

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3590708号
(P3590708)

(45) 発行日 平成16年11月17日(2004.11.17)

(24) 登録日 平成16年8月27日(2004.8.27)

(51) Int.Cl.⁷

A 6 1 B 5/107

F I

A 6 1 B 5/10 3 0 0 Q

請求項の数 5 (全 7 頁)

(21) 出願番号	特願平9-40127	(73) 特許権者	000001959
(22) 出願日	平成9年2月7日(1997.2.7)		株式会社資生堂
(65) 公開番号	特開平10-216106		東京都中央区銀座7丁目5番5号
(43) 公開日	平成10年8月18日(1998.8.18)	(73) 特許権者	591062065
審査請求日	平成14年5月28日(2002.5.28)		株式会社アドバンストスキンリサーチ研究所
			神奈川県横浜市金沢区福浦2丁目12番地1
		(74) 代理人	100060782
			弁理士 小田島 平吉
		(74) 代理人	100094293
			弁理士 藤井 幸喜
		(72) 発明者	針谷 毅
			神奈川県横浜市港北区新羽町1050 株式会社資生堂第一リサーチセンター内
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 肌質の評価方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

肌質の評価対象部位の皮膚由来の角層試料における、インターロイキン1 (IL-1) とインターロイキン1レセプターアンタゴニスト (IL-1ra) の存在量の比率を肌質の指標とすることを特徴とする肌質の評価方法。

【請求項2】

(A) 被験者の評価対象部位の皮膚由来の角層試料を用意する工程、
 (B) 用意した角層試料中のIL-1およびIL-1raの存在量を測定する工程、
 (C) 前記存在量からIL-1とIL-1raとの間の比率を算出する工程、
 (D) 工程(C)で算出された比率を、被験者以外の対応する角層試料について工程(A)～(C)と同様の工程を介して得られた比率と比較する工程、
 を含んでなる請求項1記載の評価方法。

【請求項3】

前記工程(D)の被験者以外の対応する角層試料からの比率が、安定肌を有する複数人から得られる平均値である請求項2記載の評価方法。

【請求項4】

評価対象部位の皮膚に由来する角層試料が、テープストリッピングもしくは擦過を介して採取された試料に由来する請求項2または3記載の評価方法。

【請求項5】

請求項1記載の肌質の評価方法を、一定のスキンケア手段が施される前後の皮膚に由来す 20

る角層試料に対して実施し、両角層試料中の I L - 1 と I L - 1 r a の存在量の比率を比較し、それらの差異を前記スキンケア手段の有効性の指標とすることを特徴とするスキンケア手段の有効性評価方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、肌質の評価方法およびスキンケア手段の有効性評価方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

肌質（または皮膚の状態）を的確に把握することは、より健康な皮膚を維持するための的確なスキンケアをするうえで重要である。そのため、化粧品によるスキンケアを実施するに際し、例えば、美容専門家による問診等を通じて、化粧品の使用者の肌質、特に肌の敏感度等が評価されてきた。また、このような問診では、必ずしも肌質の客観的な評価ができないことから、各種の分析機器等を使用して、観察または測定されるパラメーターにより皮膚の状態または機能を評価することも行われている。

10

【0003】

このようなパラメーターの代表的なものとしては、皮膚表面の鋳型（ネガティブレプリカ）を適当に拡大した皮膚表面形態、角層の電導度（コンダクタンス）測定による角層水分量、経皮水分損失（T W L）の算定値による角層のバリアー機能、不完全な角質細胞の出現頻度による不全角化度、等が挙げられる〔例えば、新化粧品学、光井武夫編、南山堂発行（1993年1月12日）参照〕。

20

【0004】

一方、皮膚科的な領域では、外界からの異物の侵入を防ぐ皮膚の物理的なバリアーとしての機能に加えて、皮膚が重要な免疫反応の場であることも解明されてきている。例えば、炎症性皮膚疾患における炎症反応は表皮角化細胞、湿潤してきた炎症細胞が産生するサイトカインによって仲介されることが明らかにされてきている。

【0005】

各種サイトカインの中で、インターロイキン1（本明細書では、「I L - 1」と略記する場合がある）は、表皮角化細胞を初めとする細胞が産生する炎症惹起性サイトカインの代表として研究されてきた。この I L - 1 は正常角層中に多量に含まれており、角層が破壊されるような外的、内的な機転が働くと I L - 1 が放出され、一連の炎症反応の引き金を引く重要な役割を担っているものとみなされている。生体の恒常性を維持するため生体は前記炎症反応を抑制する機構をいくつか持っている。その一つとして I L - 1 がその受容体に結合するのを抑制する I L - 1 レセプターアンタゴニスト（本明細書では、「I L - 1 r a」と略記する場合がある）が挙げられている。また、本発明者の一部は、皮膚の存在する身体の部位によって、それらの角層中の I L - 1 および I L - 1 r a の量比が有意に相違することを明らかにした（T. H i r a o ら、J. I n v e s t . D e r m a t o l . , 106: 1102-1107, 1996）。

30

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

40

上述のように、肌質をある程度客観的に評価するためのいくつかの方法が提案されている。しかし、全く異なる観点から肌質を評価する手段に対する要望は依然として存在する。したがって、本発明の目的は、従来の方法とは本質的に異なるパラメーターに基づく肌質の評価方法を提供することにある。

【0007】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、皮膚、特に角層の状態を細胞レベルで解明すべく検討を行ってきた。その結果、角層中の I L - 1 および I L - 1 r a の存在量は、角層が由来する部位によって量比が有意に異なる（上述の T. H i r a o ら、参照）だけでなく、肌質をも反映することを見い出した。

50

【0008】

したがって、上記課題は、本発明に従う肌質の評価対象部位の皮膚由来の角層試料における、 $IL-1$ と $IL-1ra$ の存在量の比率を肌質の指標とすることを特徴とする肌質の評価方法、を提供することにより解決できる。

【0009】

また、本発明の好ましい態様としては、(A) 被験者の評価対象部位の皮膚由来の角層試料を用意する工程、

(B) 用意した角層試料中の $IL-1$ および $IL-1ra$ の存在量を測定する工程、

(C) 前記存在量から $IL-1$ と $IL-1ra$ との間の比率を算出する工程、

(D) 工程(C)で算出された比率を、被験者以外の対応する角層試料について工程(A)～(C)と同様の工程を介して得られた比率と比較する工程、を含んでなる肌質の評価方法、
を挙げることができる。

【0010】

かかる評価方法によれば、例えば上記工程(D)の被験者以外の対応する角質試料からの比率が、安定肌の複数人から得られる平均値(例えば、 $IL-1ra/IL-1$ の値)である場合、被験者の評価対象部位の皮膚における $IL-1ra/IL-1$ の値が安定肌の平均値より有意に高いときは、被験者の肌質は敏感肌ないしは肌荒れが生じているものと評価できる。

【0011】**【発明の具体的な態様】**

本発明にいう「肌質」とは、皮膚の状態を指す美容用語であって、皮膚科領域でいう、皮膚の正常、異常を指す概念を除く意味である。本明細書では、具体的には、「肌質」とは所謂、安定肌、それに対する敏感肌ないしは肌荒れの生じている皮膚等の状態を表示する概念として使用されている。また、本明細書において「 $IL-1$ 」は、 $IL-1\alpha$ を表示する目的で使用されている。

【0012】

本発明における評価対象部位は、その目的上、非侵襲的な方法により角層試料が入手できる部位であれば、いかなる部位をも包含しうるが、典型的な部位としては顔面の頬、額、手の甲などを挙げることができる。これらの部位の皮膚由来の角層試料は、非侵襲的な方法として、該当技術分野で常用されているテープストリッピング、擦過等により採取された試料に由来するものを好ましく使用することができる。

【0013】

こうして用意した各試料における $IL-1$ および $IL-1ra$ の存在量は、各試料からそれ自体既知の生化学的方法、たとえば凍結融解法、超音波破碎法等を介して可溶性画分を調製する抽出方法によって $IL-1$ または $IL-1ra$ を抽出した後に、測定するのが好ましい。

【0014】

$IL-1$ の測定は、それ自体既知の、リンパ球増殖反応等を指標としたバイオアッセイ法や、 $IL-1$ に対する抗体との反応性に基づくエンザイムイムノアッセイ、ラジオイムノアッセイ、ウエスタンブロッティング等の方法を用いることができる。 $IL-1ra$ の測定は、リンパ球増殖反応の阻害等を指標としたバイオアッセイ法や、 $IL-1ra$ に対する抗体との反応性に基づくエンザイムイムノアッセイ、ラジオイムノアッセイ、ウエスタンブロッティング等の方法を用いて行うことができる。いずれの方法によっても $IL-1$ の測定および $IL-1ra$ の測定が可能であるが、操作の簡便性、感度、設備等の点から、上記抗体を用いるエンザイムイムノアッセイによる方法が好ましい。

【0015】

以上により評価対象部位の角層試料について測定された $IL-1$ および $IL-1ra$ の値から、 $IL-1/IL-1ra$ または $IL-1ra/IL-1$ の比率を算出し、得られた値を、通常、安定肌を有することが知られているヒトの対応する角層試料について、予め

測定されたか、あるいは同時にまたはその後に測定して、同様に得られる値と比較する。後者の値は、複数人のデータからの平均値を使用することが、客観的な評価ができるので好ましい。

【0016】

本発明によれば、こうして比較した結果、例えば評価対象の皮膚の $IL-1ra/IL-1$ の比率が健全な肌質の皮膚の $IL-1ra/IL-1$ の比率より有意に大きい場合には、前者の肌質は、肌荒れ、敏感肌等の何等かの皮膚トラブルを有すると評価できる。

【0017】

以上の肌質の評価方法における評価対象部位の値と健全な肌質（安定肌）を有する人からの値との比較に代え、同一人において、一定のスキンケア手段が施される前後の皮膚に由来する角層試料間における $IL-1$ と $IL-1ra$ の存在量の比率の比較を行うこともできる。この場合、例えばスキンケア手段が施された後の $IL-1ra/IL-1$ の値が、それ以前の $IL-1ra/IL-1$ の値よりも有意に小さいときは、当該スキンケア手段は肌質の改善に有効であるものと評価できる。従って、本発明によれば、皮膚に対して施されたスキンケア手段の評価方法も提供される。かかるスキンケア手段としては、スキンケアクリーム、スキンケアローション等の皮膚への施用を具体的なものとして挙げるができるが、それらに限定されない。

【0018】

【実施例】

以下、本発明を実施例を引用しながらさらに具体的に説明する。

【0019】

（角層試料の用意および測定試料の調製例）

安定肌または肌荒れ、敏感肌等の皮膚トラブルを有する被験者の顔面（頬）に粘着性セロハンテープを貼付して直ちに剥離した。テープに付着した角層にリン酸緩衝生理食塩液を加えて、超音波処理を施した後、遠心分離により、 $IL-1\alpha$ および $IL-1ra$ を含む可溶性タンパク質画分を得た。

【0020】

上記それぞれの試料に対する操作は、以下、具体的に記載する共通の方法によって行った。

【0021】

角層の採取は、I. Horii ら、Br. J. Dermatol., 121: 587-592 (1989) に記載の方法を若干改良して行った。まず、粘着性テープ片を試料採取部によく貼付し、そのテープ片を剥がした。このテープ片 (24mm×45mm) を細断した後、ペニシリン、ストレプトマイシンおよび Fungizone (Gibco 製) を補足したダルベッコのリン酸緩衝生理食塩液に浸漬し、抽出を行うまで -20℃ で貯蔵した。抽出は、前記浸漬液をプローブを備えた超音波処理器 (Astrason, Heat Systems-Ultrasonics 製) を用い、氷上で2分間処理して行った。不溶物を、4℃ で10分間14,000g の遠心により除去した。こうして、得られた上澄を以下に実験に供した。

【0022】

（ $IL-1$ および $IL-1ra$ の測定例）

上述の方法で調製した角層試料（上澄）中の $IL-1$ 、 $IL-1ra$ の測定は、それぞれ $IL-1$ 、 $IL-1ra$ 測定用エンザイムイムノアッセイ (ELISA) キット (R&D Systems 社製) を用いて行った。

【0023】

試料中の $IL-1ra$ を測定する場合は、上記上澄をキットに備えられている希釈液で10倍希釈した。ELISAの結果は、吸光度を Titer tek Multiscan (Lab systems 製) で測定した。

【0024】

採取される角層の量は、測定対象部位、皮膚の状態により異なるため、測定試料中のタン

10

20

30

40

50

パク質を Bradford 法 (MM. Bradford, Anal. Biochem., 72: 248-254, 1976) により測定し、タンパク質量あたりの IL-1 あるいは IL-1ra を算出し、角層中 IL-1 値、IL-1ra 値とした。また、生物活性の指標となる IL-1ra/IL-1 比を算出した。

【0025】

(他の皮膚生理パラメーターの測定)

角層の電導度 (コンダクタンス) 測定による角層水分量は、SKICON-100 (I. B. S. 株式会社製) により測定した。

【0026】

経表皮水分喪失量 (Trans epidermal Water Loss: TWL) は、エバポリメーター EP1 (SERVO MED 製) により測定した。角層ターンオーバーは、Takahashi らの方法 (文献: J. Soc. Cosmet. Chem. Japan., Vol. 20 (3), 144-200, 1986) に準じて、角層細胞サイズにより測定した (角層細胞サイズは角層ターンオーバーの亢進に伴って小さくなる)。なお、TWL および角層ターンオーバーは、肌荒れに伴って亢進することが知られている皮膚生理パラメーターである。

【0027】

(複数被験者の角層試料中 IL-1 値、IL-1ra 値、IL-1ra/IL-1 の値と他の皮膚生理パラメーターとの相関)

(1) 各種皮膚状態の被験者 (41 名) について、IL-1、IL-1ra および TWL を、それぞれ測定し、IL-1ra/IL-1 の値を縦軸に、そして TWL の値を横軸にとり、プロットしたグラフを図 1 に示す。

【0028】

このグラフから、相関係数の有意性の検定を行ったところ、 $P < 0.01$ で有意であることが判明した (なお、 $y = 42.329x - 119.702$ $r = 0.440$)。すなわち、顔面角層試料中の TWL 値と IL-1ra/IL-1 の比率とは有意な相関性を示す。このことから、本発明に従う、IL-1ra/IL-1 の比率は、角層のバリア機能の指標となりうるということが理解できる。

【0029】

(2) 各種皮膚状態の被験者 (63 名) について、IL-1、IL-1ra および角層サイズを測定し、IL-1ra/IL-1 の値を縦軸に、そして角層サイズを横軸にとり、プロットしたグラフを図 2 に示す。

【0030】

このグラフから、相関係数の有意性の検定を行ったところ、 $p < 0.05$ で有意であることが判明した (なお、 $y = -98.462x + 1136.887$ $r = -0.251$)。すなわち、角層サイズと角層中の IL-1ra/IL-1 の値との間には負の有意な相関性があることを示す。具体的には、角層サイズが小さくなると角層中の IL-1ra/IL-1 の値は大きくなるということが理解できる。

【0031】

(被験者の角層試料中の IL-1ra/IL-1 の値と問診による肌の敏感度との相関) 被験者 (33 名) を自己申告に基づいて敏感肌群と安定肌群にグループ分けし、それぞれのグループに属する被験者の頬の角層水分量、TWL および角層試料中の IL-1 および IL-1ra を測定し、それぞれのパラメーターの平均値を求めた。結果を下記表 I に示す。

【0032】

【表 1】

表 I : 敏感肌および安定肌のコンダクタンス、TWL値および角層試料中の IL-1ra/IL-1 の値(数値は平均±標準誤差を示す)

肌タイプ	コンダクタンス($\mu\Omega^{-1}$)	TWL (g/m ² h)	IL-1ra/IL-1の値
安定肌群	19.2±3.2	13.3±1.1	212.2±35.1
敏感肌群	5.6±0.9***	17.1±1.7*	494.0±159.1**

* : $P < 0.08$ ** : $P < 0.05$ *** : $P < 0.01$

10

【0033】

【発明の効果】

本発明に従えば、非侵襲的方法により採取できる角層試料中の IL-1 および IL-1ra を測定し、それらの測定値から算定された比率により、被験者の肌質を客観、かつ正確に評価できる方法が提供される。

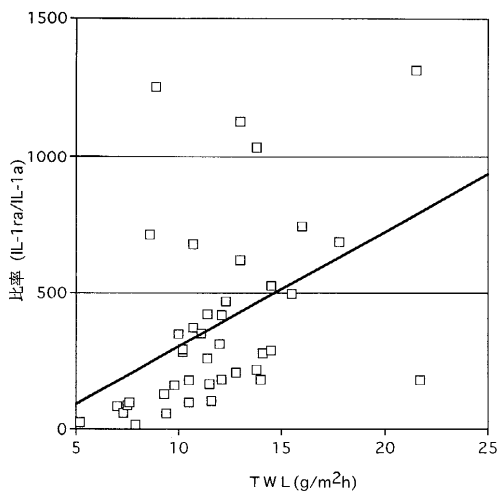
【図面の簡単な説明】

【図 1】 各種被験者の角層試料中の IL-1ra/IL-1 の値と、TWL の値との間の関連性を示すグラフである。

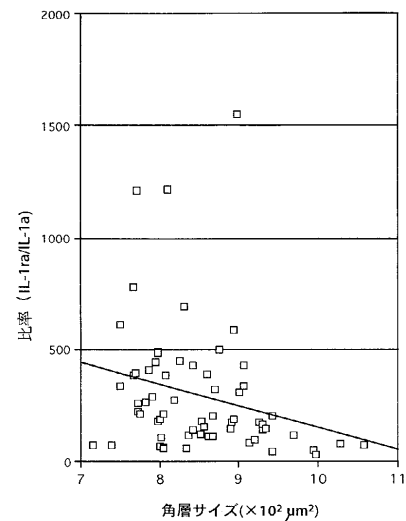
20

【図 2】 各種被験者の角層試料中の IL-1ra/IL-1 の値と、角層サイズとの間の関連性を示すグラフである。

【図 1】



【図 2】



フロントページの続き

- (72)発明者 市川 秀之
神奈川県横浜市港北区新羽町1050 株式会社資生堂第一リサーチセンター内
- (72)発明者 平尾 哲二
神奈川県横浜市金沢区福浦2-12-1 株式会社アドバンストスキンリサーチ研究所内
- (72)発明者 横山 智子
神奈川県横浜市金沢区福浦2-12-1 株式会社アドバンストスキンリサーチ研究所内
- (72)発明者 佐藤 悦久
神奈川県横浜市金沢区福浦2-12-1 株式会社アドバンストスキンリサーチ研究所内

審査官 小原 博生

- (56)参考文献 特開平06-082443 (JP, A)
特開平07-055707 (JP, A)
特開昭63-113358 (JP, A)

- (58)調査した分野(Int.Cl.⁷, DB名)
A61B 5/00、5/103