

化粧品開発研究へのSEMの応用

(株)コーセー
山下 美香

株式会社コーセーの概要

- ・創 業 1946年3月2日
- ・従業員数 14,060名 (連結：2020年3月期末 嘱託・パートを含む)
- ・事業内容 化粧品の製造、販売
- ・売上高 2,793億円 (21年3月期)
- ・営業利益 132億円 (営業利益率 12.3%)



本社（中央区日本橋）

- ・本社 東京都中央区日本橋
- ・営業所 全国39支店
- ・研究所 東京都北区王子
- ・工場 埼玉県・群馬県
- ・研修センター 東京都北区王子
- ・関係会社 コーセーコスメポート
アルビオン他



製品開発研究所（北区王子）



先端技術研究所（北区王子）

化粧品開発研究とは？

- ・ 製剤開発研究
☆物理化学・界面化学・粉体工学・色彩学・
- ・ 素材開発研究
☆天然物化学・生薬学・有機・無機化学・高分子化学・油化学・
- ・ 品質保証研究
☆毒性学・薬理学・微生物学・分析化学・
- ・ 皮膚科学研究
☆医学・生理学・生化学・細胞生物学・分子生物学・
- ・ 有用性研究
☆薬理学・感性工学・生理学・心理学・データサイエンス・
- ・ 市場調査研究
☆統計学・経済学・マーケティング理論・

美白研究の技術リリース例

KOSÉ NEWS RELEASE 2017.9.22

皮膚のシミの構造を3Dで捉えることに成功
～メラチノサイトはメラノサイトに包みこまれていた～

株式会社コーセー（本社：東京都中央区、代表取締役社長：小林 一俊）は、久留米大学 先端イメージング研究センター 大田 啓介准教授との共同研究により、シミの構造を、シミ部位におけるメラノサイト（色素細胞）とメラチノサイト（表皮細胞）の立体的な位置関係を初めて捉えることに成功しました。さらに、シミ部位とメラチノサイトにおけるメラノサイトの形状の違いも明らかになりました。今回の成果により、さらなる美白メカニズムの解明が期待できます。また、実用化型予定の美白化粧品に今回の知見を活用する予定です。

研究結果のポイント

コーセーでは、シミ形成メカニズム解明や薬用の開発についてさまざまな角度から研究を重ねてきました。より有効な美白アプローチを開発していくためには、お肌さまの悩みとなるシミ部位で、メラノサイトとメラチノサイトのどのような状態に存在して、メラノサイトからメラチノサイトに受け渡しが行われているのか、リアルな像として構造的に把握することが重要と考えました。今回コーセーでは、シミ皮膚から得た細胞部位およびシミ部位に対し、改修 3次元再構築技術を用いることで、メラノサイトとメラチノサイトの立体的な位置関係を可視化することに取り組みました。

その結果（図1、図2）

① シミ部位のメラノサイトとメラチノサイトの配置を初めて立体的に再現
② シミ部位のメラノサイトはメラチノサイトに包みこまれていたことを発見することができました。

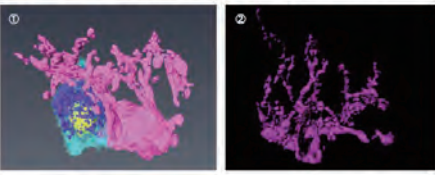


図1. ①シミ部位のメラノサイト（ピンク色）とメラチノサイト（青色）の立体的な位置関係
②シミ部位のメラノサイトの形状

シミ細胞、3D再構築
コーセー 美白化粧品に活用

久留米大学 先端イメージング研究センター 大田 啓介准教授との共同研究により、シミの構造を、シミ部位におけるメラノサイト（色素細胞）とメラチノサイト（表皮細胞）の立体的な位置関係を初めて捉えることに成功しました。さらに、シミ部位とメラチノサイトにおけるメラノサイトの形状の違いも明らかになりました。今回の成果により、さらなる美白メカニズムの解明が期待できます。また、実用化型予定の美白化粧品に今回の知見を活用する予定です。

シミ部位では、右側の色素細胞が突起を伸ばし、左側の表皮細胞を覆っている（コーセー提供）

2017.9.25日刊工業

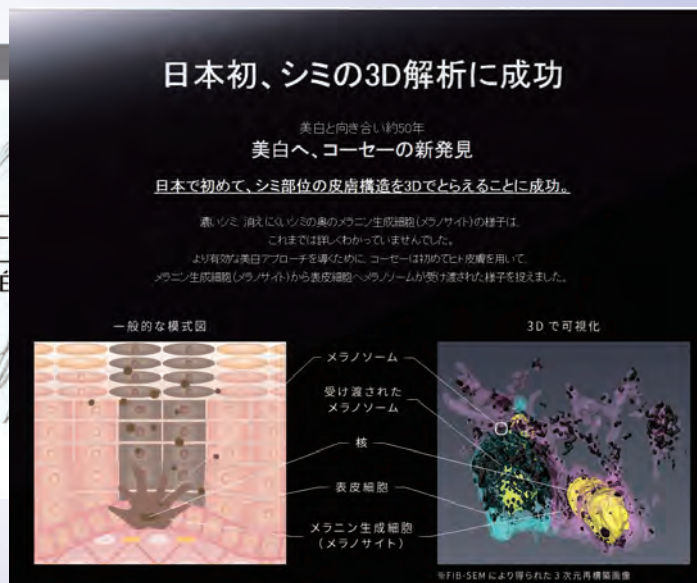
海外市場に好機 次の成長へ一手

化粧品 相次ぐ新機軸 製品開発に活用

労働力不足に備え 人型ロボットを導入

2017.9.27化学工業日報

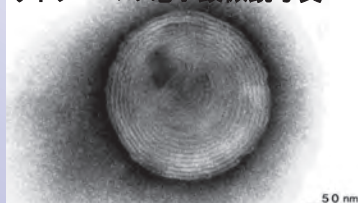
製品情報への応用



コーセーを代表するロングセラー製品 ～コスメデコルテモイストチュアリポソーム～



リポソームの電子顕微鏡写真



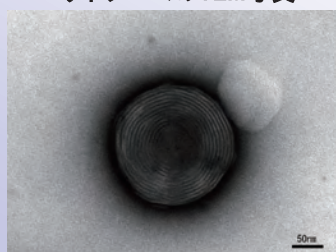
《開発の経緯》

- 1984 新素材としてのリポソームの機能性に着目
- 1985 調査、基礎研究の開始・製剤化研究の開始
- 1987 リポソームタイプ化粧料の発売
⇒厚生省の指導
安定性、安全性、有効性評価、薬事情報収集
- 1989 規制をクリアする製剤化に目途
- 1992 業界初の認可を受けたリポソーム化粧料を発売

2021年9月 29年ぶりにリニューアル

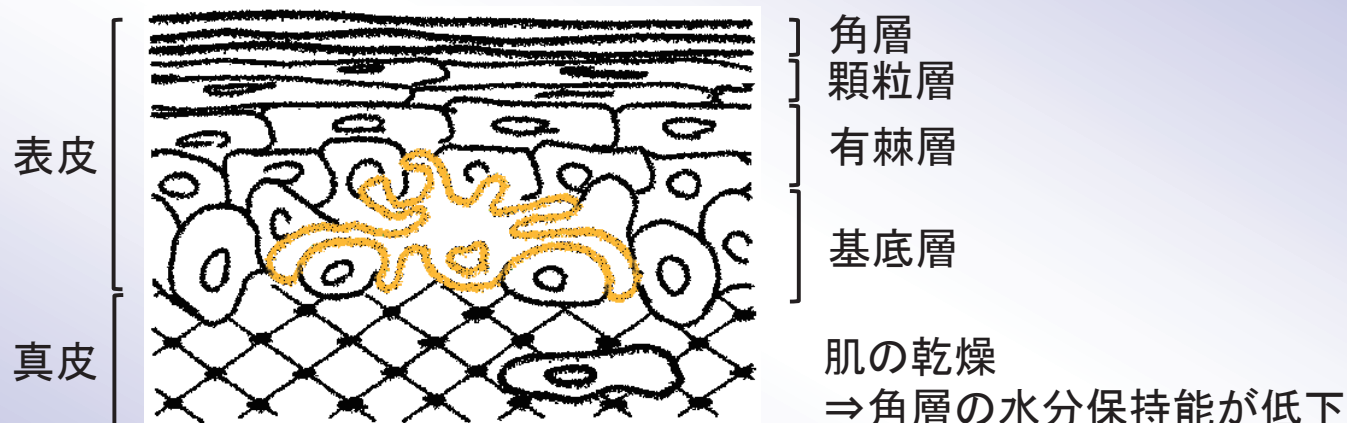


リポソームのTEM写真



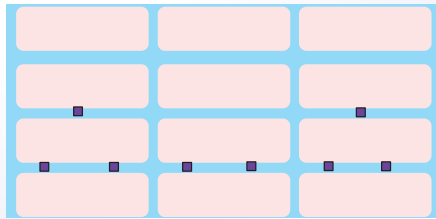
肌効果をミクロで
可視化したい！

皮膚の構造

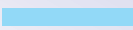


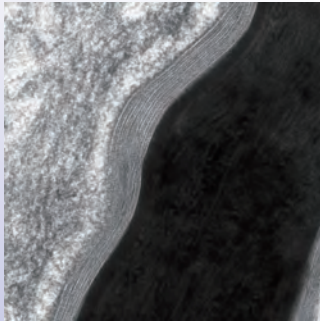
健やかで美しい肌作り⇒角層の解析が非常に重要！

角層の構造とTEM/SEM

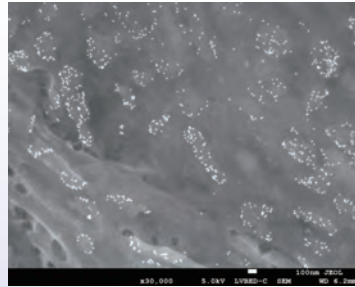


レンガ・モルタル構造

- 角質細胞  :レンガ
- 細胞間脂質  :モルタル
- 細胞接着因子 



細胞間脂質のTEM像



細胞接着因子(Dsg1)の局在

角質細胞の
観察例は
少ない！

最近の角層研究

- 角層は3層構造を有する。
- 角層上・中・下層各々のバリアの性能が異なる。
- 角層中層が水分保持に寄与している。

角層中の水の存在状態を可視化する必要がある

クライオSEMの活用

クライオSEMでの観察の流れと課題



ヒト皮膚をどのように入手するか

⇒フランス分室より入手

いかに氷晶成長の影響が少ない凍結を行うか

⇒凍結条件の検討が必要

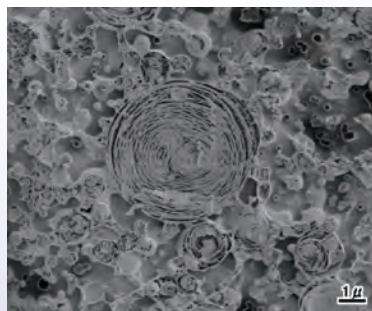
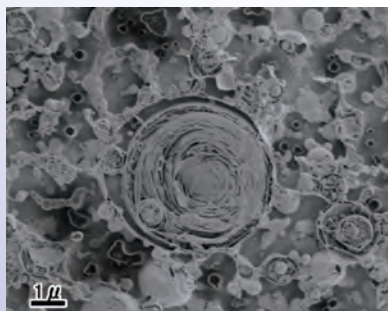
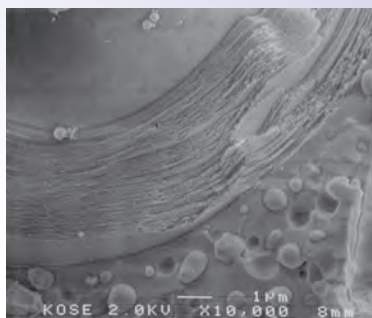
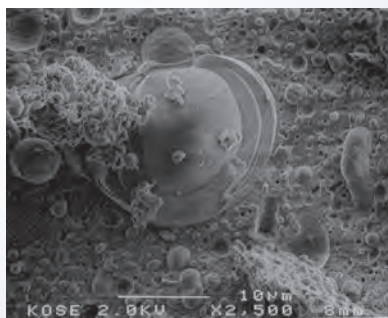
いかに効率良く観察断面を作製するか

⇒クライオマイクロームによる断面作製

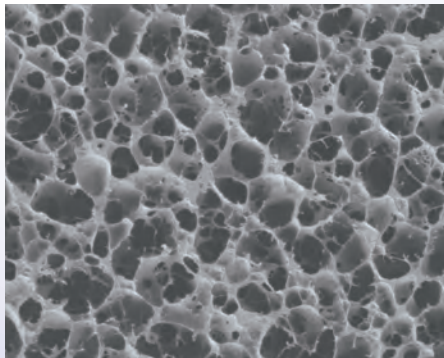
クライオユニットを搭載したSEMでの観察

⇒JSM-7800F prime/Alto250 (JEOL/GATAN)

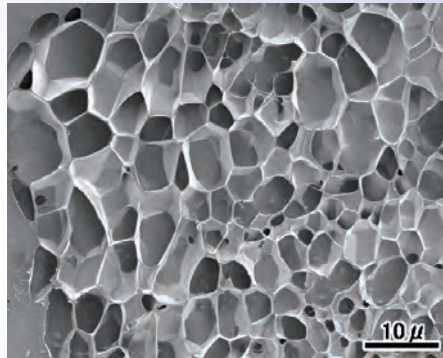
リポソームのクライオSEM像



凍結の問題点



寒天



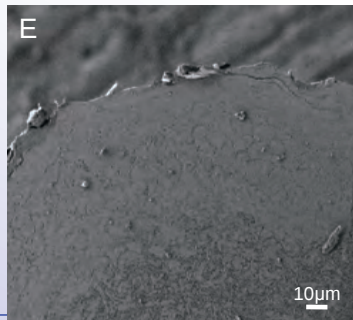
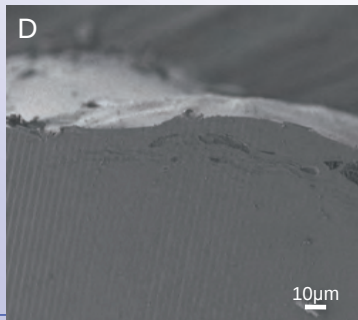
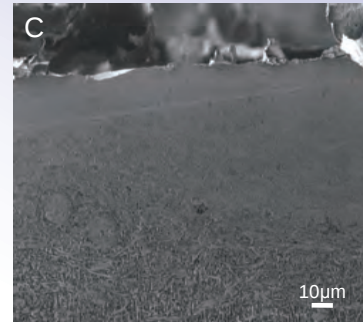
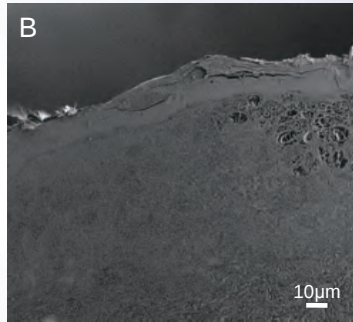
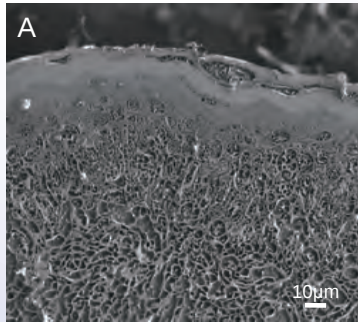
水溶性高分子

- 氷結晶の成長に伴う体積変化
- 溶質が濃縮されて起こる凍結濃縮

凍結による構造変化を防ぐには…

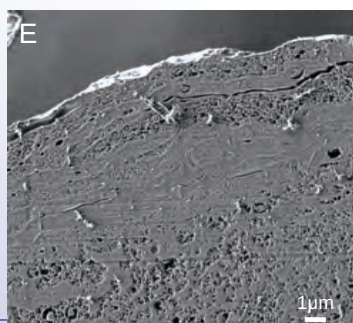
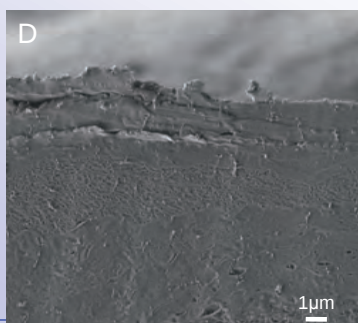
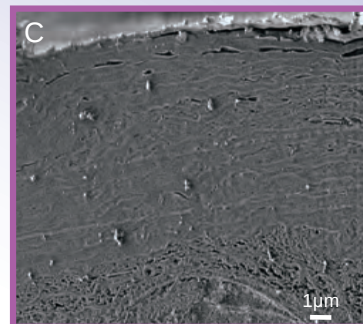
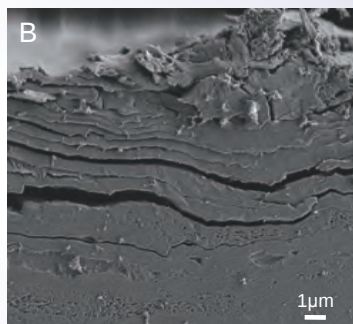
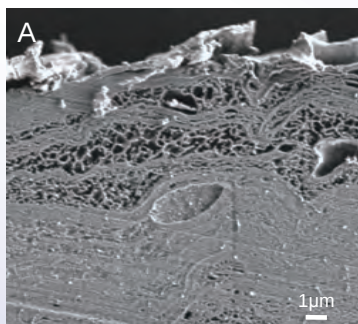
- 良い凍結: 氷晶の大きさが10–15nmを超えない
 - ✓ 急速凍結法; 10000°C/sの凍結速度を確保
 - 浸漬法
液体窒素、液体プロパン、液体エタン、液体ヘリウム等
 - メタルコンタクト法
 - ✓ 加圧凍結法

凍結法検討結果



- A: 未処理+スラッシュ窒素
 B: 未処理+液体プロパン
 C: メタルコンタクト
 D: Sucrose処理
 +スラッシュ窒素
 E: Sucrose処理
 +液体プロパン

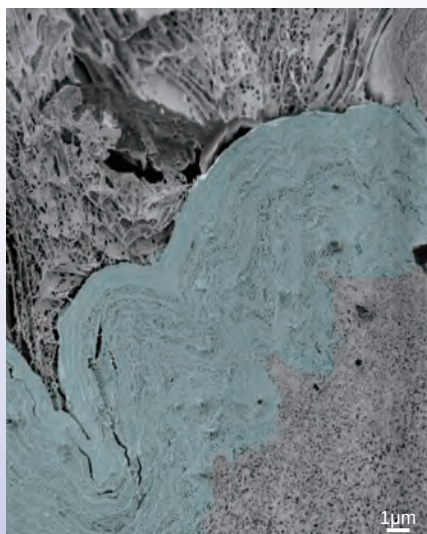
凍結法検討結果



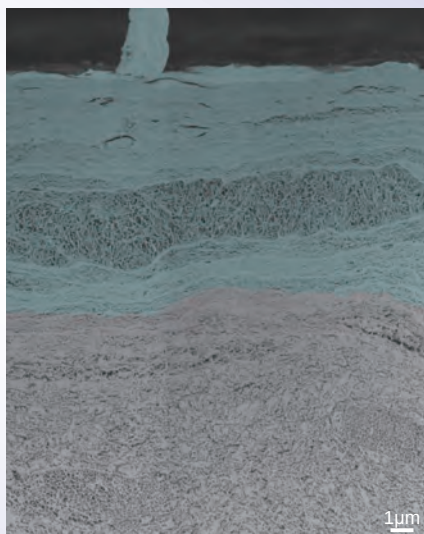
- A: 未処理+スラッシュ窒素
 B: 未処理+液体プロパン
 C: メタルコンタクト
 D: Sucrose処理
 +スラッシュ窒素
 E: Sucrose処理
 +液体プロパン

応用例;保湿剤塗布効果(1)

未処理

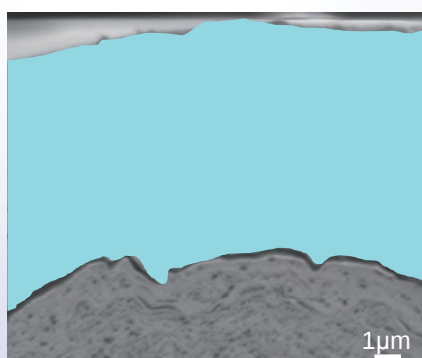


グリセリン処理

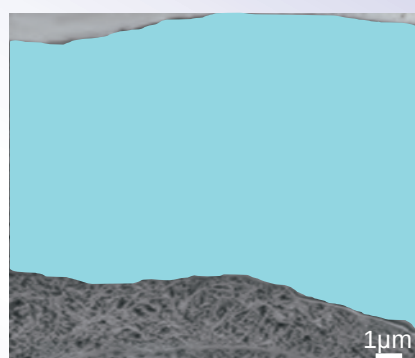


応用例;保湿剤塗布効果(2)

未塗布



新リポソーム塗布



常在菌とは？

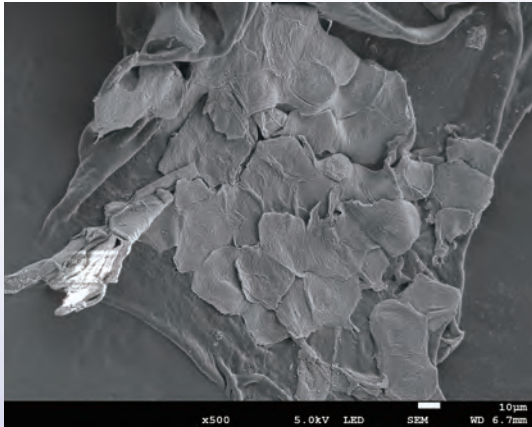
- 体内の特定部位に集団で存在し、細菌叢といわれる
- 腸内細菌叢、口腔細菌叢の健康へのかかわりに関する研究が盛ん
- 皮膚にも常在菌は存在し、皮膚の恒常性維持に貢献しているといわれる
- 常在菌の存在比等は細菌叢解析で行われる。

皮膚上でどのように菌が存在しているか可視化したい！

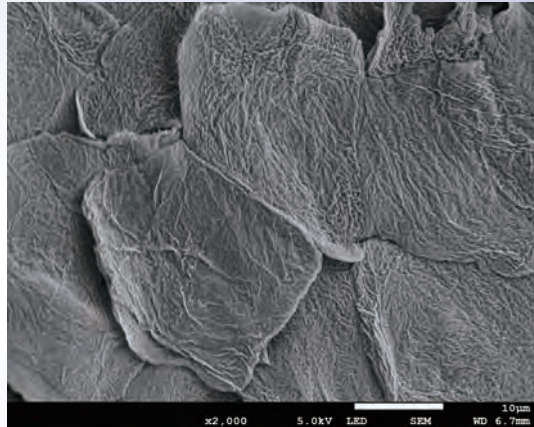
観察フローと課題



ストリッピング剤の検討① ～テープ～



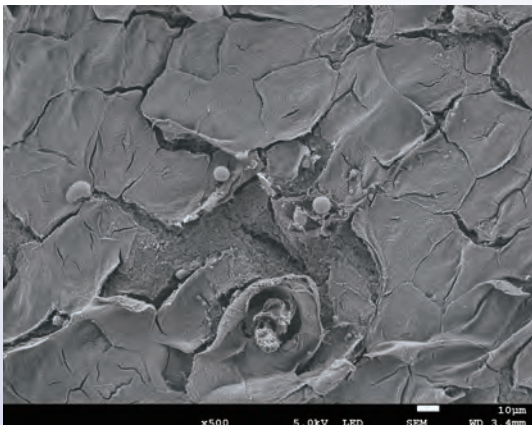
角層きれいに採取されているが、
ストリッピング剤であるテープ由来の構造が
しっかりと観察される



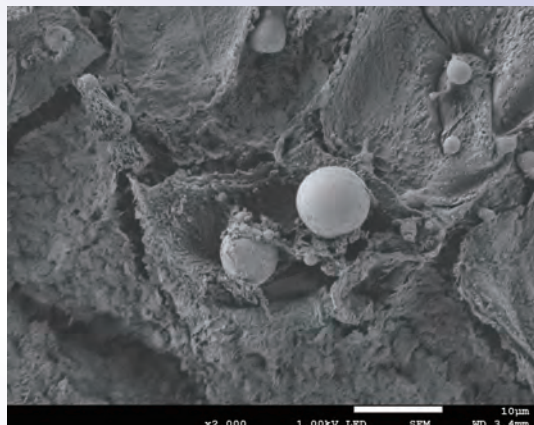
角層の裏特有の構造が隠されている

ストリッピング剤が除去されず、角層表面が観察できていない！

ストリッピング剤の検討② ～シアノアクリレート系接着剤～



- 角層きれいに採取されている。
- 接着剤の残りは認められない。
- 毛穴らしきものもみられる。



角層の上に酵母や球菌が確認される

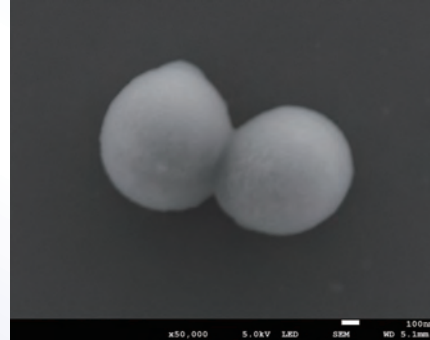
シアノアクリレート系接着剤がストリッピング剤として使える！

被験者の特徴

- 脂性肌の自覚あり
- 下記2種の菌の存在比率が高い(16S rRNA遺伝子細菌層解析)

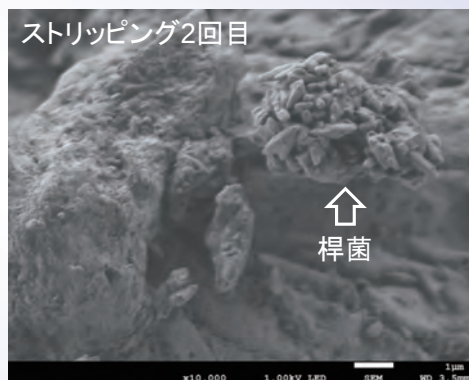


Cutibacterium acnes
アクネ菌
ニキビの原因と言われる桿菌



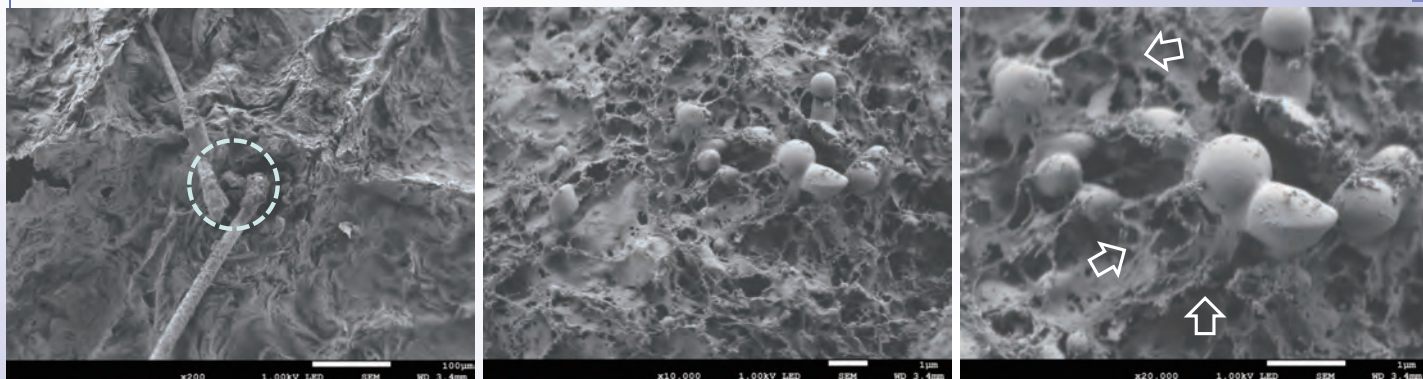
Staphylococcus epidermidis
白色ブドウ球菌
皮膚に常在する球菌

観察結果①: 同一部位の観察



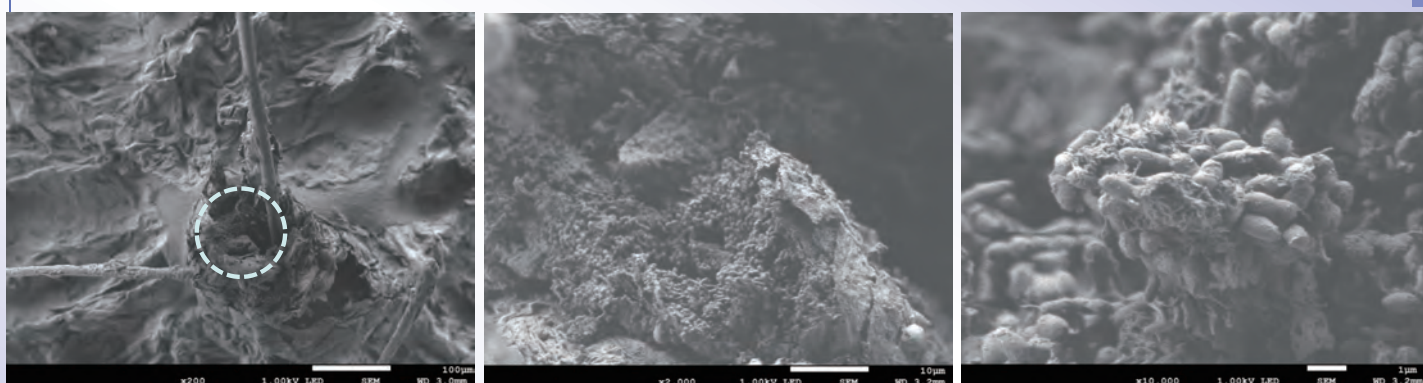
すべてのサンプルで菌が観察された。
皮膚常在菌は、皮膚表面だけでなく、角層の下層にも存在することがわかった。

観察結果②-1: 毛穴回り(1)



球菌の密集あり
その周りにネットワーク構造

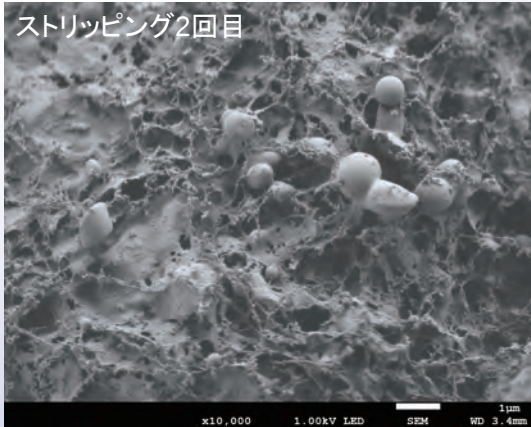
観察結果②-2: 毛穴回り(2)



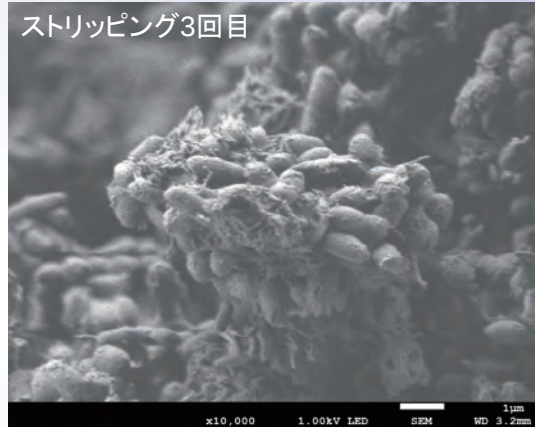
桿菌の密集あり

毛穴回りの菌の観察結果のまとめ

ストリッピング2回目



ストリッピング3回目



- 被験者の皮膚は、白色ブドウ球菌、アクネ菌（桿菌）の存在比率が高い
- 2菌は両方とも嫌気性菌に分類される
⇒空気に触れにくい角層の下層に存在することで、皮膚に常在していることが示唆された。

最後に

SEMはこの20年の間に大いに進化し、検出器を使い分けることで試料のいろいろな情報が得られる

⇒像の解釈が難しくなっている

⇒試料の特性と目的を理解し、手法を選択する必要がある