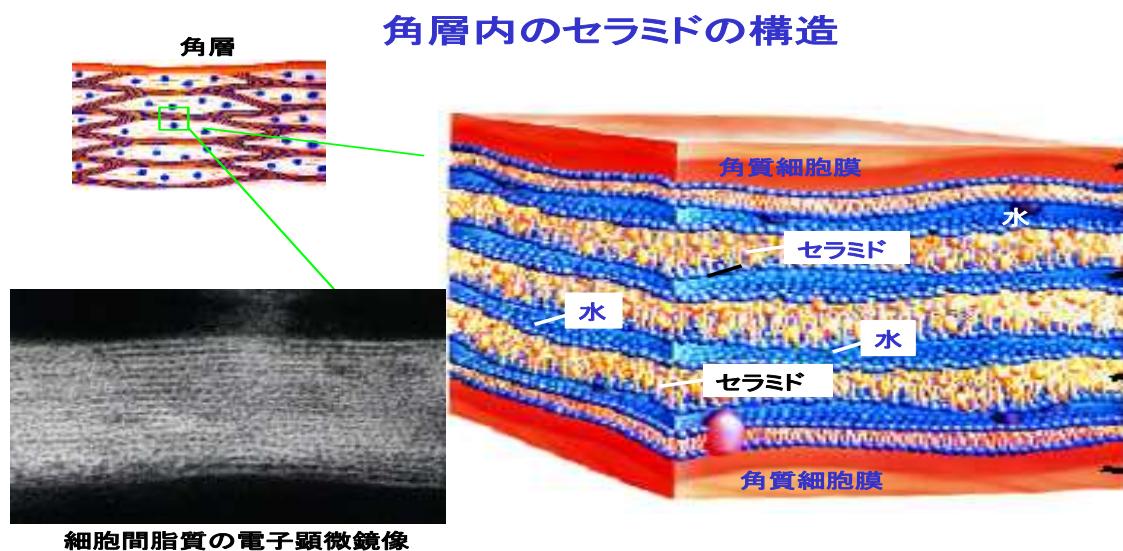


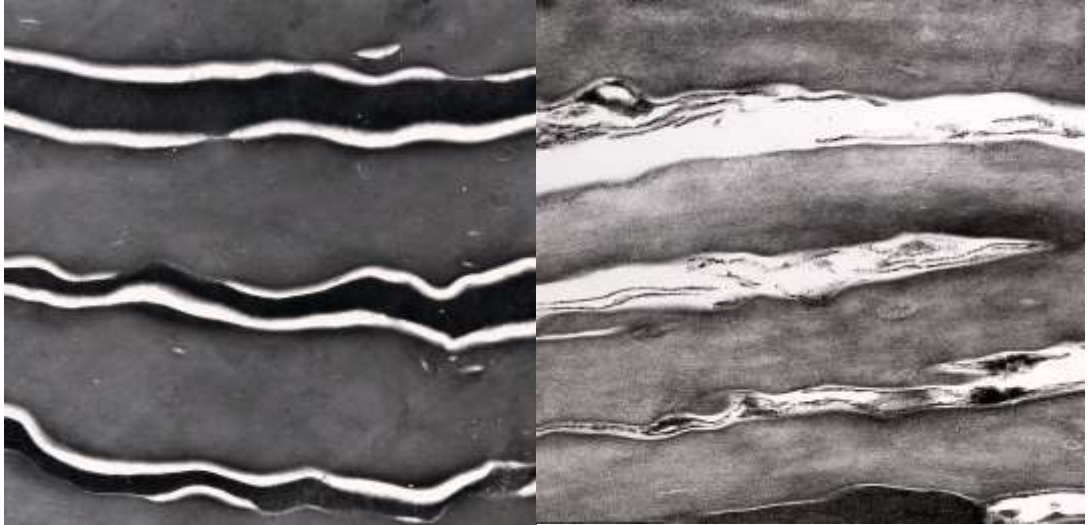
図-8：



1-3. 角層内の脂質のアセトン/エーテル処理による変化

この角質層より溶出してくる脂質の由来を調べるため *in vivo* でアセトン/エーテル処理を行った皮膚角層を試料の固定の際に脂質が溶出しないようなアクロレインペーパー固定法により、電子顕微鏡下で観察すると、未処理角層では角質細胞と角質細胞の間に濃染帯が認められ脂質が層状に存在していることが明らかとなり、アセトン/エーテル処理によりこの脂質層が消失する事が判明し【図-9】【a-10】、先ほどの実験でアセトン/エーテル処理により角層内より溶出してきた脂質は、この角質細胞間に存在していた脂質であることが明らかとなった。

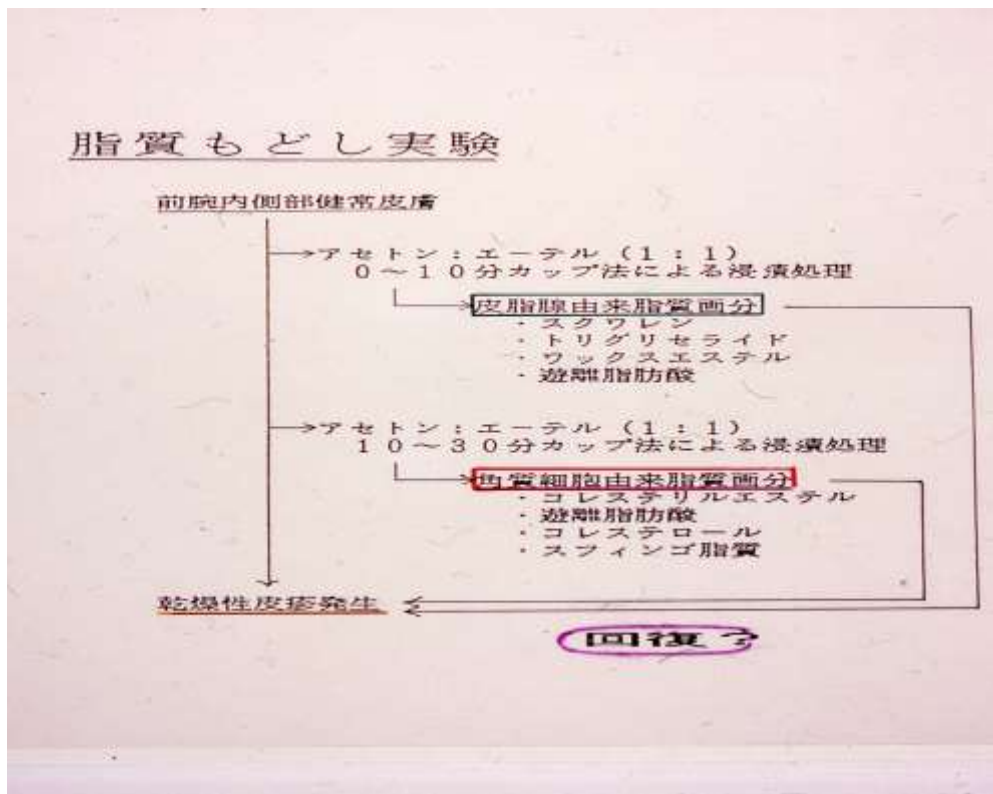
図-9 :



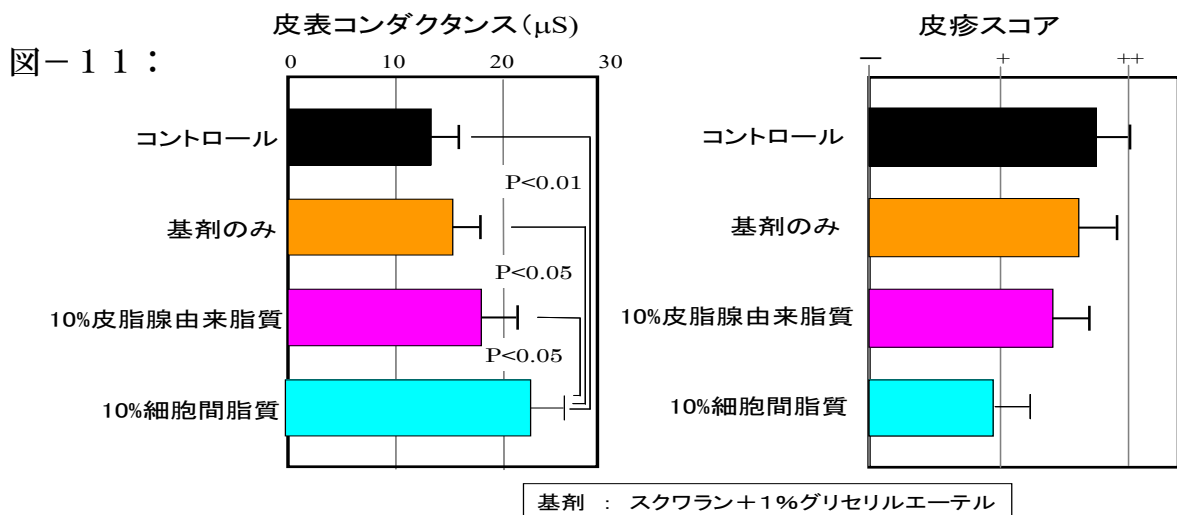
1-4. 脂質の塗付による水分保持能の回復

角質細胞間脂質の水分保持機能を in vivo で直接的に証明する目的で図-10 のごとき方法にて、ヒト皮膚角層より抽出分離した角質細胞間脂質をアセトン/エ

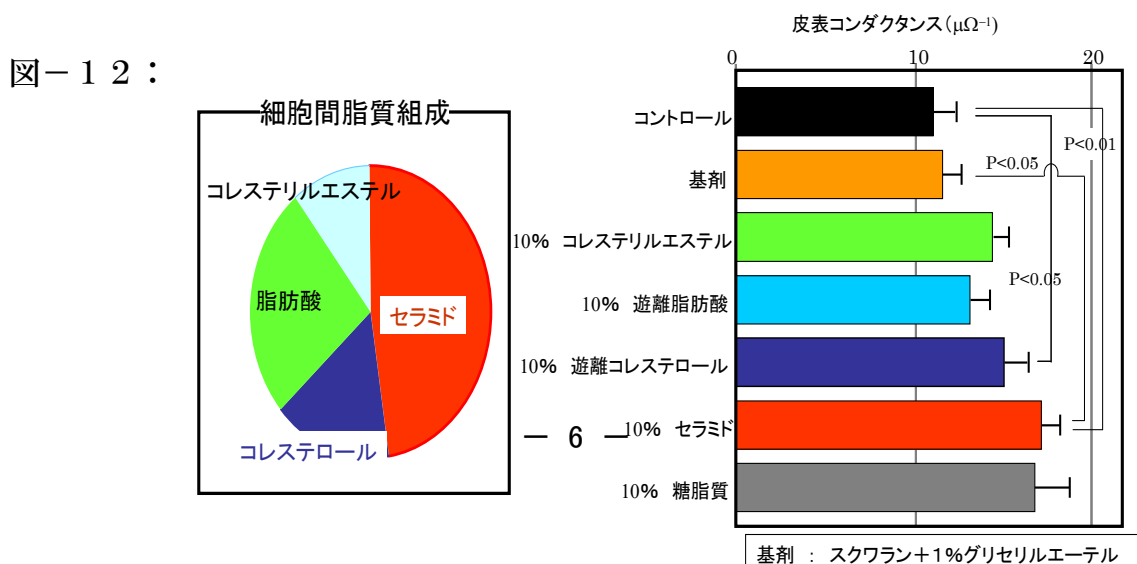
図-10 :



ーテル溶媒処理で誘導した乾燥落屑性皮膚に塗付すると、数時間後より角層水分量の回復が認められ、4日目には角層水分量はほぼ溶媒未処理のレベルまで回復し、同時に乾燥落屑性変化もほとんど消失した【図-11】【a-11】。これらの回復

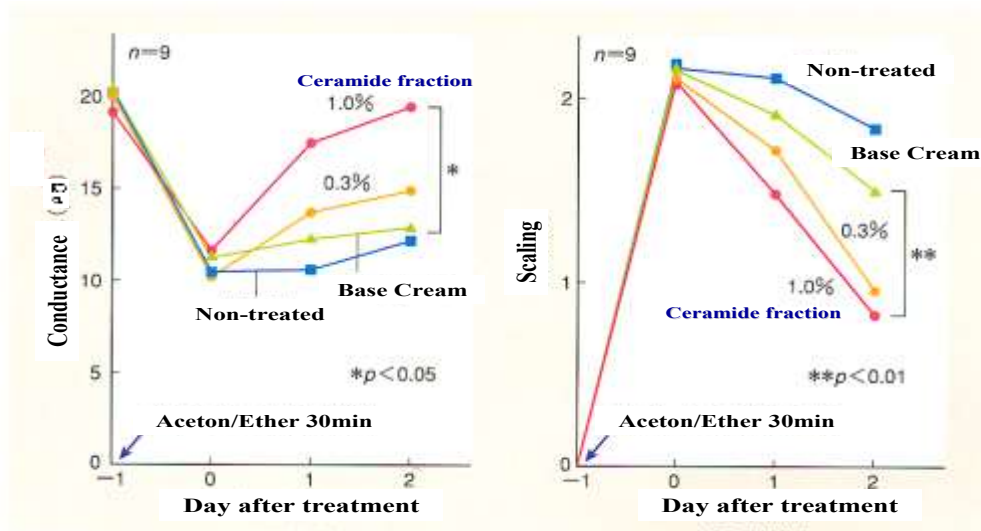


効果は皮脂腺由来の脂質の塗付では全く認められず、また典型的な保湿剤であるグリセリンでも角質細胞間脂質で認められた回復効果を示すことはなかった。角質細胞間脂質は種々の脂質の混合物であるので、薄層クロマトグラフィを用いて、それぞれの構成脂質（セラミド、糖セラミド、脂肪酸、コレステロール、コレステロールエステル）に分けた後、アセトン/エーテル処理皮膚に塗付（ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ）し、水分保持機能の回復能を測定した結果、セラミドが単位重量当たりで最も水分保持機能を改善する能力が高いことが判明した【図-12】【a-11】。また実際のク



リームに分離したセラミド分画を配合し、アセトン・エーテル処理により生じた乾燥落屑性皮膚に3日間塗布することにより、1.0%以上の配合量で有意な水分含量の増加回復と、落屑スコアの有意な減少回復が認められた【図-13】【b-8】。すなわち角質細胞間脂質が何らかの原因により減少もしくは損傷を受けると、皮膚角層の水分保持能の低下を伴って乾燥落屑性変化が出現し、角質細胞間脂質を皮膚に塗付し元に戻してやると、角層水分保持能の回復とともに乾燥落屑性変化も消失することから、皮膚角層の水分保持機構における角質細胞間脂質、特にセラミドの重要性が示唆された。

図-13：

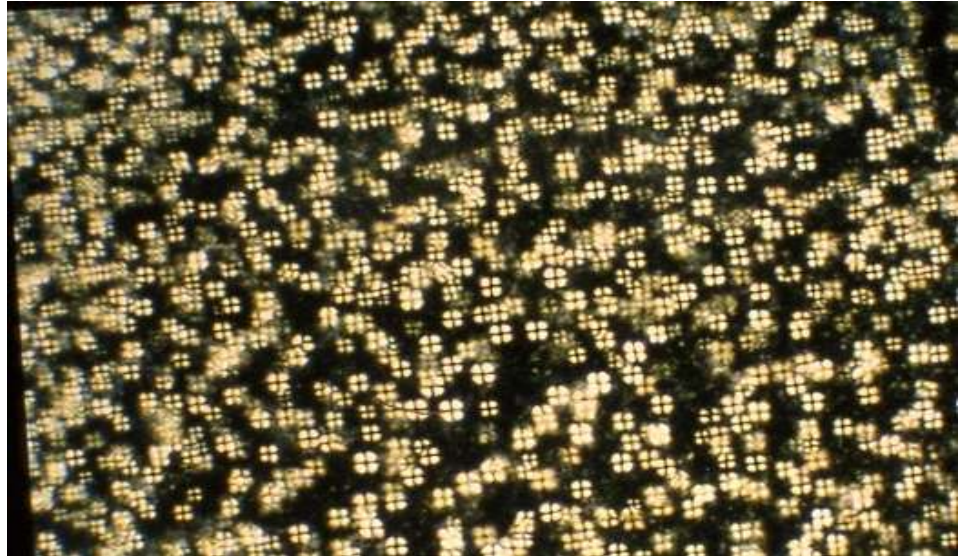


1-5. 角質細胞間脂質の水分保持機能に關与する物理科学的性質

【a-17, f-8】

角質細胞間脂質が角層の水分保持機能に重要な役割をしていることが明らかとなったが、脂質が如何なるメカニズムによって水分保持機能を發揮するのは不明であったので、このメカニズムを探る目的で、以下の実験を行った。すなわち、ヒト角質層から抽出分離した角質細胞間脂質をガラスプレートに少量塗付し水を加えた後、昇温冷却を繰り返すと、角質細胞間脂質はラメラ構造（マルチコンセントリックラメラ）を形成する性質のあることが、偏向顕微鏡観察によって証明された【図-14】【a-14, b-8】。一方、これらラメラ構造の形成は皮脂腺由来の皮脂

図-14：



によっては全く観察されないことより、角質細胞間脂質は一般の脂質とは異なり、水分子を水素結合によりラメラ構造の構造単位として取り込み、このラメラ構造の中に取り込まれた水分が水分保持機能を発揮することが推定された。このことを証明するために、本会合体の示差熱分析を行い【図-15】、融解エンタルピー変化と水分量のプロット【図-16】より、本会合体内部には不凍水（結合水）として、約4.34%の水分を保持していることが証明され、一方皮脂腺由来の脂質で同様な示差熱分析を行い、融解エンタルピー変化と水分量のプロット【図-1

図-15：

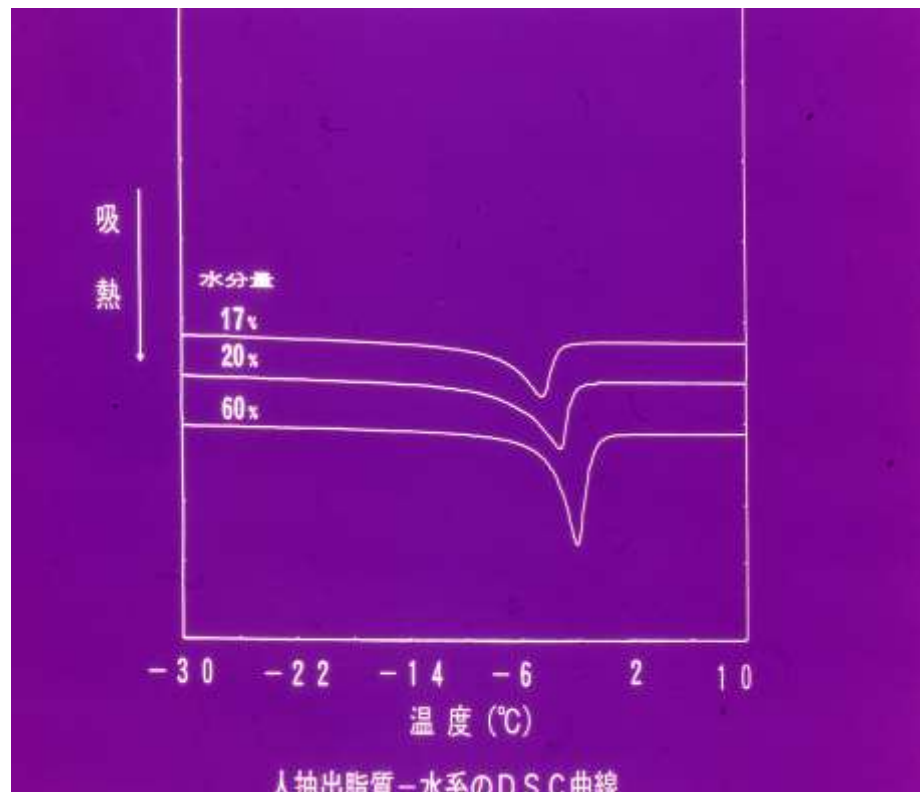


図-16 :

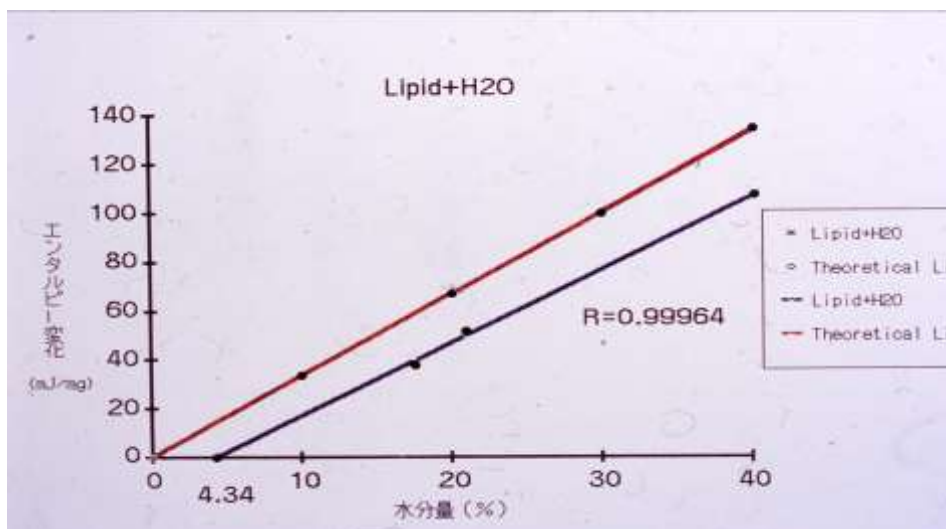
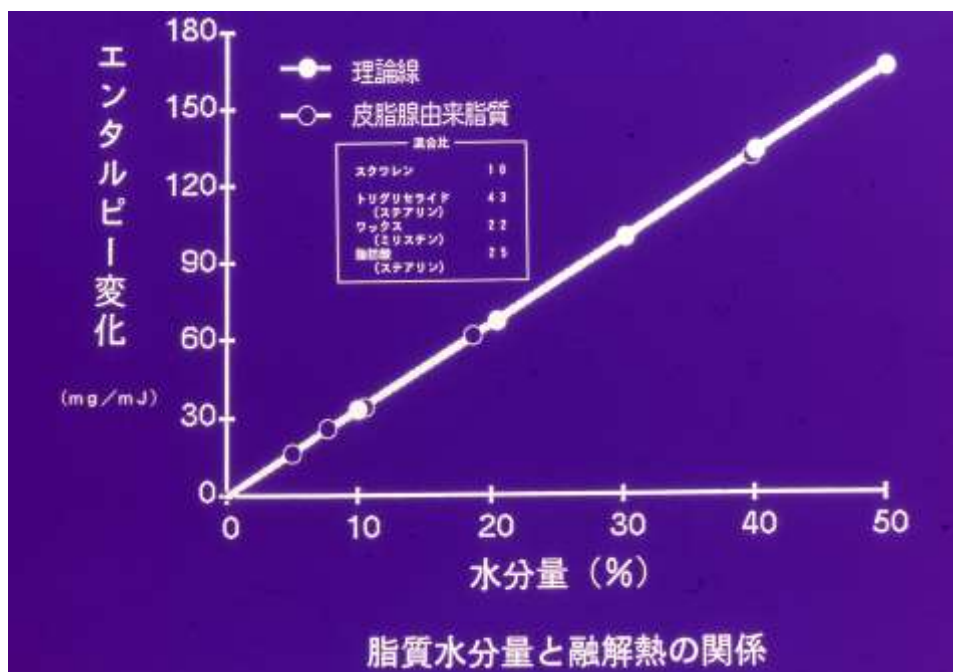


図-17 :



7】より、皮脂腺由来脂質にはまったく結合水を抱える能力が見られなかった【a-14】。この角質細胞間脂質の主成分はセラミドであるので、牛脳由来セラミド（50%）とコレステロールエステル（5%）、コレステロール（15%）、C18脂肪酸（30%）の混合物で同様に示差熱解析を行い【図-18】、融解エンタルピーと水分量のプロット【図-19】より、本混合物も人皮膚より分離した角質細胞間脂質と同様に焼く4.0%の結合水（不凍水）を含んでいることが判明し、

セラミドの結合水保持における重要性が確認された。すなわちセラミドを主成分とする、角質細胞間脂質は、水分をその構造単位として取り込み、【図-20】の如きラメラ構造を構築し、この特殊な構造をとることにより、結合水を保持できるものと推察された。

図-18：

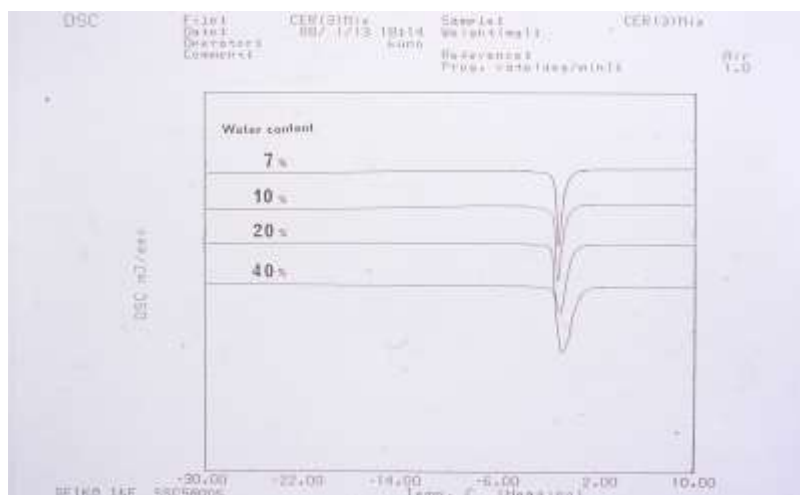


図-19：

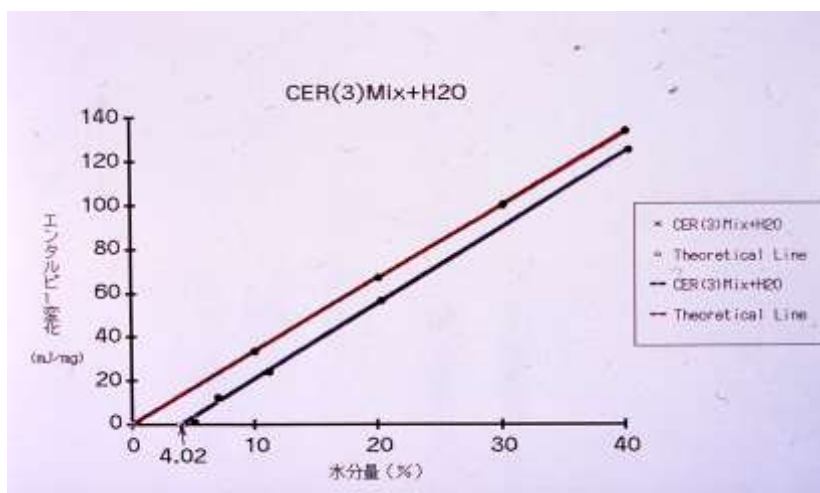
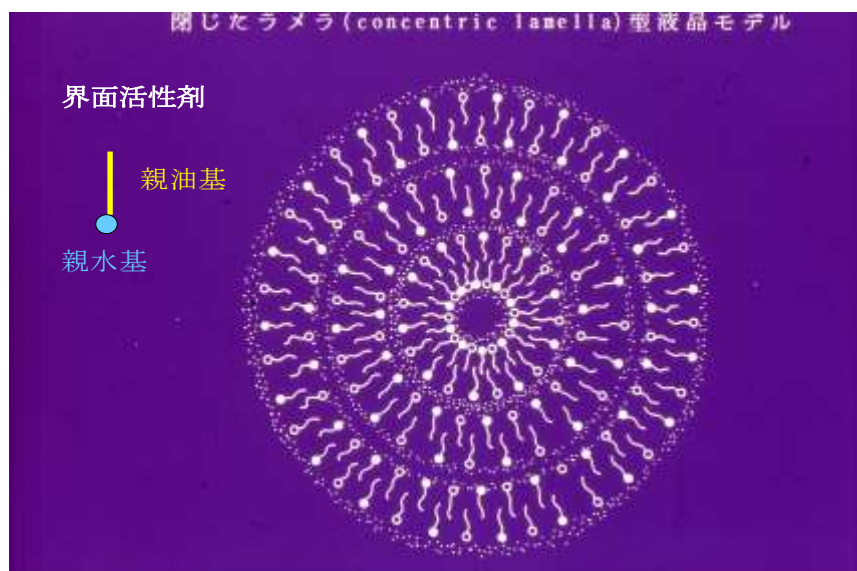


図-20：



すなわち今までに得られた結果より、角質細胞間にはセラミドを主体とする脂質が【図-21】の如きメカニズムで水と一体になり【図-8】如き脂質二重層を形成し、その二重層の間に水分を結合水として抱え、この結合水の存在が角層が水分保持機能を発揮できる根元であることが明らかとなった。

図-21 :



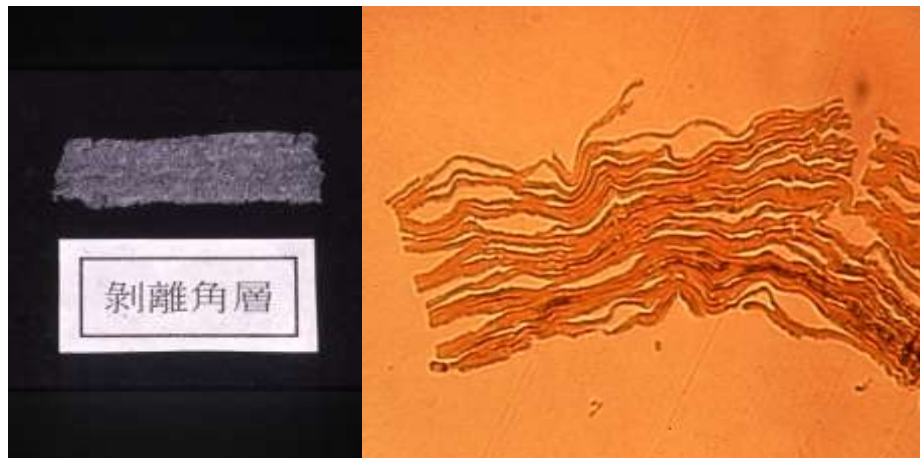
実際に角質細胞間脂質の微細構造をルテニウムテトラオキサイドによる染色を行い電子顕微鏡下で観察すると【図-7, 8】の如く、角質細胞間に存在する脂質は、多数の脂質二重層の繰り返しからなる構造をとっていることが確認された。この染色法では親油基は白いバンドとして、水分子と相互作用している親水基は黒いバンドとしてみられ、この染色パターンとセラミド分子の配列の詳細な構造もすでに解明されている【o-1】。

角層水分保持機能のアセトン/エーテル溶媒処理による損傷および角質細胞間脂質の塗付によるその改善効果が上述した角質細胞間における脂質のラメラ構造の損傷及び再構築による結合水量の低下及び増加をもたらしたに結果であることは、ヒト角層シートを用い、示差熱分析により内部に含まれる結合水の変動量によって確認した【a-17, d-21, 23, f-8】。すなわち【図-22】の如く人前腕皮膚よりピンセットにて強制的に剥離したヒト角層シート【図-23】を用いた試験管内の実験で、

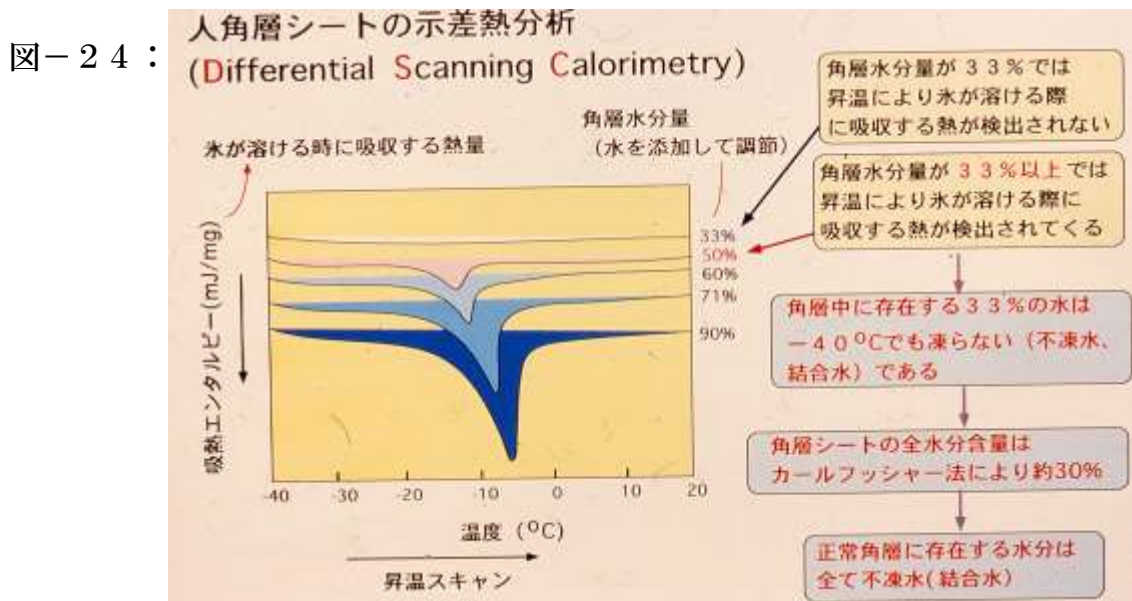
図-22:



図-23:

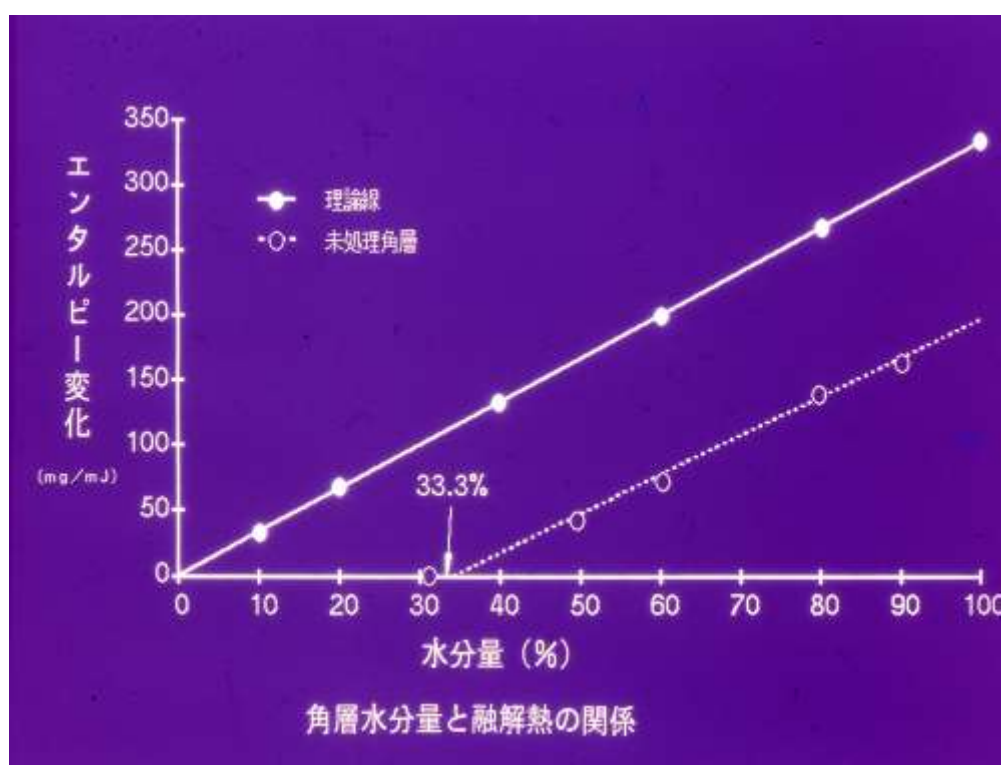


示差熱分析を用いた解析を行った結果【図-24】、正常の角層シートは水分量33%においては、-40度より10度までの融解プロセスにおいて、吸熱ピークを示さず、凍結した水分の存在を示さないのに対し、50-90%水分量ではいずれも融点降下現象を伴い、吸熱ピークを示し、凍結水分の存在を示している。融解



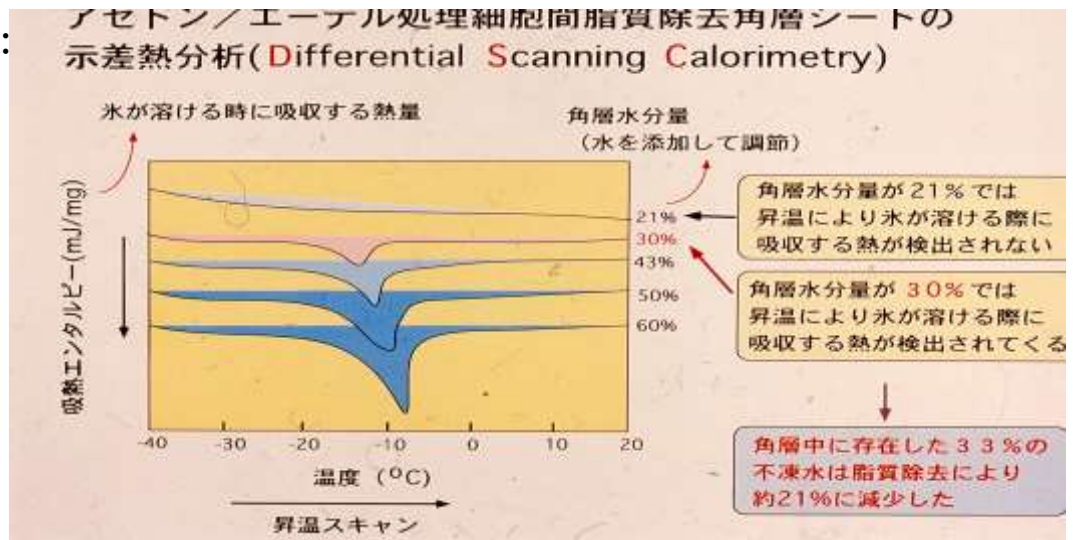
エンタルピーと水分量のプロット【図-25】より、未処理角層では約33.3%の結合水（不凍水）が存在していることが判明した。カールフィッシャー法による未処理角層の水分含量は約30%であることが分かっているので、示差熱分析の結果は未処理角層に含まれる水分はすべて不凍水（結合水）の形で存在することを示

図-21：



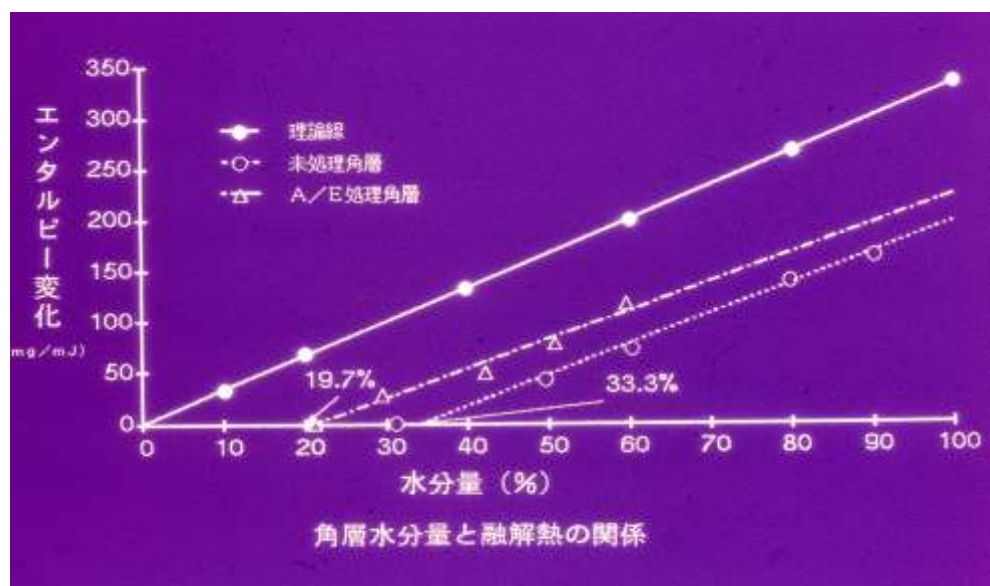
唆している。vivoで角層の水分保持機能の著明な減少を引き起こしたアセトン／エーテル処理をこの角層シートに同様に行い、細胞間脂質を溶出させた角層シートを用いた示差熱分析を行った結果【図-26】、水分量30%でも吸熱ピークが

図-26:



出現し、結合水含量が減少していることを示し、融解エンタルピーと水分量のプロット【図-27】より、アセトン/エーテル処理により細胞間脂質を除去すると

図-27:



角層シートに含まれる結合水量は20%まで減少した。このことは細胞間脂質が細胞間でラメラ構造を形成し、その中に構造単位として結合水を抱え、これが角層の水分保持能の主要因であることを示している。

またさらなる水処理を行うと、脂質の除去された角層からは容易にアミノ酸等の

水溶性成分が溶出され【図-28】、吸熱ピークの高温側（0度付近）へのシフトが融点降下の減少のため生じるが【図-25】、融解エンタルピーと水分量のプロットより求めた、結合水量のさらなる減少はみられない【図-26】。つま

図-24：

アセトン/エーテル処理人角層の30分水処理により溶出する水溶性成分		
アミノ酸	48.3	
酸性アミノ酸 (アスパラギン酸など)	5.4	
中性アミノ酸 (グリシンなど)	34.5	
塩基性アミノ酸 (リジンなど)	8.4	
有機酸	24.6	
ピロリドンカルボン酸	10.2	
尿酸	2.1	
乳酸	10.1	
クエン酸	0.21	
その他	2.0	
尿素	7.87	
無機イオン	5.22	
未知物質及びその他	14.0	
合計	100.0	

0.13mg/mg角層 = 角層重量の1.3%が水溶性成分

図-25： アセトン/エーテル処理細胞間脂質除去 + 水処理アミノ酸除去 角層シートの示差熱分析(DSC)

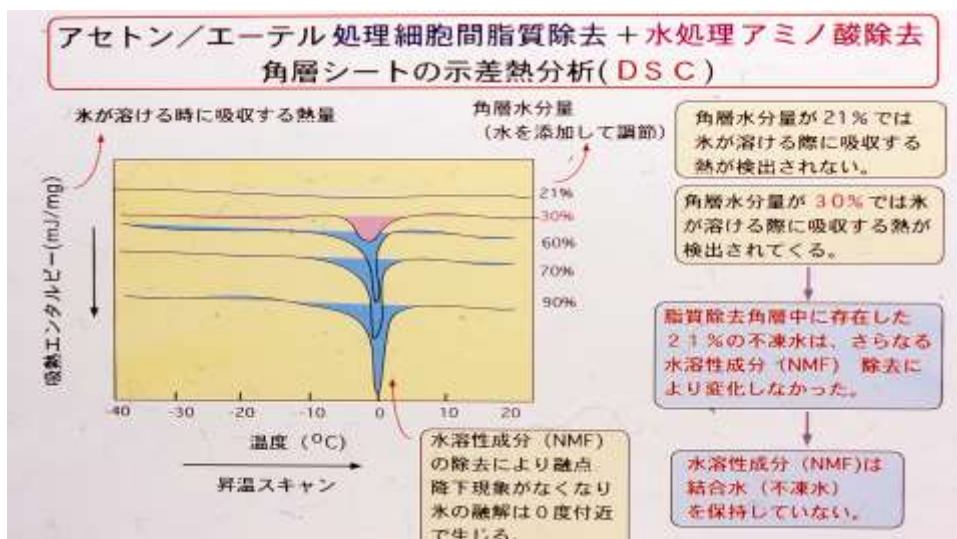
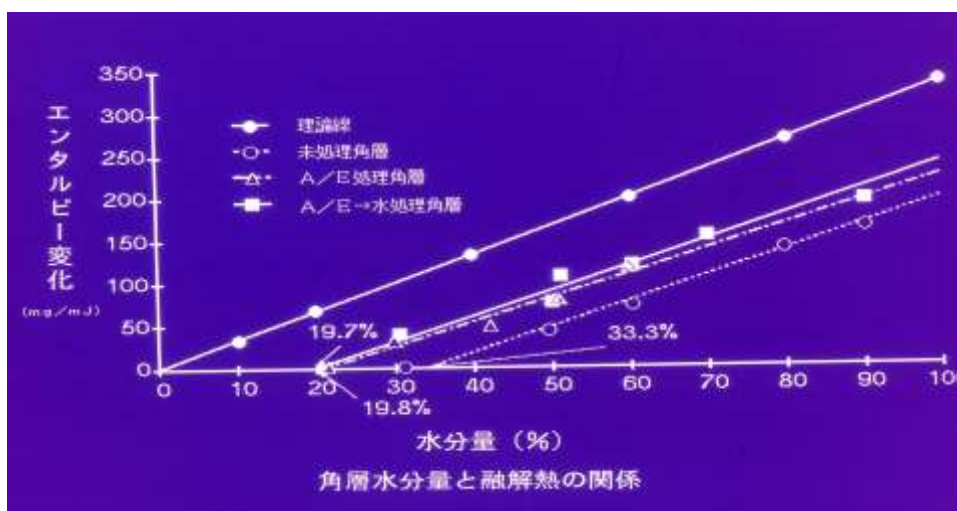
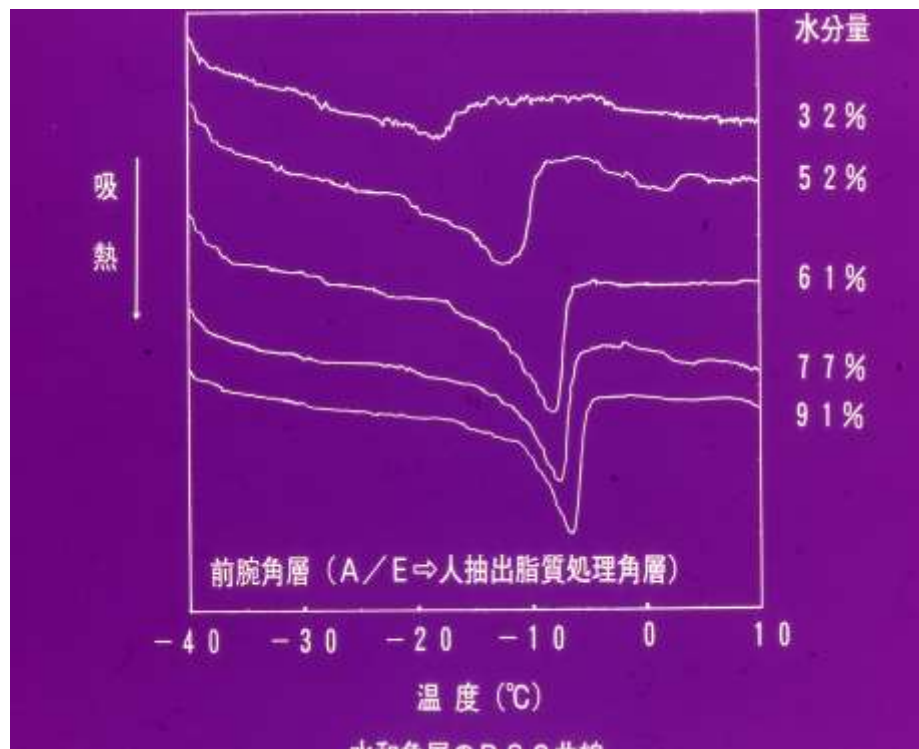


図-26：



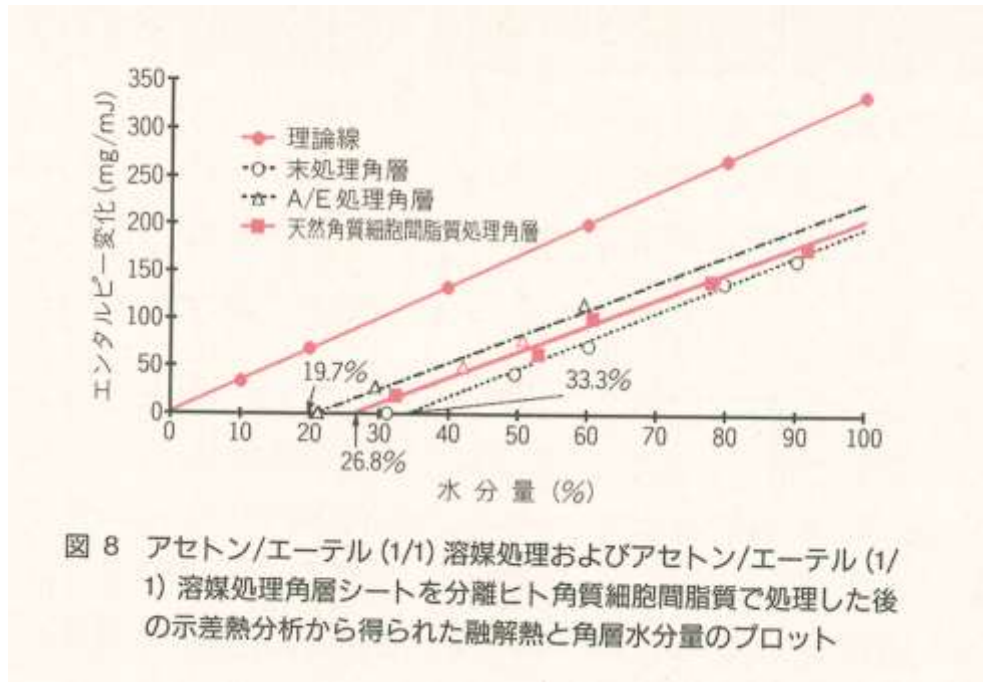
り角層内に含まれるアミノ酸を主体とする水溶性成分は結合水の保持には寄与しておらず、正常な角層の水分保持機能には関与していないことが明確となった。一方、脂質を溶出させた角層シートに人皮膚より分離した角質細胞間脂質を塗付した後、示差熱分析により結合水の挙動を観察すると【図-27】、水分量約32%

図-27：



まで吸熱ピークがほとんど観察されなくなり、融解エンタルピーと水分量のプロットより、アセトン/エーテル処理により20%までに減少した結合水量がもとのレベル近くまで回復していることが明らかとなった【図-28】。この際塗付した

図-28：



角質細胞間脂質が角層間で層状構造を新たに形成することも、電子顕微鏡解析により確認された【図-29】。これらの結果より角質細胞間脂質は約13%の結合

図-29：



水を角層中で保持し、残りの約20%はアミノ酸等の水溶性成分をとりはぶいても減少しないことから、角層内のケラチン分子に由来した結合水で、アミノ酸などの水溶性成分は角層のもつ結合水保持機能には関与せず、他のメカニズム【a-24】で角層の柔軟性に寄与しているものと考えられる。

1-6. 角層水分保持機能のまとめ：

皮膚表面にある角質層はさらに内部の生きている表皮細胞から水分が外に漏れでないようにある程度乾燥した組織であるが、この組織がさらに水分30%以下に乾燥するのを防ぐ機構として水分保持機能をゆうしている。この機構の主要因として脂質に含まれる不凍水である結合水量が乾燥状態でも蒸発しない水として重要であることが判明したが、またこの角層内に含まれる水の性質は、極度の低温（-40度程度）環境に角層が暴露されても、角層内の水は凍らないため、角層組織の凍結による破壊が起こらず、極度の低温環境でも顔を外に出しておける理由でもある。このように皮膚表面角層に存在する水の性質は人間がどんな劣悪な環境中でも活動ができる大きな要因の一つとなっているともいえよう。

2. ドライスキンの考え方から見た細胞間脂質とアミノ酸の役割

皮膚角層の保湿機能に関しては、角層を皮膚から取り除いて、乾燥した状態に放置しても、通常の高分子物質などに比べて、角層内に存在する水分が蒸発しにくく、乾燥に抵抗する性質を有することから、角層中には乾燥に抵抗して水分を保持する機能があることが知られていた【o-16】。この角層の保湿機能に関与する成分としては、今までにアミノ酸、尿素、ピロリドンカルボン酸、乳酸、細胞間脂質、ケラチン分子、低分子ペプチドなど、さまざまな成分が考えられておりこれらの成分やその保湿メカニズムは新しい保湿剤の設計をする際の、基本となっている。したがって、いかなるメカニズムで、これらの物質が角層内で保湿機能をになっているのかを正しく理解することは、皮膚角層本来の保湿機能が失われた際の正しいケアのありかたを考える意味でも重要である。本講ではドライスキンの定義とその発生メカニズムをさらに深める意味で、前述と少し重なる部分もあるが、少し異なった側面から角層成分、なかでも、細胞間脂質とアミノ酸のみに絞って、正常皮膚角層保湿機能への役割をもう一度整理し、これからの新しい保湿剤のあり方を展望してみたい。

2-1. ドライスキンとは

保湿剤を使用すべき肌として、いわゆるドライスキンという皮膚の状態があるが、この定義が近年少しあいまいになってきている。

すなわち、触って乾燥状態が正常な水分量の30%程度から20%程度へ（正常と乾燥状態での水分量の根拠については後に述べる）、10%程度低下するのは認知できない。触って認知できるのは皮膚表面の滑らかさ、けば立ち、すなわち角質細胞の硬さや柔軟性である。また、見ることによっても乾燥状態が30%から20%へ、10%程度低下するのを認知できない。見て認知できるのは皮膚表面の落屑、粉吹き、けば立ち、すなわち角質細胞の desquamation である。この様にドライスキンの状態を我々が実際に感じるのは、今盛んに言われている、水分量ではなく、むしろ角層の硬さや、落屑を代表とする角層の柔軟性である。つまりドライスキンとは乾燥肌というよりは、角質細胞（角層）が柔軟性を失い、硬くなり剥離している状態と言ったほうが正確である。昔はこのように考えるのが一般的であったが、近年皮膚表面の水分量を正確に測定できる機械が開発され【b-5, o-17】、この機械測定に頼るあまり、本来の臨床的な考え方が薄らいできているものと考えられる。保湿剤の使用者は決して自分の肌の水分を測って、その保湿剤の効果を感じているわけではないので、保湿効果をあまり機械で測った水分量だけで判断するのは、問題である。機械で水分量を測れるようになる前は、角層の柔軟性が重要との視点から、柔軟性が色々な形で測定されており、これは比較的皮膚の臨床的状态と一致していた。もちろんこの柔軟性にもっとも重要な寄与因子として、角層の水分含量が知られていた。しかし水分量が簡単に測定できるようになってからは、むしろ水分量が注目を浴びるようになってきており、一人歩きしてしまっているくらいさえある。しかし後で述べるが、角層の柔軟性 = 角層内水分含量 x 角層内NMF含量、であり、水分量が充分でも、角層の柔軟性は改善しない場合もあるので、水分量だけをもって、角層の状態がよい状態と定義するには問題がある。したがって、角層の保湿機能を考える場合、角層内の水分保持機能と角層柔軟化機能とに分けて、論議する必要がある。

2-2. 角層水分保持機能

● 皮脂膜の役割

アセトン・エーテルなどで皮膚表面に存在する皮脂を完全に取り去るのには、1分も処理すれば充分である【a-10】が、この処理のみでは角層の水分保持機能の有意な低下は起きてこない【a-10, b-8】。またより長い時間〈20—30分〉のアセトン・エーテル処理では、水分保持機能の有意な低下を伴った強い乾燥性落屑変化が生じる【a-11】が、この落屑性変化は除去された皮脂が数時間後に完全に戻っても回復せず、数日間持続し、この水分保持機能の低下状態への皮脂成分の塗布によっては、水分保持機能も乾燥性落屑変化も改善されない【a-11, 14, b-8】ことから、正常の水分保持機能に対しては皮脂の役割は大変弱いものと考えられる。しかし皮脂の角層表面の潤滑剤としての役割は重要で、乾燥してささくれ立った角質細胞を滑らかにして、かさつきを目立たなくする作用はもっている。

● 角質細胞間脂質の役割

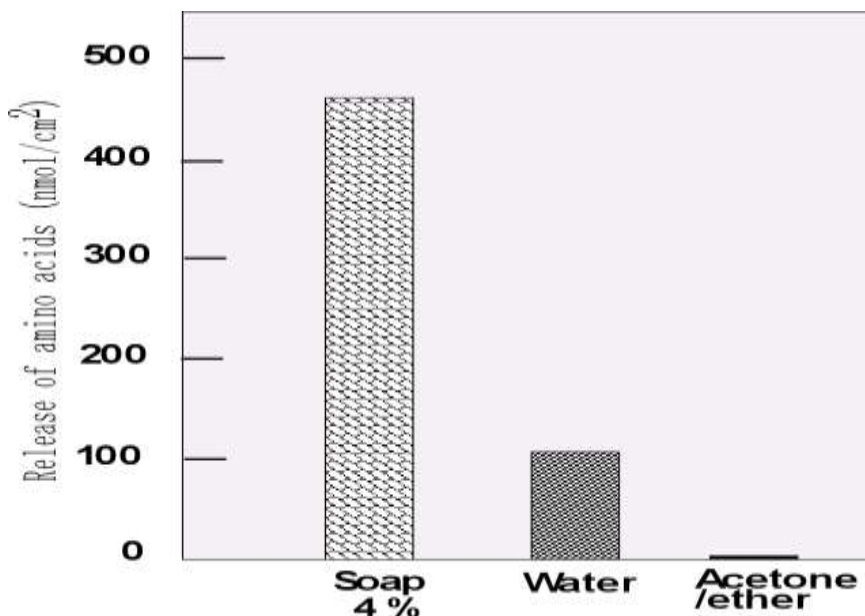
角層のいかなる成分が角層水分保持機能に中心的な役割を果たしているかを解

析した種々の実験のまとめを先に述べて、本機能の本体を述べてみたい。

実験：In vivo

1. アセトン・エーテル処理で NMF (アミノ酸等) を除去しないで脂質を除去することにより【図-30】、角層の水分低下と乾燥性変化を同時に誘導できる【a-10, b-8, d-11】。つまり、細胞間脂質が水分保持に参与していることを示唆している。また、

図-30：



2. 除去された脂質中、角層水分の低下や乾燥落屑性変化に比例しているのは、皮脂ではなく角層由来の脂質（細胞間脂質）で、なかでもセラミドの除去率との相関が高い【図-#】【a-10, d-21, e-2】。3. 細胞間脂質の除去により発生した水分低下と乾燥性変化は細胞間脂質の塗布により回復し、中でもセラミドによる回復がもっとも高い【図-#】【b-8, c-3, d-21, f-1】。つまり、セラミドが水分保持に重要な役割を果たしていることを示唆している。

実験：in vitro

1) 正常角層シート (ピンセットにて前腕皮膚より intact なまま約 10 層からなる角層を剥がしたもの) 中には示差熱分析で約 30% の結合水 (ここでは -40°C でも凍らない水、不凍水と定義) が存在し【図-#】角層シートの全水分含量はカールフィッシャー法により約 30% であるので、正常な角質中に存在する水分のほとんどが結合水 (不凍水) として存在している【a-17, d-16】。

2) アセトン・エーテル処理により細胞間脂質を完全に除去すると、結合水 (不凍水) は約 15% にまで低下する【図-#】。しかしさらに水処理によりアミノ酸を完全に除去しても、結合水量はさらに低下しない【図-#】【a-17, d-16】 (残りの 15% の結合水 (不凍水) はケラチン蛋白に結合していると考えられる)。このことは一部の総説【o-18】で述べられている、細胞間脂質が水分をほとんど抱えられないかのごとき根拠のない推察とは異なり、細胞間脂質が約

15%もの結合水（不凍水）を保持していることを示唆し、逆にアミノ酸は角層内の結合水（不凍水）の保持にはほとんど関与していないことを示唆している。

3) 細胞間脂質除去角層シートに細胞間脂質を塗布すると、結合水（不凍水）量は約30%まで回復する【図一#】【a-17, c-3, d-16】。これは、細胞間脂質が直接的に結合水（不凍水）の保持に関与していることを意味している。以上の事実を得た実験結果を図一1に示した。

ここで一部の総説【0-19】でアセトン・エーテル溶媒そのものが水を吸収するため水分含量が下がるとの意見があるが、今までの実験事実はアセトン・エーテルがケラチン繊維と強い相互作用をしている結合水（不凍水）にはまったく影響を与えずに、除去した脂質量に比例して、結合水（不凍水）量を減らし、回復した脂質量に応じて結合水（不凍水）量を回復させ、単に水を吸収しただけで起きてきている現象ではなく、細胞間脂質の溶出と回復とに関連して起きてきている現象であることを如実に示している。

さらに

4) 角質細胞間にはルテニウムテトラオキサイド染色の電子顕微鏡観察で脂質2重層が存在し、アセトン・エーテル処理角層シートでは脂質2重層は壊れたりまたは消失する【図一#】。

5) アセトン・エーテル処理角層に細胞間脂質を塗布すると、脂質2重層が出現し、結合水（不凍水）量も回復する【図一#】【a-17, e-2】。このことから結合水（不凍水）の保持には脂質2重層構造が重要であることが示唆される。一部の総説【0-19】にセラミドなどの物質が角層に入って脂質2重層など作ることなどない、との意見が述べられているが、合成セラミドが *in vivo* で角層に入り角層中に長く留まっていることは事実であり【a-23】、その結果水分保持機能が回復し、また合成セラミドを用いた実験で、その水分保持機能の回復は、*in vitro* でのラメラ構造形成能に良い相関を持っており【a-14】、さらには角層シートでの塗布による脂質2重層の回復が見られるなどの実験【a-17】から、確証の高い現象と考えることができる。

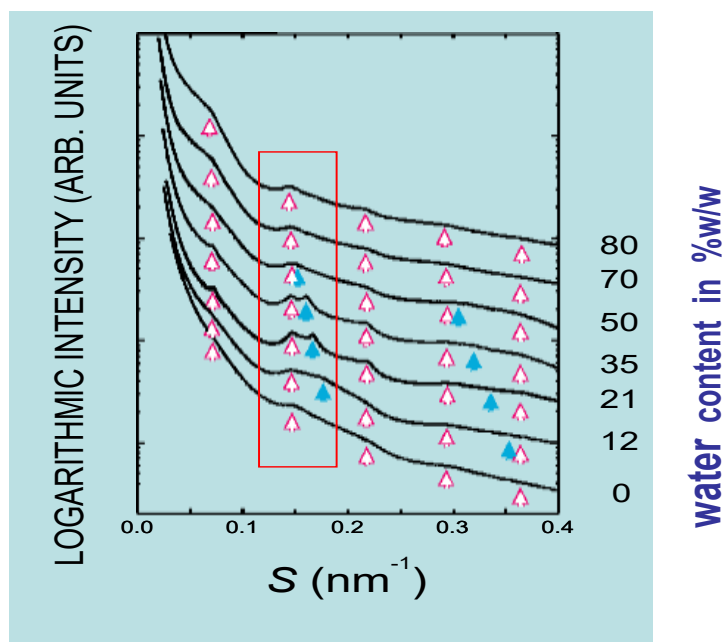
さらに、

6) 分離された細胞間脂質を水系に分散させると、偏向顕微鏡下でマルチコンセントリックラメラ構造が確認される【図一#】【a-14】。示差熱分析で測定すると、この構造の中に5%程度の結合水（不凍水）を保持している【図一#】【a-14】。つまり、細胞間脂質が形成する脂質2重層構造内に水分が結合水（不凍水）として保持されることが分かる。

以上述べたごとく、細胞間脂質により形成されたラメラ構造の中に結合水が存在することは、物理化学的に証明することは出来るが、ラメラ構造の中に実際に水からなる層が存在することをX線回折などで直接証明することは不可能である。しかしながら角層に過剰な水を添加し、膨潤角層の小角X線回折解析を行い水の増加に伴ってラメラ層の周期が変化するかどうか、すなわち水の層が

広がるかどうかを調べることによって間接的に水の層が存在することを証明することは可能である。この場合でも水分添加によってラメラ層の周期が変化しないからといって水の層が無いと結論できないことも明白である。最近八田らのグループがマウスの皮膚角層を用いて小角X線回折を行いその結果【図-3 1】を報告している【o-26】。それによれば、角層には 13 nm の周期をもつ長周期層

図-3 1 :



X-RAY DIFFRACTION INTENSITY PROFILES

と 6 nm の周期を持つ短周期層が存在し、水添加により角層を膨潤させることにより、水量に比例して 6 nm の周期が増加し、一方 13 nm の長周期層は変化が無いことから、少なくとも角層細胞間に存在する脂質のラメラ層には水からなる層が存在し、この層が水の添加により広がることにより、ラメラ層の周期を変化させている事実【図-3 2】が判明し、【図-3 3】のごとき脂質ラメラ

図-3 2 :

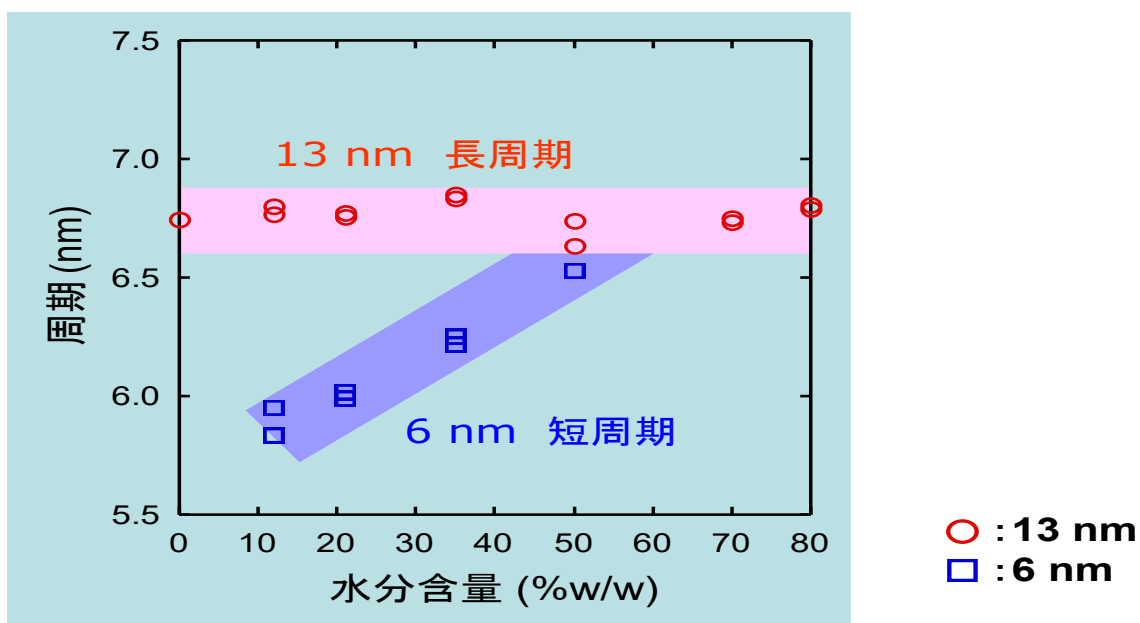
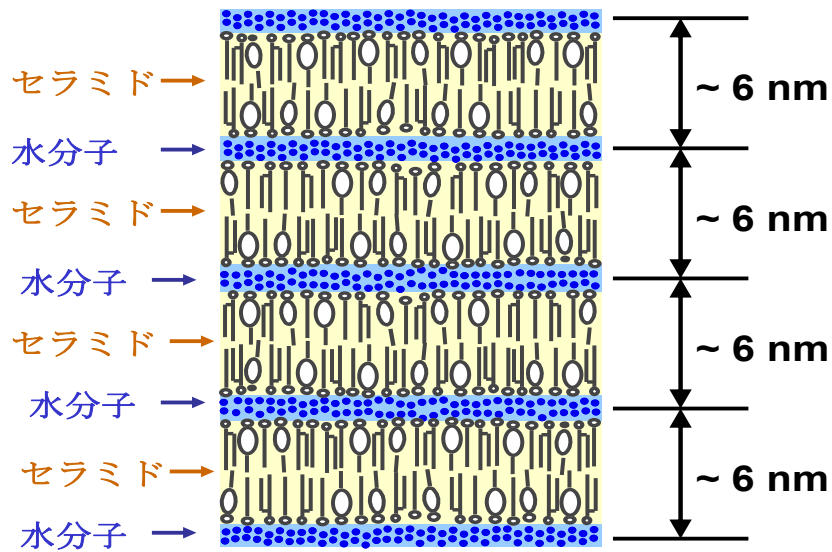


図-33 :



ラメラ短周期のモデル

層に挟まれた水層の存在を提示している。また最近 Pieper らは角層水和の速度論【図-34】の解析により【図-35】のごとき脂質ラメラ層内での結合水からなる水層の存在を提示している【0-27】。

図-34 :

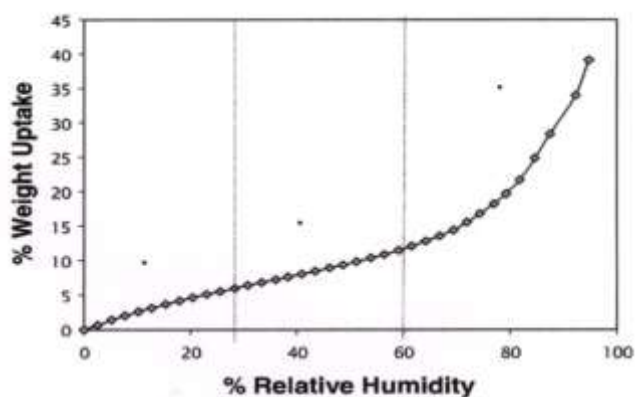
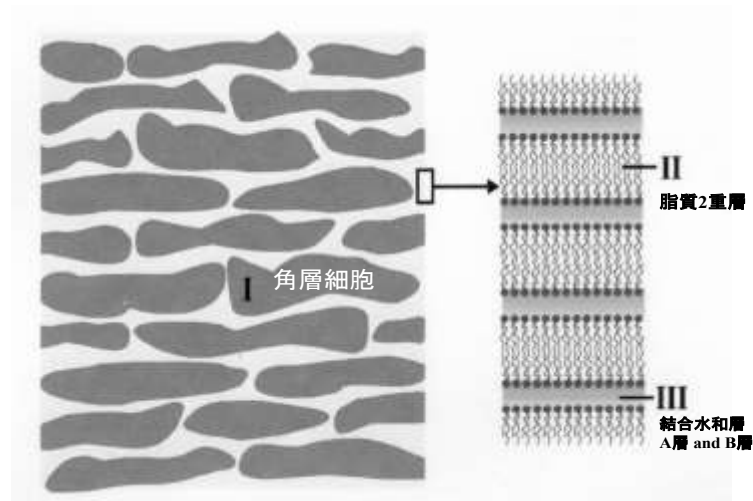


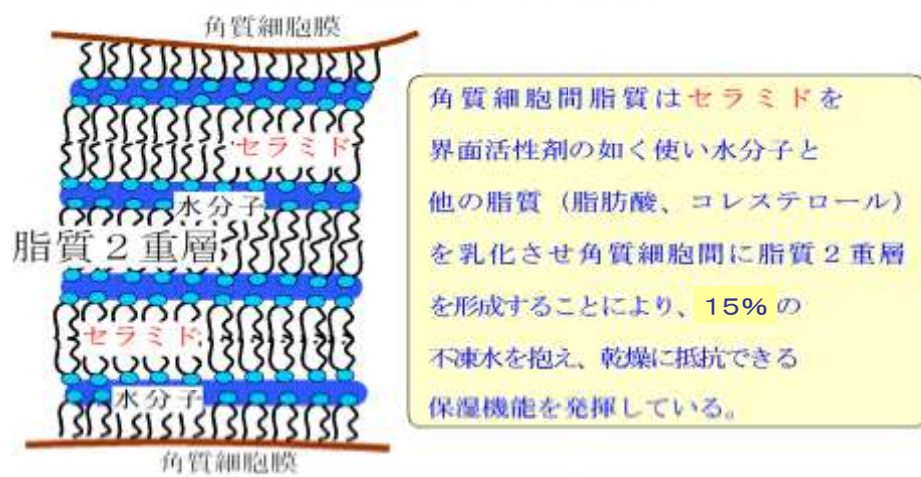
Fig. 2. Weight uptake of stratum corneum due to sorption of water as a function of relative humidity at a constant temperature of 23 °C. The labels correspond to formation of water phases A, B and C.

図-35:



以上の事実より、角層の水分保持機能のメカニズムは【図-36】に示した如く考えることができる。

図-36: 角層保湿機構は角質細胞間の脂質2重層に組み込まれた不凍水による



これらの事実が本当に、水分保持機能を発揮していることの証明になっているのかを述べてみたい。すなわち、角層成分のいずれかが水分保持機能に重要なのかは、大変興味をもたれる事柄であるが、一般にある特別な成分が角層の水分保持機能に本質的な働きをしていることを最終的に証明するためには、以下

の如き、5つのことが【図-37】証明される必要があると思われる。

図-37：

角層水分保持機能が何らかの成分によることを証明する5つの条件	細胞間脂質	NMF	皮脂
	セラミド	アミノ酸	スクアレン
1. 何らかの方法でこの成分をin vivoで除去したら水分保持機能が障害されるか？	◎	△	△
2. その成分を何らかの方法でin vivoで戻したら水分保持機能が回復するか？	◎	×	×
3. その成分はin vitroでも除去により水分保持機能が減少するか？	◎	×	×
4. その成分はin vitroでも戻すことにより水分保持機能を回復できるか？	◎	×	×
5. その成分が水分保持機能を発揮する合理的な理由が証明できるか？	◎	×	×

すなわち1) その成分が角層で減少ないしは角層から除去されたときに水分保持機能が減少するかどうか。2) その除去された成分をそのまま(エマルジョンなどほかに影響する成分を加えないで)角層に戻すことにより水分保持機能が回復するかどうか。3) その成分がin vitroでも低湿度条件で水分保持機能を発揮できるかどうか。である。この際大事なことは水分保持機能と同時に皮膚の乾燥落屑状態を観察し、水分量の変化が乾燥落屑性変化の誘導と改善にリンクしていることを確認しておく必要がある。この3つの条件を満たす角層成分は、現在までにセラミドを主体とする角質細胞間脂質のみである。ちなみにアミノ酸などの役割については、水溶性成分のみを角層から除去する方法が確立されていないので、1)の証明はまだ完全とはいえず、さらに2)及び3)の証明もまだなされておらず、ほとんど不明といわざるおえない。後に詳しく述べるが、逆にSDSなどの界面活性剤で皮膚を洗浄することにより細胞間脂質のみならずアミノ酸などの水溶性物質も溶出し、角層の水分保持機能も低下し、皮膚の乾燥落屑性変化が生じるが、この状態に細胞間脂質のみを塗布してやることにより、水分保持機能及び乾燥落屑性変化も、ほぼ洗浄以前のレベル近くにまで回復させることができる事実【a-13】は、アミノ酸の正常角層における水分保持機能への関与が弱いことを示唆している。またアニオン活性剤による肌荒れへのモノグリセライド添加による肌荒れ緩和メカニズムの研究において、アニオン活性剤による洗浄中に溶出するセラミドとアミノ酸のモノグリセライドによる溶出抑制効果は、アミノ酸の溶出は有意には抑制しないが、セラミドの溶出を有意に抑制することにより角層の水分保持機能の低下を防ぎ、肌荒れを軽減する【b-15】。すなわちアミノ酸の溶出を低下させなくともセラミドの溶出を低下させることにより、明瞭な肌荒れ抑制効果が得られることから、洗浄による角層の水分保持機能の低下は主としてセラミドなどの細胞間脂質が重要であることを示唆している。最近中川らは1, 2)の条件に見合っ角層の水和に関与している成分はアミノ酸ではなく乳酸カリウムであることを報告している【o-28】。ただこのNMF抽出の条件は5分間の水での抽出であり、

皮膚の乾燥落屑性変化はまったく誘導されない程度の角層の水和減少であるので、ここで論議している生来の角層水分保持機能というよりは角層の湿潤機構とでも言うべきと考えられる。

● 角層中のアミノ酸を主体とする水溶性物質の役割

さらに、角層の保湿機能メカニズムを考える上でもっとも重要なことは、健全な角層には約30%水分が存在し（カールフィッシャー法による測定）、さらにこの水の状態を示差熱分析により解析した結果、健全状態では約30%の結合水（不凍水）が存在し、それ以上の水分がある場合には自由水として存在することが判明している【a-17, f-8】。すなわち正常での角層の保湿機能は約30%濃度で存在する結合水がその役目をしているということである。この30%の結合水（不凍水）が存在すれば、後で述べる角層の柔軟性維持には十分な水分量で、肌荒れなどの症状は起きてこないとされている。したがって角層のどの成分が、正常レベルでの保湿機能を発揮しているかということ、証明する場合には、その成分が試験管内で水分を結合水（不凍水）として保持できることを証明する必要がある。さらに先ほどの30%あまりの結合水（不凍水）中、角層ケラチン蛋白自身で約15%ほどの結合水（不凍水）を抱える能力があるので、残りの約15%の結合水（不凍水）を角層の他の成分で抱える必要があることから、少なくとも、15%程度の水を結合水（不凍水）として抱える能力が証明される必要がある。この点では、アミノ酸は少なくとも角層の正常レベルで存在する量では、これらの結合水（不凍水）を抱える能力はまったくないので【a-17, f-9】、正常レベルでかつ低湿度で発揮されている天然保湿機能には、まったく関与していないことになる。つまり、角層に備わっている天然保湿能の成分を特定することと、何らかの保湿剤を角層に塗布したら水分計などで計測した水分量が上昇したということとはまったく関係がないことである。

● 角層水分保持機能の評価法

角層成分の水分保持機能への役割の証明をする実験でも、成分の塗布の条件や水分保持機能の測定の条件なども厳密にコントロールされなければならない。すなわち、成分のみを含まないコントロールを設定することはもちろんであるが、ワセリンなどのエモリエント効果などを有する油との混合は避けなければならないし、水分保持機能の測定もなるべく角層中の機能を測定する意味からも、軽く表面を洗浄し、角層表面に成分が必要以上に残留していない条件を選ぶべきであるし、数時間の間隔を置いて、表面の水分が外界と平衡状態になってから測定を行うことが必要である。また、乾燥性皮膚疾患との関連で見ると、冬場に現実に起こる低湿度状態（10-20%で少なくとも30%以下）及び低温条件（汗をかかない20度以下）で測定することが必要である。湿度がこれ以上高い条件で、水分計によりコンダクタンスを測定するとどうしても純粹の水分保持機能ではなく、表面に存在する成分による hygroscopic な性質も含めて捕らえてしまい、真の意味での正常の保湿機能の程度を見誤る可能性もある。さらに重要なことはコンダクタンスは水の量を直接測定しているわけではなく、電気抵抗値の逆数によって間接的に水の量を電解質として測定して

いる。すなわちアミノ酸などのイオン化できる有機物質や無機電解質が存在すると実際以上に水分が多く存在する傾向のデータが出てくるので、水分量とイオン化物質の量を比較する場合注意が必要である。

● 人工的肌荒れにおける検証

角層の水分保持機能にはセラミドの層状構造形成による結合水の層状ラメラへの取り込みが重要と考えられるので、セラミドの乾燥皮膚への関与の形態に関しては厳密な解釈が要求される。たとえば、セラミド量の減少は直接的に角層の水分保持機能の低下に結びつくが、角層中のセラミド総量には変化がなくとも、セラミドの角層中での局在や、その角質細胞間での層状構造の変性が生じると、その水分保持機能は低下すると予想される。たとえば尋常性乾癬などでは、その角化速度の亢進のため、顆粒層から角層へ変化する際、脂質二重層の前駆体である層板顆粒の細胞外への分泌が間に合わなくなり、その結果角質細胞に変化した後も、細胞内に層板顆粒がとどまってしまう、層板顆粒内に存在する脂質酵素の働きで生成したセラミドも細胞内にとどまり、角質細胞間で層状構造を取ることができず、角層の水分保持機能は低下してしまう。このような場合は角層全体のセラミド量は減少しなくても、角層の水分保持機能は著しく低下する。すなわち炎症や刺激などで急激な角化の亢進が生じる際は、セラミドの量は減少せずむしろ増加しても、結合水〈不凍水〉を抱え込むための層状構造を細胞間でうまく取れなければ、水分保持機能は低下する場合もある。種々の論文【o-20】や総説【o-19】で、角層を9回ストリッピングや5% SLSの4時間閉塞パッチテスト後1週間後の角層中のセラミドが減少していないのに、水分量が低下したことから（この低下もかなり弱いものであり、乾燥落屑状態はほとんど観察されていないと考えられるし、SLSの場合はデータすらでない。）、水分保持機能にセラミドが関与していないことを述べた記述を時々見かけるが、これは、角化亢進による上述した如き現象が起きているためであり、セラミドの水分保持メカニズムを良く理解していないことからくる、誤解と思われる。つまり健常状態での角質層の水分保持メカニズムを解析する目的で、実際にはあまり乾燥モデルとしては現実的ではなく、かつ角化亢進や炎症を起こすようなストリッピングやアニオン活性剤の洗浄ではなく閉塞貼付による皮膚角層の乾燥化に伴って生じる変化を解析すること自体、水分保持メカニズムの解明のための手法としてはあまり適さない。極力角化亢進やバリアー機能破壊などを起こさない乾燥化条件を選んで解析すべきと考えられる。（我々のアセトン・エーテル処理やアニオン活性剤の洗浄処理では水分保持機能は有意に低下するが、バリアー機能は損傷を受けていない条件であり【b-8, a-13】、これは一般には角層上層でインピーダンスメーターで測定される水分保持機能と、角層全体での水分透過性をエバポリメーターで測定されるバリアー機能の違いにある。もちろんたとえば乾癬などで病的な皮膚での乾燥化がなぜ生じるのかを解析する場合は、乾癬皮膚と同様な角化亢進状態を作り上げるために行う場合は是認されようが、病的皮膚の場合はむしろ病的皮膚そのものを試料として使ったほうが正確な解析が出来るので、このようなモデルを使う必要もない。また紫外線による乾燥化メカニズムなどでは紫外線を実際

に照射する必要がある、そこから得られる事実は紫外線による乾燥化機構ということになる。このような現実離れた角化亢進モデルではアミノ酸等の最終代謝産物は前駆物質である蛋白やポリペプチドの分解が角化亢進のため間に合わなくなり、少なくなるのは当たり前で、このことはたとえば核酸の分解についても同様で、核酸の分解産物も角化亢進した状態では減少してくる。すなわち角化により分解され生成するものは、かなりの物質が角化亢進により減少することは当たり前の結果で、この結果水分含量が低下したことと直接関連づけするのは無理がある。実際にアミノ酸と同様に保湿成分とされているピロリドンカルボン酸などは〈アミノ酸の種類により程度は異なるが同様と予想されるが〉湿度が高い状態では水分を吸収する能力(これは hygroscopicity で結合水を抱えているわけではない)がある程度あるが、低湿度になると逆に水分を放出する性質があるほどである。すなわち、角化が亢進した状態を作ったり、またそのような病的症状において、アミノ酸の量は減少していることから、アミノ酸が水分保持に重要との見解を述べているが、なぜアミノ酸が減少すると水分保持機能が低下するのかの説明はまったくなく、現象論を述べているに過ぎない感は否めない。つまり結合水〈不凍水〉のことを無視したこの論理に従えば、何か水溶性成分が低下していれば何でもよいわけで、アミノ酸以外にも減少している水溶性成分がないかどうか〈たとえば核酸分解物など〉の検証も必要と考えられる。さらにはアミノ酸を塗って〈クリームなどにいれた実験ではなく、他に水分保持に影響する物質との組み合わせではなく、アミノ酸による効果と見ることの出来る系で〉その水分含量が定常的に長時間増加することはまだ証明されていない。また老人性乾皮症でその重症度に応じてアミノ酸が減少しているが、尿素の塗布により皮診は改善し水分も増加しているのに、角層のアミノ酸量にはまったく変化のない事実【0-22】や、ビタミンA酸の日本人皮膚への4ヶ月の塗布により、皮膚表面の水分含量は有意に増加しているのに、角層のアミノ酸含量はまったく変化が認められない事実【0-23】など、明らかに角化への影響がある薬剤による水分量の変化とアミノ酸量の変化が平行しないわけで、アミノ酸量と水分含量の関連だけをとっても、両者の関連のさらなる慎重な検討が必要と思われる。すなわちこの項の最初にのべた。5つの条件への適応をまとめてみると【図-37】の如くまとめることができ、アミノ酸に比べてのセラミドの水分保持機能への中心的な役割が明瞭になる。

2-3. NMF (アミノ酸、尿素、塩分) の本当の役割

2-3-1. 角層柔軟化機構

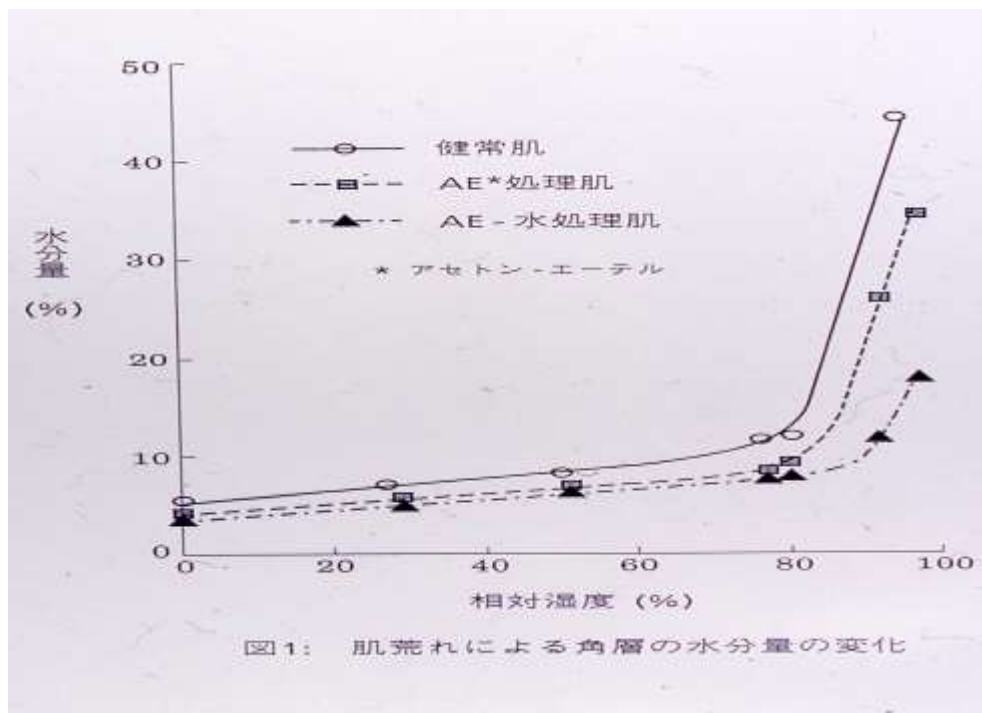
● アミノ酸の役割

保湿剤を考える場合より重要なのは、保湿剤を使用して、以前に述べたドライスキンが本当に改善されるかどうかである。このドライスキンが改善されるためには、最終的に角層の硬さが和らぎ、落屑なども消失すること、すなわち角層の柔軟性が向上する必要がある。では角層の柔軟性はどのような因子で決められているのかを次に述べてみたい。

● In vivo でのアミノ酸機能の検証

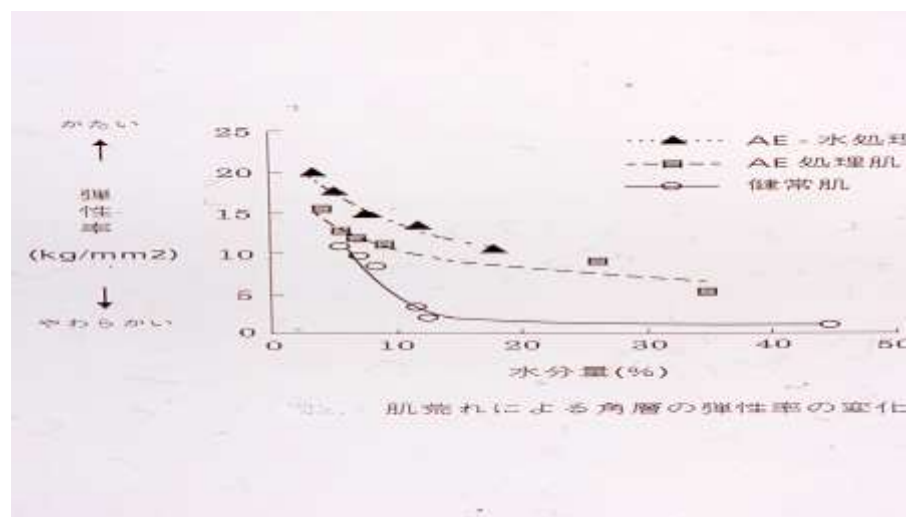
先ほど述べた如く、in vivo で皮膚表面をアセトン・エーテルで数十分処理することにより、角質細胞間脂質が溶出し、角層水分保持機能が低下するが、この細胞間脂質を溶出させた皮膚表面をさらに十分な水処理することにより、アミノ酸を主体とする水溶性成分いわゆるNMFを完全に角層上層より省くことができる。このときの皮膚表面の水分量が、アセトン・エーテル処理で細胞間脂質を除去した時よりもさらに減少するためには環境湿度が80%以上必要となる【図-38】（環境湿度80%以上ではアミノ酸除去による水分量の低下が

図-38：



認められるが、これはアミノ酸の潮湿性の影響を示している)。しかしながら、皮膚表面の様子はかなり変化し、皮膚の乾燥粗造化および弾力の低【図-39】

図-39：



下が促進し、肌荒れが強くなったように感じられる。これと同じ処理を角層シートで行い、角層の柔軟性を種々の湿度で測定すると、湿度がそれほど低い状態においては、細胞間脂質を除去しただけでは、角層への水分は外から強制的に補われるので（30%の水分量で測定）、それほど弾力性の低下は認められないが、更なる水処理によりアミノ酸を主体とする水溶性成分を除去した角層では、30%水分量で測定しても弾力性（レオバイブロン【図-40】で測定）が顕著に低下することがわかっている【図-41】【a-24, b-12】。この弾力性の低下は湿度が充分高く、水分が外から補われる状態においても認められる。すなわち、角層中のアミノ酸を主体とする水溶性成分は結合水（不凍水）として

図-40：

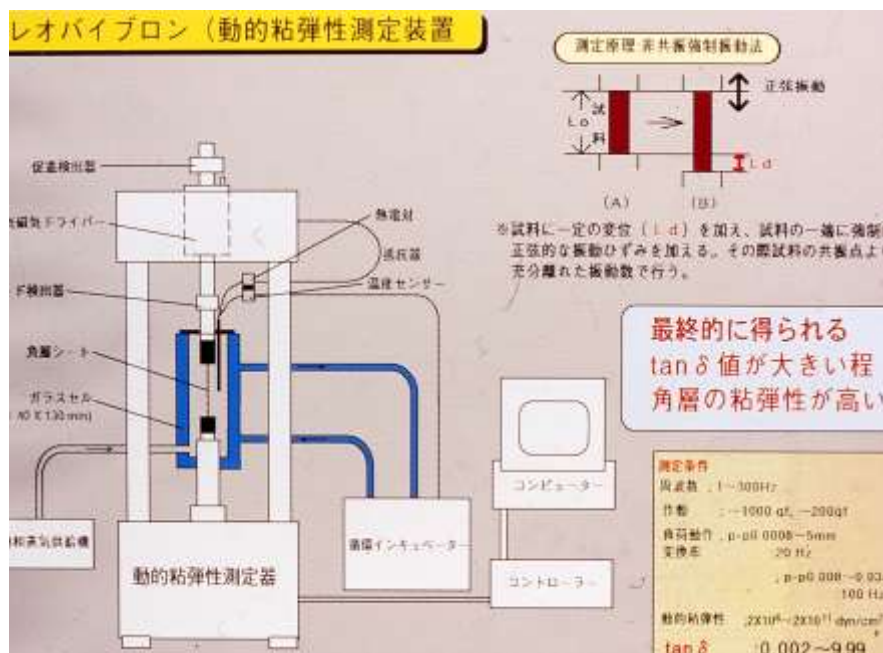
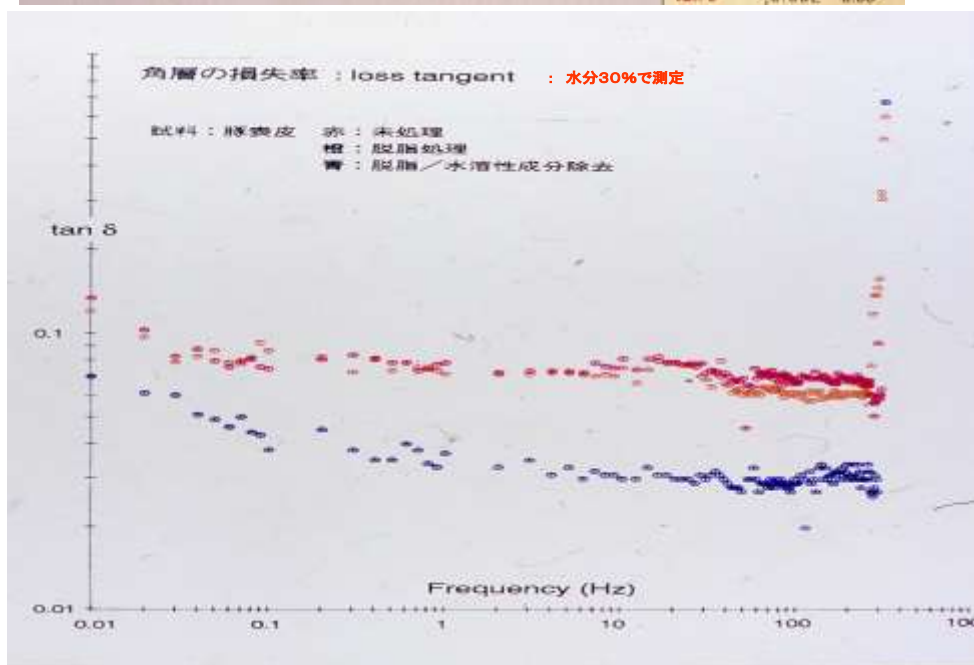


図-41：



水分を保持することは出来ないが、角層の柔軟性を維持する上で重要な役割を担っていることが示唆された。

● In vitro でのアミノ酸機能の検証

このアミノ酸の柔軟性機構をさらに確認する目的で、以下の如き実験を行った。柔軟性の測定方法は、数多く存在するが、今回は我々がよく用いている角層の動的粘弾性を測定するレオバイブロンと、柔軟性に分子レベルで関与する角層ケラチン分子の分子運動性を見ることの出来る ^{13}C -NMRにて解析した。角層の柔軟性に角層内の水分量が決定的な役割を果たしていることは周知の事実であり、たとえば、角層シートをアセトン・エーテルで処理し、先ほどの細胞間脂質を除去しそのまま低湿度に放置した角層では、レオバイブロンで測定した柔軟性は顕著に低下する【a-24, b-12】。同時に ^{13}C -NMRのスペクトラム【図-4 3】

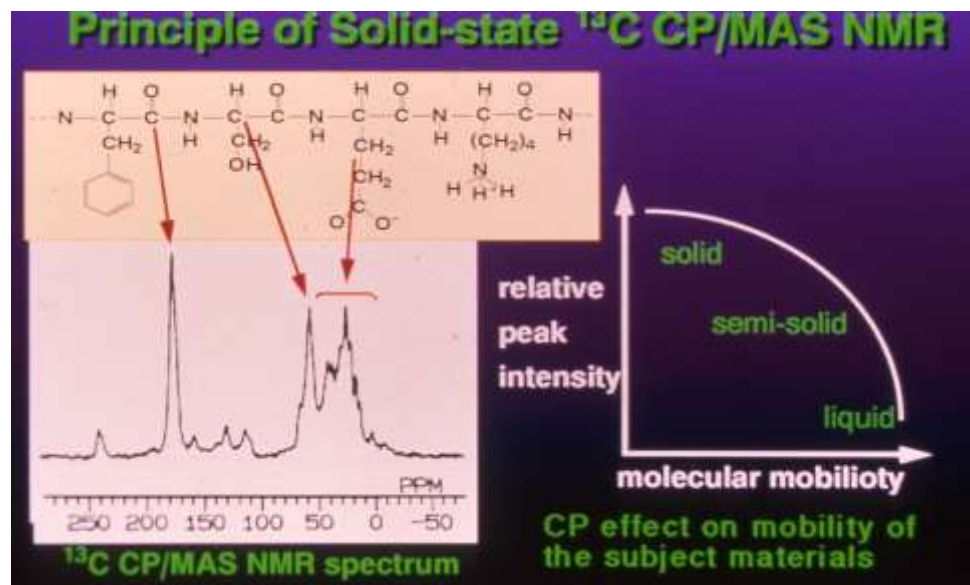
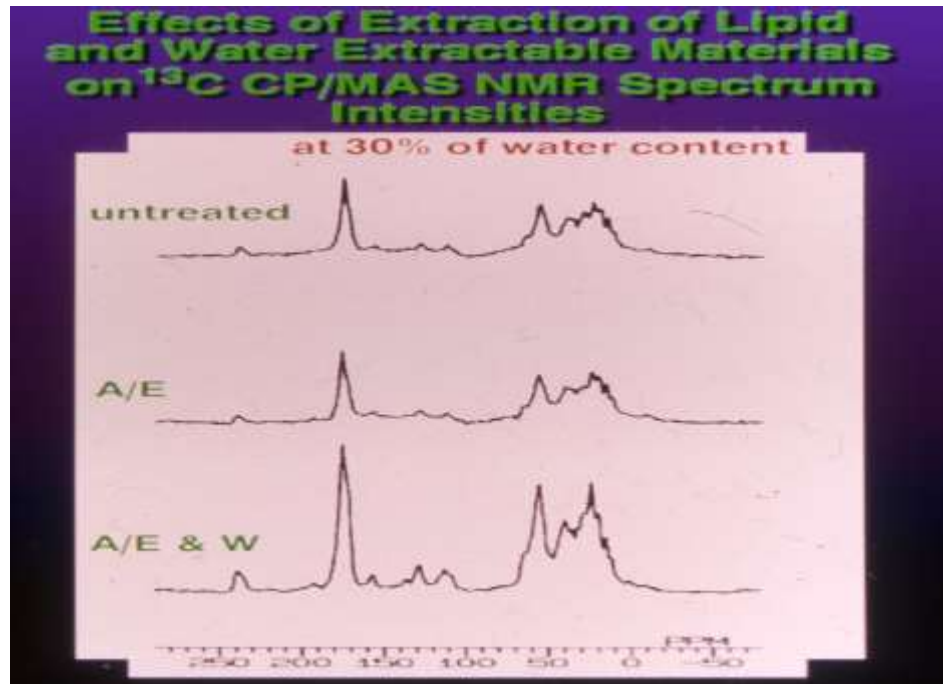


図-4 2 :

をみても、角層の水分含量を低下させるにつれて角層ケラチン分子のカルボニル基やCアルファーそしてアリファチックカーボンに帰属するピーク強度が増加し、ケラチンの分子運動性が低下し、角層が硬くなっていることが容易に理解できる【図-4 3】【a-24, b-12】。また大変興味深いことに、この角層の柔軟性に与え

図-43 :



る水分の影響は少なくとも30%までは含有水分量の増加に比例して、 ^{13}C -NMRで解析した角層の柔軟性〈この場合ケラチン分子の運動性〉も増加するが、それ以上に水分含有量が増えても、柔軟性はさらに増加することはない【図-44, 45】【a-24, b-12】ことである。すなわち、正常角層の水分保持機能

図-44 :

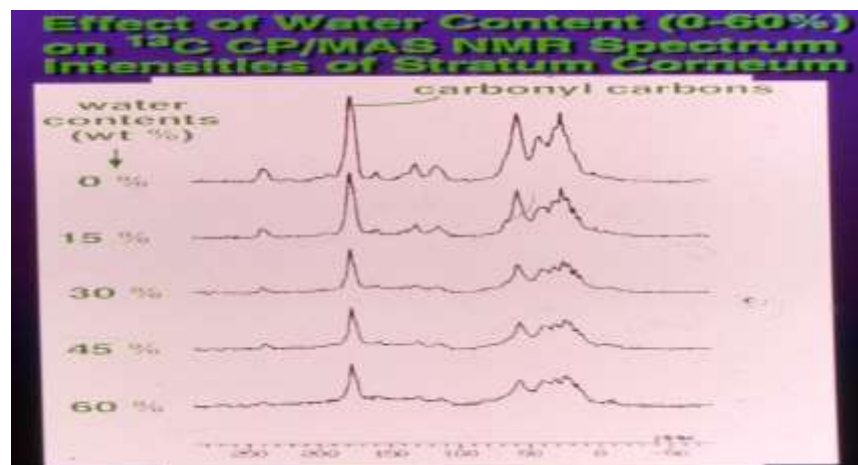
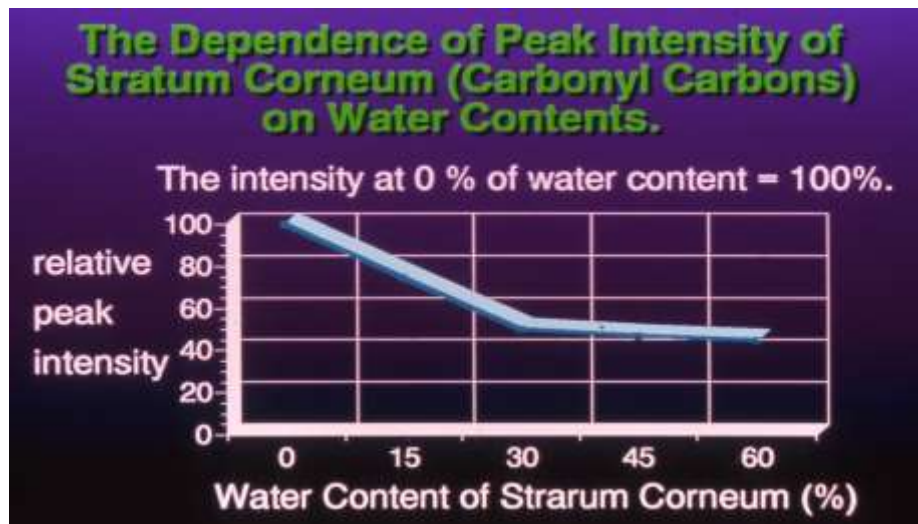
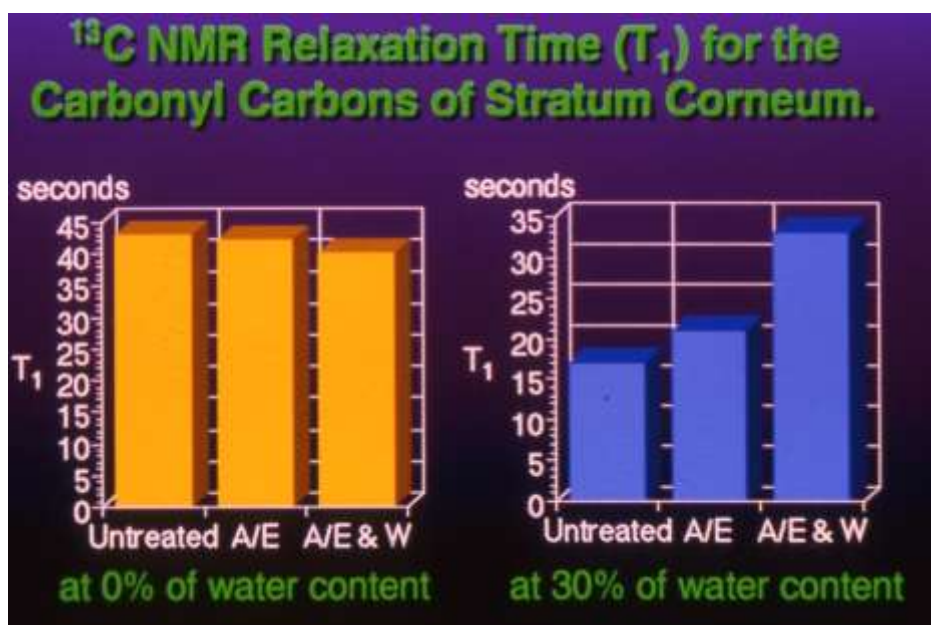


図-45 :



により、結合水（不凍水）として保持している約30%の水分含量は、正常では最大の柔軟性を付与するのに十分な水分量であるということである。さて、先ほどの細胞間脂質を除去した角層より、さらに水処理により、アミノ酸を主体とする水溶性成分を除去すると、レオバイプロンで測定（約30%湿度条件）した柔軟性の指標であるタンジェントデルターが顕著に低下し【図-41】、柔軟性が著しく低下し、 ^{13}C -NMRでもほぼ一致してケラチン分子運動性の顕著な低下を示し【図-46】【a-24, b-12】、確かにアミノ酸の完全な除去は角

図-46 :



層の柔軟性を著しく低下させることが確認され、アミノ酸などの低分子水溶性成分は、水分保持機能よりは角層柔軟機能を有していることが明らかである。さらにこの機能の確認のため、アミノ酸などの水溶性成分を、細胞間脂質除去の後、水処理により除去し、柔軟性が低下した角層に1%濃度のアミノ酸を添加すると酸性アミノ酸以外のほとんどのアミノ酸は、この低下した柔軟性を回復することが出来ることもレオバイブロンによる解析〈30%湿度条件〉で判明した【[図-47, 48](#)】[【a-24, b-12】](#)。この柔軟性回復効果はアミノ酸以外の溶出水

図-47 :

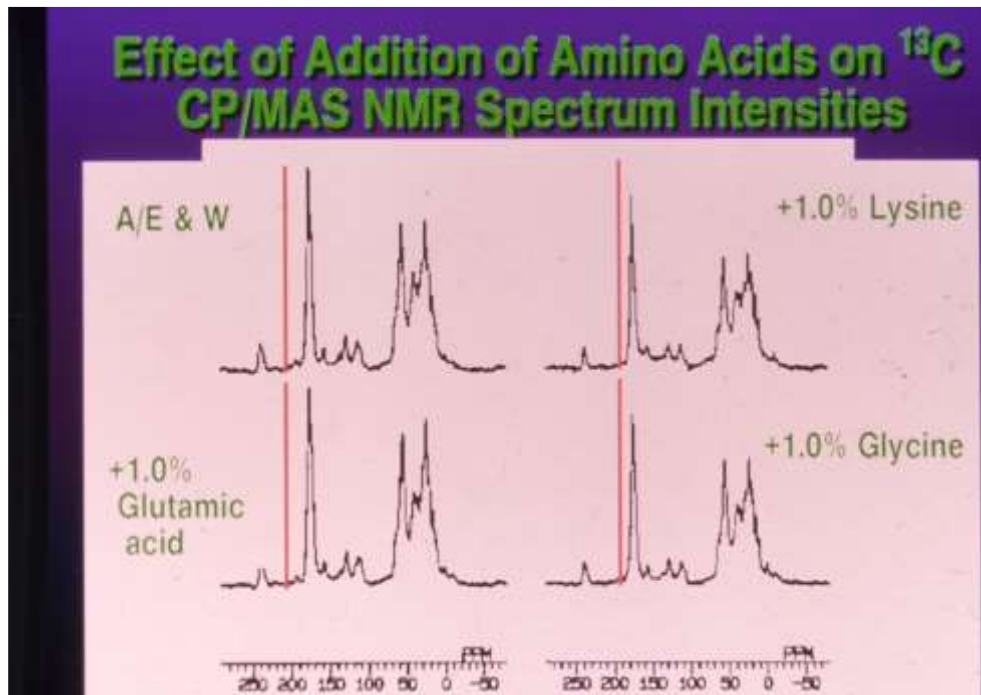
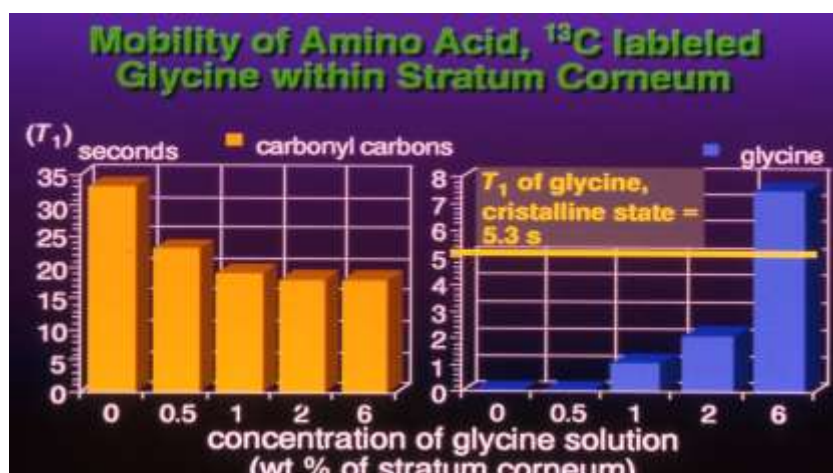


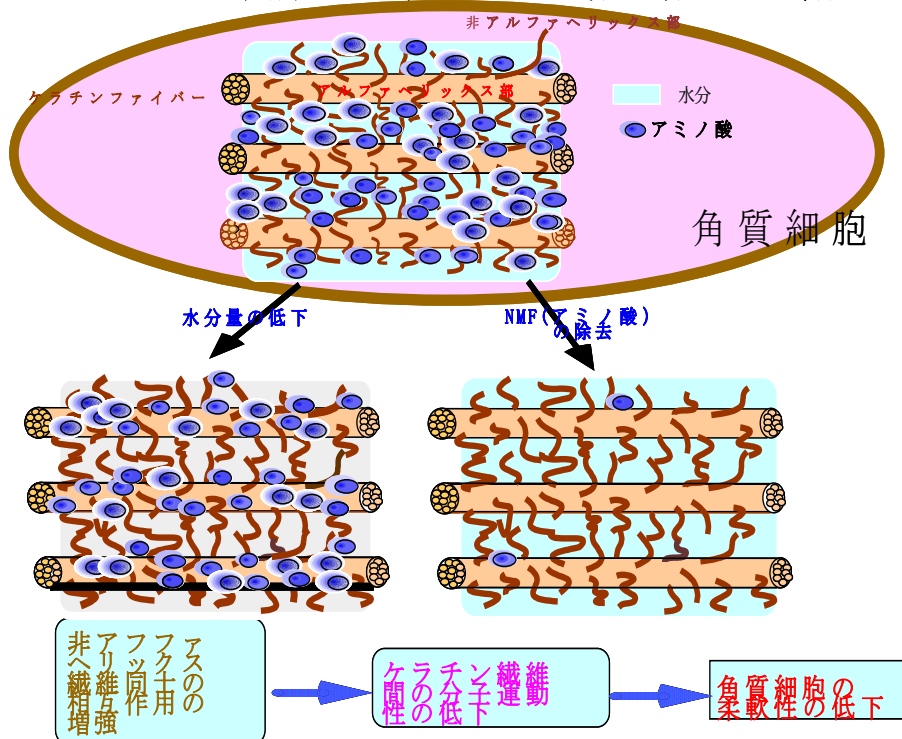
図-48 :



溶性成分である尿素などでも同様な濃度で認められた [【a-24, b-12】](#)。この現象は¹³C-NMR解析〈30%水分含量条件〉でも、アミノ酸添加によりケラチ

ンの分子運動性は増加し、アミノ酸の除去によりケラチンの分子運動性は低下し、アミノ酸を戻してやることにより、ケラチン分子運動性が回復し²²⁾、細胞間脂質の水分保持機能の証明条件で述べた証明の3条件を満たす結果であり【図-49】で示したごときメカニズムで角層柔軟性が決定されていることを示している。

図-49： NMF（アミノ酸や尿素）の柔軟化機構
¹³C-個体核磁気共鳴によるケラチン分子の分子運動性解析



以上の結果を簡単にまとめてみると【図-50】の如くなる。

図-50： 角層細胞内に存在するNMFの機能

- NMF（アミノ酸）を角層から除去しても結合水（不凍水）は低下しない。
- NMF（アミノ酸）を角層から除去すると角層の柔軟性（ケラチンの分子運動性）が低下する。
- NMF（アミノ酸）をNMF除去角層に添加すると角層の柔軟性（ケラチンの分子運動性）が回復する。
- NMFは十分に存在しても水分が低下すると角層の柔軟性（ケラチンの分子運動性）は低下する。

NMFの機能は水分の存在下
 角質ケラチン繊維の柔軟性に寄与

角質細胞内に存在するNMFの機能は：

- 1) NMF (アミノ酸) を角層から除去すると角層の柔軟性〈ケラチンの分子運動性〉が低下する。
- 2) NMF (アミノ酸) をNMF除去角層に添加すると角層の柔軟性〈ケラチンの分子運動性〉が回復する。
- 3) NMF (アミノ酸) は十分に存在しても水分が低下すると角層の柔軟性〈ケラチンの分子運動性〉は低下する。

したがって NMFの機能は【図-50】で示した如きメカニズムで水分の存在下角質ケラチン繊維の柔軟性に寄与する。一方水の保持供給は細胞間脂質のラメラ構造に抱えられた結合水〈不凍水〉により【図-36】でしめした如きメカニズムでおこなわれ、それは約15%程度であり、残りの約15%はアミノ酸なども介してケラチン繊維に強く相互作用する結合水であり、これらの水分量で柔軟性はプラトーに達し、これ以上水分が存在しても柔軟性がさらに向上することはない。

● 角質細胞間脂質の役割

このようにアミノ酸を主体とする角層内水溶性成分は低湿度での水分保持機能よりも、角層の柔軟性により寄与していることが判明したが、このアミノ酸が充分存在しても、角層中の水分が30%以下に減少すれば、柔軟性は確実に減少する。この30%の水分を乾燥状態に抵抗して保持するのが角質細胞間脂質の役割といえる。

2-3-2. 乾燥性皮膚疾患でのアミノ酸及び細胞間脂質の役割の検証

今まで述べてきた如く、ドライスキンのメカニズム及びそのスキンケアの方法を考えるにあたっては、ドライスキンの本質である角層の柔軟性の低下及び柔軟性の改善がそれぞれ重要と考えられるが、一般に乾燥性皮膚疾患は普通湿度の高い春から夏にかけてはほとんど認められないことは周知の事実である。もし、これらの乾燥性皮膚疾患の原因がアミノ酸等の水溶性成分の減少によるとしたならば、水溶性成分の減少に基く、角層柔軟性の低下は水分が充分存在しても生じる現象であるので、湿度がそれほど下がらない夏場でも、肌がざらつくなどの兆候が認められてもよさそうであるが、このようなことは余り耳にしたことがない。一方細胞間脂質であるセラミドなどの低下が原因であるとしたら、この水分保持機能は水分量、約15%程度のものであるので、特に湿度が低下し乾燥する冬場にはじめて、セラミドなどの低下による影響が顕在化する。アミノ酸の保湿機能への関与については種々の論文で述べられている如く、冬場の乾燥環境で発症するアトピックドライスキンや老人性乾皮症の角層でのアミノ酸の低下が報告されているが、先ほど述べたアミノ酸の角層ケラチン蛋

白への柔軟化効果は正常レベルで存在するアミノ酸の半分以上の消失によっても、有意には低下しない。すなわち1%程度の濃度で柔軟化効果は正常レベルまで回復させるのに充分であり【f-7】、角層中には約13%のNMFが存在しているので【d-21】、その消失に伴う角層柔軟性の低下にはアミノ酸のほぼ完全な消失が起こらない限り、少しでも残留しておれば、柔軟性の発揮には充分で、少量のアミノ酸の角層からの除去は、柔軟性の減少にはほとんど関与せず、セラミドのわずかな減少による、水分の保持機能の方が乾燥環境では、はるかにその減少による影響が大きいことが判明している。老人性乾皮症ではアミノ酸が減少するのと同様に角層中のセラミド量も減少している【a-20】。また老人性乾皮症の高発部位である下肢は、高齢者でなくとも、その角層中のセラミド量も他の部位に比してもっとも少ない部位で【a-21】、角層中のセラミド量は加齢とともに激減する【a-16】ことから、老人では、下肢はもっとも乾燥しやすい部位といえる。アミノ酸は重症度に応じてその減少が顕著になるが、セラミドは高年齢の健常者では若者に比べその量が半減し、高齢者の乾燥に対する抵抗性の低下の大きな原因になっているが、老人性乾皮症角層では高年齢の健常者よりわずかに増加し（しかし若者よりはまだ有意に低い）、さらにAsteatotic Dermatitisではさらに増加することが知られている【a-20】。これは皮膚科を訪れる老人性乾皮症患者はすでに、その皮膚の痒さのため、皮膚を搔破しており、すでに角化の亢進が認められ、Asteatotic Dermatitisではすでに皮膚炎の状態であるので、上述した如く、セラミドの産生が増えても、正常な細胞間への分泌と再配列によるラメラ構造の構築がうまく行かないため、セラミドの水分保持機能が十分に発揮されないため、水分保持機能は低下したままと予想される。一方、アトピー性皮膚炎患者では無疹部のみならず皮疹部の角層中のセラミドは有意に減少しており【a-16】、一方、アミノ酸も減少していることが報告されている【o-24】。アトピー性皮膚炎患者の皮疹部は皮膚炎が生じており、角化も亢進して、脂質代謝は全般的に増加し、Asteatotic Dermatitisの如くセラミドが増加しても不思議ではないが、これはアトピー性皮膚炎患者表皮に発現が増強しているスフィンゴミエリンデアシラーゼという酵素の活性のため、スフィンゴミエリンからセラミドへの変換が抑制されるためであることが判明している【c-2, d-20, 24, 28】。一方加齢により角層中のセラミドが減少するメカニズムは角層中や表皮に存在するセラミド分解酵素であるセラミダーゼ活性が亢進するためであることが示唆されている【a-22, 24, f-4】。

2-3-3. アトピー性皮膚炎患者への臨床効果からの考察

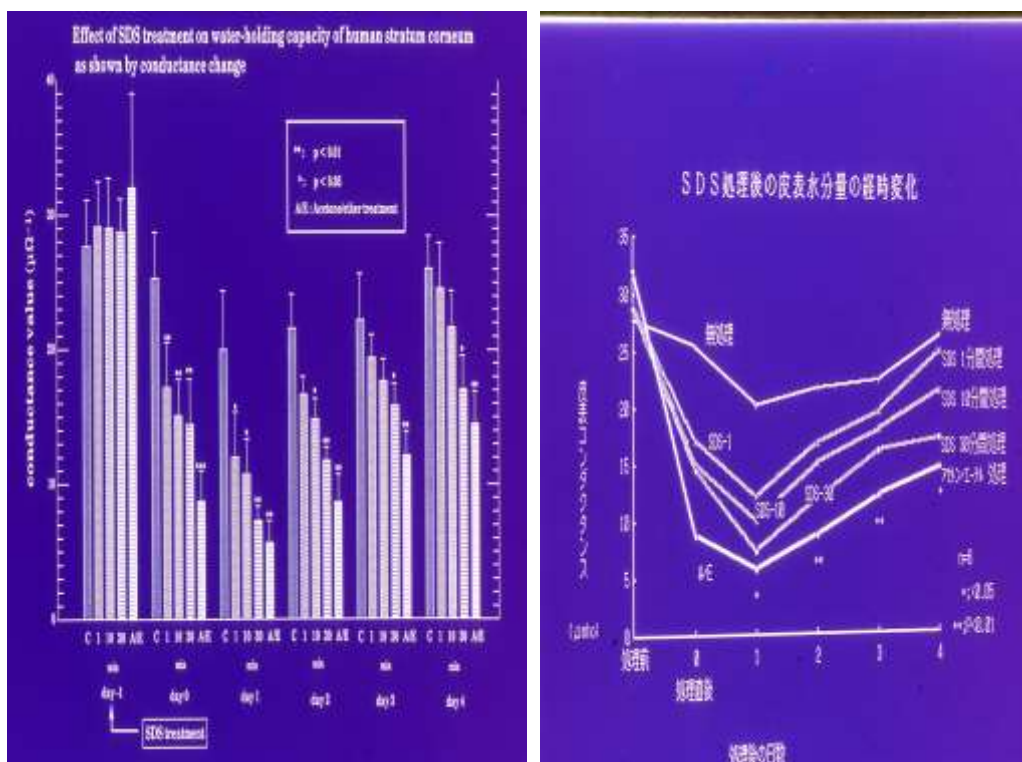
最後に正しい保湿メカニズムによる保湿剤の選択は、化粧品のみならず医薬品的面からも重要であり、乾燥性皮膚疾患の改善がどの程度はかられるのかを見ることによっても、間接的に保湿メカニズムに関与している成分として何が重

要なのかを示唆してくれる。この点でアトピックドライスキンへの応用が可能で現在比較できる剤はあまり多くないが、NMFとしての尿素やヒルドイドさらにはセラミドが上げられよう。臨床効果は濃度〈特に尿素の場合は10-20%もの高い濃度では本来のNMFの働きとしてよりも、角解作用が主な作用となる〉や塗布する形状〈クリームや乳液さらには軟膏ベースなどなど〉によっても変化するので、大まかにしか考察できないが、アトピックドライスキンへの乾燥改善効果はセラミド物質を含んだ処方、尿素やヒルドイドを含む処方にくらべ有意に高い改善効果を示し、セラミドの真の意味での保湿剤としての役割の重要性を間接的に証明している【a-35, b-18, 19, d-27, e-4, 0-25】。一方アミノ酸などの乾燥性皮膚疾患への臨床成績で尿素やヒルドイドなどと比較しても有意に高い改善効果を示す実験データはまだ見当たらない。

3. 洗浄による皮膚の乾燥化メカニズム

正常における角層の水分保持機能が主として細胞間脂質のラメラ構造の中に組み込まれた結合水によって担われていることをベースにして、洗浄によって引き起こされる皮膚の乾燥化の原因を解説する。5% SDSにより皮膚前腕部にて1-30分間洗浄を行うと【図-51】の如く皮膚表面の水分量は徐々に

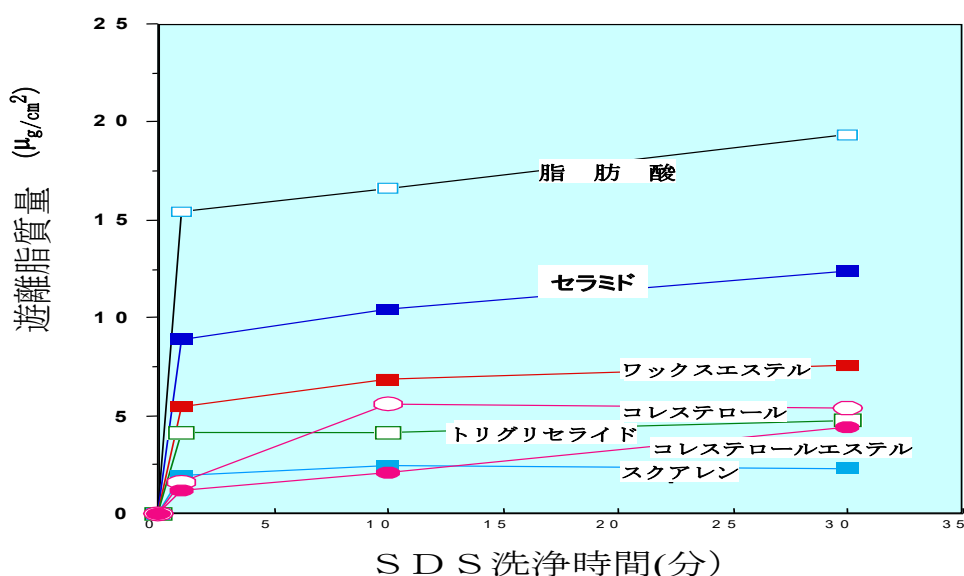
図-52:



有意に減少し、この減少は1分もしくは10分処理では4日後にほぼ処理前の水分量に回復するが、30分処理では4日後でも有意な水分量の低下が持続してい

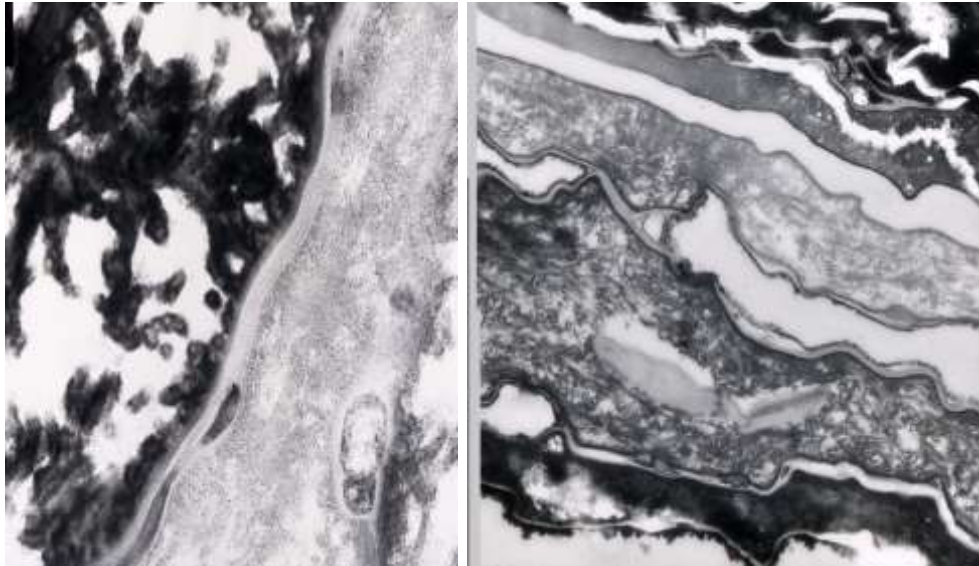
る²⁴⁾。この30分の5% SDS処理はアセトン/エーテルでの30分処理後に生じる水分量の低下レベルとほぼ同じ傾向を示している。この5% SDSでの時間を変えた洗浄処理の際に遊離してくる脂質の成分とその量を測定してみると、アセトン/エーテルでの処理と同様に、皮脂の成分であるワックスエステル、トリグリセライド、スクアレンはSDSの1分間の洗浄で皮表に存在したほとんどすべての量が遊離し、さらに洗浄時間を長くしてもそれ以上の遊離は認められないのに対して、細胞間脂質の成分であるセラミド、コレステロール、コレステロールエステルは緩やかではあるが、洗浄時間が長くなるにしたがってその遊離量は増加した【図-52】【a-13】。ここで脂肪酸は皮脂成分であるトリグリセライドの分解したものと、細胞間脂質の成分の両方が混ざっているが、主要

図-52: SDS洗浄に伴う角層からの脂質の遊離量



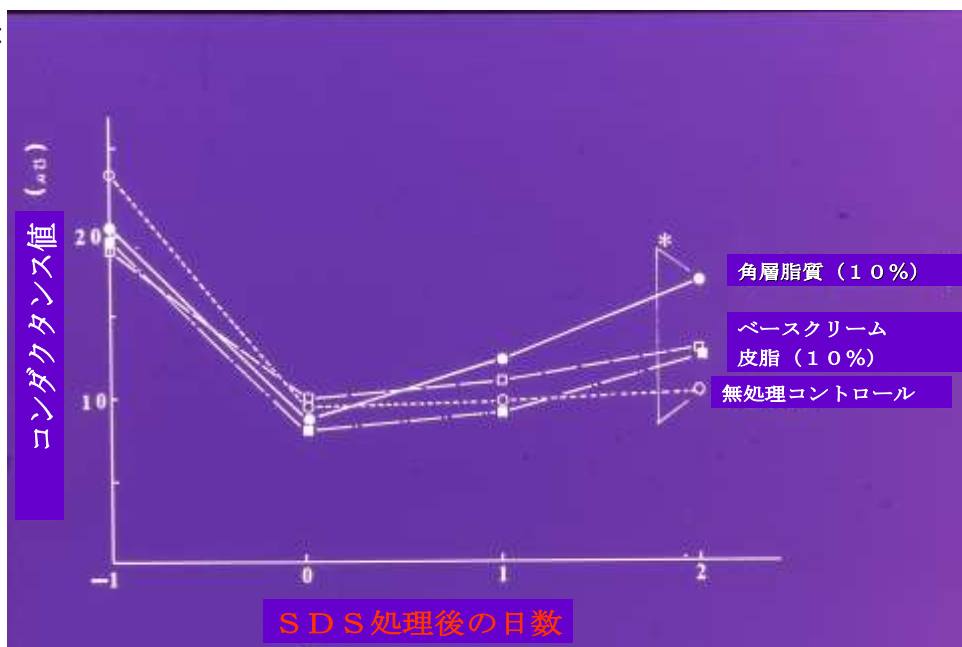
な成分は細胞間脂質由来であることが判明している。すなわちアセトン/エーテル処理での水分量の低下と同じくして、5% SDSでの洗浄処理でも処理時間に依存した細胞間脂質の遊離が、角層水分保持機能を低下させ、水分量の低下が生じている可能性が示唆された。また5% SDSでの洗浄により角層から細胞間脂質が溶出していることは、洗浄前後で角層を10層程度剥離しルテニウムテトラオキサイド染色による電子顕微鏡観察でも角層細胞間から細胞間脂質が抜けている事実が確認できている【図-53】【a-13】。5% SDS洗浄の際の細胞

図-53 :



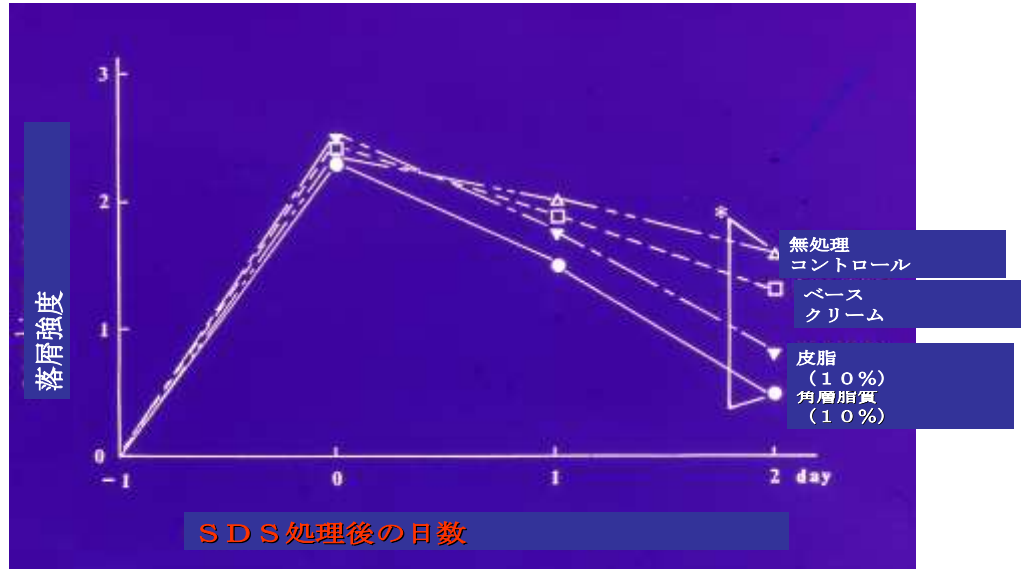
間脂質の遊離が、洗浄後に生じる水分含量の低下および乾燥皮膚出現の主要因であることを確認するため、ヒト前腕皮膚から集めた皮脂成分と細胞間脂質成分をベースクリームに練りこみ、5% SDS 30分処理後の前腕皮膚に連日塗布し、水分量の回復が認められるかどうかを調べたところ、無処理コントロールに比べてベースクリームおよび皮脂成分10%含有クリームでは3日後までに水分含量の有意な改善は認められないのに対し、細胞間脂質を10%含有したクリームでは3日後有意な水分量の改善が認められ【図-54】、乾燥皮膚の指標である落屑強度も水分量の変動と同様に、無処理コントロールにくらべてベースクリームおよび皮脂10%含有クリームでは有意な改善は認められないのに

図-54 :



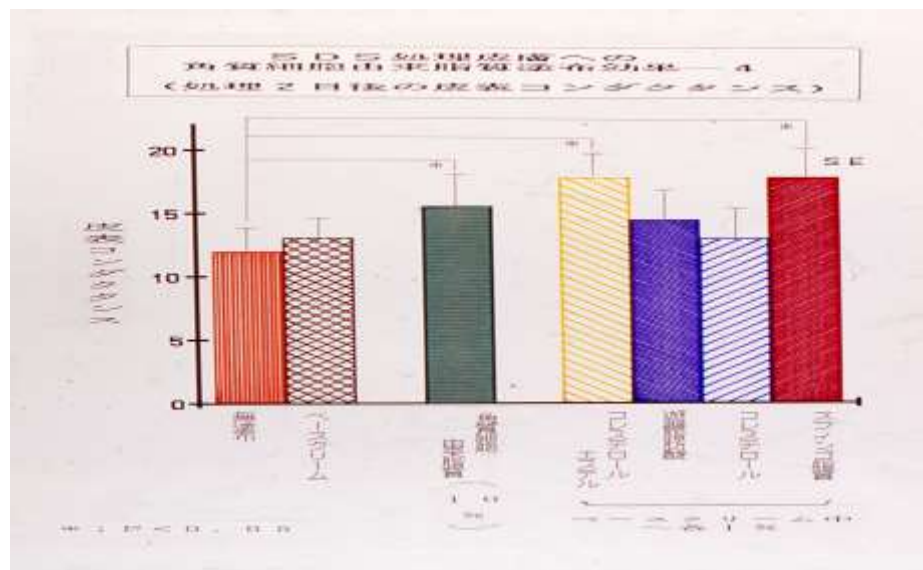
対し、細胞間脂質 10%含有クリーム塗布では、有意な改善が認められた【図-55】【a-13】。同様な洗浄によって生じる乾燥皮膚の回復実験を細胞間脂質をさ

図-55 :



らに分離した構成脂質成分であるセラミド、コレステロール、コレステロールエステル、および脂肪酸を 1%含有したクリームで行ったところ、セラミドとコレステロールエステルに有意な水分量の改善効果が認められた【図-56】【a-13】。

図-56 :



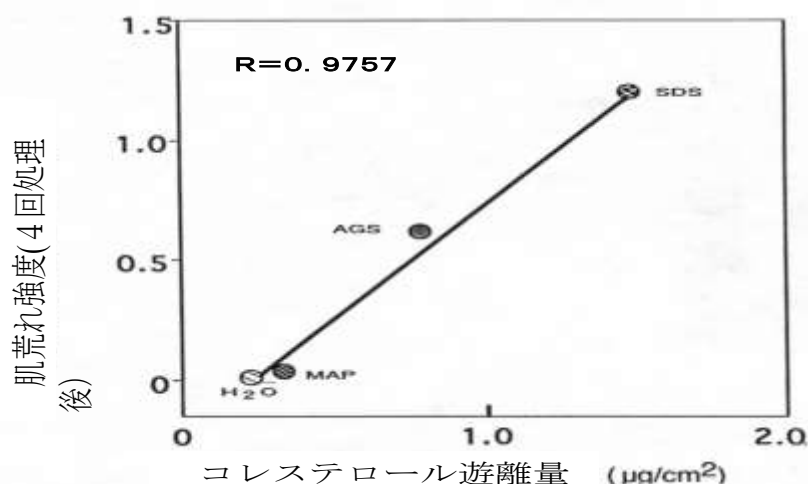
これらの事実から洗浄剤処理により角層の水分保持能の低下は細胞間脂質とくにセラミドの溶出が主たる要因であることが明らかとなった。

また洗浄後の皮膚乾燥の出現にアミノ酸などの寄与の有無については次の如く考えることができる。すなわち、SDSなどの界面活性剤で皮膚を洗浄することにより細胞間脂質のみならずアミノ酸などの水溶性物質も溶出し、角層の水分保持機能も低下し、皮膚の乾燥落屑性変化が生じるが、この状態に細胞間脂質のみを塗布してやることにより、水分保持機能及び乾燥落屑性変化も、ほぼ洗浄以前のレベル近くにまで回復させることができる事実【a-13, b-8, f-7】は、アミノ酸の正常角層における水分保持機能への関与が弱いことを示唆している。

我々は皮膚洗浄により生じる皮膚の乾燥化の原因がアミノ酸などのNMFの成分ではなくセラミドを主体とする細胞間脂質の溶出が主要な役割を果たしていることをさらに証明するために次のような実験をおこなった。

1. SDS, AGS, MAP および水で皮膚を洗浄した際に遊離してくる細胞間脂質の成分であるコレステロール量と、これらの洗浄で生じる乾燥落屑性変化の程度の間関係を調べた結果、【図-57】のごとき両者には強い($r=0.97$)相関関係

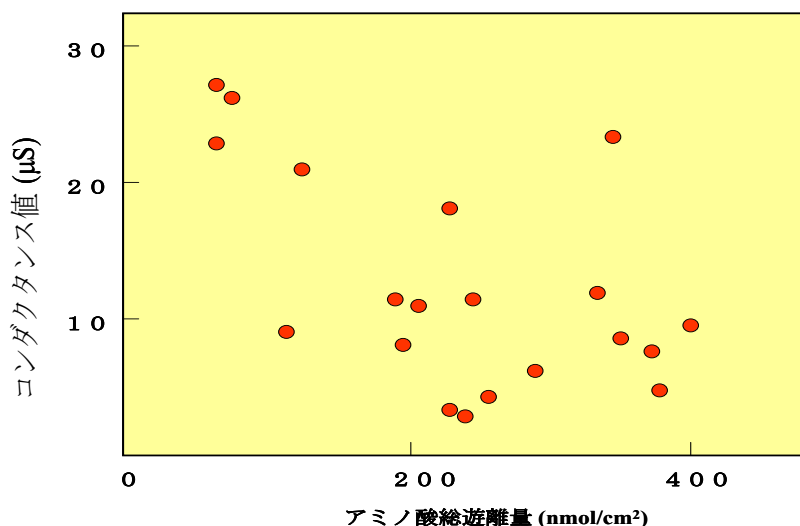
図-57



が認められたのに対して、同時に遊離してくるアミノ酸量とは【図-58】の如く強い相関は認められず、やはり細胞間脂質の溶出が角層の水分保持機能の低下と乾燥落屑性変化を生じる因子として重要であることを示した。

洗浄によるアミノ酸の遊離量と水分量低下の間相関は弱い

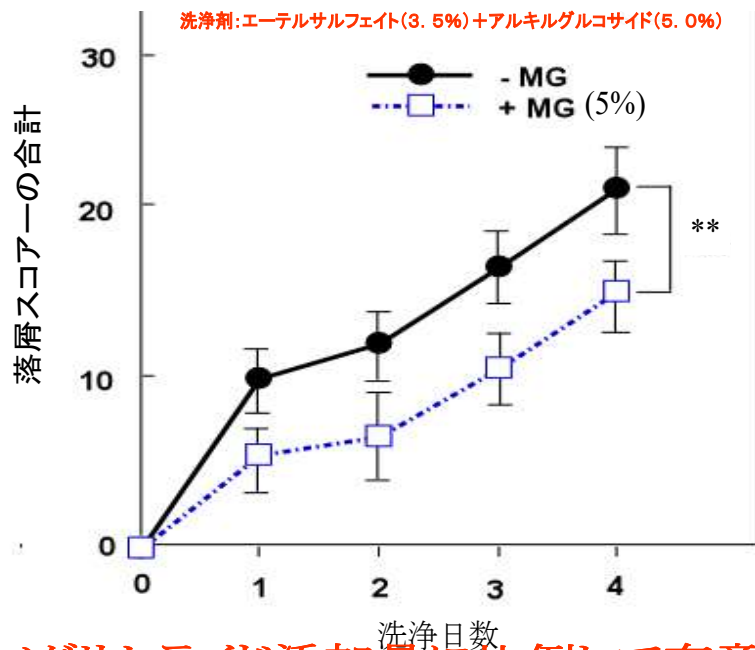
図-58 :



2. アニオン活性剤による生じる肌荒れおよび水分保持機能の低下はこの洗浄系へモノグリセライドを添加した洗浄剤処方での洗浄することにより、無添加の洗浄剤処方での洗浄に比べ、有意に抑制されることを見出した【図-59、60】【b-15】。このモノグリセライドの添加により肌荒れが緩和するメカニズムの研究にお

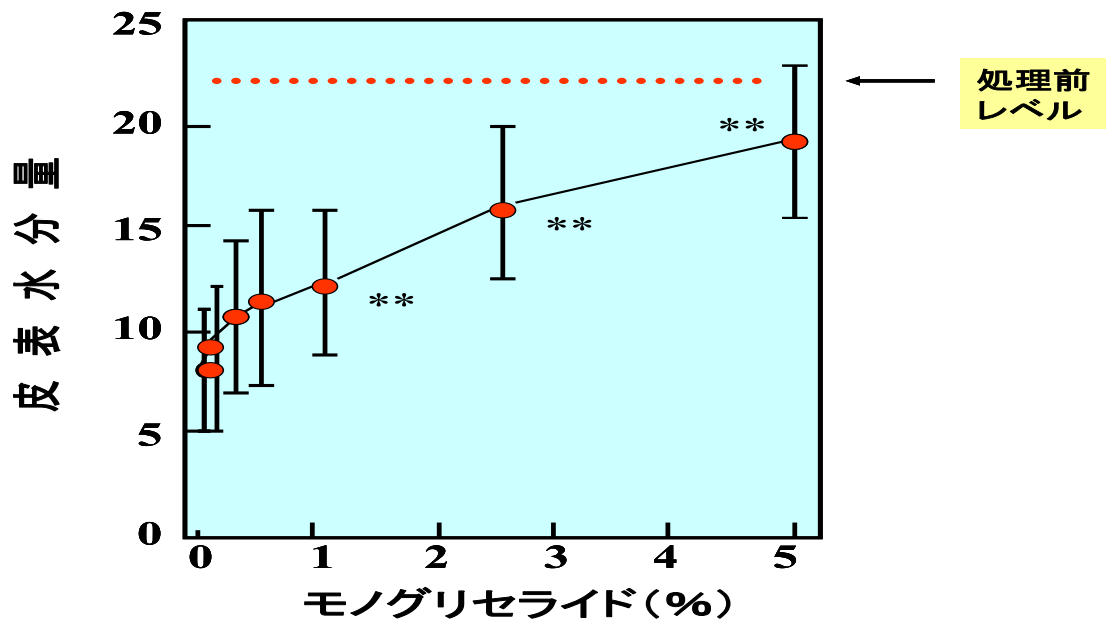
モノグリセライド(Stearyl MonoGlyceride (MG))の肌荒れ抑制効果

図-59 :



皮表水分量はモノグリセライド添加量に比例して有意に回復する

図-60 :

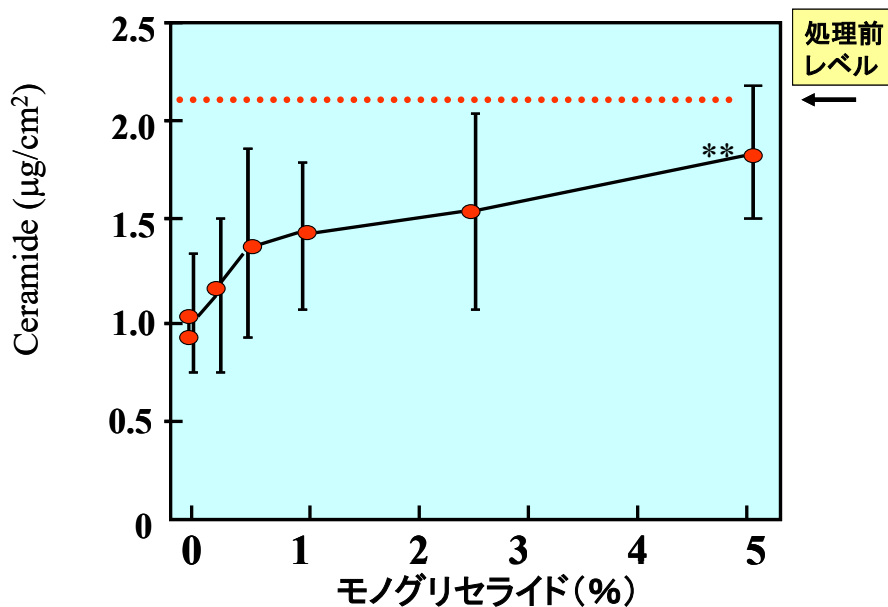


いて、どんな成分の溶出や溶出抑制が関連して、この肌荒れや肌荒れ緩和効果

が発現しているのかを検証した結果、アニオン活性剤での洗浄中に溶出するセラミド量は。モノグリセライドの添加によりモノグリセライドの添加量に依存して有意に抑制されたのに対し【図-6 1】、アミノ酸の溶出はモノグリセラ

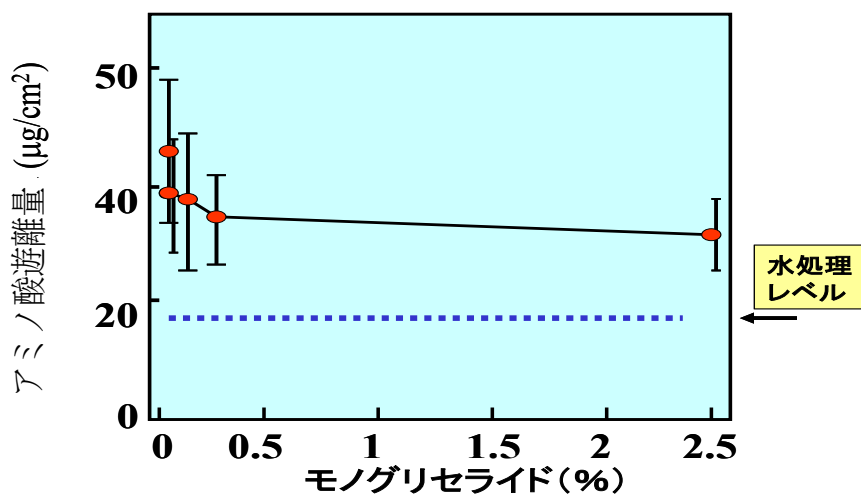
残存セラミド量はモノグリセライド添加によって増加する
 → モノグリセライド添加はセラミドの溶出を抑制している

図-6 1 :



イドの添加によりほとんど影響を受けていないことが判明した【図-6 2】
 【b-15】。

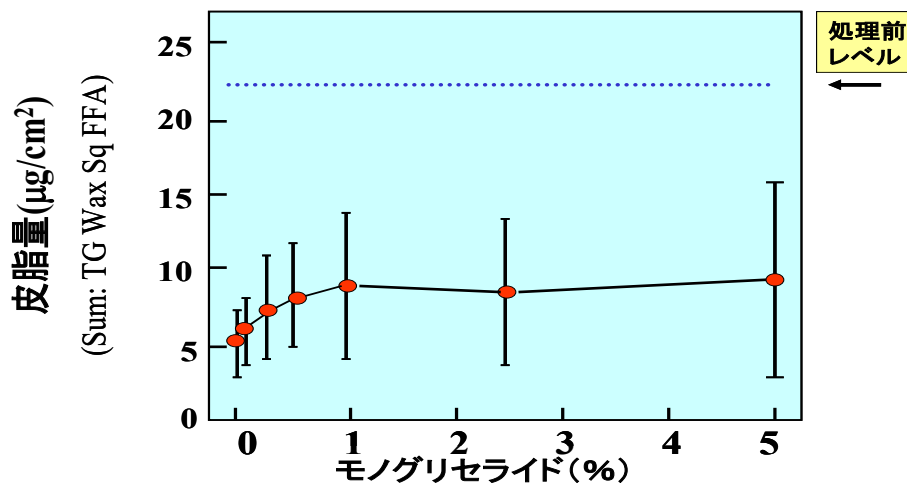
図-6 2 : 溶出アミノ酸量はモノグリセライド添加によって減少しない
 → モノグリセライド添加はアミノ酸の溶出を抑制していない



また洗浄力の指標でもある皮脂の除去量はモノグリセライドの添加により有意

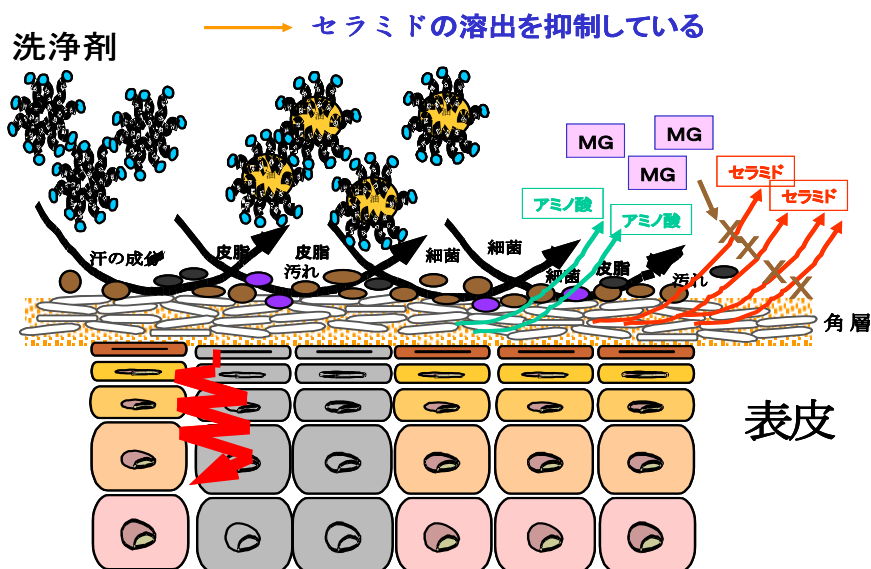
な減少効果は認められなかった【図-6 3】。一方モノグリセライドは洗浄後

図-6 3 : 残存皮脂量はモノグリセライド添加によっても増加しない
 → モノグリセライド添加は皮脂除去能に影響しない



に皮膚表面に残存していたが、この残存量以上の濃度のモノグリセライドを皮膚表面に人工的に塗布しても水分含量の改善は認められないことより、モノグリセライドを添加した洗浄剤処方での洗浄が無添加洗浄剤処方に比べて、水分保持能の低下が有意に緩和される原因が、皮膚表面に残留しているモノグリセライド自身によるものではないことが示唆された。すなわちモノグリセライドの添加実験は【図-6 4】に示す如く、セラミドの溶出の有意な抑制により角

図-64 モノグリセライドの洗浄による乾燥化防御メカニズム



層の水分保持機能の低下が防止され、肌荒れが軽減されていることを示唆しており【a-15】、アミノ酸の溶出を防がなくともセラミドの溶出を減少させることにより、明瞭な肌荒れ抑制効果が得られることを示している。このことはまた洗浄による角層の水分保持機能の低下は主としてセラミドなどの細胞間脂質が重要であることを示唆している。

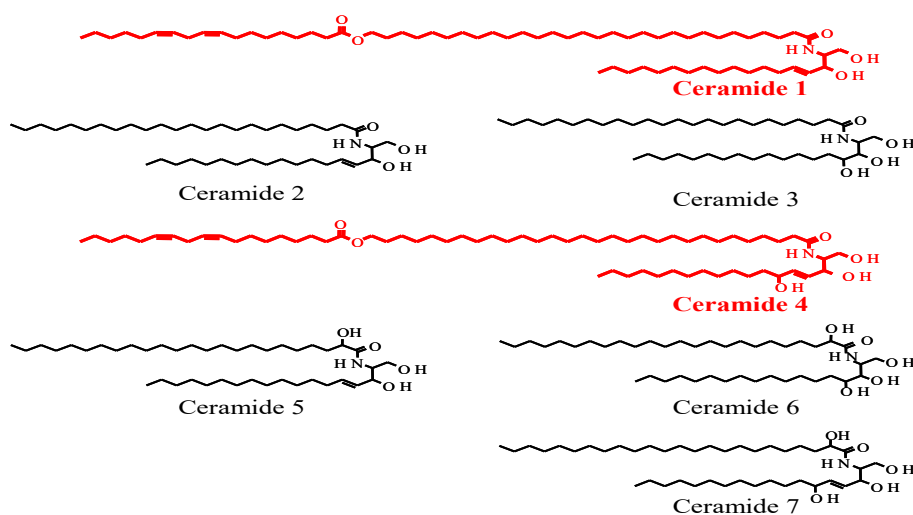
4. セラミドとは何か？

4-1. セラミドの種類と化学構造

セラミドは角層の角質細胞間に存在する脂質、細胞間脂質の主要成分のスフィンゴ脂質で約50%を占めている。細胞間脂質の他の成分はコレステロールエステル15%、コレステロール5%、脂肪酸20%からなっている。ヒト角質層に存在するセラミドの種類と化学構造に関しては Wertz らが最初に報告し【o-1】、最近は【図-65】の如く、前に報告

図-65：

ヒト角層細胞間脂質に含まれるセラミドの分子種



に比べ、セラミド4に新しいアシルセラミドが加わり、セラミドの種類が7種類から8種類に増えている。

4-2. セラミドの由来

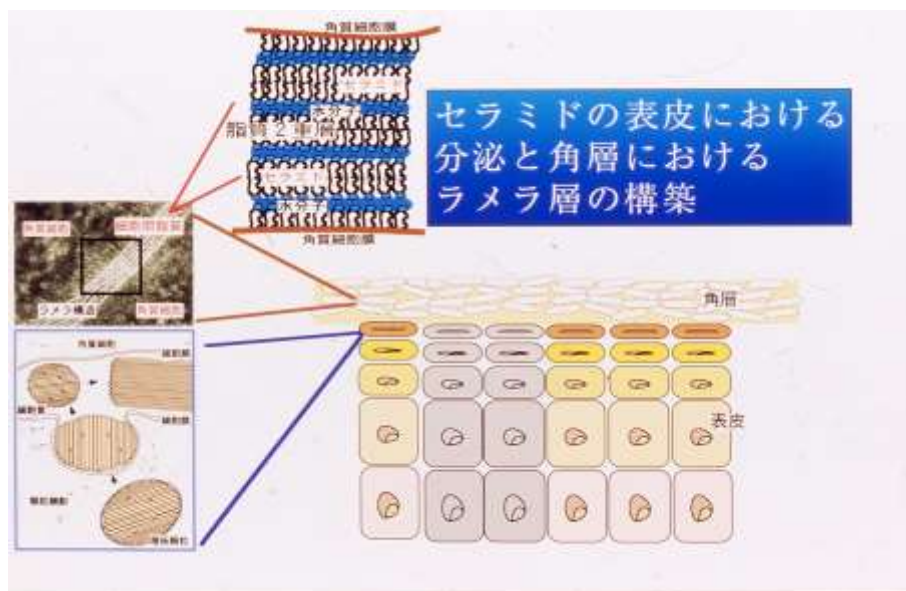
セラミドを主成分として含む角質細胞間脂質の細胞生物学的起源は表皮の有棘細胞内で形成される層板顆粒で、層板顆粒はGolgi装置の濃胞より分泌される。細胞内に分泌された層板顆粒は顆粒細胞が角質細胞に分化する直前に細胞外に分泌され、種々のスフィンゴ

脂質関連酵素の働きで修飾を受けた後角質細胞間に再配列し角質細胞間脂質なる。層板顆粒の成分及び存在酵素はすでにその生化学的分離により明らかになっており、Freinkel らによれば【0-2】、主成分はグルコシルセラミド、ホスフォグリセリドとスフィンゴミエリンで、存在酵素としては酸性フォスファターゼ、グルコシダーゼ、スフィンゴミエリナーゼなどの活性が証明されている。これらの酵素は層板顆粒の成分を最終的に角質細胞間脂質成分に変換するのに働いており、事実角質細胞間脂質中にはグルコシルセラミドやスフィンゴミエリンはすでに完全に加水分解を受けまったく存在しない。

4-3. セラミドの生成プロセス

セラミドは表皮基底細胞内でセリンパルミトイルトランスフェラーゼによりアミノ酸のセリンにパルミチン酸が付加して出来るケトスフィンガニン ketosphinganine より種々酵素の働きで生成され、顆粒細胞内の層板顆粒として分泌されるまでにスフィンゴミエリンやグルコシルセラミドに変換される。角質細胞間脂質と成るまでには、この層板顆粒が顆粒細胞が角質細胞になる直前に細胞外へ分泌され、【図-66】に示す如く、層板顆粒中の

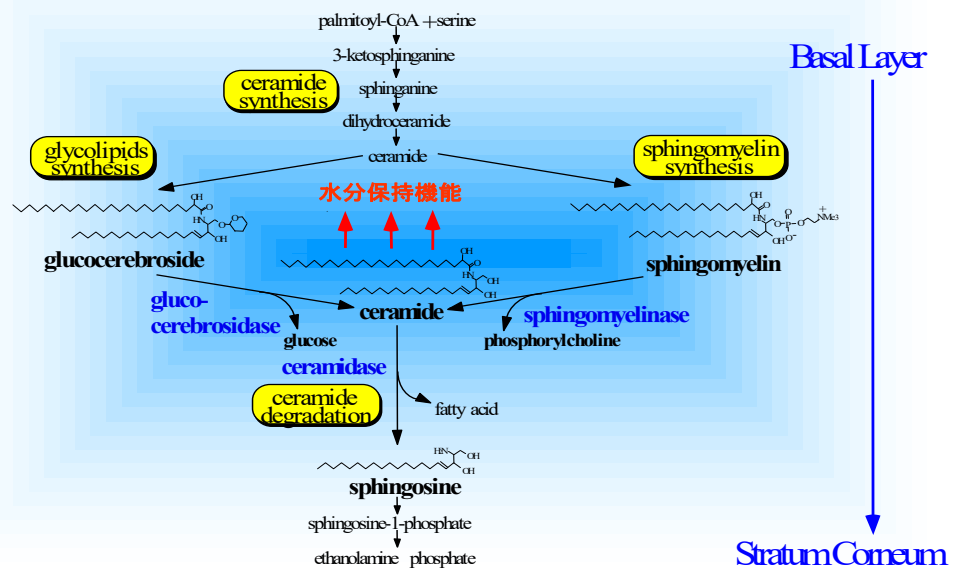
図-66：



スフィンゴミエリンやグルコシルセラミドがは同様に層板顆粒中に存在したスフィンゴミエリナーゼやベーターグルコセラブロシダーゼにより、フォスフォルコリンやグルコースが加水分解によりはずれてセラミドになる【a-19, 28】。この様に生成されたセラミドは同様に層板顆粒中に存在したセラミダーゼ【a-25】により角層中で加水分解をうけ、スフィンゴシンとなり、その一生を終える【図-67】。

図—67：

Spingolipid Metabolisms in the Epidermis of Healthy Skin



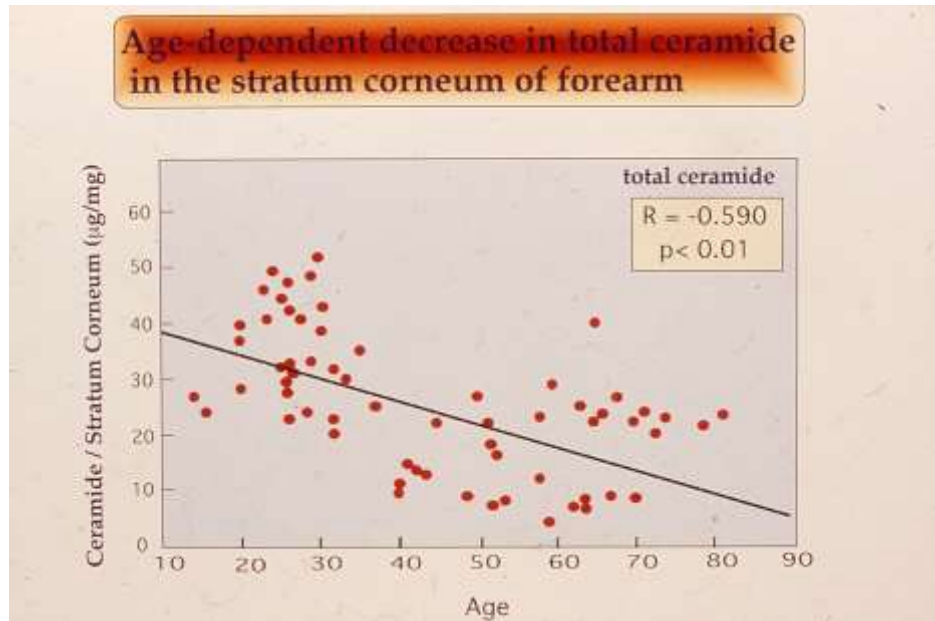
セラミドが生成される上述の2つの過程の比率は、ベーターグルコセラブロシダーゼの欠損症であるゴーシュ病でも約30%のセラミドが存在している事実から、70%のセラミドはグルコシルセラミドから、残りの30%のセラミドはスフィンゴミエリンからそれぞれベーターグルコセラブロシダーゼ及びスフィンゴミエリナーゼ酵素による加水分解によると推察されている【0-13】。なおセラミドの種のうちアシルセラミドはスフィンゴミエリンからは生成せず、グルコシルセラミドから合成されることが明らかとなっている【a-29】。

4-4. セラミドの異常が関与する皮膚病

- 老人性乾皮症

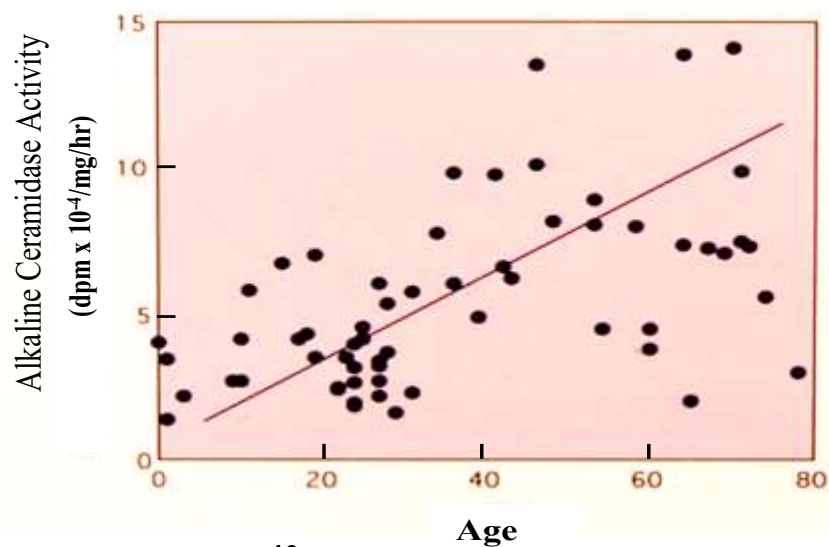
【図-68】の如く、角層中のセラミド量は加齢とともに減少することが知ら

図-68 :



れており、老人の脚に認められる乾皮症は、セラミドの減少にもとづく角層の乾燥性の増加が原因となっている【a-16】。以前に乾燥化の原因と考えられていた加齢にともなう皮脂分泌の低下は、皮脂の役割の中で角層水分保持機能に寄与する割合が低いことなどから、最近はあまり重要視されなくなってきている。加齢にともなう角層中のセラミドの減少メカニズムとしては、セラミド代謝酵素の中で、角層中のセラミダーゼ活性のみが加齢とともに著しく増加すること【図-69】から、セラミダーゼによる加水分解により、セラミドの減少が引き起こされていることが推察されている【a-22】。

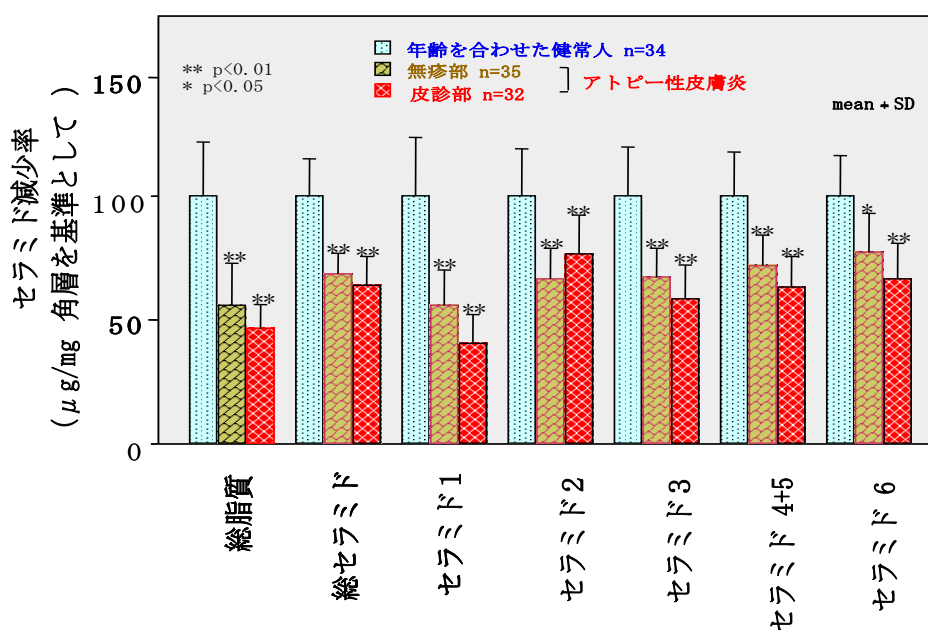
図-69 :



● アトピー性皮膚炎

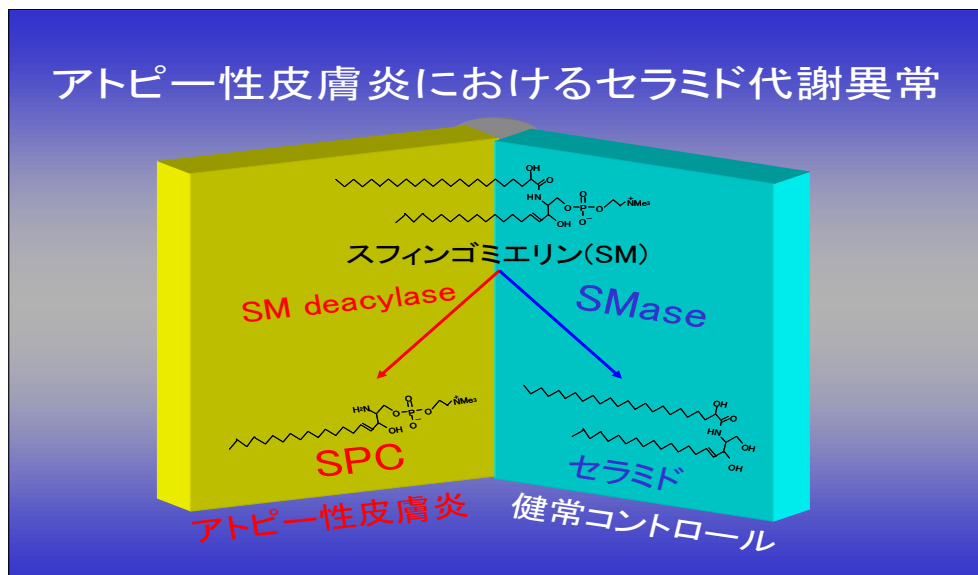
アトピー性皮膚炎患者皮膚の無疹部皮膚においても皮膚角層の水分保持機能やバリアー機能が健常者にくらべ著しく低下していることが知られており、これがアトピー性皮膚炎の再発難治化の原因の一つとしてあげられている。アトピー性皮膚炎患者の皮疹部及び無疹部角層中のセラミド量は健常者に比べ顕著に減少していることが判明しており【図-70】【a-16】、セラミド種のなかで

図-70 :



もバリアー機能に関連の深いアシルセラミドが最も減少しており、アトピー性皮膚炎患者皮膚での水分保持やバリアー機能の低下の原因とされている。アトピー性皮膚炎でのセラミドの減少のメカニズムとしては、加齢によるセラミダーゼ活性の亢進とは異なり、またスフィンゴミエリナーゼやベーターグルコセラブロシダーゼ活性も健常者と差がないなど、従来のセラミド代謝酵素活性レベルはなんら変化していないが【a-22】、スフィンゴミエリンをデアシレーションする未知の酵素であるスフィンゴミエリンデアシラーゼ酵素活性の異常発現が推察されている【a-26, 29, 32】。本酵素が発現すると、【図-71】で示

図-71 :



す如くスフィンゴミエリナーゼと基質であるスフィンゴミエリンを競走することによりセラミドの替わりにスフィンゴシルフォスフォルルコリンを生成することにより、セラミドの減少が引き起こされる【a-29】。

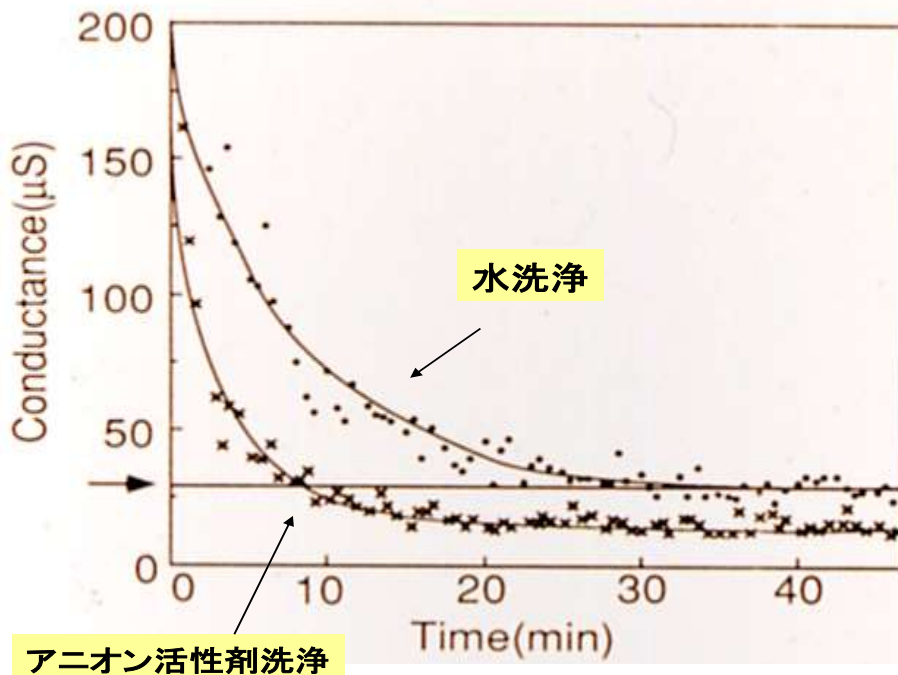
● その他の病気

セラミド生成酵素であるスフィンゴミエリナーゼやベーターグルコセラブロシダーゼの欠損症であるニーマンピック病【o-14】やゴーシュ病【o-15】はスフィンゴミエリンやグルコシルセラミドの蓄積とともにセラミドの生成が減少することから、皮膚のバリアー機能や水分保持機能が低下していることが知られている。

5. 顔面洗浄によるつっぱり感発生のメカニズム【a-9】

以上説明された角層水分保持機能に関与する角層成分因子の働きを基礎にして、顔面洗浄の際に生じるつっぱり感の発生メカニズムを解説する。皮膚を水のみで洗浄した場合はインピーダンスメーターで測定し、コンダクタンス値で表示した皮膚表面の水分含量は洗浄中急激に上昇したのち洗浄後数10分で洗浄前のレベルに戻るが、洗浄剤を使って洗浄した場合は10分以内に洗浄前のレベル以下になり、この低下したレベルはかなり長時間持続する【図-72】。こ

図-72 :



の現象がいわゆる過乾燥で洗浄後に生じる顔面皮膚のつっぱり感の発生原因で実際に顔面皮膚が突っ張っている状態【図-73】である。このコンダクタンスであらわした皮膚表面の水分含量とつっぱり強度の時間経過を見てみると、【図-74】の如く、洗浄前のレベル以下の水分含量になり過乾燥のときに顔面のつっぱり感が最も大きくなる。当然この過乾燥は外界の湿度に影響を受け、湿度が低いほどつっぱり感は強くなる傾向がある【図-75】。洗浄剤の種類によりこのつっぱり感の強さに差が出てくるが、つっぱり感の発生にかかわるメカニズムを探るため、種類の異なる洗浄剤により洗浄の際に溶出してくるアミノ酸、ウロカニン酸、および細胞間脂質の構成成分であるコレステロール量、また洗浄の

図-73 :



図-74:

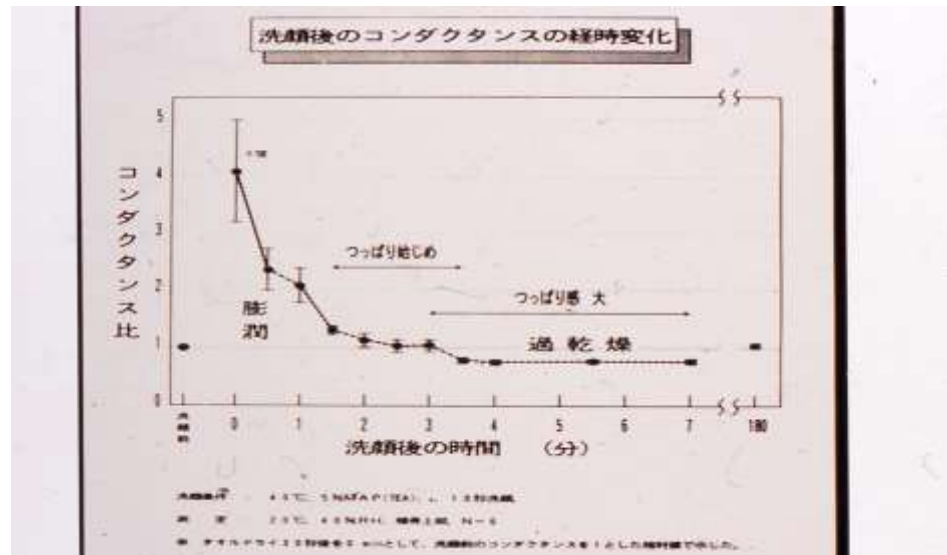
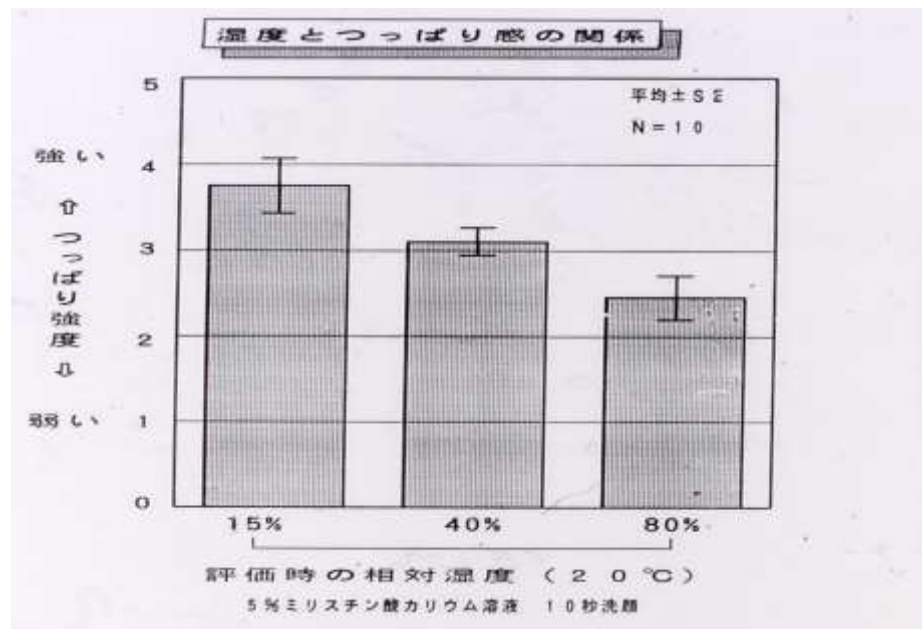
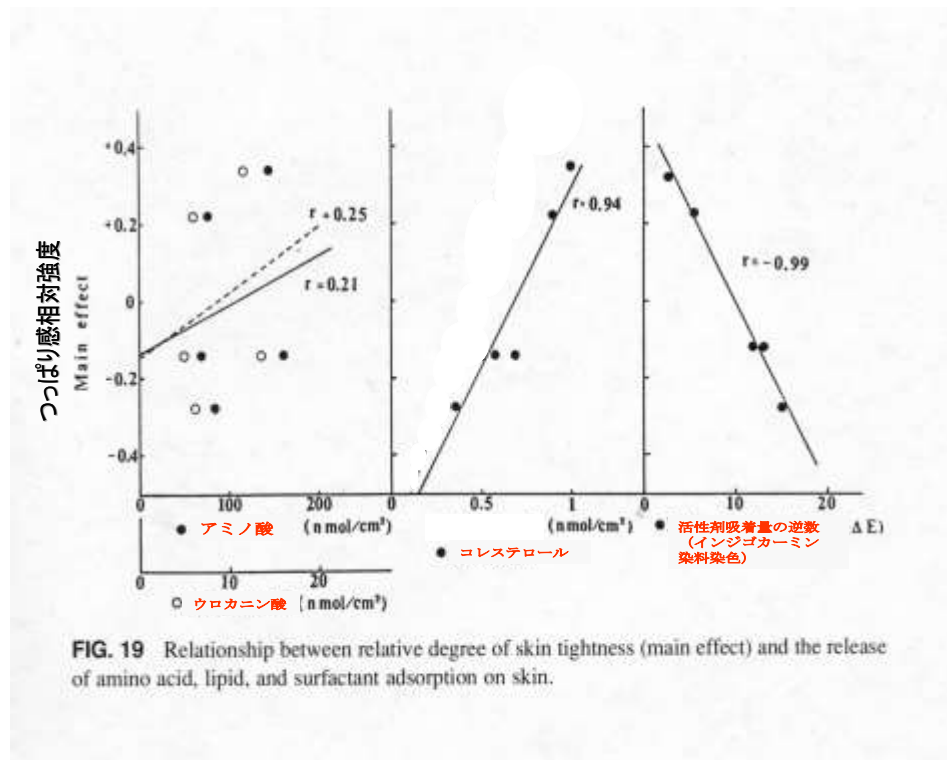


図-75:



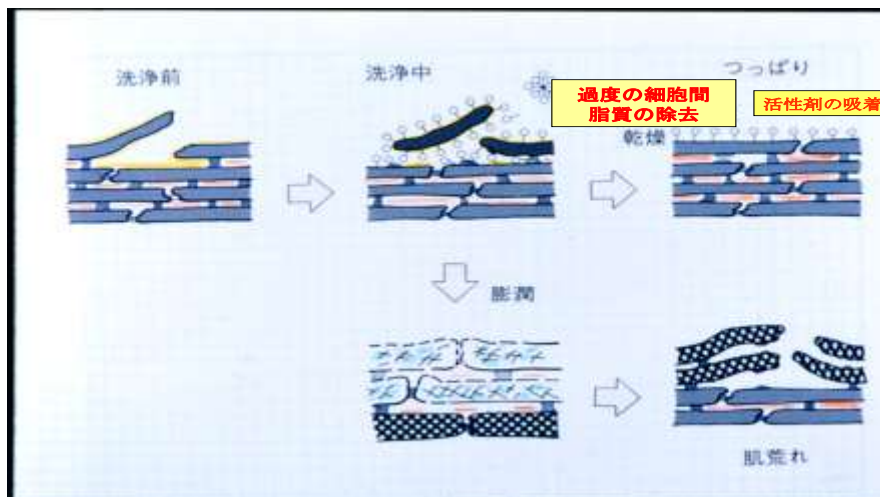
際に皮膚に吸着残存する洗浄剤量を測定して、各洗浄剤で生じる顔面皮膚のつっぱり感の相対強度に対してプロットしてみたのが【図-76】である【a-9】。

図-76:



顔面皮膚のつっぱり感強度と強い相関が見られたものはコレステロールの遊離量と洗浄剤の皮膚への吸着残存量で、アミノ酸やウロカニン酸の洗浄による遊離量とはまったく関連がなく、洗浄による顔面皮膚のつっぱり感発生のメカニズムは【図-77】で示した如く、洗浄の際の細胞間脂質の遊離とその後に生じる洗浄剤自身の吸着残存がその主たる要因で起きてきていることを示唆している。

図-77:



● まとめ

以上の論点をまとめて見ると以下のごとくとなる。

1. ドライスキンは水分保持機能の低下とNMF欠乏による角層の乾燥粗造化
2. 水分保持機能はセラミドを主体とした細胞間脂質のラメラ構造内の不凍水（結合水）による
3. NMFはケラチン繊維間の相互作用を弱め、角層の柔軟性に関与している。
4. 洗浄剤によるつっぱり感の発生にはNMFよりは細胞間脂質（セラミド）の溶出と洗浄剤の吸着が主に関与している。
5. 洗浄剤による肌荒れはNMFよりは細胞間脂質（セラミド）の溶出が関与している。
6. 洗浄剤による肌荒れは細胞間脂質（セラミド）の補充が合理的でセラミド誘導体は洗浄剤による肌荒れの回復に高い効果を有する
7. 老化および紫外線以外での皮膚の主たる乾燥化要因である洗浄による角層機能障害の回復にはセラミドケアが合理的。
8. NMF関連保湿剤を追加したスキンケアは角層に柔軟性を付与しセラミドとの相乗作用が予想されるが、その証明はいまだない。

6. 保湿機能のヒト皮膚評価測定法：

皮膚への種々環境刺激による変動と測定法

角層水分量

6-1. 測定法

角層水分の測定には赤外分光を用いた方法や電導度を測定する方法があるが使用が簡便で短時間で測定できる利便性から一般的には後者の方法が頻度高く利用されている。この方法は Masuda らの開発した回路を応用し田上らが初めて皮表水分量の測定を行ったものである。この回路は皮膚の電気的特性をコンデンサーと抵抗が並列に位置する回路を等価回路としてかんがえ、このインピーダンスを

$$|z| = \sqrt{R^2 + (1/\omega \cdot C)^2}$$

と表現される抵抗 R と容量 C を同時に測定できるユニークな回路である。したがってこの回路を応用したインピーダンスメーターを用いることにより皮膚表面のコンダクタンス (mmho) およびキャパシタンス (pF) を測定しうる。

でインピーダンスメーターを用いて電気抵抗の逆数である conductance または capacitance 値を測定することにより、水分量に比例した指数としてあらわすこと

がほとんどである。

この原理を応用した機器は大きく分けて2つに分類され、ひとつはコンダクタンスを測定するものとキャパシタンスを測定するものがある。Tregear は【o-29】交流の周波数を変化させて皮膚のインピーダンスを測定し、2 kHz まで周波数を増加させたとき皮膚のインピーダンスは減少することを示し、低周波領域においては皮膚の抵抗が著しく高く観察されるのに対して高周波領域においてはインピーダンスがより低下するため容易に皮膚の電導度を測定しうる。

われわれは【図-78】のごときダイアグラムを構築し、Tregear の報告よりもさらに高周波領域の電導度を検討したところ【図-79】に示した如く 0 - 50 kHz

図-78 :

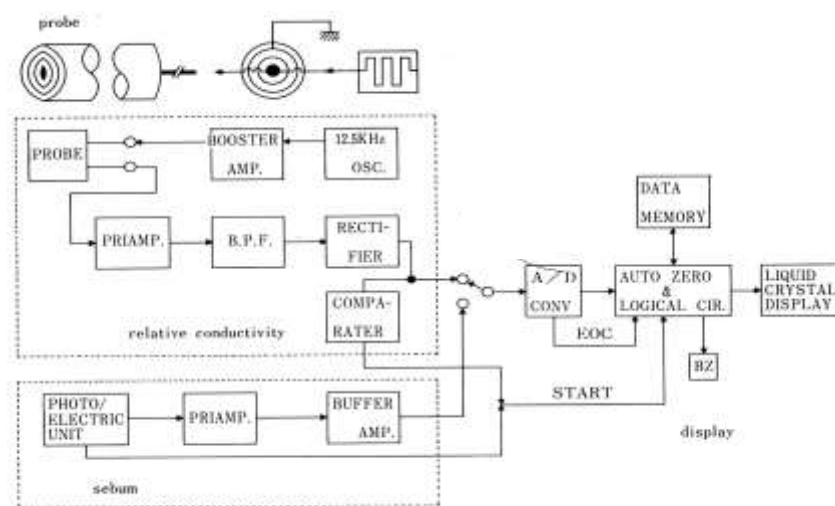
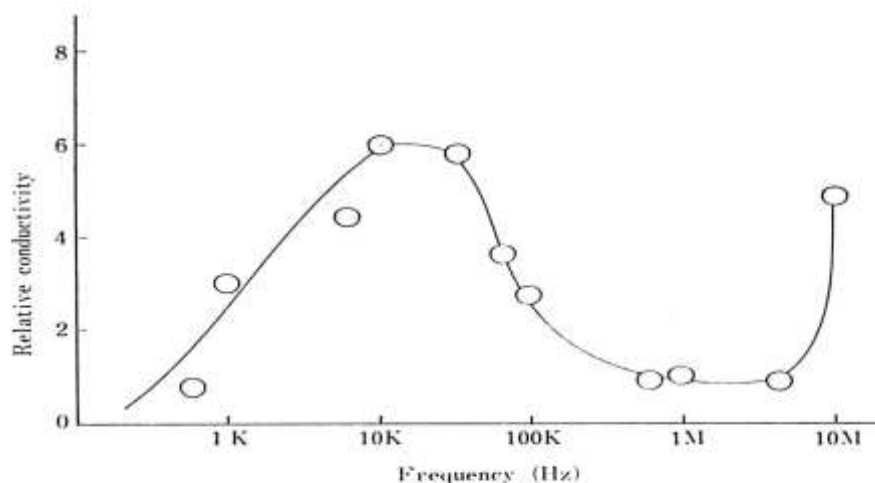


図-79 :

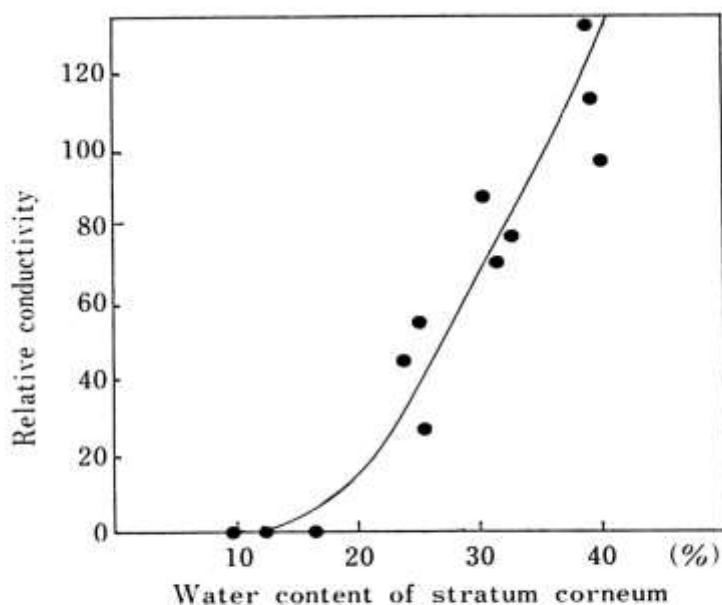


皮膚表面での相対コンダクタンスに対する周波数の効果

に電導度の高い領域が存在することが判明したので、12.5kHz の交流を発生する発振器を用い、この交流に対する電導性を測定し得る機器を開発し、本装置の角層水

分量の変動に対する反応性を検討したところ本装置の出力は牛分量の変動に正確な対応を示し、さらに水分量の異なる状態の皮膚表面に対してもその状態をよく反映した出力を示し、従来の結果とよく一致した結果を与え、本装置を用いることにより皮膚表面の水和状態を正確に測定しえるものと推察した【b-5】。【図-80】は本装置の相対コンダクタンスと角層水分量との相関を示したもので、角層水分量10%か

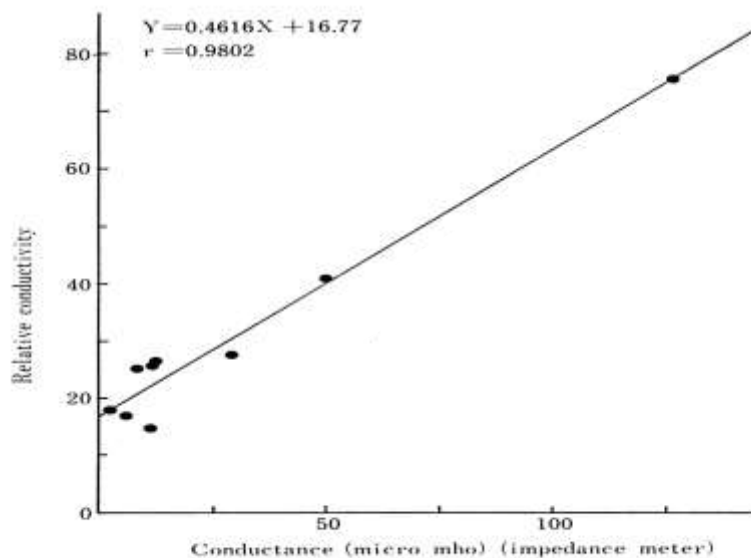
図-80：



インピーダンスメーターでの測定コンダクタンス値と角層水分含量の関係

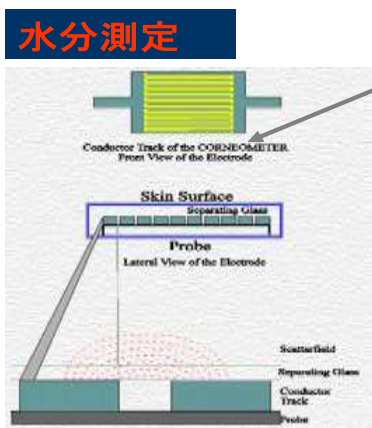
ら40%までほぼ直線的な両者の関係を示し、皮表水分量がほぼ正確に測れていることを示している。本装置で測定したコンダクタンス値を SKICON 200 (IBS 製、インピーダンスメーター、浜松) で同じ皮膚表面で測定したコンダクタンス値と比較した結果【図-81】、両者には $r=0.9802$ の相関係数を持った強い相関を示した。皮表水分量を測定するためのインピーダンスメーターは上述2装置のほかにもインテグラル社から販売されている Corneometer 【図-82】などがあり、いずれも測定原理はほぼ同じであるが、Corneometer はコンダクタンス値ではなく Capacitance 値を測定する。

図-81



開発インピーダンスメーターとIBSインピーダンスメーター(Skicon 200)の同一皮膚表面における測定値の相関関係

図-82： 水分測定



プローブ表面



水分計シングルタイプCM825

水分測定の原理。

水分計のプローブ表面はこの図で示す様に楕型電極がガラスで覆われた状態になっており、皮膚に押し当てても直接電氣は流れませんが、皮膚内部に電界ができ、静電容量を測定。

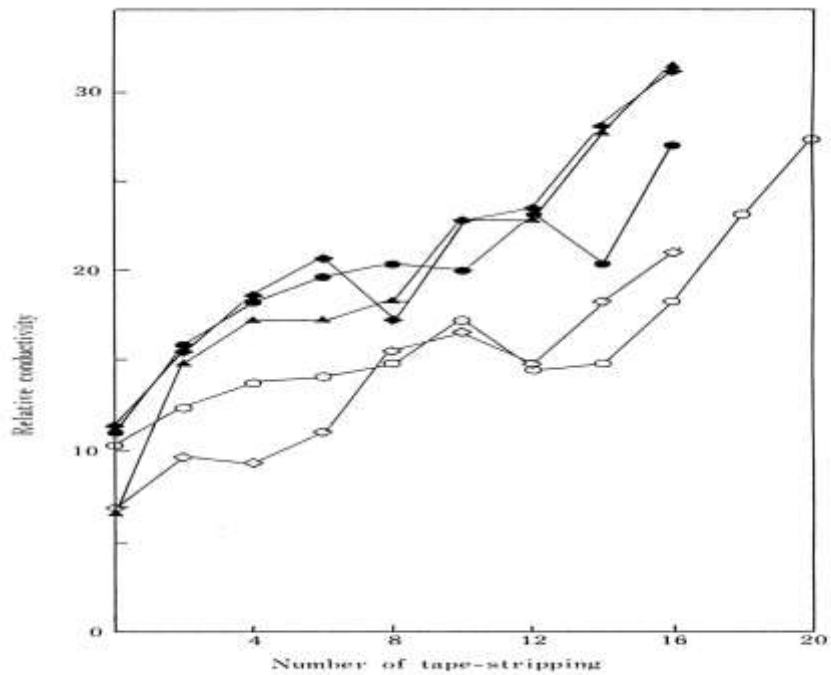
この値が水分の量により変化することを利用して水分値として表示。

6-2. 外来刺激による角層水分量の変動

● 角層ストリッピングによる角層水分量の変化

【図-83】は角層を約20回ストリッピングを行い、それぞれのストリッピング後にコンダクタンス値を測定し結果で、ストリッピング回数に依存してコンダクタンス値は増加し、角層内では表面に比べて、水分量が高いことが示された。

図-83：

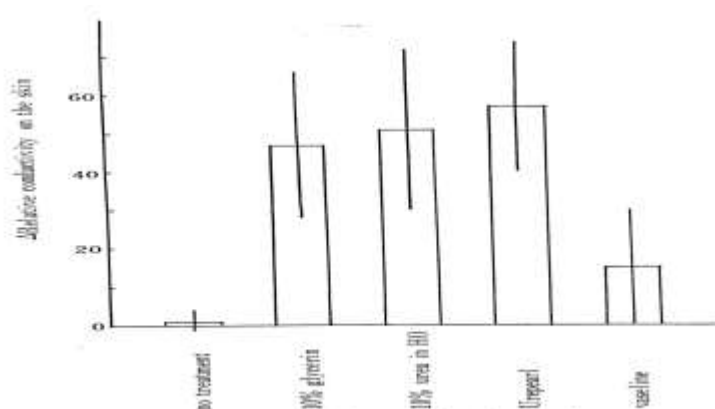


角層のストリッピングによる相対コンダクタンス値の変化

● 保湿剤塗布の角層水分量への影響

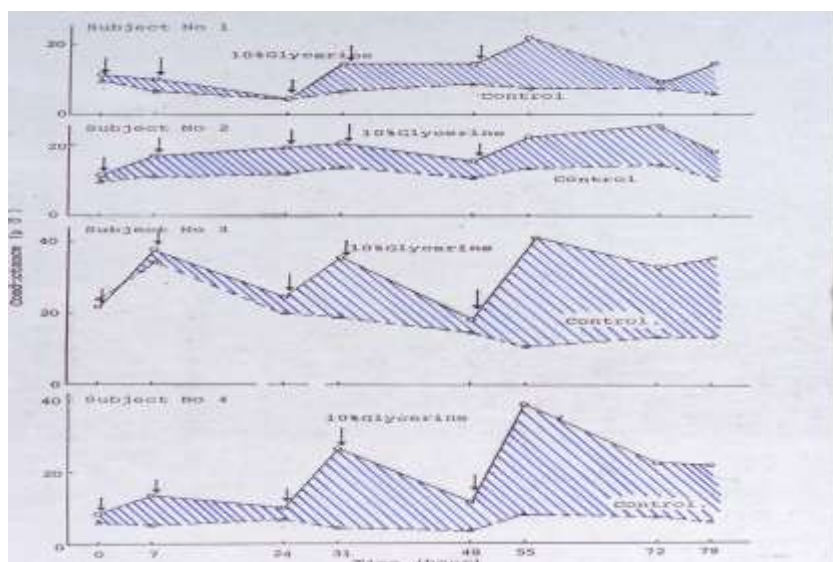
健常皮膚に保湿剤を添加した時の皮表水分量を測定した結果を【図-84】に示した。無処理皮膚にくらべ10%グリセリン、10%尿素水溶液、ウレバール(尿素10%軟膏)ワセリン塗布後では有意なコンダクタンス値の上昇が認められた。また健常皮膚に79時間かけて、数時間毎の10%グリセリン塗布により、無塗布コントロールに比べての顕著に持続する水分量の増加が観察された【図-85】(b-5)。

図-84：



種々保湿剤塗布による相対コンダクタンス値の変化

図-85:

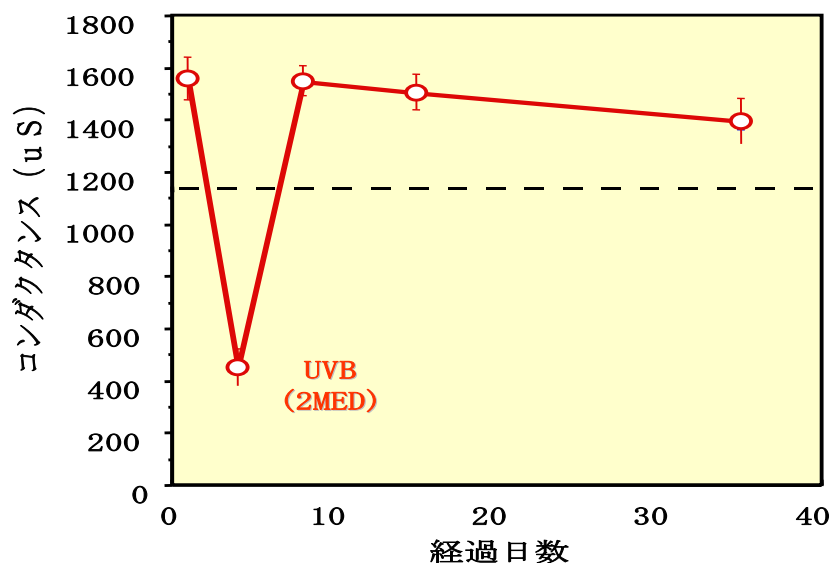


健常皮膚へのグリセリン累積塗布のコンダクタンス値への影響

● 紫外線 (UVB) 照射の角層水分量への影響

【図-86】は紫外線 (UVB) を 2MED のエネルギーでヒト皮膚に照射した後の角層水分量をインピーダンスメーター温度 25 ° C, 湿度 40 % の条件で測定した結果で、紫外線照射後 4 日目でコンダクタンス値は顕著に低下し水分量の低下が生じ、その後 8 日後にはほぼ紫外線照射前の値に回復した。その後は徐々に低下する傾向を示した。

図-86:



紫外線 (UVB) 照射後の角層水分量の変化

● 環境湿度の角層水分量への影響

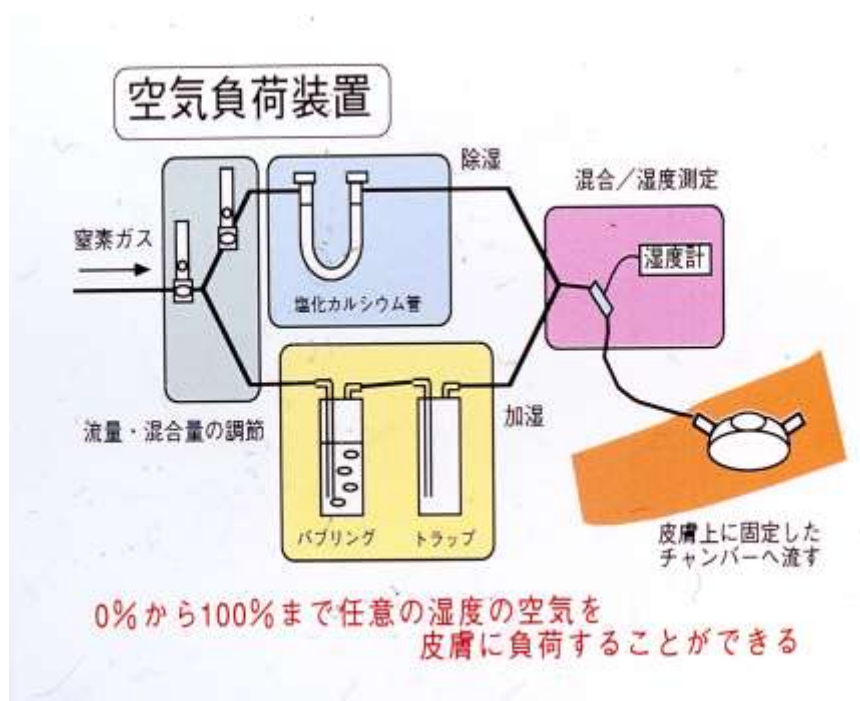
温度 25 °C 湿度 40 % に調節した環境可変室内で前腕皮膚表面にガラスチャンバ一装着しそこに【図-87】のごとき装置にて【図-88】のごとき方法で任意の湿度を持つ N2 気体を作成し、皮膚上のチャンバーに流し、種々%の湿度を持つ N2

図-87：



環境湿度の角層水分量への影響を評価する装置の写真

図-88：

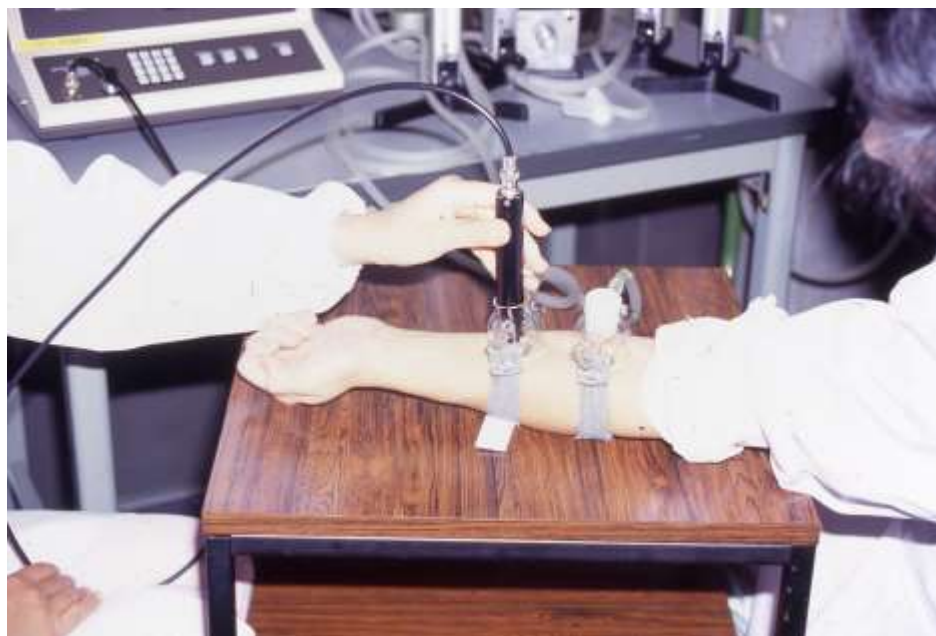


任意の環境湿度の気流を作る装置図

気体により皮膚上の湿度をコントロールする。この装置を使うことにより 0-100%までの任意の湿度を調整することができる。約15分間種々の%の湿度を持

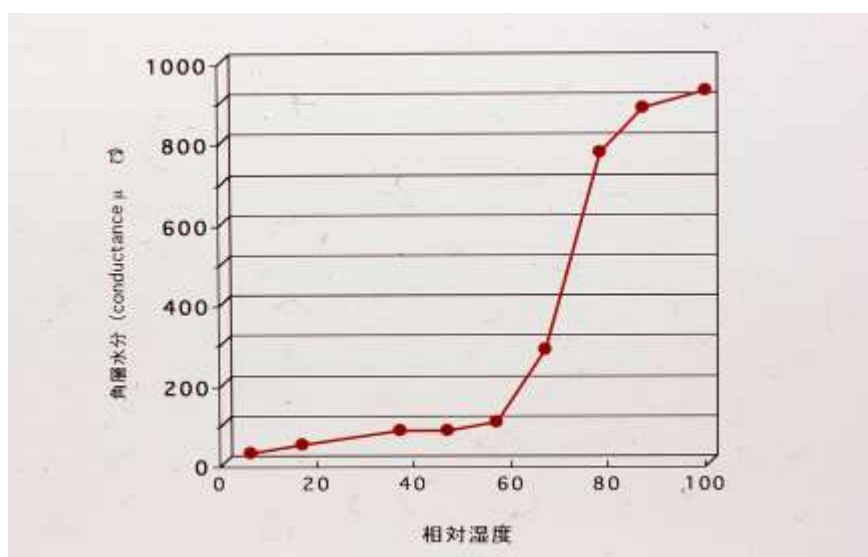
つ N2 気体を付加した後、インピーダンスメーターのプローブをチャンバーに【図-89】のごとく装着し、角層水分量を測定する。【図-90】は各種湿度%で角層水分量を SKICON 200 で測定した結果で、角層水分量はほぼ環境湿度に依存し変化し、湿度60%までは低い水分量で湿度に比例して徐々に増加し、湿度が60%を超えると急激に角層水分量は湿度%に比例して増加する2相性の直線関係を示す。

図-89：



任意の環境湿度の気流を作りながらの水分量の測定図

図-90：

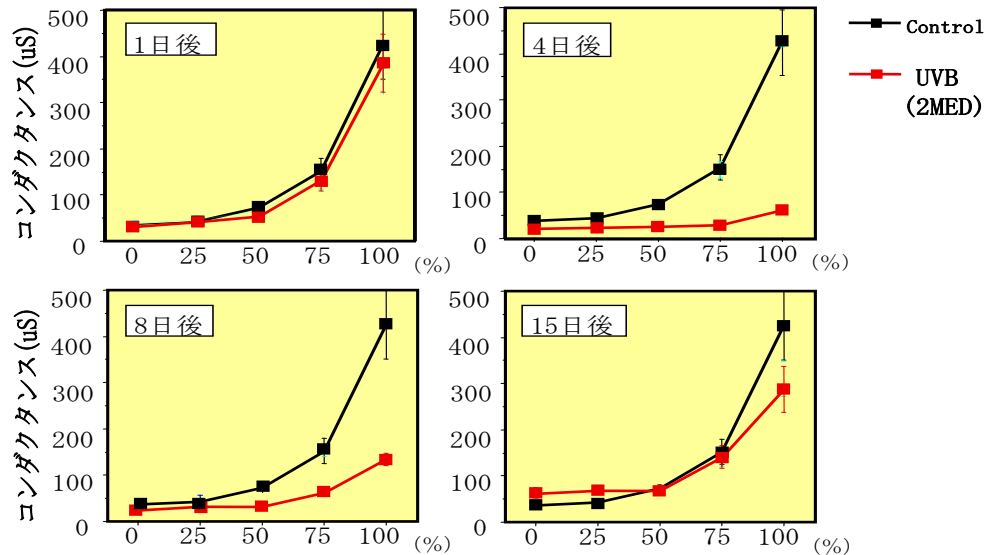


角層水分量の相対湿度による変化

● 紫外線単回照射の角層水分量への影響

この環境湿度に対する角層水分量の測定を紫外線（UVB）の2MEDエネルギーでの照射後に行うと、1点の湿度%のみでの測定に比べより明瞭な角層水分量の性状が理解できるようになる。【図-91】はその結果で、紫外線照射1日後では未照射

図-91：

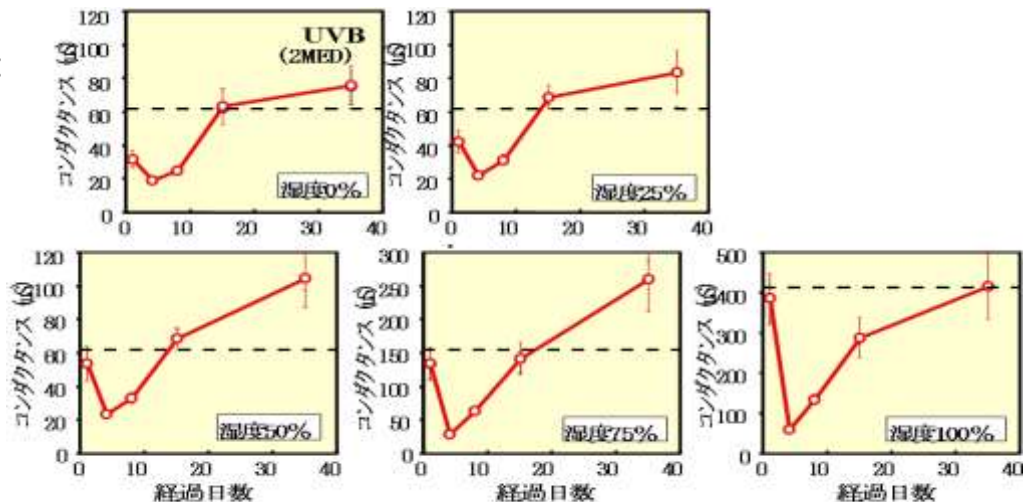


紫外線照射後の角層水分量の相対湿度による経時変化

部位と比べても角層水分量の湿度依存性にはほとんど変化は認められないが、4日後には明瞭な変化が生じ、角層水分量はいずれの湿度%でも低下するがより湿度%が高い方が相対的な低下率は大きくなっている。この低下傾向は紫外線照射8日後でも認められるが、15日後では低湿度%では角層水分量は未照射に比べ逆に増加する傾向を示した。

この紫外線2MED照射後の角層水分量の観察をさらに延長して測定すると【図-92】、75%までの湿度ではいずれも8-15日後に照射直後の角層水分量にも

図-92：

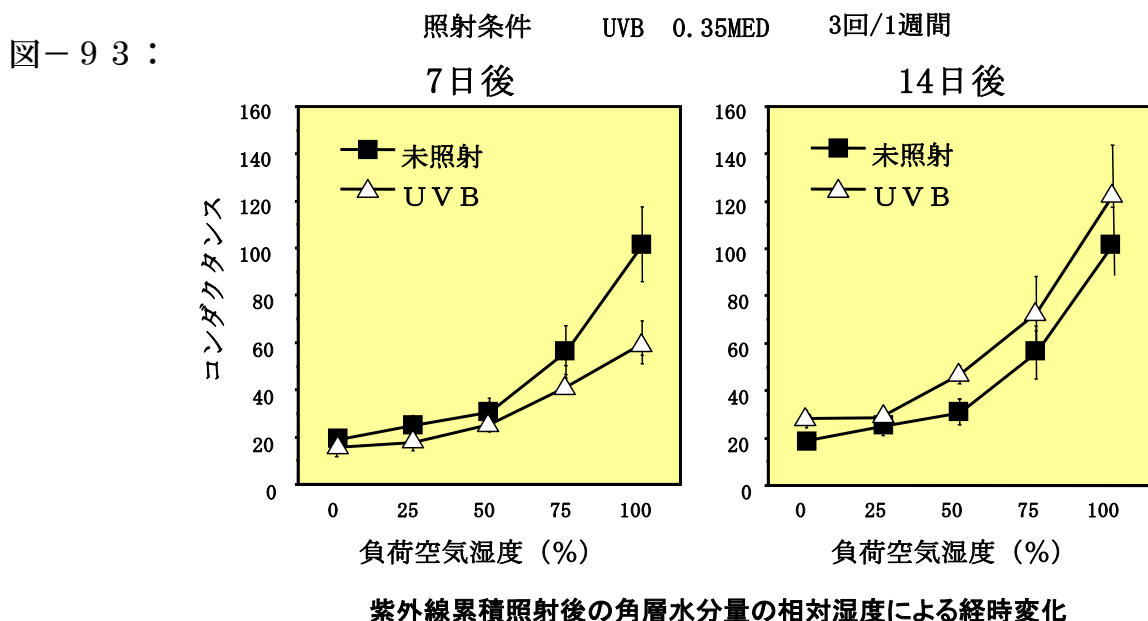


紫外線照射後の角層水分量の相対湿度による35日までの経時変化

どり、さらにその後35日まではさらに角層水分量は増加する。湿度100%での測定時のみ、角層水分量の低下はもっとも強く、35日後になって始めて照射直後の値まで回復する。

● **紫外線累積照射の角層水分量への影響**

紫外線（UVB）の照射エネルギーを下げ、0.35MEDで1週間に3回累積照射をした時の環境湿度に対する角層水分量の測定を行った結果【図-93】、7日後では2MEDの単回照射の8日後と同様な全測定湿度%での角層水分量の低下を認め、高湿度%でより低下率は大きくなっていった。一方14日後では全湿度%で角層水分量は未照射部位に比べ逆に増加した。



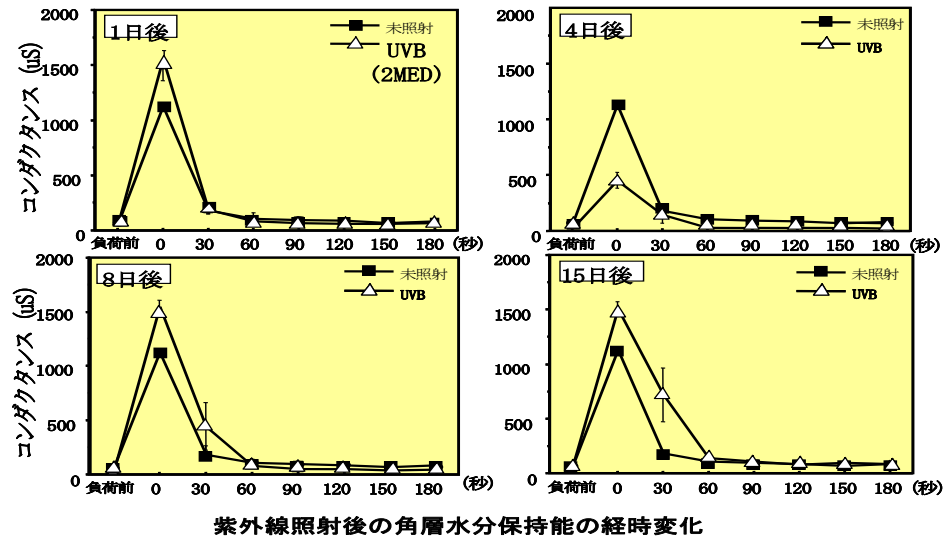
● **水負荷法 (Sorption/Desorption Method) による角層水分保持機能の測定**

田上らが最初に報告した方法で、角層の水分保持能力を測定することができる。温度25℃湿度40%に調節した環境可変室内で前腕皮膚に100・1の蒸留水を塗布し、10秒間静置した後、拭き取り直後から30秒ごとにコンダクタンスを測定する。

● **紫外線単回照射の角層水分保持能への影響**

【図-94】に紫外線（UVB）の2MED照射後の1-15日で水負荷法により角層水分保持機能を測定した結果を示す。紫外線照射1日後ですでに照射部では未照射部に比べ水分の吸収能は有意に上昇しその後4日目では逆に有意に減少するが

図-94 :

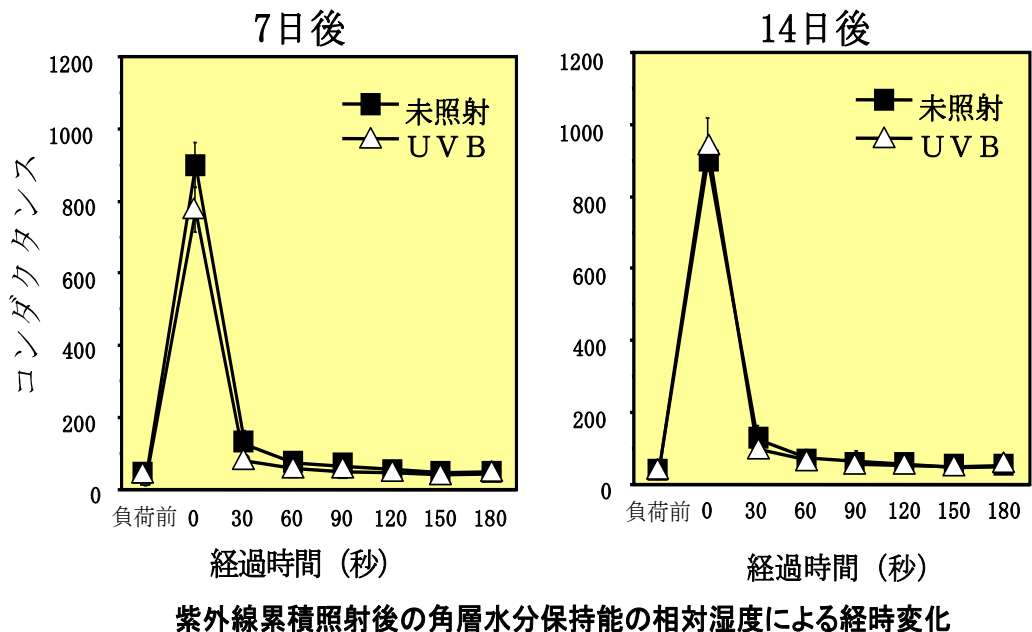


その後8と15日目では未照射に比べて上昇に転じる。水分保持能に関しては1日目では変化は認められないが、4日後では未照射に比べ低下し、8と15日後では水分吸収能は増加するが水分保持能にはほとんど差は見られない。

● 紫外線累積照射の角層水分保持能への影響

【図-95】に紫外線 (UVB) の0.35MEDでの1週間に3回の照射後での水負荷法により角層水分保持機能を測定した結果を示す。こちらは2MEDの単回照射に比べて影響は少なく、7日後にわずかに水分の吸収能が低下しているのみで14日目にはすでに差が認められなくなっている。また水分保持能には7と14日後で変化は認められない。

照射条件 UVB 0.35MED 3回/1週間
図-95 :



7. 保湿剤評価プロトコール

背景

保湿剤は本来自然に備わっている角質層の水分保持機能が種々の原因により低下し、皮膚が正常レベル以下に乾燥した状態を、改善する目的で使用されるもので、従って保湿剤評価は、一般に水分保持能をインピーダンスメータによる水分含量の測定および乾燥変化の一指標になる落屑の程度をもっておこなうのが通例である。この目的のためには、もしあまり皮膚の乾燥をきたしていない健常者を被験者として用いる場合は、種々の方法により、皮膚の乾燥落屑状態を誘導した後、試験試料を塗布し、上述の2項目を測定する。

また、保湿剤が化粧プロセス上は化粧水で使われることが多いことから洗顔後に生じる顔面のツッパリ感の程度や、その際の水分量の変化に対する効果からも評価することが可能である。

保湿剤の評価を上手にやるコツ

対象保湿剤の性質を見極め、乾燥皮膚の種類を上手に選ぶ

洗浄剤により引き起こされた皮膚角層の乾燥化

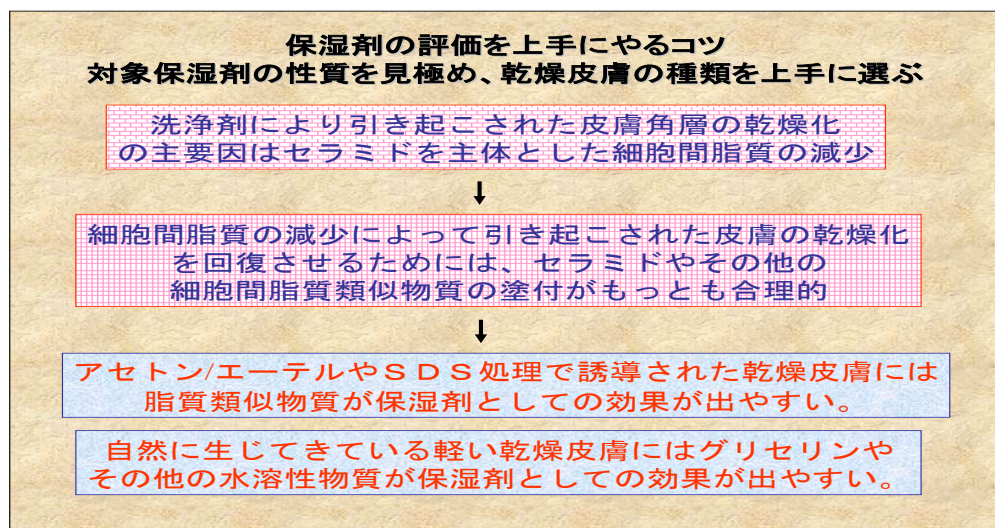
の主要因はセラミドを主体とした細胞間脂質の減少

細胞間脂質の減少によって引き起こされた皮膚の乾燥化

を回復させるためには、セラミドやその他の細胞間脂質類似物質の塗付がもっとも合理的

アセトン/エーテルやSDS処理で誘導された乾燥皮膚には脂質類似物質が保湿剤としての効果が出やすい。

図-96 :



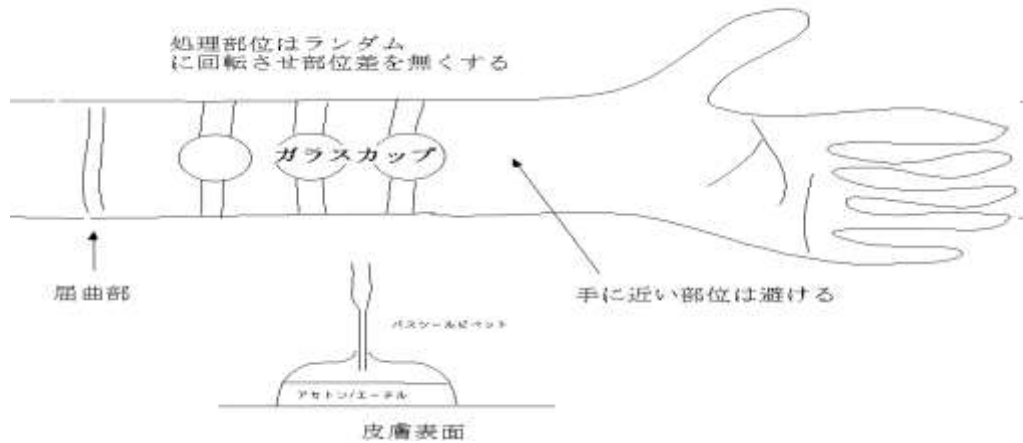
7-1. 乾燥落屑性変化の誘導法と保湿剤評価法

a) アセトン/エーテル処理

【図-97】に示す如く被験者の前腕内側に、特製のガラスカップ（直径3 cm）を装着し、そこにアセトン/エーテル（1/1）の溶液を、皮膚が十分に浸る量（約10 ml）を注入する。約30分わずかにガラスカップを揺らしながら放置し皮膚を処理する。この処理では皮膚角層から皮脂及び細胞間脂質を抽出除去し、4日間持続する乾燥落屑性変化が誘導される。

アセトン/エーテル処理図

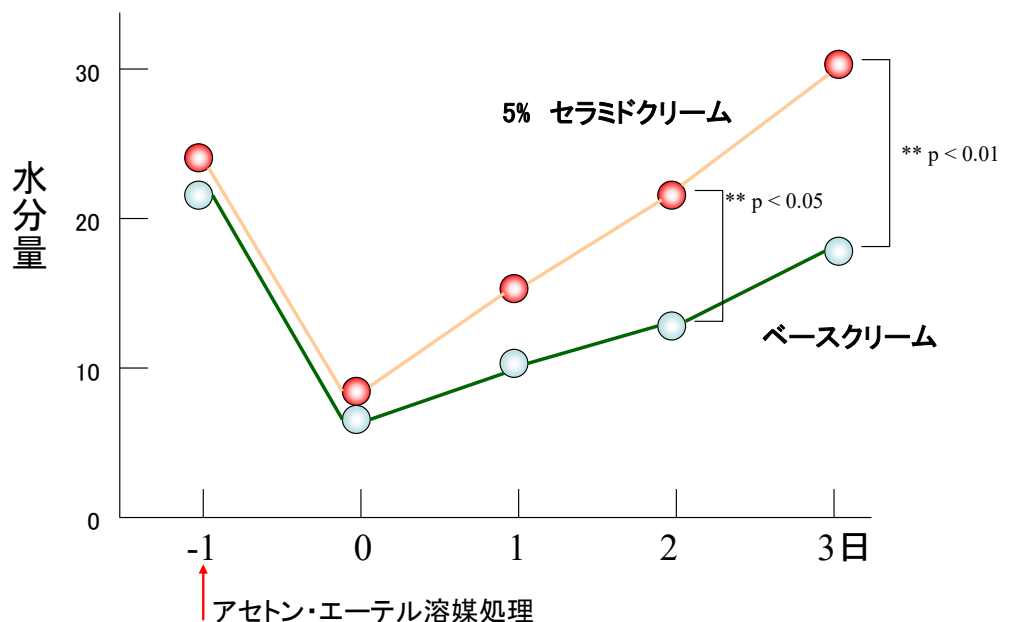
図-97：



このアセトン・エーテル処理により誘導した水分低下皮膚への保湿剤として合成セラミドを用いた塗布試験結果を【図-98】を示した。

合成セラミドの乾燥改善効果

図-98：



b) アセトン/エーテル + 水処理

より強い乾燥落屑性変化を誘発したい場合は、アセトン/エーテル処理を30分したのち、さらに20分間、温水処理を同じ部位でおこなう。この処理では、皮膚角質層からアミノ酸などの水溶性成分が効率よく抽出されより強い乾燥落屑性変化が誘導できる。

試料の塗布法、処理期間及び観察測定法

a) 試料の処理と観察測定

前腕内側の処理部を温水で軽くリンスまたは洗浄剤で軽く洗浄したのち（油性の試料の場合）、ふき取り、20分湿度40%、22度の環境可変室で、コンデショニングしたのち、コンダクタンスの測定と落屑の評価を行う。その後、試料を約2ul/cm²の量で前腕内側処理部に刷り込む。此の処理を実験の期間におおじて、1日1回または2回行う。観察測定に際は、温水で軽く処理部位をリンスするか、試料が油性の場合は、洗浄剤で軽く洗浄し、皮膚表面に付着している試料をなるべく除去し、真に角質層における水分状態および落屑の評価をおこなう。

b) 試験期間

試験期間と試料の塗布のタイミングは【図-99, 100, 101】に示す如くである。

5日間の実験の場合は、第1日に観察測定を行った後に、アセトン/エーテルまたはアセトン/エーテル+水処理をおこない、第2日午前、軽く洗浄後、観察と測定をおこなった後、試料を塗布する。ここの観察測定でアセトン/エーテルまたはアセトン/エーテル+水処理でどのくらい乾燥落屑性変化が誘導できたかが判る。第2日夕方に試料を塗布し、よく第3日午前、軽く洗浄後、観察と測定をおこなった後、試料を塗布する。更に午後に試料を塗布し、これらの操作を繰り返し、第5日目の午前、軽く洗浄後、観察と測定をおこなう【図-99】。

1日のみで行う場合は、【図-100】の如く予定処理部位の観察測定を行った後、アセトン/エーテルまたはアセトン/エーテル+水処理をし1時間後に、軽く洗浄した後試料を塗布し、約4時間後に、軽く洗浄し、観察測定を行う。

評価したい保湿剤の性質およびポテンシャル、また被験者の都合におおじて、試験期間は変更可能である。すなわち3日間で行いたい場合は、【図-101】の如きプロトコールになる。

なお環境可変室などが使用できない場合は、測定日の気候により湿度温度が変化するので、測定部位以外の完全無処理コントロール部位のコンダクタンスを測定の際記録しておくとの後の結果の整理の際に便利である。

図-99:

保湿剤評価プロトコール

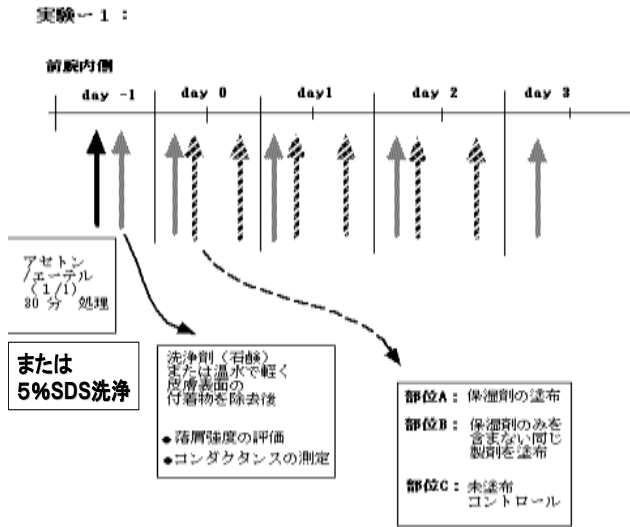


図-100:

保湿剤評価プロトコール

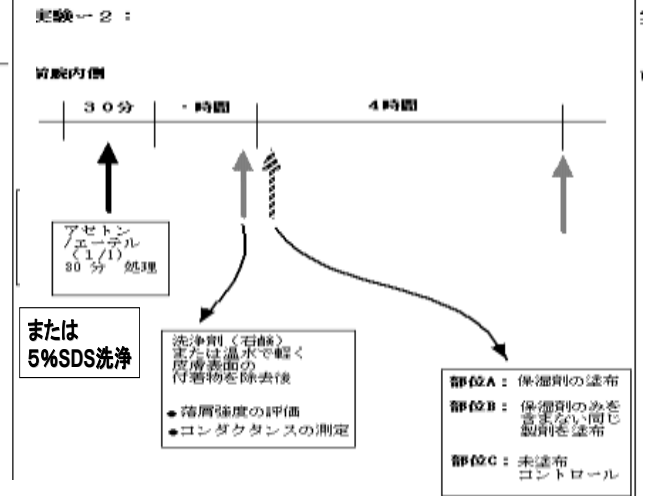
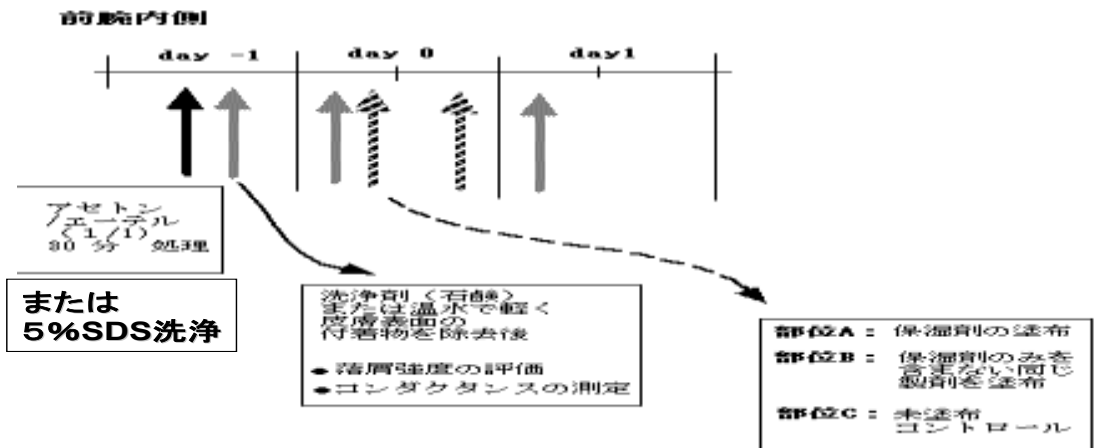


図-101:

保湿剤評価プロトコール

実験-3:



c) 被験者の数

評価したい試料数にも関係するが、保湿効果を正確に評価するためには少なくとも10名は必要である。アセトン/エーテル処理部の数は被験者一人両腕を使用しても、6カ所が限度であり、もし評価保湿剤試料が1つの場合は、保湿剤のみを含まない試料と、アセトン/エーテル処理後無処理の部位が必要であるので、計3部位となり、一人の被験者で片腕のみで十分であるが、評価試料が増えたり、濃度の異なる試料が加われば、両腕を使う必要がある。必ずアセトン/エーテル処理後無処

理の部位と保湿剤のみを含まない試料部位は必要で、また、他の保湿剤との比較も行いう場合が多いので、一人の被験者の両腕を使用する場合が多くなる。

d) 結果のまとめ方

a) 水分含量および落屑の程度を直接に処理日対して表示
評価した保湿剤がある程度のポテンシャルをゆうしているものであれば、ビークルのみのコントロールに比べて有意差が示されるデータとなる。

● 回復%で表示

アセトン/エーテル処理前と処理後のコンダクタンスの差を100%として、試料塗布により何%コンダクタンスが回復したかでも、保湿剤の効果を現すことが出来る。

● 最終日での無処理部との比較のみを表示

途中の測定を省きアセトン/エーテル処理部での最終観察測定の結果のみで、まとめることもできる。

● 統計的解析手法

皮膚症状の各スコアの平均値の3群間の有意検定には a nonparametric one-way ANOVA (Kruskal-Wallis test) を、2群間の有意検定には Mann-Whitney U test を用いた。また機器測定値の平均値の3群間の有意検定には one-way ANOVA with Tukey 's post-hoc multiple comparison test を、また2群間の有意検定には Student 's t-test を用いた。またスコアと機器測定値の相関の検定には Spearman 's rank correlation coefficient 法を、機器測定値間の相関の検定には Pearson 's correlation coefficient 法を用いた。統計の計算は Windows software の JSTAT 8.2 を使いコンピューターで計算すると便利。

**X保湿剤のアセトン・エーテル処理前腕での
短期使用試験プロトコール**

試験名	I. X保湿剤の前腕での短期使用試験
試験目的	X保湿剤の保湿に関する有用性を、左右前腕皮膚に誘導した乾燥症状に対して5日間使用し、評価する。
対象	健全な前腕皮膚を有する方
除外基準	a) 本試験の評価に影響を与える皮膚症状を前腕有する方 b) その他、担当医師が不相当と判断した方
デザイン	アーム コンペアー テスト
被験部位	左右前腕
試験試料	A群 ① X保湿剤含有乳液 ② 無処置 B群 ③ X保湿剤含有化粧水 ④ Y保湿剤含有化粧水
試験方法	左右前腕皮膚にアセトン・エーテル+温水処理を行った直後に、試験試料を、被験部位に原則として直後と1日1回、5日間使用し、試験開始時と開始1時間後及びその後連日5日間の肌状態を観察し、水分量およびバリア機能を測定する。
試験期間	200x年6月12日～200x年6月23日の5日間
実施施設 および 目標例数	(株)XXXXX ラボ 20例 x 2群 = 40例

1. 目的

×保湿剤含有乳液もしくは化粧水の保湿に関する有用性を、左右前腕皮膚に誘導した乾燥症状に対し、5日間連続使用により検討する。

2. 対象

左右前腕にアセトン・エーテル＋温水処理で乾燥落屑性皮膚を誘導した方。1群20例で2群計40例

除外基準

- a) 本試験の評価に影響を与える皮膚症状を有する方
- b) その他、担当医師が不相当と判断した方

3. 被験者の同意

試験開始前に、担当医は文書または口頭にて被験者から承諾を得る。

4. 試験方法

(1) 被験試料

- 1. ×保湿剤含有乳液
- 2. ×保湿剤含有化粧水

(2) 試験部位

左右前腕皮膚。

(3) 方法

<使用方法および試料の割り振り>

1) 試験開始日に左右前腕皮膚にアセトン・エーテル処理を20分行いさらに温水処理10分処理により誘導された乾燥落屑性皮膚に試験品をアセトン・エーテル＋温水処理直後およびその後連日4日間一日一回使用し、被験部位の乾燥性変化および水分量、バリアー機能を開始日、3日目及び5日目に測定する。被験部位を明瞭にするため、アセトン・エーテル＋温水処理部皮膚の周辺2点に黒マジックにてマークする。

2) 試験期間中では被験者は試験部前腕皮膚への一切の外用を不可とする。

3) 左右前腕への試料の割り付けは別紙にて割り付け表を作成し、皮膚観察者には提示せずし、単盲験試験とする、

<試験開始日>

1) 被験者のイニシャル、性別、生年月日、カルテ No.、職業、実施施設、担当医師名、被験者の同意年月日とその種類、左右前腕皮膚の乾燥の程度、既往症、合併症について所定の欄に記録する。

2) アセトン・エーテル+水処理部位を処理前および処理後20分、試料塗布直前および処理後1時間、開始日、3、5日目観察し、乾燥、落屑についてその症状を、1：なし、2：軽微、3：軽度、4：中等度、5：重度の5段階で判定し、所定の欄に記入する

3) 症状観察部位と同一部位を皮膚測定部位として定め、皮膚測定を以下の評価項目で行う。なお皮膚症状の観察および皮膚測定は湿度40%以下、温度20度前後の環境可変室にて30分以上皮膚を馴化した後に、同環境条件にて行う。

項目\実施時期		A/E+温水 処理直前	A/E+温水 処理後2 0分試料 塗布直前	開始日 試料 塗布後 1時間	3、5日目 塗布直前	3、5日目 塗布後 1時間
診察		○	○	○	○	○
被験者への説明と同意取得		○				
観察・問診項目	被験者背景	○				
	皮膚所見	○	○	○	○	○
	皮膚測定 (※)	○	○	○	○	○
	有害事象				←————→	
評価項目 (※)	皮膚所見	○	○	○	○	○
	角層水分量	○	○	○	○	○
	経表皮水分蒸散量	○	○	○	○	○
	弾力性	○	○	○	○	○
	きめ	○	○	○	○	○

※評価項目の凡例 ○：1部位のみで評価を行う

1. 角層水分量：Corneometer：アセトン・エーテル処理後試料塗布部内で計3回異なる部位で測定した平均を測定値とする。
2. 経表皮水分蒸散量：VAPO METER (or TEWA METER)：アセトン・エーテル処理後試料塗布部内で計3回異なる部位で測定した平均を測定値とする。
3. 弾力性：CUTOMETER：決められた観察皮膚部位の中央で弾力性を200 mbで5秒間吸引後解除し、その後2秒間の計7秒間の変異を測定する。測定は1部位に対し4回行う。
4. きめの変化：Roboskin Analyzer RSA-100：処理皮膚中央部でのきめの変化を定法に従い測定する。

4) 必要に応じて写真撮影を行う。撮影の有無については、所定の欄に記入する。

< 3日、5日目 >

1) 3日および5日目は可能な限り試験開始日と同様な時刻に皮膚観察および皮膚測定を行う。

2) 症状観察部位と同一部位を皮膚測定部位として定め、皮膚測定を以下の評価項目で行う。なお皮膚症状の観察および皮膚測定は湿度40%以下、温度20度前後の環境可変室にて30分以上皮膚を馴化した後に、同環境条件にて行う。

3) 症状観察部位を観察し、上述のように各症状について判定し、所定の欄に記入する。5：重度より悪化した場合は、数字を◎で囲む。

4) 試験開始時からの各症状の改善度を総合的に判断し、++：著しく改善、+：改善、±：やや改善、-：不変、×：悪化の5段階で判定し、所定の欄に記入する。

5) 有害事象について、その発現の有無を所定の欄に記入する。有害事象が発生した場合、その程度と試験品使用との因果関係について下表に従い判定し、その発現日、症状、程度、因果関係を所定の欄に記入する。

程度	試験品との因果関係
A：即座に中止し、症状が重い 重篤な皮膚炎(紅斑、浮腫、丘疹、水疱などを伴う)、ざ傷などが生じて使用を中止し、皮膚科で治療を行った、あるいは行う必要があった場合など。	
B：中止はしたが、症状は軽度 軽度な皮膚炎(軽い紅斑、刺激感など)、ざ傷などが生じ、治療の必要はないが使用を中止した場合など。	1. 明らかに関連あり
C：中止はしたが、症状は軽微 軽微な発赤、乾燥、痒み、痛みなどにより使用を中止した場合など。	2. おそらく関連あり
D：中止はしたが、症状は軽度または軽微で再使用可能 軽度あるいは軽微な皮膚症状が生じ一時使用を中止したが、再使用が可能であった場合。	3. 関連を否定できない
E：中止はなく、症状は軽度または軽微で継続可能 軽度あるいは軽微な皮膚症状が生じたが、継続使用が可能であった場合。	4. 関連なし
F：中止はなく、感覚的症状であり継続可能 症状がなく、継続使用が可能であった場合。	

- 6) 有害事象について、その発現の有無を所定の欄に記入する。有害事象が発生した必要に応じて写真撮影を行う。撮影の有無については、所定の欄に記入する。
- 7) 担当医師にコメントがあれば、所定の欄に記入する。

<試験 2, 4 日目>

1. 被験者は自宅にて就寝前に 15 分間試料を左右前腕の決められた部位に決められた試料を塗布する。

<最終判定日：5 日目>

- 1) 試験開始時からの乾燥状態の改善度を総合的に判断し、それぞれの質の改善度として、++：著しく改善、+：改善、±：やや改善、-：不変、×：悪化の 5 段階で判定し、所定の欄に記入する。
- 2) 左右前腕の改善度の比較を行う。
- 3) 皮膚測定で改善効果が認められた項目を所定の欄に記入する。
- 4) 皮膚状態及び乾燥状態の最終改善度および皮膚測定結果を総合的に判断し、1：きわめて有用、2：有用、3：やや有用、4：無用、5：有害の 5 段階で有用性を判定し、所定の欄に記入する。
- 5) 担当医師にコメントがあれば、所定の欄に記入する。

<中止・脱落時、その他>

- 1) 中止・脱落が発生した場合、中止日を記入し、その分類、理由について、下表の選択肢より選び記入する。

2)

分類	理由
1. 中止 (担当医師の判断)	1.試験品による有害事象 (副作用) 2.試験品以外が原因による皮膚異常 (1)合併症の悪化 (2)アトピー性皮膚炎の悪化 (3)その他
2. 中止 (被験者の判断)	
3. 脱落 (被験者の判断)	
	3.アトピー性皮膚炎の改善 4.来院せず 5.その他

- 3) 中止の場合は中止時点で改善度・安全性などの評価を行い有効症例とする。脱落の場合は評価対象外とし、有効症例とはしない。
- 4) 本来不適格な例が後で判明した場合や、被験者の試験参加同意の撤回な

どによる除外例、医師側または被験者側の試験計画違反による逸脱例は、有効症例としない。

5. 実施施設および施設別目標例数

実施施設	目標例数
A 群 例	20
B 群 0 例	2

合計	40 例

6. 試験期間

200x 年 6 月 12 日 ~ 200x 年 6 月 23 日

7. 連絡先

xxxx

株式会社 xxxxxx

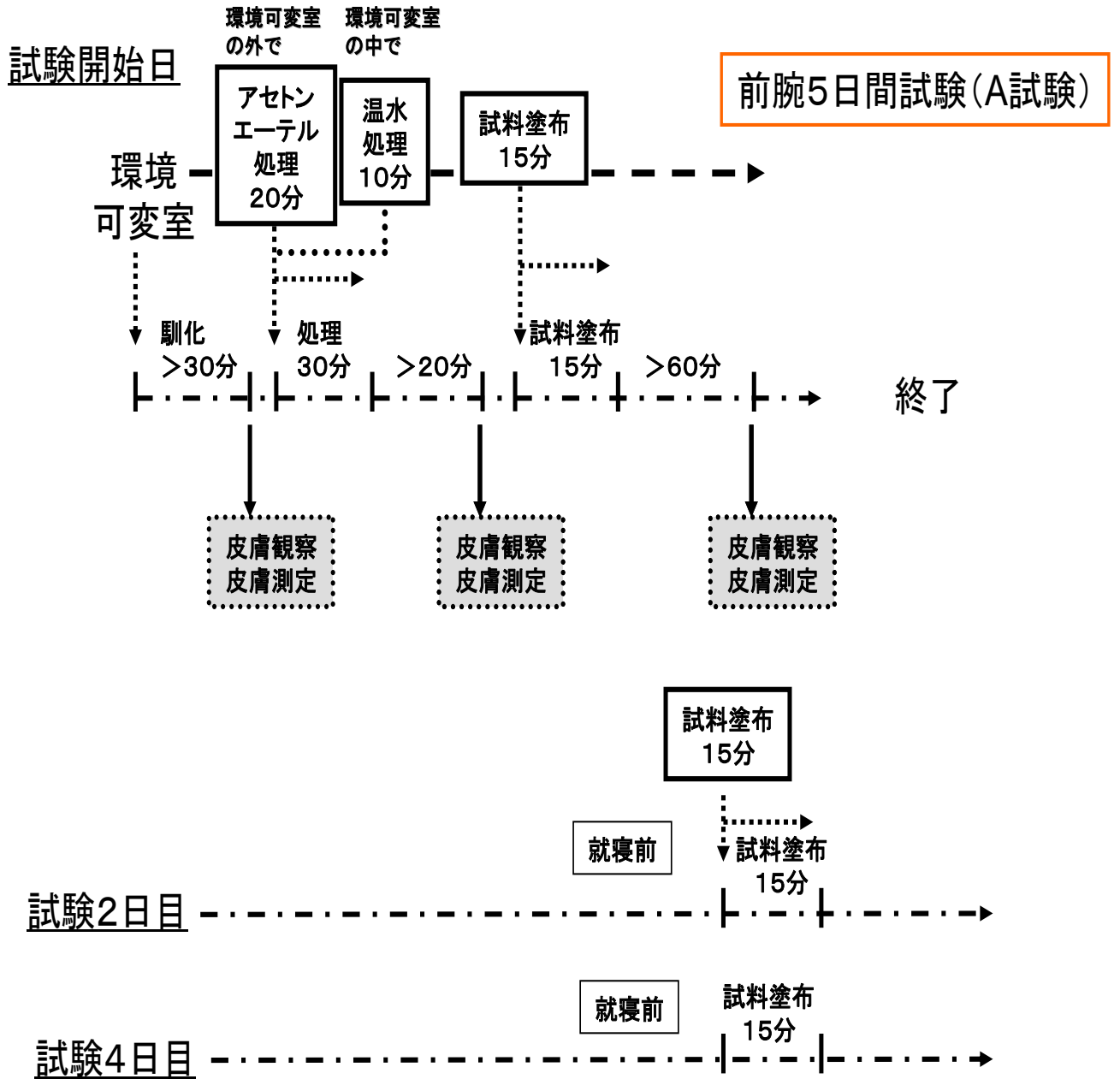
住所： 〒107-xxx 東京都 xx 赤坂 xxx

電話： 03-xxxxx-xxxxx

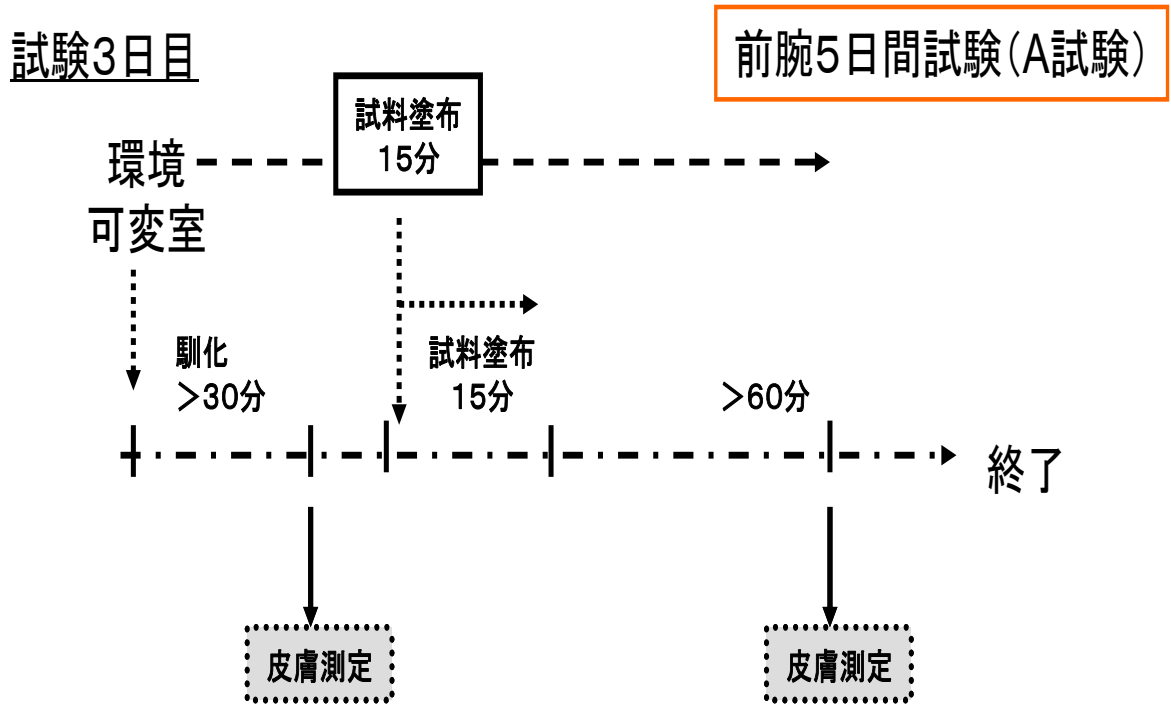
Fax： 03-xxxxx-xxxxx

E-mail： ixxxx@xxx.xxx.jp

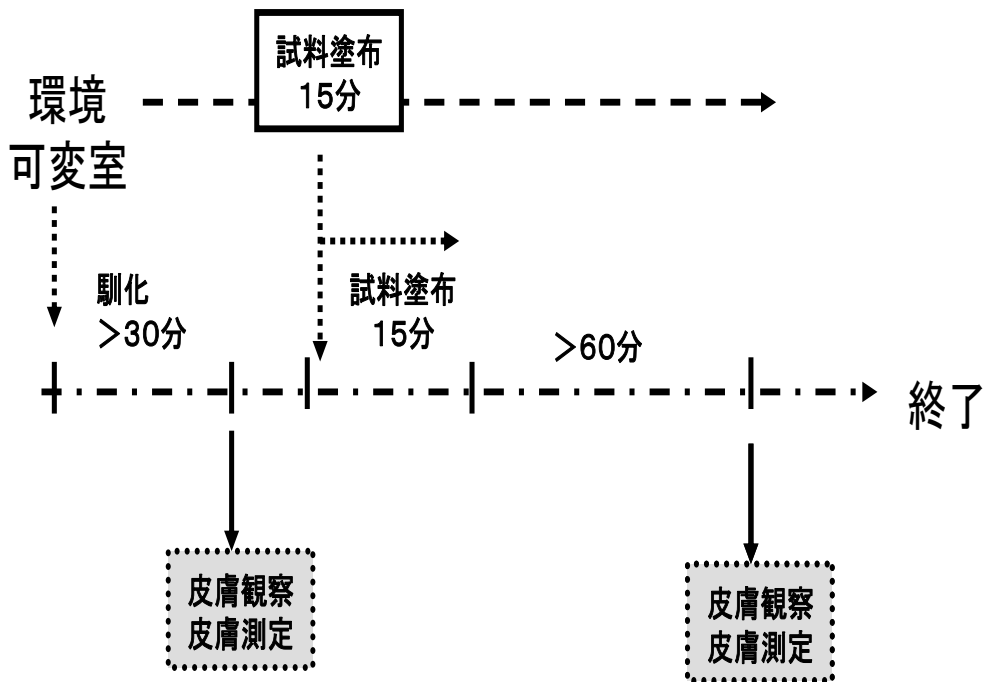
試験工程図一1



< 試験行程図—2 >



試験5日目(最終日)



【CASE CARD】

氏名 (イニシャル)		性別	男 ・ 女	番号	
生年月日 年齢	昭和・平成 _____ 年 _____ 月 _____ 日 _____ 歳			施設名	
				担当医師	印
被験者の 同意年月日と種 類	平成 _____ 年 _____ 月 _____ 日 1. 文書 2. 口頭				
対象	健康人の前腕のアセトン・エーテル20分+水処理により誘導した乾燥皮膚				
既往症	1. なし 2. 気管支喘息 3. アレルギー性鼻炎 4. 蕁麻疹 5. 接触皮膚炎 ※原因に○ <input checked="" type="radio"/> (1) 化粧品 (2) 外用剤 (3) その他 (4) 不明 6 . そ の 他 ()				
合併症	1. なし 2. 気管支喘息 3. アレルギー性鼻炎 4. 蕁麻疹 5. ざ瘡 <input checked="" type="radio"/> 6. 接触皮膚炎 ※原因に○ (1) 化粧品 (2) 外用剤 (3) その他 (4) 不明 7 . そ の 他 ()				

【乾燥皮膚誘導】

a) アセトン/エーテル処理法

被験者の前腕内側に、特製のガラスカップ(直径3cm)を装着し(図-1参照)、そこにアセトン/エーテル(1/1)の溶液を、皮膚が十分に浸る量(約10 ml)を注入する。約30分わずかにガラスカップを揺らしながら放置し皮膚を処理する。この処理では皮膚

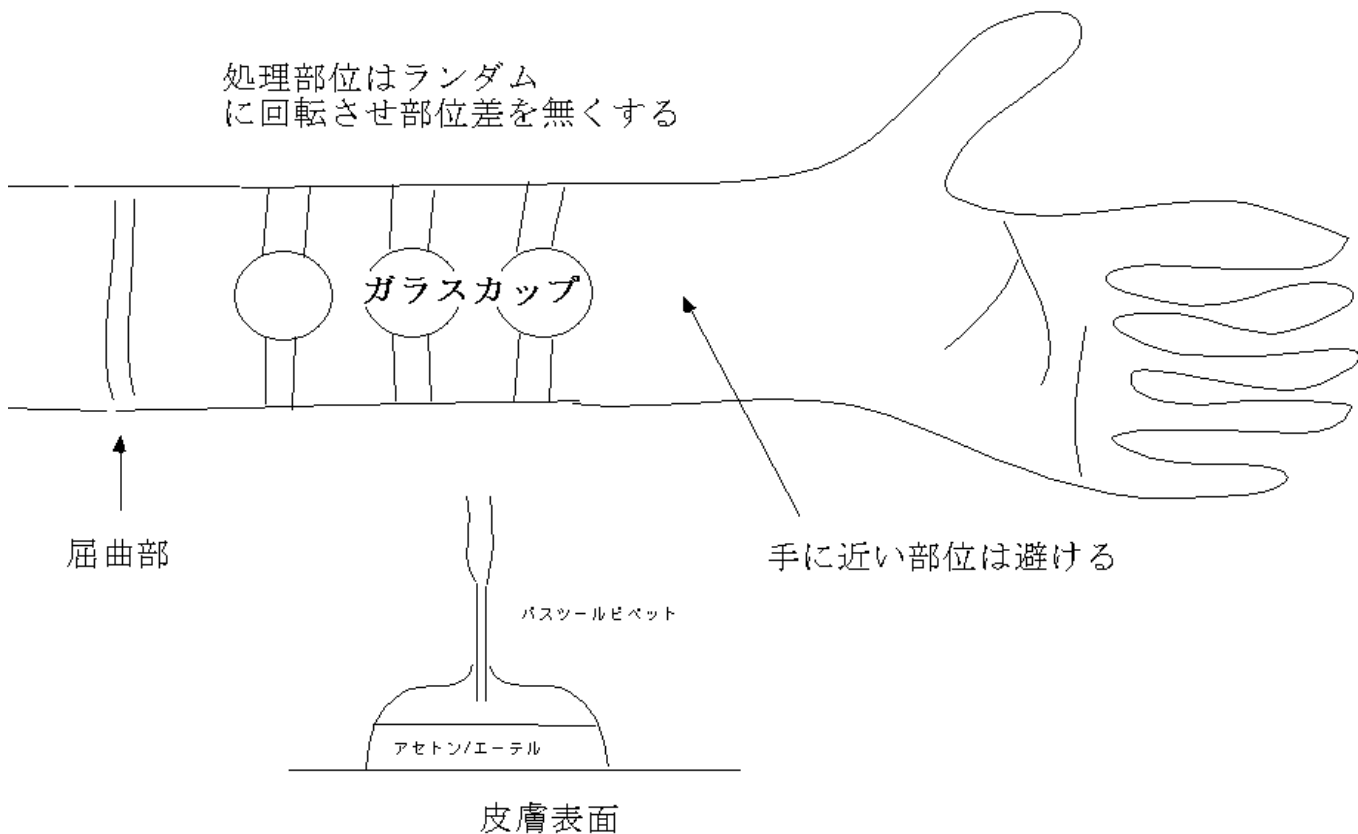
角層から皮脂及び細胞間脂質を抽出除去し、4日間持続する乾燥落屑性変化が誘導される。

b) アセトン/エーテル + 水処理法

より強い乾燥落屑性変化を誘発したい場合は、アセトン/エーテル処理を30分したのち、さらに20分間、温水処理を同じ部位でおこなう。この処理では、皮膚角質層からアミノ酸などの水溶性成分が効率よく抽出される。

図-1

アセトン/エーテル処理図



【A GROUP: CASE CARD-1】

観察日			A/E 処理直前 ____月____日	1) 処理20分 後 塗布直前 ____月____日	2) 試料塗布 1時間後 ____月____日	3) 3日目塗布 直前 ____月____日	
皮膚状態の観察	(前腕) 皮膚所見	乾燥	右	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
			左	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
		落屑	右	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
			左	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
	改善度 全般的	右			++ + ± - ×	++ + ± - ×	
		左			++ + ± - ×	++ + ± - ×	
写真撮影			有 ・ 無	有 ・ 無	有 ・ 無	有 ・ 無	
コメント							

判定基準	皮膚所見	1 : なし 度 2 : 軽微 5 : 重度 < 5 : 重度より悪化した場合は、数字を◎で囲む >	3 : 軽度	4 : 中等
	全般的改善度	++ : 著しく改善 (乾燥、落屑スコアの合計が 3 ポイント以上改善)、 改善 (乾燥、落屑スコアの合計が 2 ポイント改善) 落屑スコアのいずれかが 1 ポイント改善) +- : やや改善(乾燥、 - : 不変 × : 悪化 皮膚所見より、試験開始前からの変化について担当医師が総合的に判断する。		

皮膚状態の観察	皮膚測定(前腕)	1. 水分量	右									
			左									
		3. TEWL	右									
			左									
		4. 弾力性	右									
			左									
		5. きめ	右									
			左									
		改善効果の認められた	測定項目									

観察日			4) 3日目塗布 1時間後	5) 5日目塗布 直前	6) 5日目塗布 1時間後	
			月 日	月 日	月 日	月 日
観察	皮膚状態の	乾燥	右 1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
		左	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
判定基準	(前腕)皮膚所見	右	1:なし 3 4 度 5	1 2 3 4 2:軽微 5 5:重度	1 2 3 4 3:軽度 5	1 2 3 4 4:中等 5
		左	1 2 3 4 <5:重度より悪化した場合は、数字を◎で囲む>	1 2 3 4 ◎	1 2 3 4 ◎	1 2 3 4 ◎
	全般改善度	右	++:著しく改善 (乾燥、落屑スコアの合計が3ポイント以上改善)	+改善 (乾燥、落屑スコアの合計が2ポイント改善)	- ×	±:やや改善(乾燥、落屑スコアの合計が1ポイント改善)
写真撮影			有 ・ 無	有 ・ 無	有 ・ 無	有 ・ 無
コメント						

皮膚状態の観察	皮膚測定(前腕)	1. 水分量	右					
			左					
		3. TEWL	右					
			左					
		4. 弾力性	右					
			左					
5. きめ	右							
	左							
改善効果の認められた	測定項目							

<有害事象>

発現日	症状	程度	試験品との 因果関係	担当医師コメント
____月 ____日		A D B E C F	1 2 3 4	

判定基準	有害事象	程度	試験品との因果関係
		A : 即座に中止し、症状が重い 重篤な皮膚炎(紅斑、浮腫、丘疹、水疱などを伴う)、ざ傷などが生じて使用を中止し、皮膚科で治療を行った、あるいは行う必要があった場合など。 B : 中止はしたが、症状は軽度 軽度な皮膚炎(軽い紅斑、刺激感など)、ざ傷などが生じ、治療の必要はないが使用を中止した場合など。 C : 中止はしたが、症状は軽微 軽微な発赤、乾燥、痒み、痛みなどにより使用を中止した場合など。 D : 中止はしたが、症状は軽度または軽微で再使用可能 軽度あるいは軽微な皮膚症状が生じ一時使用を中止したが、再使用が可能であった場合。 E : 中止はなく、症状は軽度または軽微で継続可能 軽度あるいは軽微な皮膚症状が生じたが、継続使用が可能であった場合。 F : 中止はなく、感覚的症状であり継続可能 症状がなく、継続使用が可能であった場合。	1 : 明らかに関連あり 2 : おそらく関連あり 3 : 関連を否定できない 4 : 関連なし

____月 ____日		A D B E C F	1 2 3 4	
-------------	--	-------------------	------------------	--

中止日	分類	理由
月 日	1.中止 (担当医師の判断) 2.中止 (被験者の判断) 3.脱落 (被験者の判断)	1.試験品による有害事象 (副作用) 2.試験品以外が原因による皮膚異常 3.(1)合併症の悪化 (2)その他() 4.そ の ()

<中止・脱落>

最終判定日		平成 年 月 日
使用期間		平成 年 月 日 ~ 平成 年 月 日
最終改善度	皮膚乾燥状態	
	右腕	++ : 著しく改善 + : 改善 ± : やや改善 - : 不変 × : 悪化
	左腕	++ : 著しく改善 + : 改善 ± : やや改善 - : 不変 × : 悪化
	左右の改善度の比較	右>>左、 右>左、 右=左、 右<左、 右<<左
皮膚所見と皮膚機器測定結果を含めた有用性	右	1 : きわめて有用 2 : 有用 3 : やや有用 4 : 無用 5 : 有害
	左	1 : きわめて有用 2 : 有用 3 : やや有用 4 : 無用 5 : 有害
	左右の有用性の比較	右>>左、 右>左、 右=左、 右<左、 右<<左
コメント		

<総合評価>

【不完全実施例と改善度・安全性評価の有無】

分類	定義	理由	改善度・安全度
中止例	医師側の医学的判断による中止	1. 試験品による有害事象（副作用） 2. 試験品以外による皮膚異常 (1) 合併症の悪化 (2) アトピー性皮膚炎の悪化 (3) その他 3. その他	中止時点で評価を行う
	被験者の判断による中止 （ただし、中止後連絡・確認がとれたもの）	1. 試験品による有害事象（副作用） 2. 試験品以外による皮膚異常 (1) 合併症の悪化 (2) アトピー性皮膚炎の悪化 (3) その他 3. アトピー性皮膚炎の改善 4. その他	中止時点、または連絡時点で評価を行う
脱落例 （追跡不能）	被験者の判断による中止	1. 来院せず（連絡とれず） 2. その他	評価対象外
除外例	試験計画の選択基準に対する不合致、除外基準の対する抵触 （本来不適格な例）、参加同意の撤回		評価対象外
逸脱例	医師側の試験計画違反および被験者側の試験計画違反		評価対象外

c) SDS 処理

洗浄剤で乾燥落屑性変化を誘導する場合は、ソジウムドデシルサルフェイト（SDS）の5%水溶液を、同様に皮膚前腕内側に装着したガラスカップに、皮膚が十分に浸る量（約10ml）を注入し、30分間、皮膚表面に洗浄状態を作りだすよう、しっかりと頻りに揺らし、処理する。試験期間及び洗浄後の保湿剤の塗付のタイミングの違いによる【図-99, 100, 101】の如く異なるプロトコルで行うことが可能である。この処理では皮膚角層表面から皮脂および角層中から細胞間脂質およびアミノ酸などの水溶性成分が抽出され、4日間持続する乾燥落屑性変化が誘発される

常の生活活動で皮膚角層の水分保持機能が障害を受ける2大要因は過度の洗浄と紫外線暴露であり、今までに明らかとなった洗浄による皮膚の乾燥化のメカニズム

より、その主たる要因であるセラミドの溶出を防ぎ、起きてしまった後ではセラミドを補うケアが理想的なスキンケアとすることが出来る。セラミドを補うスキンケアのためには数%レベルでのセラミドの塗布が減少した水分保持機能を回復させてやるのには必要で、天然セラミドを用いる場合はきわめて高価であることが弱点となる。我々はこの弱点を回避するためにより安価な擬似合成セラミドの開発を行い、天然セラミドと変わらない水分保持能の増強効果を有する誘導体を開発した【a-14, 15】【図-102、103】。この合成擬似セラミドが洗浄により引き起こされた水分含量の低下を回復させる効果を示すかどうかをヒト前腕皮膚でSDS洗浄により生じさせた皮膚の乾燥落屑性変化へ3%擬似合成セラミド含有クリームを一日一回3日間塗布することにより評価した。その結果擬似合成セラミドの塗布によりコンダクタンス値であらわした水分量は、ベースクリームの塗布では無処理コントロールに比べて有意な増加は認められないのに対して、顕著でベースクリームに対しても有意な水

図-102：

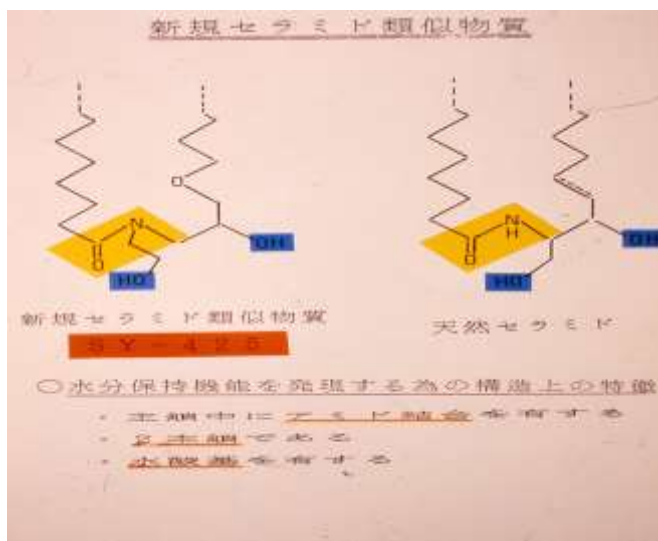
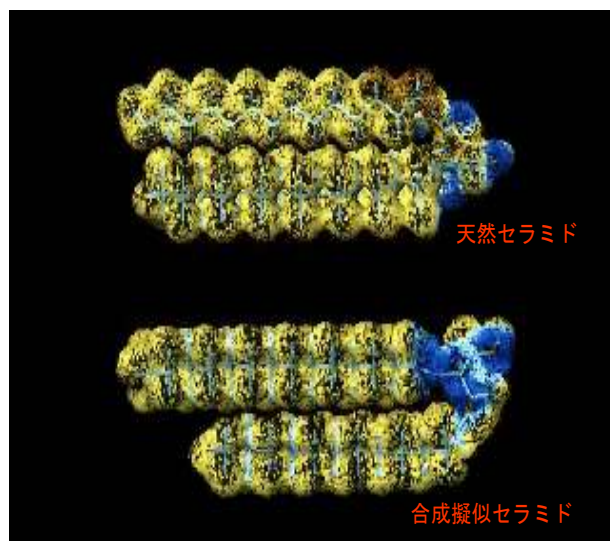
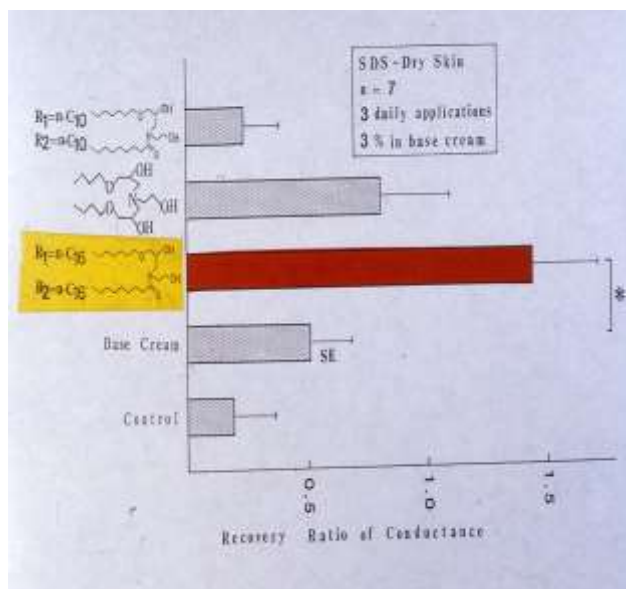
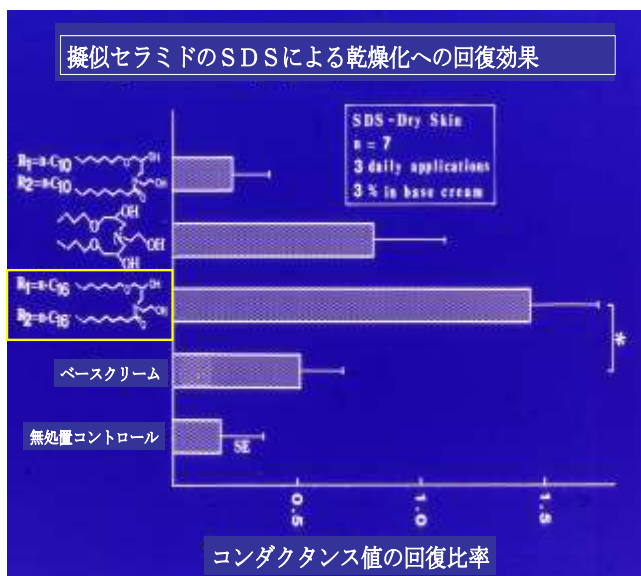


図-103：



分量の増加を示し【a-15】【図-104】、合成擬似セラミドは、日常的に洗浄により引き起こされる頻度の高い肌荒れに優れたスキンケア効果を示すことが実証された。過度の洗浄により乾燥化した皮膚では角化速度が増加し、角層の細胞面積が小さくなっている場合が多いが、合成擬似セラミドの塗布はこの角化速度も正常化し、その結果角層細胞の面積も健常な肌と同じレベルに回復することが明らかとなっている。

図-104 :

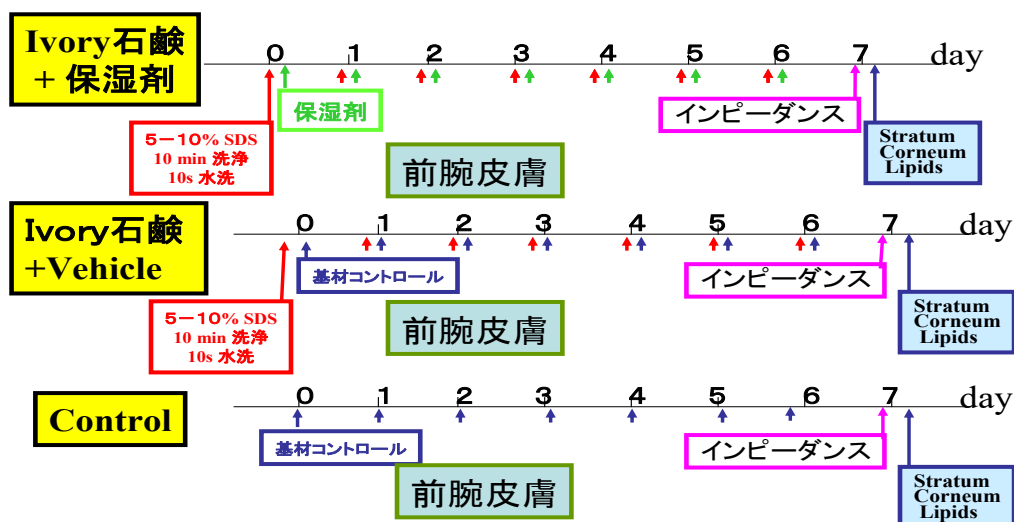


d) Ivory石鹼処

SDSは刺激が強いため長期の洗浄試験には適さないので、より現実に近い処理法としてIvory石鹼を用いて前腕左右を連日洗浄し、その後保湿剤含有処方を一日内数回塗布し、前腕皮膚における乾燥落屑性変化および水分量を測定し、効果を評価する方法がある【図-105】。試験期間は約3週間程度行くと結果が明瞭になりやすい。

石鹼処理誘導乾燥落屑変化への保湿剤評価のプロトコール

図-105 :



このことを実際の生活レベルで実証するため、カナダのユニベッグにてカナダ女性を被験者とし、アイボリー石鹼で連日過度な洗浄により肌荒れを誘発さ

せながら、5%擬似合成セラミド配合のクリームを連日使用することにより、顕著な肌荒れ防止および回復効果を、アメリカでの典型的なアンチエイジングクリームである Eucerin と比較しても有意に高く示すことが明らかとなり、擬似合成セラミドを用いたスキンケアの合理性と有効性が確認できた【e-4,5】【図-106, 107, 108】。

図-106 :

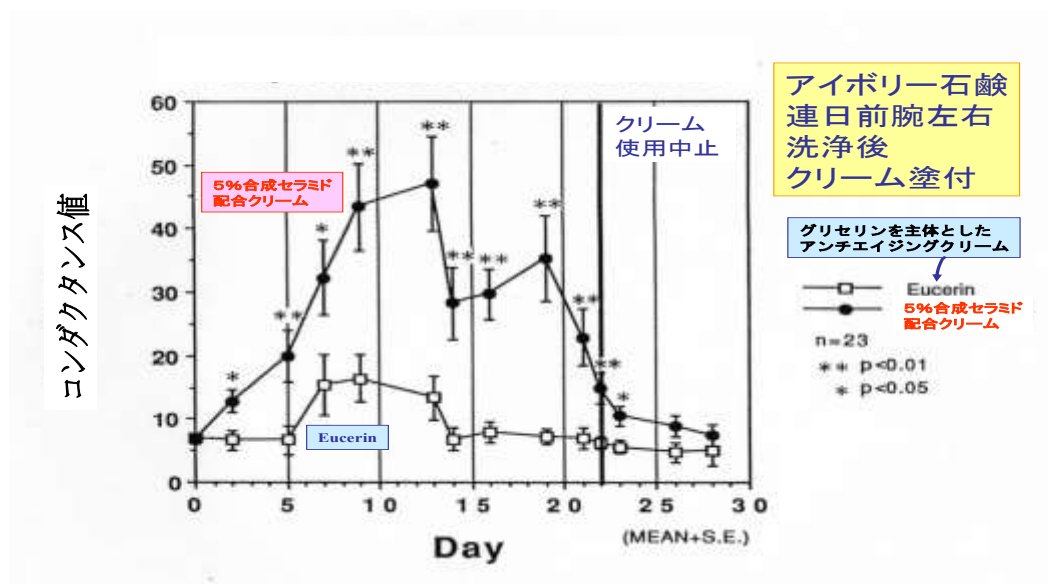


図-107 :

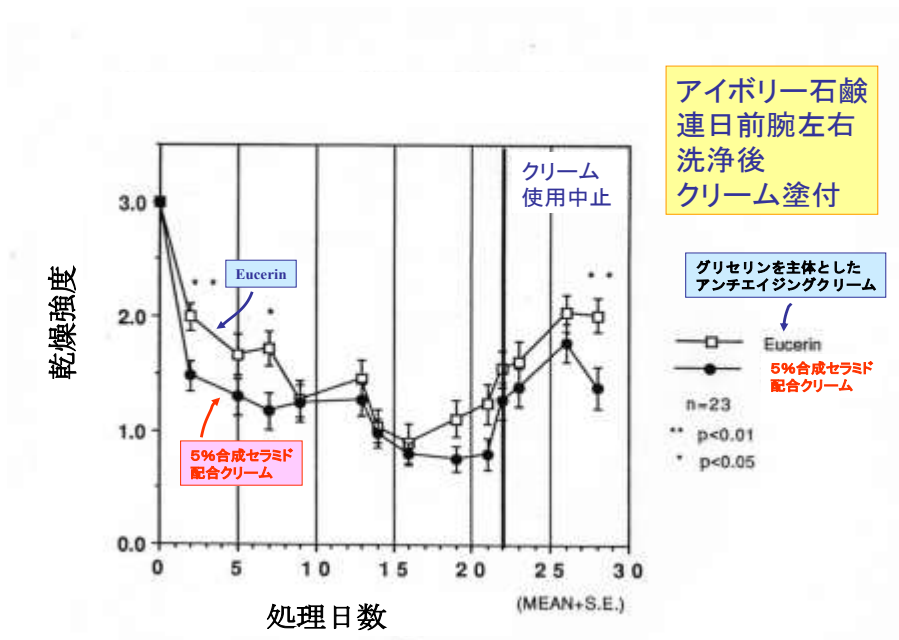
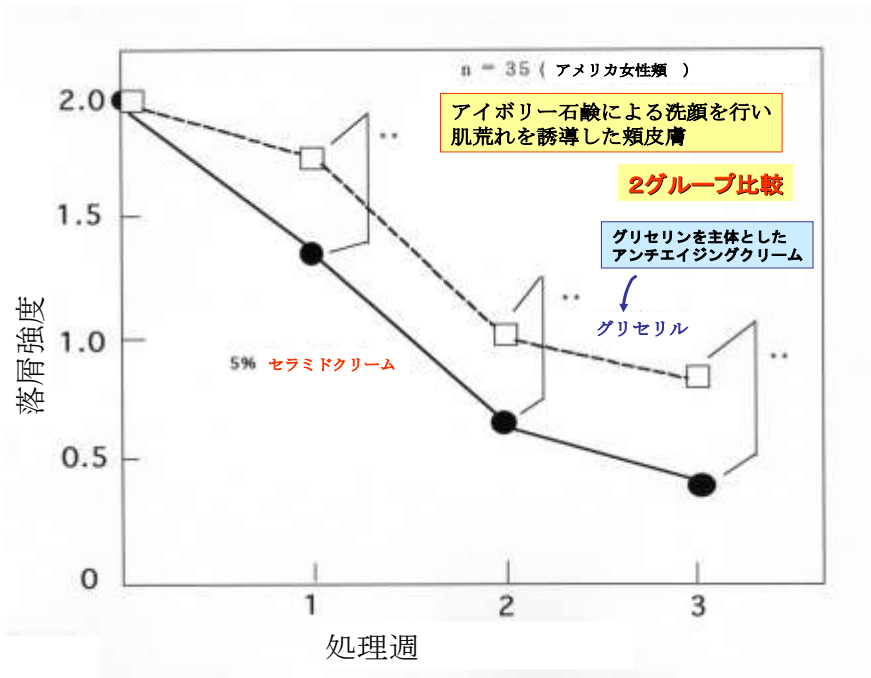


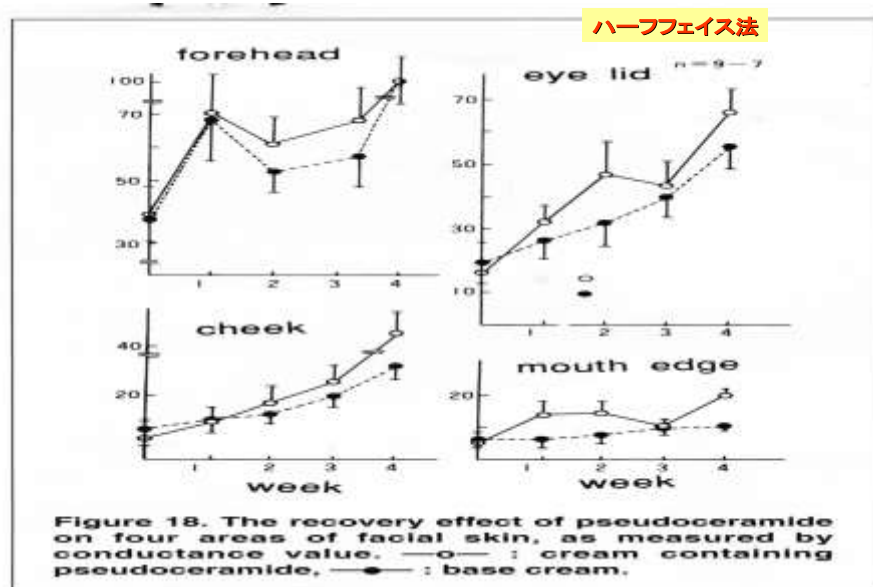
図-108 :



e) 乾燥顔面皮膚を示す被験者を使う方法

顔面に乾燥落屑性変化を有する被験者を用い、通常の洗浄および化粧の状態では保湿剤の乾燥落屑性および水分含量への影響を評価するもので、皮疹観察およびシンピーダンスメーターによる水分測定は洗顔後最低 20 分以上温度 20 度、湿度 40% 以下の環境に順化した後行う。コントロールとの比較を 2 群（一群 10 名以上）もしくはハーフフェイス法で行う。試験期間は 4 週間ほど観察する必要がある。本法により日本人女性顔面皮膚で行った実例を【図-109】に示した。

図-109 :



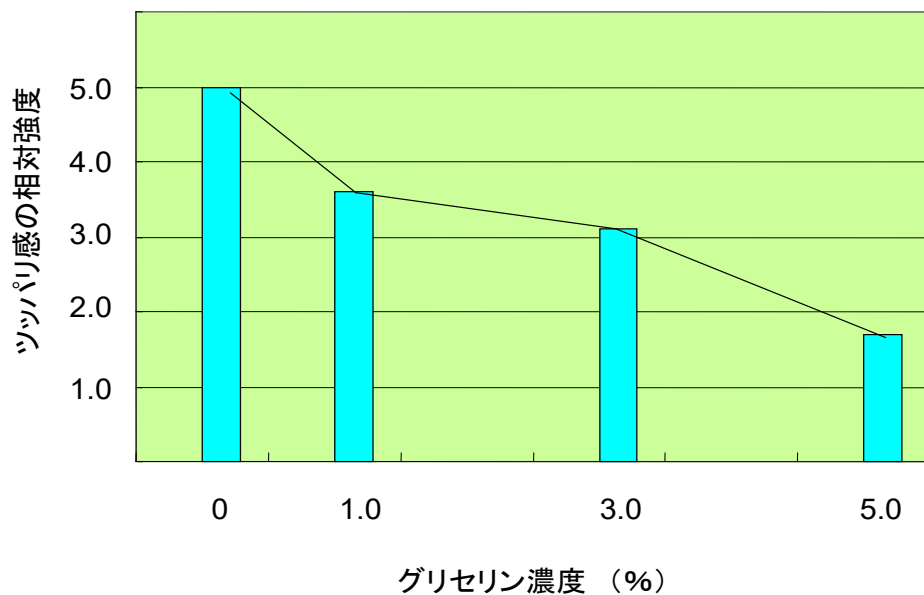
f) 顔面洗顔後のツッパリ感での評価

保湿剤が化粧プロセス上は化粧水で使われることが多いことから洗顔後に生じる顔面のツッパリ感の程度や、その際の水分量の変化に対する効果から評価する。

Ivory 石鹸で顔面を洗顔した直後に一定量の保湿剤を顔面に均一に塗布し、保湿剤を含まないコントロール処方と比較したツッパリ感の強さの程度および水分計で測定した水分含量の変化を比較し、保湿剤の効果の程度を評価する。。【図-110】にグリセリン水溶液の塗付によりSDS洗浄後に生じるツッパリ感が減弱する実例を示す。

図-110 :

5%SDS洗顔後10分におけるツッパリ感強度の グリセリン添加による抑制



顔面での保湿剤使用試験プロトコール

試験名	I. 顔面での保湿剤使用試験
試験目的	美容液の保湿に関する有用性を、顔面に軽度の乾燥症状を有する方を対象として、4週間使用により確認する。
対象	顔面に軽度の乾燥症状を有する方
除外基準	a) 本試験の評価に影響を与える皮膚症状を有する方 b) その他、担当医師が不相当と判断した方
デザイン	ハーフフェイス テスト
被験部位	右もしくは左顔面
試験試料	群 1. 美容液 A 2. 美容液 B
試験方法	美容液 A の保湿能に関する有用性を左右いずれかの顔面において対側の美容液 B 使用部皮膚との比較により評価する。
試験期間	200X 年 X 月 X 日 ~ 200X 年 X 月 X 日の間の4週間
実施施設 および 目標例数	(株) XXXXXXXX 20例 x 1群 = 20例

8. 目的

美容液 A の保湿に関する有用性を、顔面に軽度の乾燥を有する方を対象として、ハーフフェイス法にて 4 週間使用で美容液 B 使用皮膚と比較し評価する。

9. 対象

顔面に軽度の乾燥症状を有する方。1 群 20 例。

除外基準

- a) 本試験の評価に影響を与える皮膚症状を有する方
- b) その他、担当医師が不相当と判断した方

10.

被験者の同意

試験開始前に、担当医は文書にて被験者から承諾を得る。

4. 試験方法

(4) 被験試料

- 1. 美容液 A
- 2. 美容液 B

(5) 被験部位

左右顔面。

皮膚所見の観察および皮膚測定部位は左右頬部、前額部、目尻部、口角部とする。

(6) 方法

<使用方法>

美容液 A を、左もしくは右顔面に塗布し 60 分後での顔面皮膚への保湿効果を対象の対照の対側の美容液 B 使用部位と皮膚所見観察および皮膚測定により比較する。

<試験開始日>

5) 被験者のイニシャル、性別、生年月日、カルテ No.、職業、実施施設、担当医師名、被験者の同意年月日とその種類、顔面皮膚の乾燥の程度、既往症、合併症について所定の欄に記録する。

左右の顔面の皮膚の状態を観察し、症状および部位等について所定の欄に記録する。また、使用する部位数箇所を症状観察部位および皮膚測定部位として決定し、その部位に○印を記入する。皮膚所見の観察および皮膚測定部位は原則として左右頬部、前額部、目尻部、口角部とする。

6)

被験者は洗顔料にて顔の化粧を落とし、その後環境可変室

にて30分以上顔皮膚を湿度40%以下、温度20度前後で馴化する。皮膚の馴化後皮膚症状の観察および皮膚測定をおこなう。

7) 試験開始1週間前から当日までの乾燥状態について問診を行い、以下の基準で判定し、所定の欄に記入する。

乾燥状態は、1：全く感じない 2：時々感じる
3：いつも感じる の3段階で判定し、所定の欄に記入する。。

8) 馴化終了後症状観察部位を観察し、乾燥、落屑についてその症状を、1：なし、2：軽微、3：軽度、4：中等度、5：重度の5段階で判定し、所定の欄に記入する。

9) 症状観察部位と同一部位を皮膚測定部位として定め、皮膚測定を以下の評価項目で行う。なお皮膚症状の観察および皮膚測定は湿度40%以下、温度20度前後の環境可変室にて30分以上馴化した後に、同環境条件にて行う。

項目\実施時期		試験 開始 直前	塗布 後6 0分	塗布 後 1週間	塗布 後 2週間	塗布 後 3週間	塗布 後 4週間
診察		○					
被験者への説明と同意取得		○					
観察・問診項目	被験者背景	○					
	皮膚所見	◎				◎	
	皮膚測定 (※)	◎	◎	◎	◎	◎	◎
	皮膚拡大画像撮影 (キメ及び毛穴)【頬部のみ】	○				○	
	有害事象	↔					
評価項目 (※)	皮膚所見	◎				◎	
	角層水分量	◎	○	◎	◎	◎	◎
	経表皮水分蒸散量【頬部、前額部】	◎		◎	◎	◎	◎
	弾力性【目尻、頬部、前額部】	◎				◎	
	しわの本数 (目尻部のみ)	○				○	

※評価項目の凡例 ○：1部位のみで評価を行う ◎：複数部位で評価を行う

1. 角層水分量：Corneometer：決められた観察皮膚部位で計3回測定した平均を測定値とする。
2. 経表皮水分蒸散量：VAPO METER (or TEWA METER)：決められた観察皮膚部位で計3回測定した平均を測定値とする。

3. 弾力性：CUTOMETER：決められた観察皮膚部位の中央で弾力性を200 mbで5秒間吸引後解除し、その後2秒間の計7秒間の変異を測定する。測定は1部位に対し4回行う。
4. シワ本数：Roboskin Analyzer RSA-100：決められた観察皮膚部位でのシワ本数の変化を定法に従い測定する。

10) 必要に応じて写真撮影を行う。撮影の有無については、所定の欄に記入する。

<開始日試験>

左右いずれかの顔に美容液を塗付し、塗布後5、30、60、90、120分での顔面皮膚の症状観察および皮膚測定を行う。皮膚所見での全般的改善を皮膚観察後記載する。

それぞれの時間での皮膚所見観察の有無、皮膚測定部位は前表の観察および評価項目に表示したとおりに行う。

<試験終了時>

8) 症状観察部位を観察し、乾燥、落屑について判定し、所定の欄に記入する。5：重度

より悪化した場合は、数字を◎で囲む。

9) 試験開始時からの乾燥状態の改善度を総合的に判断し、左右別の改善度として、++：著しく改善、+：改善、±：やや改善、-：不変、×：悪化の5段階で判定し、所定の欄に記入する。被験者に使用感を聞き、1：非常に良い、2：良い、3やや良い、4：わからない、5：悪いの5段階で判定してもらい、所定の欄に記入する。

10) 顔面左右の改善度の比較を行う。

11) 皮膚状態及び乾燥状態の最終改善度、被験者評価を総合的に判断し、1：きわめて有用、2：有用、3：やや有用、4：無用、5：有害の5段階で有用性を判定し、所定の欄に記入する。

12) コメントがあれば、所定の欄に記入する。

13) 有害事象について、その発現の有無を所定の欄に記入する。有害事象が発生した場合、その程度と試験品使用との因果関係について下表に従い判定し、その発現日、症状、程度、因果関係を所定の欄に記入する。

程度	試験品との 因果関係
A：即座に中止し、症状が重い 重篤な皮膚炎(紅斑、浮腫、丘疹、水疱などを伴う)、ざ傷などが生じて使用を中止し、皮膚科で治療を行った、あるいは行う必要があった場合など。	
B：中止はしたが、症状は軽度 軽度な皮膚炎(軽い紅斑、刺激感など)、ざ傷などが生じ、治療の必要はないが使用を中止した場合など。	5. 明らかに関連あり
C：中止はしたが、症状は軽微 軽微な発赤、乾燥、痒み、痛みなどにより使用を中止した場合など。	6. おそらく関連あり
D：中止はしたが、症状は軽度または軽微で再使用可能 軽度あるいは軽微な皮膚症状が生じ一時使用を中止したが、再使用が可能であった場合。	7. 関連を否定できない
E：中止はなく、症状は軽度または軽微で継続可能 軽度あるいは軽微な皮膚症状が生じたが、継続使用が可能であった場合。	8. 関連なし
F：中止はなく、感覚的症状であり継続可能 症状がなく、継続使用が可能であった場合。	

14) 有害事象が発生した場合は、必要に応じて写真撮影を行う。撮影の有無については、所定の欄に記入する。

15) コメントがあれば、所定の欄に記入する。

<中止・脱落時、その他>

5)中止・脱落が発生した場合、中止日を記入し、その分類、理由について、下表の選択肢より選び記入する。

分類	理由
4. 中止 (担当医師の判断)	6.試験品による有害事象 (副作用)
5. 中止 (被験者の判断)	7.試験品以外が原因による皮膚異常
6. 脱落 (被験者の判断)	(1)合併症の悪化 (2)その他
	8.その他

6)中止の場合は中止時点で改善度・安全性などの評価を行い有効症例とする。脱落の場合は評価対象外とし、有効症例とはしない。

7)本来不適格な例が後で判明した場合や、被験者の試験参加同意の撤回などによる除外例、医師側または被験者側の試験計画違反による逸脱例は、有効症例としない。

1 1. 実施施設および施設別目標例数

実施施設 【株】 x x x x x

目標例数

A群 20例

B群 20例

合計 40例

12. 試験期間

200X年6月12日～200X年7月30日
日の間の1日

13. 連絡先

XXXX

株式会社 XXXXXXXX

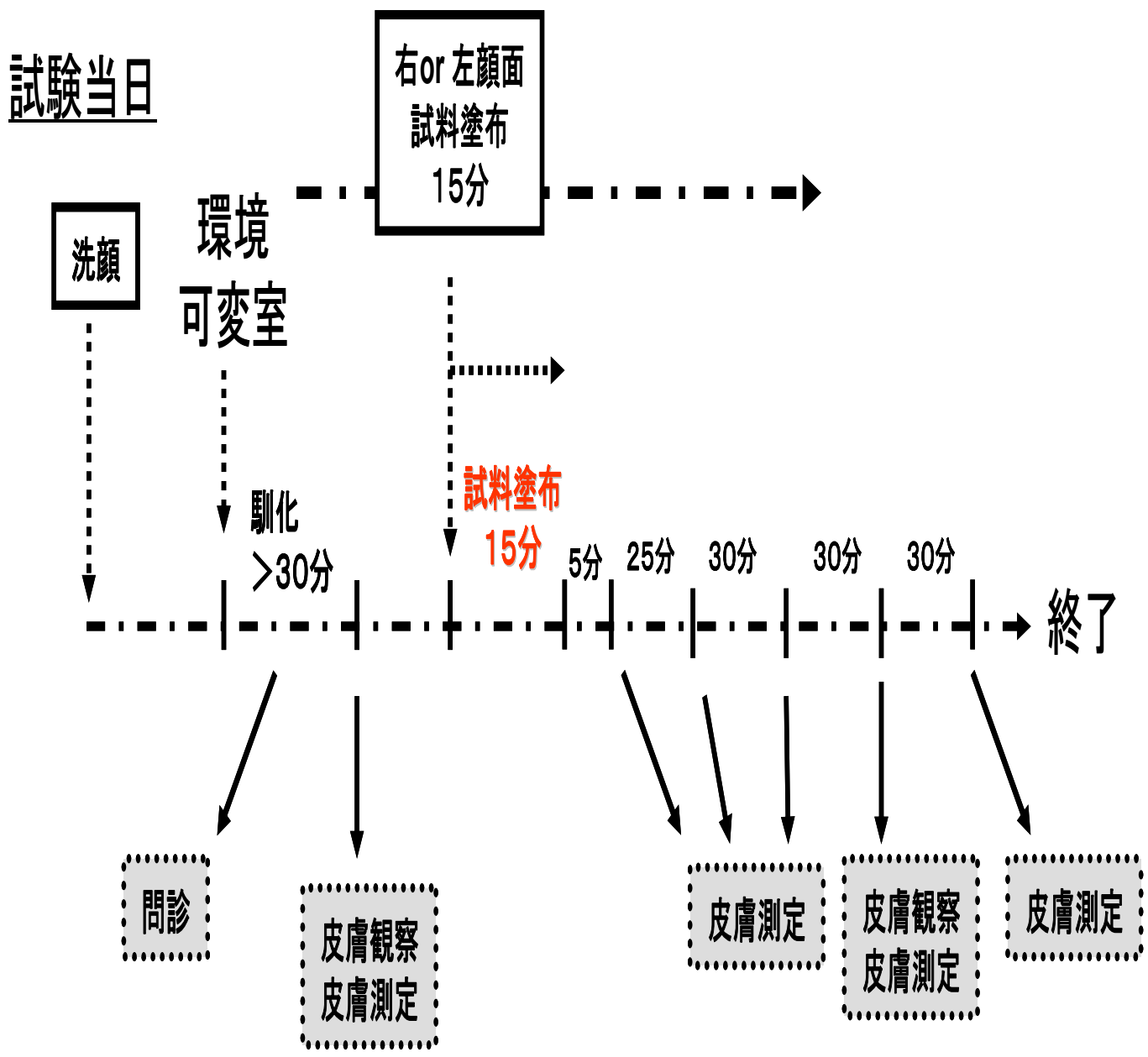
住所：〒107-XXXX 東京都 x x x x x

電話：03-5575-x x x x

Fax：03-5575-x x x x

E-mail：xxxx@dream.ocn.ne.jp

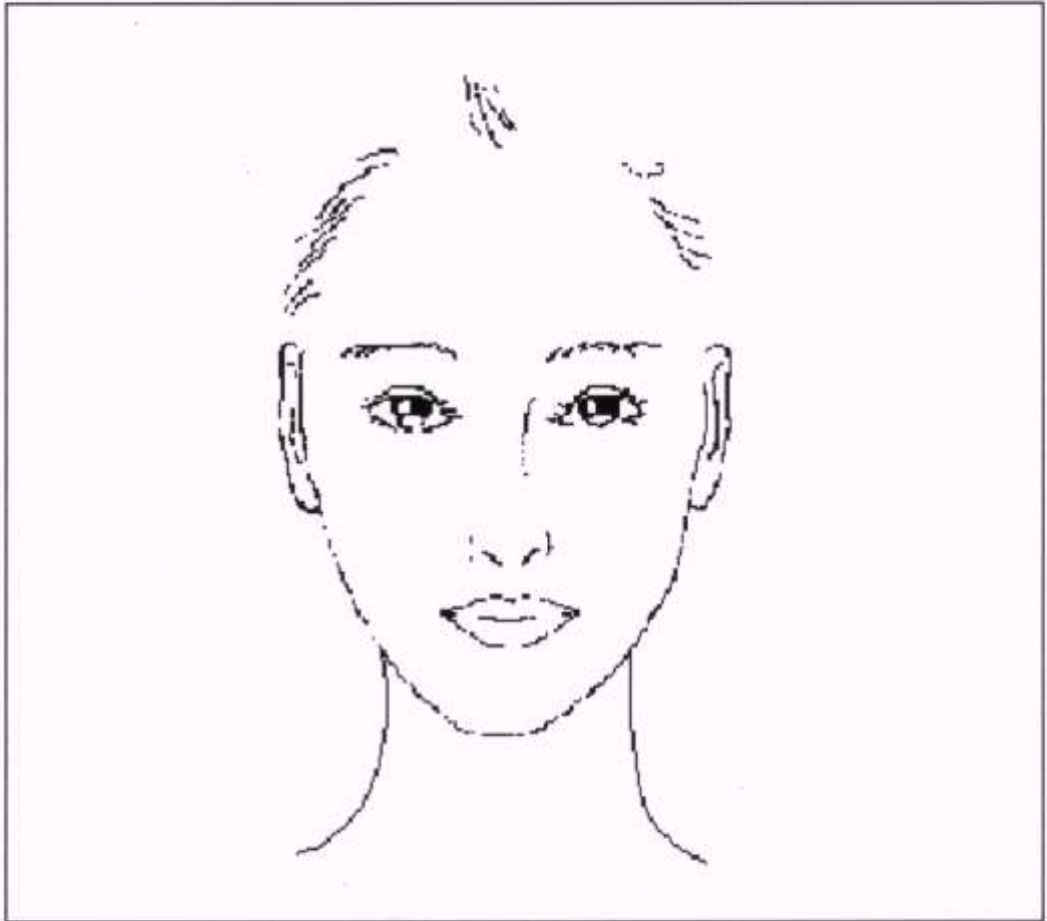
顔面1日間試験(C試験)



【GROUP: CASE CARD】

氏名 (イニシャル)		性別	男 ・ 女	番号	
生年月日 年齢	昭和・平成 年 月 日 歳				施設名
				担当医師	印
被験者の 同意年月日	平成 年 月 日 文書				
対象疾患	顔面に軽症から中等症の乾燥症状を有する方				
乾燥症状	1. 軽 症 2. 中等症 (3. 重 症)				
既往症	1. なし 2. 気管支喘息 3. アレルギー性鼻炎 4. 蕁麻疹 5. 接触皮膚炎 ※原因に○ (1) 化粧品 (2) 外用剤 (3) その他 (4) 不明 6 . そ の 他 ()				
合併症	1. なし 2. 気管支喘息 3. アレルギー性鼻炎 4. 蕁麻疹 5. ざ瘡 6. 接触皮膚炎 ※原因に○ (1) 化粧品 (2) 外用剤 (3) その他 (4) 不明 7 . そ の 他 ()				

観察部位をマーク



【 ____ GROUP: CASE CARD 頬部:皮膚所見】

観察日			試験開始直前	2週間後	4週間後	
			月 ____ 日	月 ____ 日	月 ____ 日	
皮膚状態の観察	(頬部) 皮膚所見	乾燥	右	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
			左	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
		落屑	右	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
			左	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
		全般的改善度	右	/	++ + ± - ×	++ + ± - ×
			左		++ + ± - ×	++ + ± - ×
写真撮影			有 ・ 無	有 ・ 無	有 ・ 無	
問診	乾燥ツツ パリ感	右	1 2 3	1 2 3	1 2 3	
		左	1 2 3	1 2 3	1 2 3	
	改善効果	右	/	++ + ± - ×	++ + ± - ×	
		左		++ + ± - ×	++ + ± - ×	
担当医師のコメント						

判定基準	皮膚所見	1 : なし 4 : 中等度 < 5 : 重度より悪化した場合は、数字を◎で囲む>	2 : 軽微 5 : 重度	3 : 軽度
	全般的改善度	++ : 著しく改善 + : 改善 ± : やや改善 - : 不変 × : 悪化 皮膚所見より、試験開始前からの変化について担当医師が総合的に判断する。		
	乾燥ツツパリ感	1 : 全く感じない 2 : 時々感じる 3 : いつも感じる		

【 _____ GROUP : CASE CARD : 頬部 : 皮膚測定】

観察日			試験開始直前	60分後	1週間後	2週間後	3週間後	4週間後	
皮膚状態の観察	皮膚測定(頬部)	水分量	右						
			左						
		TEWL	右						
			左						
		弾力性	右						
			左						
	毛穴面積	右							
		左							
			シ	右					

		ワ 本 数 面 積	左							
--	--	-----------------------	---	--	--	--	--	--	--	--

【___ GROUP:CASE CARD 前額部:皮膚所見】

観察日			試験開始直前					2週間後					4週間後					
			月		日			月		日			月		日			
皮膚状態の観察	(前額部) 皮膚所見	乾燥	右	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
			左	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
		落屑	右	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
			左	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
		全般的改善度	右	/					++	+	±	-	×	++	+	±	-	×
			左						++	+	±	-	×	++	+	±	-	×
写真撮影			有 ・ 無					有 ・ 無					有 ・ 無					
問診																		
	乾燥ツツ パリ感	右	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3				
		左	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3				
	改善効果	右	/					++	+	±	-	×	++	+	±	-	×	
左		++						+	±	-	×	++	+	±	-	×		

判定基準	皮膚所見	1 : なし 4 : 中等度 < 5 : 重度より悪化した場合は、数字を◎で囲む >	2 : 軽微 5 : 重度	3 : 軽度
	全般的改善度	++ : 著しく改善 + : 改善 ± : やや改善 - : 不変 × : 悪化 皮膚所見より、試験開始前からの変化について担当医師が総合的に判断する。		
	乾燥ツツパリ感	1 : 全く感じない 感じる	2 : 時々感じる	3 : いつも感じる
担当医師のコメント				

【 ___ GROUP : CASE CARD : 前額部 : 皮膚測定 】

観察日			試験開始直前	60分後	1週間後	2週間後	3週間後	4週間後
皮膚状態の観察	水分量	右						
		左						
	TEWL	右						
		左						
	弾力性	右						
		左						
毛	右							

		穴面積 シワ本数面積	左						
			右						
			左						

【 GROUP: CASE CARD 目尻部:皮膚所見】

観察日			試験開始直前	2週間後	4週間後	
			月 日	月 日	月 日	
皮膚状態の観察	(目尻部) 皮膚所見	乾燥	右	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
			左	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
		落屑	右	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
			左	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
		全般的改善度	右	/	++ + ± - ×	++ + ± - ×
			左	/	++ + ± - ×	++ + ± - ×
写真撮影			有 ・ 無	有 ・ 無	有 ・ 無	
問診	乾燥ツツパリ感	右	1 2 3	1 2 3	1 2 3	
		左	1 2 3	1 2 3	1 2 3	
	改善効果	右	/	++ + ± - ×	++ + ± - ×	
		左	/	++ + ± - ×	++ + ± - ×	
担当医師のコメント						
判定基準	皮膚所見		1 : なし 2 : 軽微 3 : 軽度 4 : 中等度 5 : 重度 <5 : 重度より悪化した場合は、数字を◎で囲む>			
	全般的改善度		++ : 著しく改善 + : 改善 ± : やや改善 - : 不変 × : 悪化 皮膚所見より、試験開始前からの変化について担当医師が総合的に判断する。			
	乾燥ツツパリ感		1 : 全く感じない 2 : 時々感じる 3 : いつも感じる			

【 ____ GROUP: CASE CARD: 目尻部: 皮膚測定】

観察日		試験開始直前	60分後	1週間後	2週間後	3週間後	4週間分後	
皮膚状態の観察	皮膚測定(目尻部)	水分量	右					
			左					
		TEWL	右					
			左					
		弾力性	右					
			左					
	毛穴面積	右						
		左						
	シワ本数面積	右						
		左						

【 ____ GROUP: CASE CARD 口角部:皮膚所見】

観察日			試験開始直前	2週間後	4週間後	
			月 日	月 日	月 日	
皮膚状態の観察	(口角部) 皮膚所見	乾燥	右	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
			左	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
		落屑	右	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
			左	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
		全般的改善度	右		++ + ± - ×	++ + ± - ×
			左		++ + ± - ×	++ + ± - ×
写真撮影			有 ・ 無	有 ・ 無	有 ・ 無	
問診	乾燥ツツパリ感	右	1 2 3	1 2 3	1 2 3	
		左	1 2 3	1 2 3	1 2 3	
	改善効果	右		++ + ± - ×	++ + ± - ×	
		左		++ + ± - ×	++ + ± - ×	
担当医師のコメント						
判定基	皮膚所見	1 : なし 2 : 軽微 3 : 軽度 4 : 中 等度 5 : 重度 < 5 : 重度より悪化した場合は、数字を◎で囲む >				

準	全般的改善度	++ : 著しく改善 + : 改善 ± : やや改善 - : 不変 × : 悪化 皮膚所見より、試験開始前からの変化について担当医師が総合的に判断する。
	乾燥ツツパリ感	1 : 全く感じない 2 : 時々感じる 3 : いつも感じる

【 ___ GROUP : CASE CARD : 口角部 : 皮膚測定】

観察日		試験開始直前	60分後	1週間後	2週間後	3週間後	4週間後	
皮膚状態の観察	皮膚測定 (口角部)	水分量	右					
			左					
		TEWL	右					
			左					
		弾力性	右					
			左					
	毛穴面積	右						
		左						
	シワ本数面積	右						
		左						

中止日	分類	理由
____月 ____日	4.中止 (担当医師の判断) 5.中止 (被験者の判断) 6.脱落 (被験者の判断)	5.試験品による有害事象 (副作用) 6.試験品以外が原因による皮膚異常 (1)合併症の悪化 (2)その他() 7.そ の () 他

発現日	症状	程度	試験品と の 因果関係	担当医師コメント
____月 ____日		A D B E C F	1 2 3 4	
____月 ____日		A D B E C F	1 2 3 4	

<有害事象>

判定基準	有害事象	程度	試験品との因果関係
		A : 即座に中止し、症状が重い 重篤な皮膚炎(紅斑、浮腫、丘疹、水疱などを伴う)、ざ傷などが生じて使用を中止し、 皮膚科で治療を行った、あるいは行う必要があった場合など。 B : 中止はしたが、症状は軽度 軽度な皮膚炎(軽い紅斑、刺激感など)、ざ傷などが生じ、治療の必要はないが使用を 中止した場合など。 C : 中止はしたが、症状は軽微 軽微な発赤、乾燥、痒み、痛みなどにより使用を中止した場合など。 D : 中止はしたが、症状は軽度または軽微で再使用可能 軽度あるいは軽微な皮膚症状が生じ一時使用を中止したが、再使用が可能であった 場合。 E : 中止はなく、症状は軽度または軽微で継続可能 軽度あるいは軽微な皮膚症状が生じたが、継続使用が可能であった場合。 F : 中止はなく、感覚的症状であり継続可能 症状がなく、継続使用が可能であった場合。	1 : 明らかに関連あり 2 : おそらく関連あり 3 : 関連を否定できな い 4 : 関連なし

<中止・脱落>

最終改善度	皮膚乾燥状態	右	++ : 著しく改善 + : 改善 ± : やや改善 - : 不変 × : 悪化
		左	++ : 著しく改善 + : 改善 ± : やや改善 - : 不変 × : 悪化
	左右の改善度の比較	右>>左、右>左、右=左、右<左、右<<左	
被験者評価	右	1 : 非常に良い 2 : 良い 3 : やや良い 4 : わからない 5 : 悪い	
	左	1 : 非常に良い 2 : 良い 3 : やや良い 4 : わからない 5 : 悪い	
有用性	右	1 : きわめて有用 2 : 有用 3 : やや有用 4 : 無用 5 : 有害	
	左	1 : きわめて有用 2 : 有用 3 : やや有用 4 : 無用 5 : 有害	
担当医師のコメント			

<総合評価>

【不完全例と改善度・安全性評価の有無】

分類	定義	理由	改善度・安全度
中止例	医師側の医学的判断による中止	4. 試験品による有害事象（副作用） 5. 試験品以外による皮膚異常 (4) 合併症の悪化 (5) アトピー性皮膚炎の悪化 (6) その他 6. その他	中止時点で評価を行う
	被験者の判断による中止 (ただし、中止後連絡・確認がとれたもの)	5. 試験品による有害事象（副作用） 6. 試験品以外による皮膚異常 (4) 合併症の悪化 (5) アトピー性皮膚炎の悪化 (6) その他 7. アトピー性皮膚炎の改善 8. その他	中止時点、または連絡時点で評価を行う

脱落例 (足跡不能)	被験者の判断による中止	3. 来院せず (連絡とれず) 4. その他	評価対象外
除外例	試験計画の選択基準に対する不適合致、除外基準の対する抵触 (本来不適格な例)、参加同意の撤回		評価対象外
逸脱例	医師側の試験計画違反および被験者側の試験計画違反		評価対象外

顔面皮膚での保湿剤【合成セラミド】による改善例

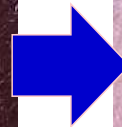
スキンケアによる『改善事例』

図—111：

● 乾燥・落屑



セラミドケア 0日



セラミドケア 18日目

図-112 :

スキンケアによる『改善事例』



セラミドケア 0日

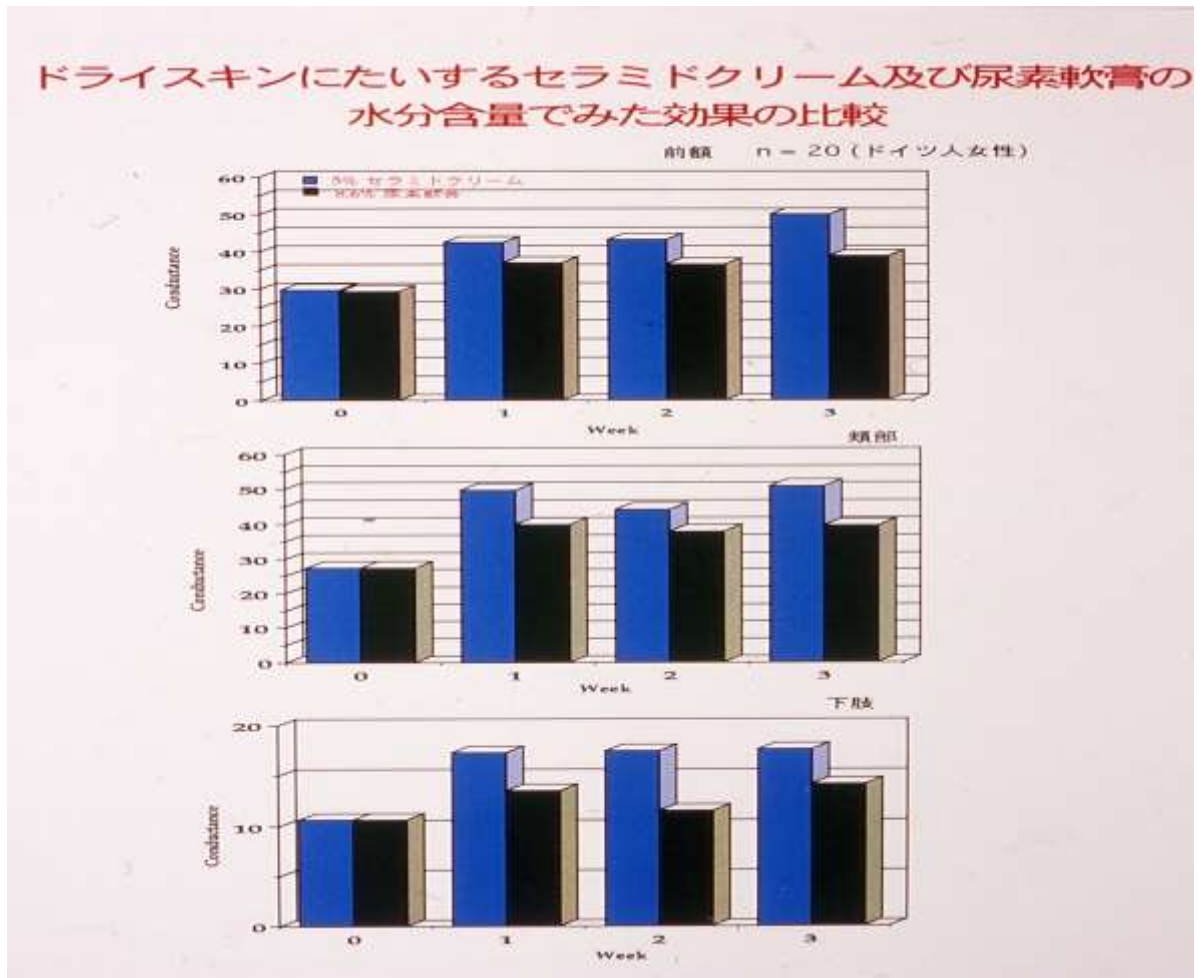
セラミドケア 18日後

e) アトピー性皮膚炎または老人性乾皮症患者を使う方法

軽症のアトピー性皮膚炎患者の前腕無疹部皮膚や老人性乾皮症患者の四肢に連日保湿剤を塗布して、保湿剤の皮膚所見および水分含量への効果を調べるもので、アトピー性皮膚炎の軽症患者においては健常者に比べても乾燥スコアー及ぶ水分含量が有意にそれぞれ上昇および減少しているので、乾燥落屑性変化をあえて誘導する必要がない。同様な皮疹の程度をもつ顔面、肢や前腕皮膚を使用すれば左右で比較が可能。皮疹観察およびインピーダンスメーターによる水分測定は測定日当日朝被験部位に何も塗布しないで来てもらい、最低 20 分以上温度 20 度、湿度 40%以下の環境に順化した後行う。コントロールとの比較を 2 群（一群 10 名以上）で行う。試験期間は 4 週間ほど観察する必要がある。いずれも informed consensus を得、倫理委員会で試験計画が承認される必要がある。これらの疾患患者を集めることができるエイジエンシーもあり、この場合は皮膚科専門医の診断が必要。

【図-113】に老人性乾皮症患者の前額、頬部、下肢におけるドライスキンに対する合成セラミドクリームと尿素軟膏の 4 週間の比較使用試験【2 群の比較】の結果を示す。

図-113 :



アトピー性皮膚炎患者無疹部皮膚【顔面もしくは前腕】
における保湿剤の使用試験プロトコール

観察日		試験開始時					____週間後					____週間後					____週間後					
		月		日			月		日			月		日			月		日			
手渡した試験品の 個数と使用量																						
試験品の使用状況		/					◎ ○ △ ×					◎ ○ △ ×					◎ ○ △ ×					
皮膚状態の観察	皮膚所見 (左頬部)	乾燥	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	1	2	3	4	5	
		落屑	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	1	2	3	4	5	
		紅斑	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	1	2	3	4	5	
		丘疹	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	1	2	3	4	5	
		色素沈着	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	1	2	3	4	5	
		全般的改善						++	+	±	-	×	++	+	±	-	×	++	+	±	-	×
		黒子																				
		にきび																				
	写真撮影	有 ・ 無					有 ・ 無					有 ・ 無					有 ・ 無					
問																						
	睡眠状態	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	1	2	3	4	5		
	掻痒	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	1	2	3	4	5		
	改善効果	/					++ + ± - ×					++ + ± - ×					++ + ± - ×					
被験部位への他の 化粧品使用状況																						
担当医師のコメント																						

観察日		試験開始時	____週間後	____週間後	____週間後	
		____月____日	____月____日	____月____日	____月____日	
手渡した試験品の 個数と使用量						
試験品の使用状況			◎ ○ △ ×	◎ ○ △ ×	◎ ○ △ ×	
皮膚状態の観察	皮膚所見 (右頬部)	乾燥	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4
		落屑	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4
		紅斑	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4
		丘疹	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4
		色素沈着	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4
		全般的改善		++ + ± - ×	++ + ± - ×	++ + ± - ×
		黒子				
		にきび				
		写真撮影	有 ・ 無	有 ・ 無	有 ・ 無	有 ・ 無
	問	睡眠状態	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4
掻痒		1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	1 2 3 4	
改善効果			++ + ± - ×	++ + ± - ×	++ + ± - ×	
被験部位への他の 化粧品使用状況						
担当医師のコメント						
判 基	試験品の使用状況	◎：毎日使用 ○：週に4～6日使用 △：週に1～3日使用 ×：使 せず				

皮膚所見	1 : なし 2 : 軽微 3 : 軽度 4 : 中等 5 : 重度 < 5 : 重度より悪化した場合は、数字を◎で囲む >
全般的改善度	++ : 著しく改善 + : 改善 ± : やや改善 - : 不 × : 悪化 皮膚所見より、試験開始前からの変化について担当医師が総合的に判断する。
睡眠状態	1 : ぐっすり眠れた 2 : ややぐっすり眠れた 3 : 普通に眠れた 4 : あまり眠れなかった 5 : ほとんど眠れなかった
掻痒	1 : なし 2 : 時々痒い 3 : 仕事等に集中している時は痒くないが緊張 緩むと痒い 4 : 痒いが夜眠れる 5 : 夜も眠れない位痒い

観察日		試験開始時	____週間後	____週間後	____週間後	
		月 日	月 日	月 日	月 日	
手渡した試験品の 個数と使用量						
試験品の使用状況			◎ ○ △ ×	◎ ○ △ ×	◎ ○ △ ×	
皮膚状態の観察	皮膚所見 (前額部)	乾燥	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
		落屑	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
		紅斑	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
		丘疹	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
		色素沈着	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
		全般的改善		++ + ± - ×	++ + ± - ×	++ + ± - ×
		黒子				
	にきび					
写真撮影		有 ・ 無	有 ・ 無	有 ・ 無	有 ・ 無	
問						
	睡眠状態	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	
	掻痒	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	
改善効果			++ + ± - ×	++ + ± - ×	++ + ± - ×	
被験部位への他の 化粧品使用状況						
担当医師のコメント						
判 基	試験品の使用状況	◎：毎日使用 ○：週に4～6日使用 △：週に1～3日使用 ×：使 せず				
	皮膚所見	1：なし 2：軽微 3：軽度 4：中等 5：重度 <5：重度より悪化した場合は、数字を◎で囲む>				
	全般的改善度	++：著しく改善 +：改善 ±：やや改善 -：不 ×：悪化 皮膚所見より、試験開始前からの変化について担当医師が総合的に判断する。				
	睡眠状態	1：ぐっすり眠れた <u>121</u> 2：ややぐっすり眠れた 3：普通に眠れた 4：あまり眠れなかった 5：ほとんど眠れなかった				
	掻痒	1：なし 2：時々痒い 3：仕事等に集中している時は痒くないが緊張 緩むと痒い 4：痒いが夜眠れる 5：夜も眠れない位痒い				

発現日	症状	程度	試験品との因果関係	担当医師コメント
月 日		A	1	
		B	2	
		C	3	
			4	
月 日		A	1	
		B	2	
		C	3	
			4	

<有害事象>

判定基準	有害事象	程度	試験品との因果関係
		A：即座に中止し、症状が重い 重篤な皮膚炎(紅斑、浮腫、丘疹、水疱などを伴う)、ざ傷などが生じて使用を中止し、皮膚科で治療を行った、あるいは行う必要があった場合など。 B：中止はしたが、症状は軽度 軽度な皮膚炎(軽い紅斑、刺激感など)、ざ傷などが生じ、治療の必要はないが使用を中止した場合など。 C：中止はしたが、症状は軽微 軽微な発赤、乾燥、痒み、痛みなどにより使用を中止した場合など。 D：中止はしたが、症状は軽度または軽微で再使用可能 軽度あるいは軽微な皮膚症状が生じ一時使用を中止したが、再使用が可能であった場合。 E：中止はなく、症状は軽度または軽微で継続可能 軽度あるいは軽微な皮膚症状が生じたが、継続使用が可能であった場合。 F：中止はなく、感覚的症状であり継続可能 症状がなく、継続使用が可能であった場合。	1：明らかに関連あり 2：おそらく関連あり 3：関連を否定できない 4：関連なし

中止日	分類	理由
月 日	7.中止 (担当医師の判断) 8.中止 (被験者の判断) 9.脱落 (被験者の判断)	8.試験品による有害事象 (副作用) 9.試験品以外が原因による皮膚異常 10. 合併症の悪化 (2)アトピー性皮膚炎の悪化 (3)その他() 11. アトピー性皮膚炎の改善 12. 来院せず 13. そ の ()

<中止・脱落>

最終判定日		平成	年	月	日			
使用期間		平成	年	月	日	～	平成	年
最終 改善度	皮膚状態	++ : 著しく改善	+ : 改善	± : やや改善	- : 不変	×	悪化	
被験者評価		1 : 非常に良い	2 : 良い	3 : やや良い	4 : わからない	5 : 悪い		
有用性		1 : きわめて有用	2 : 有用	3 : やや有用	4 : 無用	5 : 有害		
担当医師のコメント								

<総合評価>

【不完全実施例と改善度・安全性評価の有無】

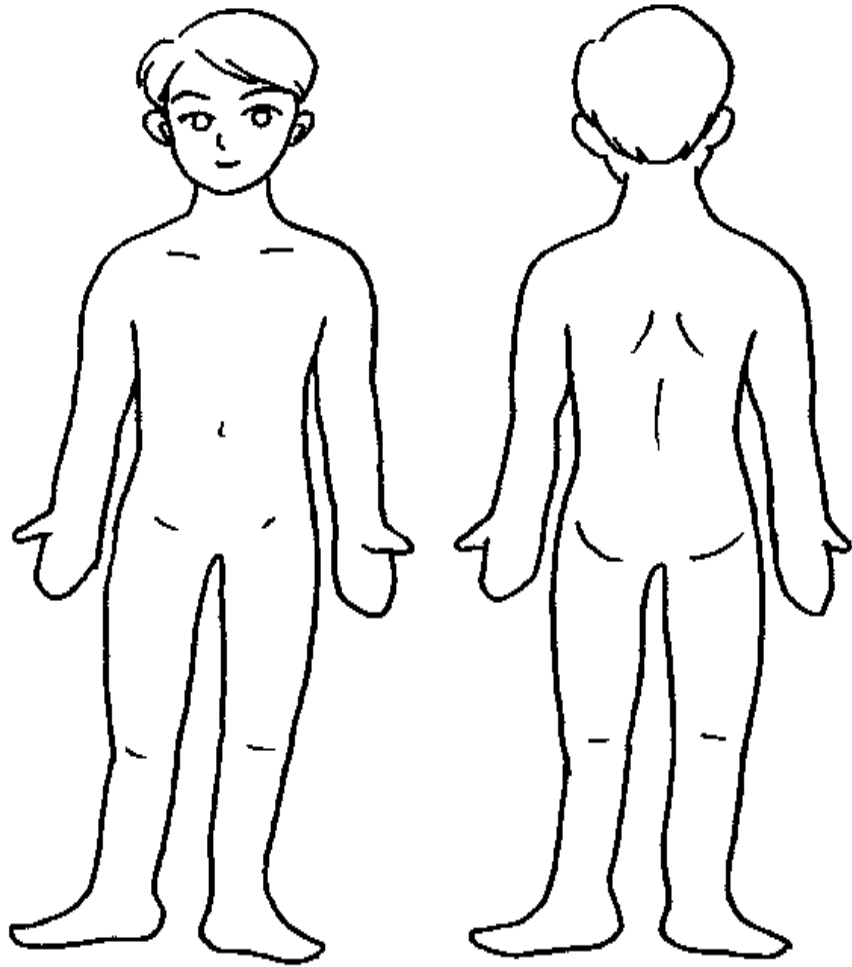
分類	定義	理由	改善度・安全度
中止例	医師側の医学判断による中止	7. 試験品による有害事象（副作用） 8. 試験品以外による皮膚異常 (7) 合併症の悪化 (8) アトピー性皮膚炎の悪化 (9) その他 9. その他	中止時点で評価を行う
	被験者の判断による中止 （ただし、中後連絡・確認とれたもの）	9. 試験品による有害事象（副作用） 10. 試験品以外による皮膚異常 (7) 合併症の悪化 (8) アトピー性皮膚炎の悪化 (9) その他 11. アトピー性皮膚炎の改善 12. その他	中止時点、または連日時点で評価を行う
脱落例 （追跡不能）	被験者の判断による中止	5. 来院せず（連絡とれず） 6. その他	評価対象外

除外例	試験計画の選択基準に対する不合致、除外基準の対する抵触 (本来不適格な例)、参加同意の撤回	評価対象外
逸脱例	医師側の試験計画違反および被験者側の試験計画違反	評価対象外

アトピー性皮膚炎患者使用試験CASECARD

氏名 (イニシャル)		性別	男 ・ 女	番号	
生年月日 年齢	昭和・平成 _____ 年 _____ 月 _____ 日 _____			施設名	
カルテNo.		職業		担当医師	印
被験者の 同意年月日と種類	平成 _____ 年 _____ 月 _____ 日 1. 文書 2. 口頭				
対象疾患	軽症から中等症のアトピー性皮膚炎を有する方で、顔または身体に乾燥症状を有する方				
重症度	1. 軽 症 2. 中等症 (3. 重 症)				
既往症	1. なし 2. 気管支喘息 3. アレルギー性鼻炎 4. 蕁麻疹 5. 接触皮膚炎 ※原因に○ (1)化粧品 (2)外用剤 (3)その他 () 不明 6 . そ の ()				
合併症	1. なし 2. 気管支喘息 3. アレルギー性鼻炎 4. 蕁麻疹 5. ざ瘡 → 6. 接触皮膚炎 ※原因に○ (1)化粧品 (2)外用剤 (3)その他 () 不明 7 . そ の ()				

皮膚の状態



症状観察部位を○で囲む。

観察日		試験開始時		2週間後			4週間後			____週間後			
		____月 ____日		____月 ____日			____月 ____日			____月 ____日			
試験品の使用状況				◎ ○ △	×		◎ ○ △	×		◎ ○ △	×		
皮膚状態の観察	皮膚所見			乾燥	1 2 3	5		1 2 3	5		1 2 3	5	
		落屑	1 2 3	5		1 2 3	5		1 2 3	5			
		掻破痕	1 2 3	5		1 2 3	5		1 2 3	5			
		紅斑	1 2 3	5		1 2 3	5		1 2 3	5			
		丘疹	1 2 3	5		1 2 3	5		1 2 3	5			
	全般的改善度 (試験開始時との比較)				++ + ± - ×			++ + ± - ×			++ + ± - ×		
	有害事象の発現				有 ・ 無			有 ・ 無			有 ・ 無		
	写真撮影		有 ・ 無		有 ・ 無		有 ・ 無		有 ・ 無		有 ・ 無		
問診	入眠時間	1 2 3	5		1 2 3	5		1 2 3	5				
	睡眠状態	1 2 3	5		1 2 3	5		1 2 3	5				
	掻痒	1 2 3	5		1 2 3	5		1 2 3	5				
	睡眠の質 の改善度				++ + ± - ×			++ + ± - ×			++ + ± - ×		
機器測定	水分量												
	TEWL												

判 基	試験品の使用状況	◎：毎日使用 ○：週に4～6日使用 △：週に1～3日使用 ×：使用せず			
	皮膚所見	1：なし 2：軽微 3：軽度 4：中等度 5：重度 <5：重度より悪化した場合は、数字を◎で囲む>			
	全般的改善度	++：著しく改善 +：改善 ±：やや改善 -：不変 ×：悪化 悪化 皮膚所見より、試験開始前からの変化について担当医師が総合的に判断する。			
	入眠時間	1週間前から 当日までの 状態を確認 する。	1：すぐ眠れた 2：少し時間がかかった 3：かなり時間 がかかった 4：なかなか寝つけなかった 5：ほとんど眠れなかった		
	睡眠状態		1：ぐっすり眠れた 2：ややぐっすり眠れた 3：普通に眠れた 4：あまり眠れなかった 5：ほとんど眠れなかった		
	掻痒		1：なし 2：時々痒い 3：仕事等に集中している時は 痒くないが緊張が緩むと痒い 4：痒いが夜眠れる 5：夜も眠れない位痒い		
睡眠の質の改善	++：著しく改善 +：改善 ±：やや改善 -：不変 ×：悪化 問診より、試験開始前からの変化について担当医師が総合的に判断する。				

<有害事象>

発現日	症状	程度	試験品との因果関係	担当医師コメント
月 日		A	1	
		B	2	
		C	3	
月 日		A	4	
		B	2	
		C	3	

判定基準	有害事象	程度	試験品との因果関係
		<p>A：即座に中止し、症状が重い 重篤な皮膚炎(紅斑、浮腫、丘疹、水疱などを伴う)、ざ傷などが生じて使用を中止し、外科で治療を行った、あるいは行う必要があった場合など。</p> <p>B：中止はしたが、症状は軽度 軽度な皮膚炎(軽い紅斑、刺激感など)、ざ傷などが生じ、治療の必要はないが使用を中止した場合など。</p> <p>C：中止はしたが、症状は軽微 軽微な発赤、乾燥、痒み、痛みなどにより使用を中止した場合など。</p> <p>D：中止はしたが、症状は軽度または軽微で再使用可能 軽度あるいは軽微な皮膚症状が生じ一時使用を中止したが、再使用が可能であった場合。</p> <p>E：中止はなく、症状は軽度または軽微で継続可能 軽度あるいは軽微な皮膚症状が生じたが、継続使用が可能であった場合。</p> <p>F：中止はなく、感覚的的症状であり継続可能 症状がなく、継続使用が可能であった場合。</p>	<p>1：明らかに関連あり</p> <p>2：おそらく関連あり</p> <p>3：関連を否定できない</p> <p>4：関連なし</p>

<中止・脱落>

中止日	分類	理由
月 日	<p>7. 中止 (担当医師の判断)</p> <p>8. 中止 (被験者の判断)</p> <p>9. 脱落 (被験者の判断)</p>	<p>9. 試験品による有害事象 (副作用)</p> <p>10. 試験品以外が原因による皮膚異常 (1)合併症の悪化 (2)アトピー性皮膚炎の悪化 (3)その他()</p> <p>11. アトピー性皮膚炎の改善</p> <p>12. 来院せず</p> <p>13. そ の ()</p>

<総合評価>

最終判定日	平成	年	月	日		
使用期間	平成	年	月	日	～	平成
最終改善月	皮膚状態	++ : 著しく改善	+ : 改善	± : やや改善	- : 不変	× : 悪化
	睡眠の質	++ : 著しく改善	+ : 改善	± : やや改善	- : 不変	× : 悪化
被験者評価	1 : 非常に良い	2 : 良い	3 : やや良い	4 : わからない	5 : 悪い	
有用性	1 : きわめて有用	2 : 有用	3 : やや有用	4 : 無用	5 : 有害	
担当医師のコメント						

【不完全実施例と改善度・安全性評価の有無】

分類	定義	理由	改善度・安全度
中止例	医師側の医学判断による中止	10. 試験品による有害事象（副作用） 11. 試験品以外による皮膚異常 (10) 合併症の悪化 (11) アトピー性皮膚炎の悪化 (12) その他 12. その他	中止時点で評価を行う
	被験者の判断による中止 (ただし、中止連絡・確認がれたもの)	13. 試験品による有害事象（副作用） 14. 試験品以外による皮膚異常 (10) 合併症の悪化 (11) アトピー性皮膚炎の悪化 (12) その他 15. アトピー性皮膚炎の改善 16. その他	中止時点、または連絡時点で評価を行う
脱落例 (追跡不能)	被験者の判断による中止	7. 来院せず（連絡とれず） 8. その他	評価対象外
除外例	試験計画の選択基準に対する不都合、除外基準の対する抵触（本来不適格な例）、参加同意の撤回		評価対象外
逸脱例	医師側の試験計画違反および被験者側の試験計画違反		評価対象外

1. アトピー性皮膚炎患者無疹部皮膚への保湿剤の効果

アトピー性皮膚炎患者は健常者に比べて皮膚角質層の水分保持機能が低下しており【図-114】、このため皮膚表面の乾燥落屑性変化が起こりやすく、これが衣服との摩擦などを通してかゆみひいては掻破による皮膚炎の原因になる。これらの特徴スキームを【図-115】に示した。すなわちアトピー性皮膚炎の本体は皮膚炎というよりはむしろ、もともと基盤として存在する皮膚角層内のセラミドの減少により生じているアトピー性乾燥皮膚【d-19, 25】がその本体である可能性があり、したがってこのアトピー性乾燥皮膚をいかにケアし、角層の機能を長期間健常レベルに保つことができるかが、皮膚炎の再発を防ぎ、カユミ等を防止する意味でも大切と考えられるようになってきている。

図-114：

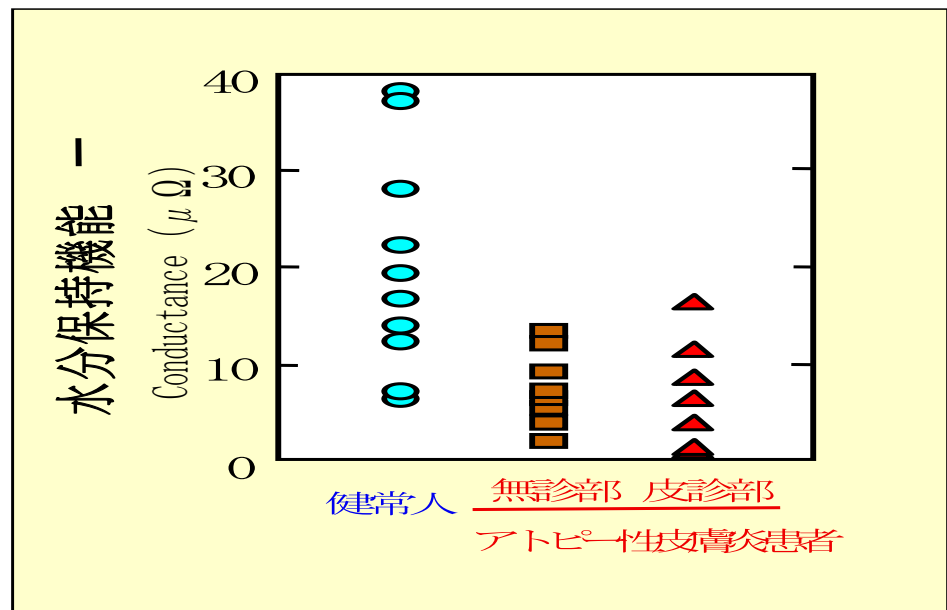
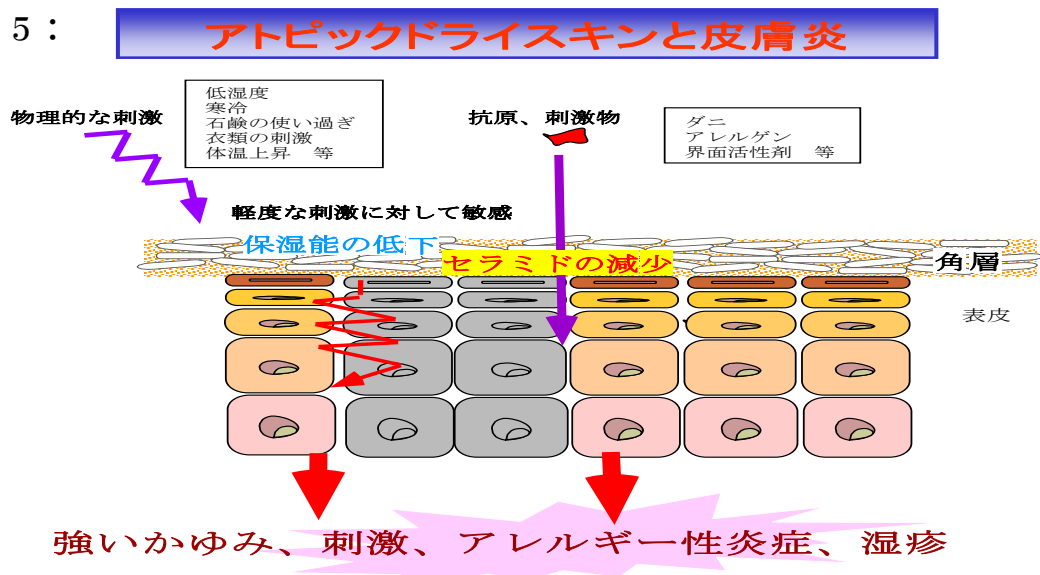


図-115：

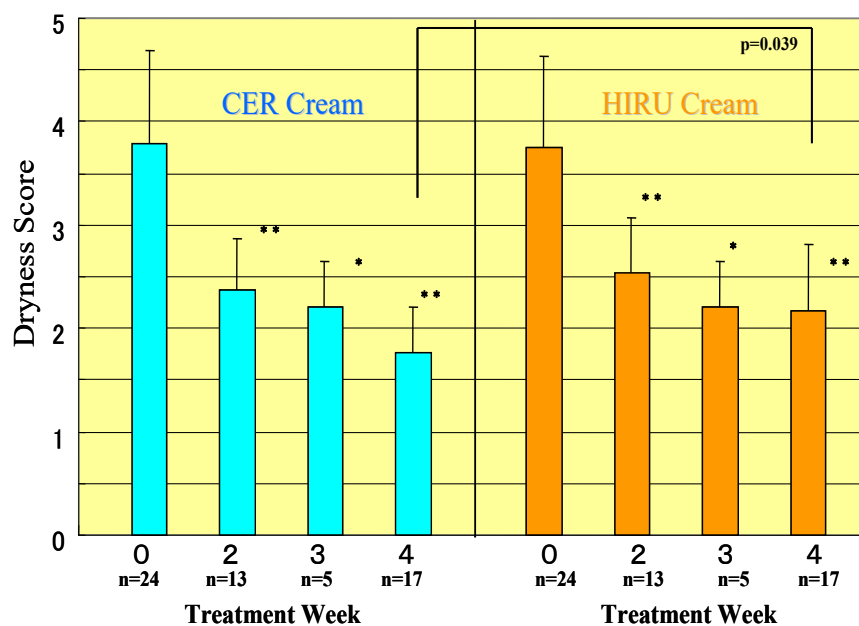


従来アトピー性皮膚炎の治療は皮膚炎に対してはステロイドなどの抗炎症剤による治療が、炎症の消退後やアトピー性乾燥皮膚に対しては白色ワセリン、尿素軟膏、ヘパリノイド軟膏を中心としたいわゆる保湿剤を使用する治療が行われてきた^{5,6}。近年これらアトピー性皮膚炎患者の皮膚角層において、角層細胞間に存在する細胞間脂質、とりわけセラミドが健常皮膚と比較して有意に減少しており、このことが皮膚水分保持機能異常の要因の1つであることが報告されている【d-26】。さらに、表皮内セラミド生合成の過程において健常皮膚ではスフィンゴミエリンがスフィンゴミエリナーゼによりセラミドに加水分解されるが、アトピー性皮膚炎ではスフィンゴミエリンデアシラーゼの異常発現によりスフィンゴシルホスホリルコリンが生成され、その結果、表皮内のセラミド総量が減少する可能性が明らかとなってきた^{8,9}。またセラミドの代わりに産生するスフィンゴシルホスホリルコリンはアトピー性皮膚炎患者皮疹部および無疹部皮膚角層で健常者角層に比べて有意に増加していることも報告されている【c-2】。このほかにもセラミドが減少するメカニズムとしては角層に生息する細菌由来のセラミダーゼによる分解の促進や【o-30】、スフィンゴミエリナーゼ酵素活性そのものが減少していることが要因であるとの報告【o-31】も存在する。いずれのメカニズムが正しいにしても、セラミドの角層での有意な減少が水分保持機能の異常の主要因である以上、アトピー性皮膚炎患者の皮膚のセラミド量を健常者皮膚レベルに長期間補充することがアトピー性皮膚炎の合理的で有効な治療の1つとなることが類推される。

すでにアトピー性皮膚炎患者の無疹部皮膚への保湿剤クリームの使用試験は数多く為されているが【o-32-36】、アトピー性皮膚炎患者皮膚の水分低下を直接的に改善できる化粧品基材はそれほど多くないため、水分保持機能の補強が無疹部皮膚の乾燥落屑性変化の改善にどう関与しているのか、またアトピー性皮膚炎の重症度への低減効果や水分保持機能の補強の程度はどこまで必要なのかなどの不明な点が多々存在した。そこで我々は上述の不明点を明らかとするために、天然セラミドのタイプ2と類似の合成セラミド類似脂質（8 wt%）【a-15】の使用をアトピー性皮膚炎患者皮膚において行った【a-35】。尚、この試験には0.3%のヘパリン類似物質を含むヘパリノイド軟膏(マルホ社製)を比較対照として用いた。

合成セラミドクリーム4週間の前腕無疹部皮膚への塗布により乾燥・落屑スコアは有意に減少したのに対し、ヒルドイドクリーム4週間の塗布も乾燥・落屑スコアのわずかに弱い有意な減少を示し、この減少効果は合成セラミドクリームがヒルドイドクリームよりも有意に強い結果であった【図-116】。また皮膚乾燥性

図-116 :



皮膚所見による皮疹改善度は合成セラミドクリームが著明改善50%、中程度改善35.7%、わずかに改善14.3%に対し、ヒルドイドクリームではそれぞれ0%、15.4%、80.8%であり【図-117】、また有用性の比較では【図-118】、合

図-117 :

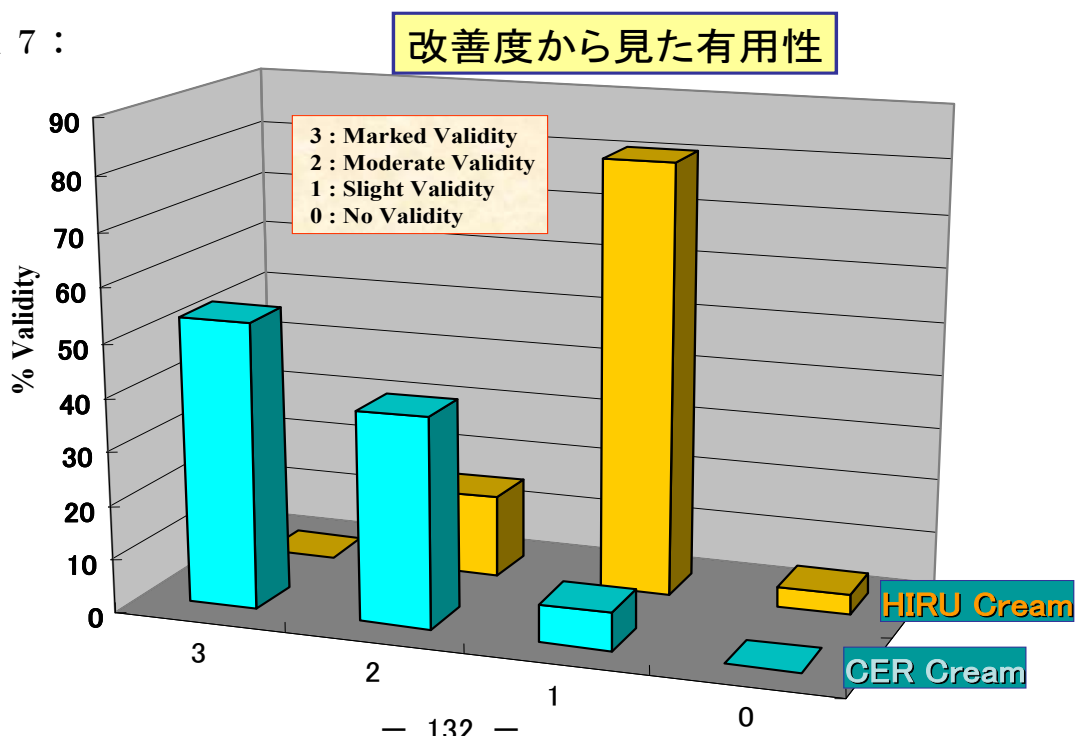
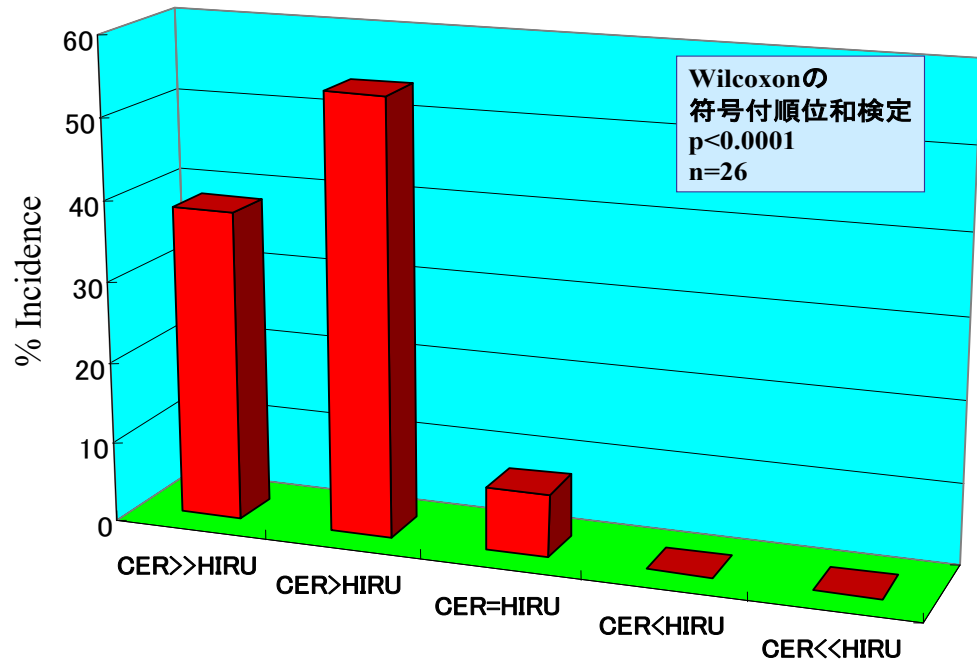
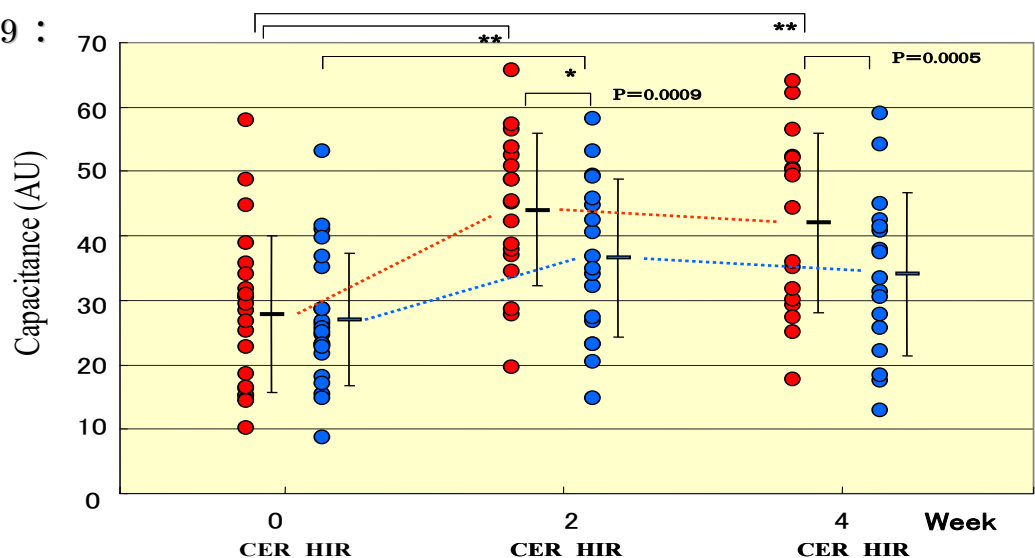


図-118 :



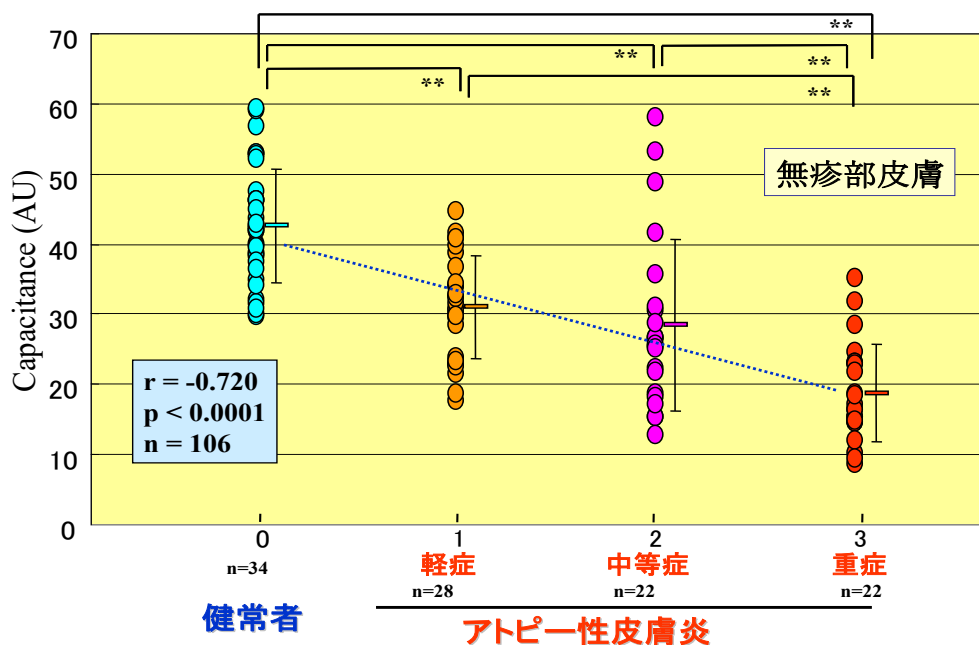
成セラミド>>ヒルドイドクリーム38.5%、合成セラミド>ヒルドイドクリーム53.9%、合成セラミド=ヒルドイドクリーム7.7%、いずれの比較においても合成セラミドクリームがヒルドイドクリームに対しても皮膚乾燥性皮膚所見への顕著に高い低減効果を示している。平行して測定したCapacitance値【図-119】は合成セラミドクリームおよびヘパリノイドクリームともに2および4週間塗布で有意な増加を示したが、これらの程度も合成セラミドクリームがヒルドイドクリームに比べ有意に強い結果であった。

図-119 :



我々はすでにアトピー性皮膚炎患者無疹部皮膚での Capacitance 値がアトピー性皮膚炎の、Hanifin & Rajika の基準【o-37】に基づく重症度と相関係数が -0.720 を持つ強い相関を示し【図-120】、無疹部皮膚での角層における水分含量の減少の程度が明瞭に重症度を反映していることを報告した【o-32】。すなわち、種々の保湿クリー

図-120：

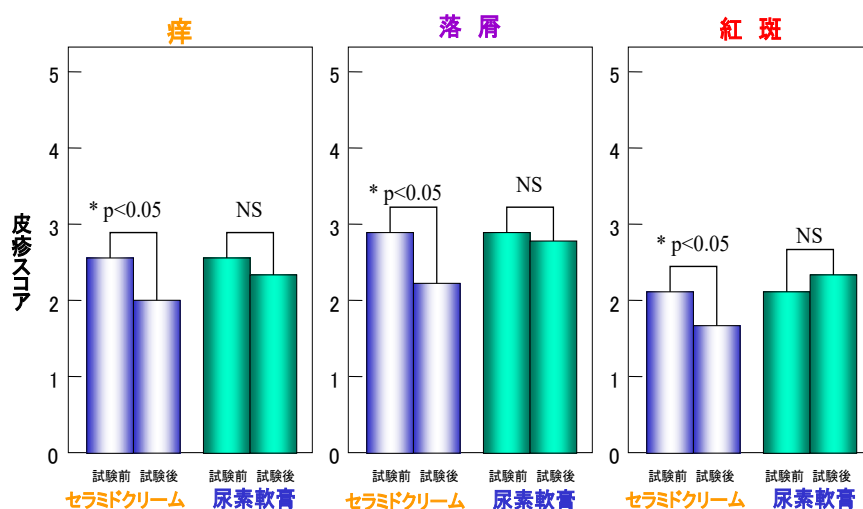


ムの処理により変化する Capacitance 値を測定することにより、クリームの臨床効果の程度をより客観的に知ることができ、正確な臨床効果の判断材料になることが推察された。この方式に従って、両クリーム処理4週間目での Capacitance 値の低下のレベルを調べて、それぞれの平均値±標準偏差であらわされる幅を解析すると、両クリームの重症度分類に関連した臨床効果が以下のごとく明らかと成った。すなわちヒルドイドクリーム4週処理皮膚では Capacitance 値の幅は、無処理皮膚で測定された、軽症もしくは中等症の幅のなかにとどまっているのに対し、合成セラミドクリームのそれはほぼ健康者レベルまで改善していることが判明した。すなわちヒルドイドクリームの処理では Capacitance 値の改善効果で示されたその程度は有意な効果ではあるものの、いまだ健康者レベルまで到達していないのに対し、合成セラミドクリームの処理ではほぼADレベルを乗り越えて健康者レベルまで角層水分保持機能が改善していることが明らかと成った。以上の証左は角層機能を測らずに乾燥落屑スコアの如き皮膚所見のみで評価した場合は、これほど明確にはならないものと推察され、これは皮膚所見がほとんど健康者と差が無い場合でも、アトピー性皮膚炎患者皮膚では角層水分保持機能が有意に低下している症例が多数存在すること【a-34】から考えても、臨床効果の判定にも角層機能の測定が重要であることを示唆している。以上の結果は、両クリーム4週間塗布過程において、皮膚所見の改善が同じ程度に認められる場合においても、合成セラミドクリームはヒ

ルドイドクリームよりも角層水分含量をより強く改善していた事実とも一致する。以上の結果より水分保持機能の回復は臨床的に認められる乾燥落屑性の改善を強く反映しており、水分回復効果はアトピックドライスキンのケアとして重要な因子であることが示唆された。

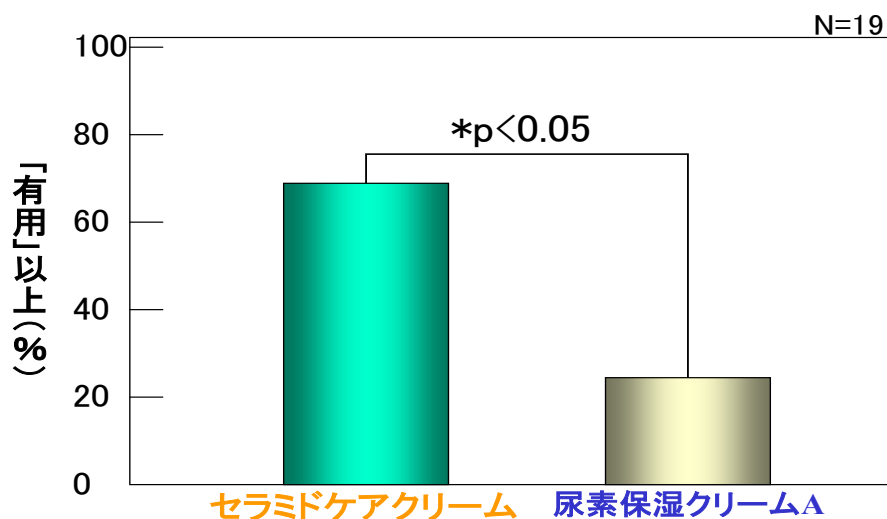
他皮膚科施設において行ったアトピー性皮膚炎患者無疹部皮膚への保湿剤の効果を尿素軟膏と合成セラミドの4週間の比較使用試験【2群での比較】で見た結果を【図—121】と【図—122】に示す【b-17】。

図—121： アトピー性皮膚炎患者への酸性セラミドクリームの臨床効果



従来の保湿ケアとセラミドケアの違い

図—122：



*:Fisherの直接確率、(きわめて有用+有用/(やや有用+無用+有害))

1-3. 保湿剤開発の最適プロトコール：

医薬部外品開発に向けての最適実験評価計画

【図-123】

医薬部外品主剤としての保湿剤の効能評価 プロトコールの条件と有効性の判定基準

1. 申請保湿剤が効果を示す、科学的理論的根拠を有すること
2. 申請保湿剤を配合した化粧品処方（A）と本保湿剤のみを除去した同一化粧品処方（コントロール）（C）および医薬部外品認可保湿剤を含む化粧品（B）の3種の3対比較
3. ヒト皮膚を使用し、誘導肌荒れに対する数日間の塗布による乾燥落屑性変化の皮膚科専門医による診断と水分計による測定。3対比較の必要性から前腕皮膚（n=20以上）が試験皮膚部位としては最適。もしくは肌荒れが生じている顔面皮膚でのn=20以上での3群比較試験もしくはハーフフェイス試験。
4. 有効性の評価基準：皮膚科専門医による皮膚乾燥落屑性変化の診断スコアーおよび水分計による水分含量の、AがCに対して有意に高い効果、BがCに対しても有意に高い効果、AはBと効果が同等かわずかに高い効果

医薬部外品主剤としての保湿剤の効能評価 プロトコールの条件と有効性の判定基準

図-123：

1. 申請保湿剤が効果を示す、科学的理論的根拠を有すること
2. 申請保湿剤を配合した化粧品処方(A)と本保湿剤のみを除去した同一化粧品処方(コントロール)(C)および医薬部外品認可保湿剤を含む化粧品(B)の3種の3対比較
3. ヒト皮膚を使用し、誘導肌荒れに対する数日間の塗布による乾燥落屑性変化の皮膚科専門医による診断と水分計による測定。3対比較の必要性から前腕皮膚(n=20以上)が試験皮膚部位としては最適。
もしくは肌荒れを生じさせた顔面皮膚でのn=20以上での3群比較試験。
4. 有効性の評価基準：皮膚科専門医による皮膚乾燥落屑性変化の診断スコアーおよび水分計による水分含量の、AがCに対して有意に高い効果、BがCに対しても有意に高い効果、AはBと効果が同等かわずかに高い効果

● 保湿剤の開発の章に関連した論文

A(原著欧文)-

1. Imokawa G., Sumura K., Katsumi M.: Study on skin roughness caused by surfactants: I. A new method in vivo for evaluation of skin roughness. **J. Amer. Oil Chem. Soc.** **52**: 479-483, 1975.
2. Imokawa G., Sumura K., Katsumi M.: Study on skin roughness caused by surfactants: II. Correlation between protein denaturation and skin roughness. **J. Amer. Oil Chem. Soc.** **52**: 484-489, 1975.
3. Imokawa G., Tsutsumi H., Kurosaki T.: Surface activity and cutaneous effects of monoalkylphosphate surfactants. **J. Amer. Oil Chem. Soc.** **55**: 839-843, 1978.
4. Imokawa G.: Study on skin-irritating and biological properties of monoalkyl phosphate surfactants. **J. Amer. Oil Chem. Soc.** **56**: 604-609, 1979.
5. Imokawa G., Mishima Y.: Cumulative effect of surfactants on cutaneous horny layers: Lysosome labilizing action. **Contact Dermatitis** **5**: 151-162, 1979.
6. Imokawa G., Mishima Y.: Adsorption of surfactants onto human keratin layer in vivo. **Contact Dermatitis** **5**: 357-366, 1979.
7. Imokawa G.: Comparative study on the mechanism of irritation by sulfate and phosphate type of anionic surfactant. **J. Soc. Cosmet. Chem.** **31**: 45-66, 1980.
8. Imokawa G., Mishima Y.: Cumulative effect of surfactants on cutaneous horny layers: Lysosomal activity of human keratin layer in vivo. **Contact Dermatitis** **7**: 65-71, 1981.
9. Kawai M., Imokawa G.: The induction of skin tightness by surfactants. **J. Soc. Cosmet. Chem.** **35**: 147156, 1984.
10. Imokawa G., Hattori M.: A possible function of structural lipid in the water-holding properties of the stratum corneum. **J. Invest. Dermatol.** **84**: 282-284, 1985.
11. Imokawa G., Akasaki S., Hattori M., Yoshizuka N.: Selective recovery of deranged water-holding properties by stratum corneum lipids. **J. Invest. Dermatol.** **87**: 758-761, 1986.
12. Imokawa G., Zama M., Minematsu Y., Akasaki S., Kawamata A., Yano Y., Takaishi N.: Selective recovery of deranged water holding properties in the stratum corneum by synthesized pseudo-ceramide derivatives. **Pro. Jpn. Soc. Invest. Dermatol.** **12**: 126-127, 1988.
13. Imokawa G., Akasaki S., Minematsu Y., Kawai M. Importance of intercellular lipids in water-retention properties of the stratum corneum: Induction and recovery study of surfactant dry skin." **Arch. Dermatol. Res.** **281**: 45-51, 1989
14. Imokawa G., Akasaki S., Minematsu Y., Kuno O., Zama M., Kawai M., Hattori M., Yoshizuka N., Kawamata A., Yano Y., Takaishi N.: Function

- of lipids on human skin. **J. Disp. Sci. Tech.** 10: 617-641, 1989.
15. Imokawa G., Akasaki S., Kawamata A., Yano S., Takaishi N.: Water-retaining function in the stratum corneum and its recovery properties by synthetic pseudo-ceramides. **J. Soc. Cosmet. Chem.** 40: 273-285, 1989.
 16. Imokawa G., Abe A., Jin K., Higaki Y., Kawashima M., Hidano A.: Decreased level of ceramides in stratum corneum of atopic dermatitis: An etiologic factor in atopic dry skin? **J. Invest. Dermatol.** 96: 523-526, 1991
 17. Imokawa G., Kuno H., Kawai M.: Stratum corneum lipids serve as a bound-water modulator. **J. Invest. Dermatol.** 96: 845-851, 1991.
 18. Matsuo N., Nomura T, Imokawa G.: A rapid and simple assay method for UDP-glucose:ceramide glucosyltransferase. **Biochim. Biophys. Acta** 1116: 97-103, 1992.
 19. Holleran WM., Takagi Y., Imokawa G., Jackson S., Lee JM., Elias PM.: Beta-glucocerebrosidase activity in murine epidermis: Characterization and localization in relation to differentiation. **J. Lipid Res.** 33: 1201-1209, 1992.
 20. Akimoto K., Yoshikawa N., Higaki Y., Kawashima M., Imokawa G.: Quantitative analysis of stratum corneum lipids in xerosis and asteatotic eczema. **J. Dermatol.(Tokyo)** 20: 1-6, 1993
 21. Yoshikawa N., Imokawa G., Akimoto K., Higaki Y., Jin K., Kawashima M.: Regional analysis of ceramides within the stratum corneum in relation to seasonal changes. **Dermatology** 188: 207-214, 1993.
 22. Jin K., Higaki Y., Takagi Y., Higuchi K., Yada Y., Kawashima M., Imokawa G.: Analysis of Beta-glucocerebrosidase and ceramidase activity in atopic and aged dry skin. **Acta. Derm-Venereol.** 74: 337-340, 1994.
 23. Jokura T., Ishikawa Y., Tokuda H., Imokawa G.: Molecular analysis of elastic properties of the stratum corneum by solid-state ¹³C-nuclear magnetic resonance spectroscopy. **J. Invest. Dermatol.** 104: 806-812, 1995.
 24. Yada Y., Higuchi K., Imokawa G.: Purification and biochemical characterization of membrane-bound epidermal ceramidase from guinea pig skin. **J. Biol. Chem.** 270: 12677-12684, 1995.
 25. Murata Y., Ogata J., Higaki Y., Kawashima M., Yada Y., Higuchi K., Tsuchiya T., Kawaminami S., Imokawa G.: Abnormal expression of sphingomyelin acylase in atopic dermatitis: An etiologic factor for ceramide deficiency? **J. Invest. Dermatol.** 106: 1242-1249, 1996.
 26. Gorti S., Tone. H., Imokawa G. : Triangulation method for determining capillary blood flow and physical characteristics of the skin. **Applied Optics** 38: 4914-4929, 1999.
 27. Takagi Y., Kriehuber E., Imokawa G., Elias P.M., Holleran W.M.: beta-glucocerebrosidase activity in mammalian stratum corneum. **J. Lipid Res.** 40: 861-869, 1999.

28. Sogabe Y, Akimoto S, Abe M, Ishikawa O, Takagi Y, Imokawa G. Functions of the stratum corneum in systemic sclerosis as distinct from hypertrophic scar and keloid functions. **J Dermatol Sci.** 2002 May;29(1):49-53.
29. Okamoto R, Arikawa J, Ishibashi M, Kawashima M, Takagi Y, Imokawa G: Sphingosylphosphorylcholine levels are significantly increased in the stratum corneum of patients with atopic dermatitis: Physiological and functional relevance of sphingomyelin deacylase to the ceramide deficiency. **J Lipid Res** 44: 93-102, 2003
30. Ishibashi M, Arikawa J, Okamoto R, Kawashima M, Takagi Y, Oguchi K and Imokawa G: The abnormal expression of the novel epidermal enzyme, glucosylceramide deacylase and the accumulation of its enzymatic reaction product, glucosylsphingosine in the skin of patients with atopic dermatitis. **Lab Invest** 88(3): 397-408, 2003
31. Takagi Y, Nakagawa H, Matsuo N, Nomura T, Takizawa M, Imokawa G: Biosynthesis of acylceramide in murine epidermis: Characterization by inhibition of glucosylation and deglucosylation, and by substrate specificity. **J Invest Dermatol** 122(3):722-729, 2004 . 133. Yoshinori
32. Matsuki H, Kiyokane K, Matsuki T, Sato S, Imokawa G. Re-characterization of the non-lesional dry skin in atopic dermatitis through disrupted barrier function. **Exog Dermatol** 3: 282-292, 2006(2004)
33. Matsuki H, Kiyokane K, Matsuki T, Sato S, Imokawa G. Re-evaluation of the importance of barrier dysfunction in the non-lesional dry skin of atopic dermatitis through the use of two barrier creams. **Exog Dermatol** 3: 293-302, 2006(2004)
34. Imokawa G, Yada Y, Higuchi K, Okuda M, Ohashi Y, Kawamata A. "Pseudo-acylceramide with linoleic acid produces selective recovery of diminished cutaneous barrier function in essential fatty acid deficient rats and has an inhibitory effect on epidermal hyperplasia". *J. Clin. Invest.* 94: 89-96, 1994
35. Hara J, Higuchi K, Okamoto R, Kawashima M, Imokawa G. High-expression of sphingomyelin deacylase is an important determinant of ceramide deficiency leading to barrier disruption in atopic dermatitis. **J Invest Dermatol** 2000; 115: 406-13.

B (原著邦文) -

1. 芋川玄爾, 栖村景子, 葛見衛: 足底ケラチン粉末に対する界面活性剤の吸着と皮膚荒れとの相関性. *油化学* 23: 719-725, 1974
2. 芋川玄爾, 葛見衛: 代表的アニオン界面活性剤の各種タンパク質に対する変性作用. *油化学* 25: 24-30, 1976
3. 芋川玄爾, 三島豊: ヒト角質層への界面活性剤蓄積性障害—Circulation 法による研究—. *日本皮膚科学会誌* 86: 473-481, 1976

4. 出口勝彦, 有沢正俊, 石田篤郎, 岡本暉公彦, 芋川玄爾: アニオン性界面活性剤の評価、皮膚洗浄剤としてのモノアルキルフォスフェートの有用性. 日本化粧品技術者会誌 15: 121-127, 1981
5. 吉塚直伸, 菅沼剛, 芋川玄爾, 今村哲也, 岡本暉公彦, 三角寿: 皮表脂質および角層水分測定のための簡便な方法. 西日本皮膚科会誌 45: 595-601, 1983
6. 高瀬みゆき, 上田宏, 芋川玄爾, 近藤三雄: 紙おむつの角層水分量に対する影響. 日本小児皮膚科雑誌 3: 435-440, 1984
7. 蛭川よしみ, 伊藤直子, 美濃羽希史子, 谷野宮裕子, 早川律子, 芋川玄爾: 化粧品の有用性の検討. 日本化粧品科学会誌 10: 147-155, 1986
8. 赤碕秀一, 峰松義博, 吉塚直伸, 芋川玄爾: 角層水分保持機能における角質細胞間脂質の役割. 日本皮膚科学会誌 98: 40-51, 1988
9. 河合道雄, 芋川玄爾, 岡本暉公彦: 皮膚つっぱり感と界面活性剤. 皮膚科診療 11: 430-436, 1989
10. 河合道雄, 芋川玄爾, 溝口昌子: 角質細胞診断法と角層ターンオーバー測定法による顔面皮膚性状解析. 日本皮膚科学会誌 99: 999-1006, 1989
11. 河合道雄, 小山内宰, 芋川玄爾: 角質細胞の形態. 日本化粧品科学会誌 15: 231-237, 1991
12. 城倉洋二, 山崎誠二, 石川伸一, 芋川玄爾: 個体高分解能 ^{13}C -NMR による角層柔軟化機構の解明. 日本化粧品技術者会誌 27: 348-354, 1993
13. 吉村政哲, 城倉洋二, 花沢英行, 野崎利雄, 奥田峰広, 芋川玄爾: アミノ酸誘導体型界面活性剤ラウロイルベーターアラニンの皮膚に及ぼす影響. 日本化粧品技術者会誌 27: 249-254, 1993
14. 鈴木淳子, 萬秀憲, 芋川玄爾, 高島巖: 分岐脂肪酸コレステリルエステル配合浴用剤の保湿効果. 西日本皮膚科会誌, 56: 494-498, 1994
15. 近藤知子, 奥田峰広, 芋川玄爾: 食器用洗浄剤の皮膚への影響と皮膚刺激緩和作用について. 日本皮膚科学会誌 105: 1217-1225, 1995
16. 樋口和彦, 村田恭子, 川島真, 芋川玄爾: 血液透析患者の乾燥皮膚に関して—角質細胞間脂質、セラミド量の解析—. 臨床透析 15: 129-132, 1999
17. 水谷 仁, 高橋眞智子, 清水正之, 刈屋 完, 佐藤広隆, 芋川玄爾. アトピー性皮膚炎患者に対する合成疑似セラミド含有クリーム of 有用性の検討. 西日本皮膚科会誌 63巻4号 457-461, 2001
18. 山中正義, 石川 治, 高橋昭彦, 佐藤広隆, 芋川玄爾. アトピー性皮膚炎患者に対する「キュレル[®]薬用クリーム」の有用性の検討. 皮膚 43巻4,5号 341-347, 2001
19. 秦 まき, 戸倉新樹, 瀧川雅浩, 田村辰仙, 芋川玄爾. アトピー性皮膚炎に対する合成疑似セラミド含有クリーム of 有用性の検討——尿素含有クリームとの比較——西日本皮膚科 第64巻第5号 606-611, 2002
20. 高島 巖, 長谷部恵子, 奥田峰広, 芋川玄爾. アトピー性皮膚炎および乾燥性湿疹患者に対する均一分散合成疑似セラミド配合身体洗浄剤の有用性の検討.

西日本皮膚科 第64巻第5号 612-620、2002

21. 船坂陽子、尾藤利憲、山本麻由、錦織千佳子、市橋正光、中村正、石田耕一、佐藤広隆、芋川玄爾。「キュレルUVミルク」および「キュレルUVクリーム」の低バリア機能皮膚に対する使用経験。皮膚の科学 第3巻、第1号 62-72、2004

C (総説欧文) -

1. Imokawa G., Takeuchi T: **Surfactants and skin roughness.** *Cosmetics & Toiletries* 91: 32-46,1976.
2. Imokawa G. **Lipid abnormalities in atopic dermatitis.** *J Am Acad Dermatol* 45: S29-32, 2001
3. Imokawa G: **Surfactant-induced depletion of ceramides and other intercellular lipids: Implication for the mechanism leading to dehydration of the stratum corneum.** *Exog Dermatol* 2006(2004); 3: 81-98.

D (総説邦文) -

1. 芋川玄爾: 新規アニオン活性剤—モノアルキルフォスフェイトの洗浄剤と皮膚科学的特徴. *Fragrance J.* 9: 57-65, 1981
2. 芋川玄爾: 表皮角層変化の評価法. *化粧品科学会誌* 8:92- 108, 1984.
3. 芋川玄爾: 抗フケ測定法. *Fragrance J.* 5: 430-435, 1984.
4. 芋川玄爾, 吉塚直伸: 皮脂膜と肌特性. *Fragrance J.* 12: 84-89, 1984
5. 芋川玄爾: モノアルキルリン酸 (MAP) の機能と作用. *Fragrance J.* 12: 21-27, 1984
6. 芋川玄爾: 洗顔と洗顔料について—皮膚の生理と安全性—. *Fragrance J.* 74: 38-47,1985.
7. 黒崎富裕, 芋川玄爾, 石田篤郎: 低刺激性アニオン界面活性剤としてのモノアルキルフォスフェイト(MAP)の皮膚刺激性、生化学特性, 工業化法. *油化学* 36: 629- 637, 1987.
8. 芋川玄爾: 角層保湿機能と細胞間脂質. *Fragrance J.* 15: 35-41, 1987
9. 芋川玄爾: 角質細胞間脂質の機能とその応用. *Fragrance J.* 4: 26- 34, 1990.
10. 芋川玄爾: 角層水分保持機構における角質細胞脂質の機能. *日皮協ジャーナル* 13: 17-23, 1990.
11. 芋川玄爾: 角層脂質の性状、機能とその測定. *臨床皮膚科* 44: 583-588, 1990.
12. 芋川玄爾: 角質細胞間脂質の機能とその応用. *皮膚と美容* 23: 3806-3818, 1991.

13. 芋川玄爾： 角質細胞間脂質. 化粧品科学会誌 15: 250-253, 1991.
14. 河合道雄, 芋川玄爾： 脂性肌の再評価と今後の課題. Fragrance J 5: 29-39, 1991.
15. 芋川玄爾, 武馬吉則： 表皮、特に角質層が関与する小じわの発生要因とその予防. Fragrance J. 11: 29-42, 1992.
16. 芋川玄爾： 角質細胞間脂質の機能と乾燥性皮膚疾患. 臨床皮膚科 35: 1147-1161, 1993
17. 芋川玄爾： 紫外線の皮膚に対する影響と対策. 名古屋テキスタイル研究会 12: 12-18, 1993.
18. 芋川玄爾： 紫外線による角質層の変化. 太陽紫外線防御委員会学術報告 4: 75-82, 1994.
19. 芋川玄爾： 角層水分保持作用と DRY SKIN の発生と治療薬. Dermatology Today 1: 8-11, 1994.
20. 芋川玄爾： アトピーおよび老人性乾燥皮膚に関与する酵素. 酵素工学 33: 5-10, 1995.
21. 芋川玄爾： 皮膚角質細胞間脂質の構造と機能. 油化学 44: 51-66, 1995.
22. 芋川玄爾： しわとこじわ. 化粧品科学会誌 20: 284-288, 1996.
23. 芋川玄爾： ドライスキンと角質細胞間脂質. やさいし眼科学 13: 111-119, 1996.
24. 芋川玄爾： アトピー性皮膚炎とスフィンゴ脂質代謝異常. The Lipid 7: 428-432, 1996.
25. 芋川玄爾, 川島真： アトピー性皮膚炎と角質細胞間脂質. Tokyo Tanabe Quarterly 42: 41-52, 1997.
26. 芋川玄爾： アトピー性皮膚炎、どうしてかさかさするの. 日本小児皮膚科 16: 87-99, 1997.
27. 芋川玄爾： 皮膚科領域で使用される保湿剤. 日本臨床皮膚科医学会雑誌 56: 87-96, 1998.
28. 芋川玄爾： Sphingomyelin deacylase とアトピー性皮膚炎, 皮膚疾患と酵素 up date, Monthly Book: Derma デルマ, 全日本病院出版会 1999:15-23
29. 芋川玄爾： 皮膚角層の保湿機能と角層成分の役割. Fragrance J. No 17: 27-39, 2000.
30. 芋川玄爾： 洗浄剤と皮膚〔洗浄剤の皮膚に与える影響〕、日皮協ジャーナル 3:43-48、2003
31. 芋川玄爾： 皮膚の乾燥メカニズムと洗浄・スキンケアのあり方。皮膚と美容 36：22-40、2004
53. 石田耕一、芋川玄爾；手に接触する洗浄剤について知っておくべきこと

Monthly Book Derma デルマ (MB Derma) 、全日本病院出版会 107:
45-53, 2005:

57. 川島眞、石田耕一、河合通雄、芋川玄爾、高島和典：アトピー性皮膚炎患者でのメイクアップ化粧品の効用。日本化粧品学会誌 29 : 139-142、2005

E (著書欧文) -

1. Kawai M., Yoshizawa N., Imokawa G., Okamoto K., Toda K.: **Acrolein vapor fixation electron microscopy of the horny layer.** ed. by Seiji, M and Bernstein, I.A. In: Normal and Abnormal Epidermal Differentiation, . Univeristy of Tokyo Press, 1983: 207-214
2. Imokawa G.: **Water and the Stratum Corneum** (Volume 1). Chapter 3. **VITRO AND IN VIVO MODELS.** ed. By Elsner, P, Berardesca, E and Maibach, H.I. BIOENGINEERING OF SKIN, CRC Press, 1994: 23-47
3. Imokawa G.: Chapter Surfactant Mildness ed. by Rhein and Luger, **Surfactants in Cosmetic,** Marcel Dekker, Inc. 1995 : 123-145
4. Imokawa G.: **Skin Moisturizers: Development and Clinical Use Ceramides.** ed. By M. Loden, Dry Skin and Moisturizers, CRC Press, 1999: 269-299
5. Imokawa G: **Ceramides as natural moisturizing factors and their efficacy in dry skin.** ed. By Leyden JJ and Rawlings AV, Skin Moisturization, Marcel Dekker INC., 2002 pp267-302

F (著書邦文) -

1. 芋川玄爾: 角質細胞間脂質. 現代皮膚科学大系, 中山書店, 1990: 43-53
2. 芋川玄爾, 溝口昌子: 皮膚と界面活性剤. I 基礎編: バイオサーファクタント. サイエンスフォーラム, 1990: 287-302
3. 芋川玄爾: 第3章 界面活性剤との相互作用 1.2. 皮膚. 機能性界面活性剤の開発と最新技術, シーエムシー社 1994: 120-147
4. 芋川玄爾: ドライスキンと保湿のメカニズム、乳液、クリーム、保湿剤、化粧品. 臨床医のためのスキンケア入門、先端医学社, 1997 : 114-138
5. 芋川玄爾: 皮膚 機能性界面活性剤の開発技術. 発行者: 島 健太郎, 発行所: 株式会社 シーエムシー 1998 pp 120-147
6. 芋川玄爾:セラミド. 皮膚疾患, KEY WORD 1999-2000 先端医学社, 1999: 86-87
7. 芋川玄爾: スキンケア剤ー保湿剤 (含むハンドケア) . 美容皮膚科 プラクティス 南山堂, 1999: 176-190
8. 芋川玄爾: 表皮角層水分保持機能. 水と生命 - 熱力学から生理学へー 担当編集委員:永山国昭 編者:日本生物物理学会/シリーズ・ニューバイオフィジックス刊行委員会、発行者: 南條光章、発行所: 共立出版株式会社、2000: pp 152-164
9. 芋川玄爾: 角質細胞間脂質. 機能性化粧品の開発 監修: 高橋雅夫, 発行

者：島 健太郎，発行所：株式会社 シーエムシー 2000 pp 23
5-252

10. 芋川玄爾：セラミド. 新皮膚科学大系, 第7巻 「角化異常性疾患」中山書店, 2001: p 34-42
11. 芋川玄爾：ドライスキン 乾燥するカラダ 坪田一男 編著 53-65、2002
12. 芋川玄爾：セラミドとはなにか? Topics in Atopy vol 2 no. 3 49-61, 2003

○ (他文献) -

1. Wetz PW, Downing DT. Ceramides of pig epidermis; Structure determinations. **J Lipid Res** 1983; 24: 759-63.
2. Freinkel RK, Traczyk T. Lipid composition and acid hydrolase content of lamellar granules of fetal rat epidermis. **J Invest Dermatol** 1985; 85: 295-8.
3. Swartzendruber DC, Wertz PW, Kitko DJ, Madison KC & Downing DT. Molecular models of the intercellular lipid lamellae in mammalian stratum corneum. **J Invest Dermatol** 1989; 92: 251-57.
4. Rougier A.: TEWL and transcutaneous absorption. Bioengineering of the Skin: Water and the Stratum Corneum ed. by Elsner, P., Berardesca, E., Maibach, H.I. CRC Press, Volume 1. Chapter 10. 103-13 (1993)
5. Lampe MA, Whitney BJ, Williams ML, Brown BE, Roitman E, & Elias PM. Human stratum corneum lipids; Characterization and regional variation. **J Lipid Res** 1983; 24: 120-30.
6. Grubauer G, Feingold KR, Harris RM, Elias PM. Lipid content and lipid type as determinants of the epidermal permeability barrier. **J Lipid Res** 1989; 30: 89-96.
7. Wertz PW, Downing DT. Glycolipids in mammalian epidermis; Structure and function of the water barrier. **Science** 1982; 21: 1261-2.
8. Wertz PW, Cho ES, Downing DT. Effect of essential fatty acid deficiency on the epidermal sphingolipids of the rat. **Biochim Biophys Acta** 1983; 753: 350-5.
9. Swartzendruber DC, Wertz PW, Madison KC, Downing DT. Evidence that the corneocyte has a chemically bound lipid envelope. **J Invest Dermatol** 1987; 88: 709-13.
10. Wertz PW, Swartzendruber DC, Kitko DJ, Madison KC, Downing DT. The role of the corneocyte lipid envelopes in cohesion of the stratum corneum. **J**

Invest Dermatol 1989; 93: 169-72

11. Behne M, Uchida Y, Seki T, de Montellano PO, Elias PM, Holleran WM. Omega-hydroxyceramides are required for corneocyte lipid envelop formation(CLE) and normal epidermal permeability barrier function. **J Invest Dermatol 2000; 114: 185-92.**
12. Smith WP, Christensen MS, Nacht S, Gans EH. Effect of lipids on the aggregation and permeability of human stratum corneum. **J Invest Dermatol 1982; 78: 7-11.**
13. Uchida Y, Hara M, Nishio H, Sidransky E, Inoue S, Otsuka F, Suzuki A, Elias PM, Holleran WN, Hamanaka S. Epidermal sphingomyelinase are precursors for selected stratum corneum ceramides. **J Lipid Res 2000; 41: 2071-82.**
14. Schmuth M, Man MQ, Weber F, Gao W, Feingold KR, Fritsch P, Elias PM, Holleran WM. Permeability barrier disorder in Niemann-Pick disease: sphingomyelin-ceramide processing required for normal barrier homeostasis. **J Invest Dermatol. 2000 ;115: 459-66**
15. Holleran WM, Ginns EI, Menon GK, Grundmann JU, Fartasch M, McKinney CE, Elias PM, Sidransky E. Consequences of beta-glucocerebrosidase deficiency in epidermis. Ultrastructure and permeability barrier alterations in Gaucher disease. **J Clin Invest. 1994 ; 93:1756-64.**
16. Jacobi OT. About the mechanisms of moisture regulation in the horny layer of the skin. Pro. Sci. Sect. Good Assoc., 31, 22-24, (1959)
17. Tagami H, Ohi M, Iwatsuki K, Kanamaru Y, Yamada M, Ichijo B. Evaluation of the skin surface hydration in vivo by electrical measurement. *J. Invest. Dermatol.* 75: 500-507, 1980
18. 伝田光洋. スキンケアの理論と実際—湿度環境と皮膚バリアー維持機構—*皮膚* 41: 518-523, 1999
19. 伝田光洋. 角質層の物理化学的機能におけるセラミドの役割. *Fragrance J.* 27: 17-22, 1999
20. Denda M, Hori J, Koyama J, Yoshida S, Nanba R, Takahashi M, Horii I, Yamamoto A: Stratum corneum sphingolipids and free amino acids in experimentally-induced scaly skin. *Arch. Dermatol. Res.* 284: 363-367, 1992
21. Denda M, Koyama J, Namba R, Horii I: Stratum corneum lipid morphology and transepidermal water loss in normal skin and surfactant-induced scaly skin. *Arch. Dermatol. Res.* 286: 41-46, 1994
22. Horii I, Nakayama Y, Obata M, Tagami H: Stratum corneum hydration and amino acid content in xerotic skin. *Br. J. Dermatol.* 121: 587-592, 1989
23. Tadaki T, Watanabe M, Kumasaka K, Tanita Y, Kato T, Tagami H, Horii I, Yokoi T, Nakayama Y, Kligman AM. The effect of topical

- tretinoin on the photodamaged skin of the Japanese. *Tohoku J. Exp. Med.* 169: 131-139, 1993
24. Tanaka M, Okada M, Zhen TX, Inamura N, Kitano T, Shirai S, Sakamoto K, Inamura T, Tagami H: Decreased hydration state of the stratum corneum and reduced amino acid content of the skin surface in patients with seasonal allergic rhinitis. *Br. J. Dermatol.* 139: 618-621, 1998
 25. 中村哲史、本間 大、柏木孝之、坂井博之、橋本喜夫、飯塚 一. アトピー性皮膚炎に対する合成擬似セラミドクリームの実用性及び安全性の検討—ヘパリン類似物質含有軟膏との比較—. *西日本皮膚科* 61: 671—681、1999
 26. Ohta N, Ban S, Tanaka H, Nakata S, Hatta I: Swelling of intercellular lipid lamellar structure with short repeat distance in hairless mouse stratum corneum as studied by X-ray diffraction. *Chemistry and Physics of Lipids* 123: 1-8, 2003
 27. Pieper J, Charalambopoulou G, Steriotis Th, Vasenkov S, Desmedt A, Lechner RE: Water diffusion in fully hydrated porcine stratum corneum. *Chemical Physics* 292: 465-476, 2003
 28. Nakagawa N, Sakai S, Matsumoto M, Yamada K, Nagano M, Yuki T, Sumida Y, Uchiwa H.: Relationship Between NMF (Lactate and Potassium) Content and the Physical Properties of the Stratum Corneum in Healthy Subjects. *J Invest Dermatol* 122:755 –763, 2004
 29. Tregear RT: Interpretation of skin impedance measurements. *Nature* 205: 600, 1965
 30. Ohnishi Y, Okino N, Ito M and Imayama S: Ceramidase activity in bacterial skin flora as a possible cause of ceramide deficiency in atopic dermatitis, *Clin Diag Lab Immunol*, 1999; 6: 101-104
 31. Jensen JM, Fölster-Holst R, Baranowsky A, Schunck M, Winoto-Morbach S, Neumann C, Schütze S, Proksch E: Impaired Sphingomyelinase Activity and Epidermal Differentiation in Atopic Dermatitis. *J Invest Dermatol* 2004; 122: 1423-1431
 32. Loden M, Andersson AC, Lindberg M: Improvement in skin barrier function in patients with atopic dermatitis after treatment with a moisturizing cream (Canoderm). *Br J Dermatol.* 1999; 140: 264-267
 33. Loden M, Andersson AC, Andersson C, Frodin T, Oman H, Lindberg M: Instrumental and dermatologist evaluation of the effect of glycerine and urea on dry skin in atopic dermatitis. *Res Technol.* 2001; 7: 209-213

34. Loden M. Role of topical emollients and moisturizers in the treatment of dry skin barrier disorders. *Am J Clin Dermatol.* 2003; 4: 771-788
35. Hachem JP, De Paepe K, Vanpee E, Kaufman L, Rogieers V, Roseeuw D: The effect of two moisturisers on skin barrier damage in allergic contact dermatitis. *Eur J Dermatol* 2002; 12: 136-138
36. Chamlin SL, Kao J, Frieden IJ, Sheu MY, Fowler AJ, Fluhr JW, Williams ML, Elias PM: Ceramide-dominant barrier repair lipids alleviate childhood atopic dermatitis: changes in barrier function provide a sensitive indicator of disease activity. *J Am Acad Dermatol* 2002; 47: 198-208
37. Hanifin JM, Rajka G: Diagnostic features of atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1989; **92**: 44-47