サクランの皮膚保護作用とスキンケアへの応用

正木 仁,^{*,a} 土井 萌子^b

Function of Sacran as an Artificial Skin Barrier and the Development of Skincare Products

Hitoshi Masaki^{*,a} and Moeko Doi^b

^a*School of Bioscience and Biotechnology, Tokyo University of Technology; 1404-1 Katakura-machi, Hachioji, Tokyo 190-0982, Japan; and* ^b*DAITO KASEI KOGYO CO., LTD.; 1-6-28 Akagawa, Asahi-ku, Osaka 535-0005, Japan.*

(Received August 8, 2018)

Sacran, a large molecular-weight polysaccharide isolated from algae, is composed of 11 types of saccharides, including sulfate and carboxylic acid groups. Because of its unique structure, sacran can form a gel-like sheet in the presence of polyols such as 1,3-butanediol. In addition, those sacran gel-like sheets prevent the evaporation of water and the penetration of chemicals. The results of our previous study suggested that sacran can work as an artificial barrier against external stimuli such as air pollutants which increase the stress on humans. Topically applied sacran was localized at the surface of reconstructed human epidermal equivalents. Those results suggested that sacran inhibits excessive water evaporation from the skin and protects against environmental stimuli by forming an artificial barrier at the skin surface. Then, in a clinical study, we examined the activity of sacran in improving skin problems caused by an impaired epidermal barrier. First, we conducted a use test on a serum formulated with sacran on human volunteers who had impaired skin barrier function. The results showed that sacran provided excellent benefits to improve the maturation of corneocytes. These results suggest that sacran could play an important role in providing optimal skin conditions for keratinocytes to progress through their differentiation.

Key words—sacran; emulsification; corneocyte; skin moisture; barrier function

1. 背景

皮膚は私たちの体の最外層に位置する器官であり、生体内部を外環境から隔離し保護するバリアとして働いている。外環境因子としては、温度、湿度を始めとして太陽光線が皮膚生理に大きな影響を及ぼすことはよく知られている。また、近年ではPM2.5を始めとする大気汚染物質が皮膚生理に影響を及ぼす環境因子として注目されている。皮膚はコンクリート造りのような柔軟性のない壁ではなく、これら外環境の変化に物理的にも生理的にも柔軟に対応する動的インターフェースとして機能している。しかしながら、その機能が低下したときには、環境因子の影響を強く受け大きなダメージを受けることになる。このような状況を回避するために

は皮膚保護効果を発揮するスキンケアが大切になる。

スイゼンジノリ [*Aphanothece sacrum* (Sur.) OKADA] は、日本固有の淡水性の藍藻であり、江戸時代より食用として親しまれてきた。これまで、スイゼンジノリは、阿蘇山の岩盤からの湧水が流れ込む河川がある地域に限定して生育が確認されていたが、水質汚染によりその生育領域は狭まり、現在では熊本県と福岡県の一部でのみスイゼンジノリの生育が確認されている。淡水に含まれる成分によりスイゼンジノリの生育は大きく左右され、生育に係わる成分の同定はいまだになされていない。このことから、スイゼンジノリの養殖は困難な状況にあり、近い将来には絶滅の可能性が指摘され絶滅危惧種に指定されている。

スイゼンジノリは、細胞外マトリックスとしてサクラン (sacran) と呼ばれる高分子多糖体を合成している。サクランは分子量 29 MDa、分子鎖長 10 μm 以上の超高分子多糖体であり、約 11 種類の糖から構成される。その構成糖に硫酸基やカルボキシル基を有することからアニオン性多糖と考えられ

^a東京工科大学応用生物学部 (〒190-0982 東京都八王子市片倉町 1404-1)、^b大東化成工業株式会社 (〒535-0005 大阪市旭区赤川 1 丁目 6-28)

*e-mail: masaki@stf.teu.ac.jp

本総説は、日本薬学会第 138 年会シンポジウム S69 で発表した内容を中心に記述したものである。

ている。¹⁾

これまで、筆者らはスキンケアの観点からサクランの物理化学的特性について研究し、その効果をヒト使用試験により確認してきた。^{2,3)}そこで、本稿では、サクランのユニークな物理化学的特性による皮膚保護効果を中心としたスキンケアへの展開について紹介する。

2. 皮膚の基本的な構造と機能

2-1. 表皮の構造 皮膚は大きく外側から表皮、真皮、皮下組織に分けられる。これらの中でも皮膚バリア機能に大きく関与しているのは表皮である。表皮は主に表皮細胞により構成され、4つの層が存在する。これらの層は、最表面から角層 (stratum corneum)、顆粒層 (stratum granulosum)、有棘層 (stratum spinosum)、基底層 (stratum basale) と呼ばれ、各層は角層細胞 (corneocyte)、顆粒細胞、有棘細胞、基底細胞により構成されている。これら各細胞は基底細胞から派生し、基底細胞から分裂した娘細胞が角化 (分化) に伴って、各層を構成する細胞へ変化していく。

2-2. 角層の構造 角層を構成する角層細胞は生命活動を停止した死細胞であり、本来、細胞に存在する細胞内小器官や核は消失している。角層細胞内部は一定のパターンに整列したケラチンフィラメント (トノフィラメント) によって、満たされている。さらに、細胞膜もリン脂質二重膜ではなく、involucrin, loricrin, filaggrin, small proline-rich protein がトランスグルタミナーゼ-1 (TGM-1) により架橋された構造的に強度の高い cornified cell envelope (CE) によって被われている。⁴⁾ また、その外側には、 ω -ヒドロキシセラミドがエステル結合をした脂質辺縁層が存在している。⁵⁾ この結果、角層は機械的、化学的にも強度が高い疎水的な特性を獲得する。角層細胞間にはセラミド、脂肪酸、コレステロールで構成される脂質二重膜が積み重なってラメラ構造体を構成している。このラメラ構造体は、表皮のバリア機能発現に貢献している。

2-3. 皮膚のバリア機能 外部からの刺激に対するバリア機能は、異物に対する物理的な障壁として機能するバリア機能と、細菌やウイルスなどの病原体に対して生理学的に機能するバリア機能に分けることができる。

このバリア機能に関係しているのが角層である。

角層細胞とその細胞間に存在する脂質ラメラ構造体、そして顆粒細胞間に存在するタイトジャンクション (tight junction)⁶⁾ が物理的な障壁として機能する。一方、抗菌ペプチドが生理学的バリアとして機能する。角層の層数は、体の部位によっても異なるが10層から20層存在し、20 μm 程度の厚みがある。前述のように、角層の障壁は、外部からの化学物質の体内への侵入を抑制し、分子量18程度の水分子の侵入でさえ制限する機能がある。この物理的なバリア機能は物質に限るものではなく、紫外線のような電磁波に対するバリアとしても働く。⁷⁾

皮膚バリア機能低下は、外部からの物質の生体内部への侵入を容易とする。この結果、アトピー性皮膚炎 (atopic dermatitis; AD) のようなアレルギー疾患が発症する。さらに、皮膚バリア機能の低下は皮膚を乾燥状態に誘導する。一般的に皮膚の保湿状態を表すパラメーターとして皮膚表面水分量と経表皮水分蒸散量 (trans-epidermal water loss; TEWL) がある。皮膚表面水分量には TEWL が大きく関与するが、それ以外に角層内部に存在する天然保湿因子 (natural moisturizing factor) による水分保持が関与している。また、皮膚の保湿状態は表皮細胞の分化の過程にも大きく影響を及ぼす。⁸⁾

表皮細胞の分化状態は角層細胞由来のパラメーターを用いて議論される。一般的に用いられる角層細胞由来パラメーターには角層細胞面積、多重剥離度、遊離 SH 基と SS 基の比 (SH/SS)、カルボニルタンパク (carbonyl protein; CP)、炎症性サイトカインであるインターロイキン1レセプターアンタゴニストとインターロイキン-1 α の比 (IL-1RA/IL-1 α) がある。各パラメーターが示す角層分化状態及び表皮内部状態の解釈は以下の通りになる。

2-4. 角層細胞由来パラメーターの意味 角層細胞面積は角層細胞が皮膚表面に滞留する時間を示すパラメーターである。つまり、角層細胞面積は角層のターンオーバー速度を表す指標と考えられている。一般に皮膚内部に弱い炎症反応が存在している場合は、ターンオーバー速度が速くなり、その結果、角層細胞面積は小さくなる。一方、老化した皮膚のように代謝機能の低下した皮膚ではターンオーバー速度は遅くなり角層細胞面積は大きくなる。角層細胞面積から皮膚代謝及び皮膚内部での微弱炎症を議論することができる。⁹⁾

また、多重剥離の高い頻度が乾燥性皮膚でよく観察される。多重剥離は、テープストリップによる角層採取時に本来であれば角層細胞が一層ずつ剥離されてくるが、これが多層に重なって剥離される状態のことを言う。角層細胞はコルネオデスモソームにより接着されており、カリクレインやカテプシン D などのタンパク分解酵素がコルネオデスモソームを消化することにより角層の落屑が進行する。^{10,11)} 乾燥肌で多く観察される多重剥離のメカニズムは解明されていないが、角層内水分の分布による角層下層部位でのタンパク分解酵素の不均一な活性化が原因となり部分的なコルネオデスモソームの消化が進行している可能性が考えられる。

遊離 SH 基と SS 基の比 (SH/SS) は、角層細胞の成熟度を表す指標と考えられる。表面からの角層内深部から表面に向けて、SH/SS 比率が低下してくる。これは、角層細胞が表面に現れてくるに従い遊離 SH 基がスルホヒドリルオキシダーゼにより SS 架橋されていくことによる。¹²⁾ つまり、SH/SS 比が高い角層細胞が、角層表面に現れてくることは角層の成熟度が低いことを示している。さらに、角層細胞の成熟度を示すパラメーターとしては CE の状態を反映するインボルクリンの染色とナイルレッドの染色の比がある。¹³⁾ CE は種々の分化関連タンパクが TGM-1 により架橋されて形成される。分化関連タンパクの 1 つにインボルクリンがあり、インボルクリンが TGM-1 により完全に CE に組み込まれることによりインボルクリンの免疫染色性は消失する。CE には脂質辺縁層が存在することから、油溶性の蛍光色素であるナイルレッドに染色される。このナイルレッドによる染色強度によりインボルクリンの染色強度を規格化した値がインボルクリンの染色とナイルレッドの染色の比となる。つまり、この値が大きくなると CE の形成が不全となり、角層細胞の成熟度が低いことを示している。

皮膚内部では微弱炎症が繰り返されていることが知られている。この微弱炎症の指標となるのが角層細胞より抽出される炎症性サイトカインの 1 つである IL-1RA/IL-1 である。この比は、UVB 曝露皮膚角層や乾燥性皮膚の角層において高くなることが知られている。^{14,15)}

また、皮膚は常に酸化源に曝露されており容易に酸化ストレスを受ける組織である。酸化ストレスと

は細胞内外において生成される活性酸素により開始される細胞内あるいは細胞外成分が酸化されることにより惹起されるストレスのことである。角層細胞には酸化ストレスの最終生成物であるカルボニルタンパク (CP) が存在している。この角層内 CP は皮膚保湿機能との関連性が報告されており、角層内 CP が多くなると皮膚表面水分量の低下と TEWL の上昇が生じる。角層内 CP の増加は、皮膚保湿機能の低下と関係している。¹⁶⁾

3. サクランの物理化学的性質²⁾

サ克蘭はその分子量から考え、被膜形成能が期待される。そこで、サ克蘭水溶液を乾燥させ被膜形成能を確認したところ、サ克蘭に被膜形成能が確認された。この被膜形成過程に化粧品製剤に汎用されるポリオール類 (アルキルジオール) を共存させることにより、水に対して難溶性のシートを形成することが確認された。このシートは含水し水を保持することからゲル状シート (gel sheet; GS) と名付けた。サ克蘭とポリオールのゲル状シート形成能は、ポリオールのアルキル鎖長と 2 つの水酸基の置換位置とその混合比率に依存することが確認された。ゲル状シート形成プロフィールを Fig. 1 に示した。このプロフィールからわかるように、3 つの水酸基を構造内に持つグリセリンでは GS の形成が確認されず、2 つの水酸基を構造内に持つジオール類に GS の形成能が確認された。ブタンジオールでは、2 つの水酸基の結合位置が 1 位と 2 位あるいは 1 位と 3 位では同様の広範囲のサ克蘭とブタンジオールの混合比率において同様の GS 形成は確認されたが、1 位と 4 位になると GS 形成は狭くなることが確認された。また、ジオールのアルキル鎖長が 3 から 6 に増えるにしたがって GS 形成領域が広くなることが確認された。

以上の結果から、GS 形成能を発揮するために必要なポリオールの化学構造的特徴は以下になる。ポリオールの水酸基は 2 つが必要であり、水酸基の結合位置はアルキル鎖の末端と隣接する 1 位と 2 位ジオール構造を有し、かつ、アルキル鎖長が適度に長いことが必要であった。

4. サ克蘭-ポリオールの乳化性能²⁾

サ克蘭とポリオールの水に難溶な GS の形成から考え、サ克蘭とポリオールの混合体はある種の組織体を形成し、その組織体内に親水性ドメインと

Fig. 1. Profiles of Sacran-Polyol Complexes the Gel-like Sheets Formations

Sacran-polyol aqueous solutions were allowed to dry over night by standing at 50°C. Sacran-polyol aqueous solutions were prepared at concentrations from 0.05 to 0.2% for sacran and from 0 to 10% for polyols in water. The formation of gel sheet (GS) was identified as an insoluble sheet after re-immersed into water.

疎水性ドメインが存在する可能性が考えられる。この事実からサクランとポリオールとの混合体には乳化能が期待された。

そこで、サクランと各ポリオールの混合体の乳化性能を、油性成分としてスクワランを用いて検証した。サクランと各ポリオールの混合体は O/W エマルジョンを形成し、その結果を Fig. 2 に示した。サクラン-ポリオールの乳化は、乳化後の外観と粒子サイズから確認した。サクランとポリオールの乳化性能は、GS 形成能と一致し、サクランとの混合により乳化性能を発揮するポリオールは分子内に 2 つの水酸基を持つジオールであること、水酸基の結合位置はアルキル鎖の末端と隣接する 1 位と 2 位でありアルキル鎖長が適度に長いことが必要条件であった。

この結果は、サクランとポリオールの組織体内に親水性ドメインと疎水性ドメインが存在していることを強く示唆し、疎水性ドメインの形成にはサクランの構成糖の持つ硫酸基及びカルボキシル基に対するポリオールの水酸基の水素結合の寄与が考えられ

た。そこで、サクランとポリオールの混合体による乳化時の pH を酸性からアルカリ性に変化させたところ、硫酸基及びカルボキシル基の解離が抑えられる酸性 pH 領域において、乳化滴が大きくなる乳化性能の低下が確認された (Fig. 3)。この事実から、サクランとポリオールの組織体内の疎水性ドメイン形成においては水素結合の寄与が考えられ、Fig. 4 に示したような乳化様式が考えられた。

一般的に、乳化に必要な低分子界面活性剤はその乳化能に由来する角層細胞間脂質ラメラ構造に影響を及ぼすことにより皮膚一次刺激を惹起する可能性が危惧されている。サクランとポリオールの混合体による乳化は、界面活性剤を用いない製剤を提供することにより製剤による皮膚刺激性の軽減につながる事が期待される。

5. 皮膚保護作用の観点から見たサクラン-ポリオールにより形成された GS の機能

化粧品製剤に汎用される 1,3-ブタンジオールを用いて調製した GS の物理化学的性質について皮膚保護作用の観点から評価した。サクラン-1,3-ブタン

Fig. 2. Emulsification Profiles of Sacran-Polyol Complexes

Sacran original aqueous solution was prepared at a concentration of 0.25% by homogenizing with a homomixer (HM-310, AS ONE) for 1 h at 60°C. Sacran-polyol complexes were prepared with polyol by pre-dispersion in the sacran original aqueous solution with the homomixer at 8000 rpm for 10 min at room temperature or at 10000 rpm for 10 min at 85°C. Oils were mixed with the homomixer at 8000 rpm for 15 min at room temperature or 10000 rpm at 85°C. Emulsification was evaluated as the appearance.

Fig. 3. Effect of pH on Emulsification of Sacran-Polyol Complex

The emulsification potentials of sacran-polyol complexes were examined in various pH conditions at room temperature. 0.25% sacran original aqueous solution was adjusted at range of pH 4 to pH 11 with 1.5% arginine aqueous solution and 1.5% acetic acid aqueous solution. The emulsification procedure was carried out in the same manner as described in Fig. 2. Effect of pH was evaluated with particle diameter and viscosity.

ジオールより調製した GS の皮膚内部からの水分の蒸散に対する作用を明らかにするため、Fig. 5 に示したシステムを用いて GS を透過する水分量について測定した。サクランのみで調製した GS に比較してサクランと 1,3-ブタンジオールを用いて調製した

GS は水分透過性を有意に抑制することが確認された。

次に皮膚の外部からの化学物質の皮膚への浸透に対する GS の作用を明らかにするためカルセインの透過性を検討した。皮膚の代替膜として羊毛のケラ

Fig. 4. The Expected Mechanism of the Emulsification Using Sacran-Polyol Complex Aqueous Solution

チンタンパクより再生したケラチンフィルムを用い,¹⁷⁾ ケラチンフィルム上に GS を調製し, その上部よりカルセイン溶液を添加した. カルセインの GS 透過は, サクランのみで調製した GS に比較してサクランと 1,3-ブタンジオールを用いて調製した GS のほうが有意に低いことが確認された (Fig. 6). これらの結果をまとめると, 皮膚表面においてサクランとポリオールにより調製された GS が形成

されることにより皮膚内部からの水分蒸散と皮膚外部から化学物質の皮膚内部への侵入を抑制する作用が期待された.

6. AD 罹患歴のある健常人の皮膚機能に対するサクラン配合製剤の効果³⁾

AD はアレルギー性の皮膚疾患であり, バリア病とも呼ばれている. 健常人と比較して AD 患者は低い表皮バリア機能を示す. 近年の研究では, AD 患者には高い比率でフィラグリン遺伝子の不全が確認されており, フィラグリンの低下が表皮バリア機能の 1 つの原因として考えられている.¹⁸⁾

これまでにサクランとポリオールの複合体は含水 GS を形成し, その GS にはバリアとして高い機能を有する物理化学的特性が見出されている. ビオチン化サクラン及びビオチン化サクラン-ポリオール複合体を再生表皮モデル上に処理し, 皮膚内の局在について蛍光標識ストレプトアビジンを用いて確認したところ, 角層表面に局在することが確認された (未発表データ). 皮膚表面においても, サクランは GS を形成し, バリアとして働く可能性が期待された.

そこで, 0.04% のサクランと 15% のポリオール類を配合した製剤を調製し, その製剤のスキンケア効果を AD 罹患歴のある健常人 9 名に対する 1 ヶ月間の連用試験において評価した. 残念ながら, 皮膚表面水分量及び TEWL の各々については有意な効果はサクラン配合製剤には確認されなかった. 近年, 筆者らは皮膚保湿機能表現するパラメーターと

Fig. 5. Water Evaporation through Gel-like Sheets of Sacran or Sacran-1,3-Butanediol (1,3-BG) Complex

The water evaporation was measured with the apparatus modified hygrometer (a). The gel sheet was sandwiched between the plastic plates with hole. This sandwiched plate was set tightly on the bottle which was filled up with water. The water in the bottle was maintained at constant temperature by circulation of water controlled at 37°C. The water evaporation was measured as the change of humidity in hygrometer through the sandwiched plate for 60 min with 1 min interval. (b) Results were expressed mean ± S.D. of rate of the change of humidity. Student *t*-test. ****p* < 0.001.

Fig. 6. Permeability of a Calcein through Gel-sheets of Sacran or Sacran-1,3-Butanediol (1,3-BG) Complex

The keratin film was pasted on the bottom of plastic tube, 2 cm height and 5 mm diameter, respectively. 200 μ L of 0.5% sacran aqueous solution or 0.5% sacran aqueous solution containing 20% 1,3-BG was placed on the keratin film of the plastic tube, and dried over night at 50°C to be stacked on the keratin film. 300 μ L of 1 mmol/L calcein aqueous solution was placed in the tube. The tube was set in a well of 48-well plate filled with PBS without Mg^{2+} and Ca^{2+} (PBS-). The leakage of calcein through the bottom of the vessels was monitored with the fluorescent measurements (Ex/Em: 495/520 nm) at 10 min interval for 60 min at 37°C. Student *t*-test. **p* < 0.05.

して皮膚表面水分量 (skin surface water content; SWC) を TEWL で規格化した値 (SWC/TEWL) の有用性について報告している.¹⁹⁾ 本結果を, SWC/TEWL にて解析したところ, サクラン配合製剤の使用により有意に皮膚保湿機能の改善が確認された (Fig. 7).

さらに, サクラン配合製剤の使用による角層パラメーターの改善作用が確認された. まず, 角層細胞面積であるが, プラセボ製剤において変化は確認されなかったが, サクラン配合製剤において有意に大きくなることが確認された [Fig. 8(a)]. 一般的に皮膚内部において炎症反応が惹起されている場合, 皮膚表面の角層細胞面積は小さくなる. 実際に炎症パラメーターである IL-1RA/IL-1 α についても, サクラン配合製剤の連用において有意に低下することが確認されている [Fig. 8(e)]. この2つのパラメーターを合わせて考えると, サクラン配合製剤の連用により皮膚内部での炎症状態が軽減された可能性が示唆される.

次に, 皮膚乾燥時に頻繁に観察される多重剥離についてもサクラン配合製剤の連用により減少することが確認された [Fig. 8(b)]. この結果は, サクラン配合製剤による皮膚保湿機能の改善に由来する可能性が示唆される.

さらに, 角層細胞の成熟度, 角層細胞の CE の成熟度を示す SH/SS とインボルクリン/ナイルレッ

Fig. 7. Effects of Sacran-serum on ratios of Skin Surface Water Content (SWC) and Trans-epidermal Water Loss (TEWL)

The sample, sacran-serum, and the placebo were topically applied on each inner forearm (a left-right comparison study) every morning and night for four weeks. SWC and TEWL were evaluated at pre- and post- application of each treatment. Changes in ratio of SWC and TEWL in volunteers applying samples, serum and placebo for 4 weeks (pre: baseline of testing sites, post: after 4 weeks' application). Wilcoxon rank sum test, **p* < 0.05.

ドについてもサクラン配合製剤連用により有意な改善が確認された [Figs. 8(c) and (d)]. 剥離角層を湿潤環境内でインキュベートすることにより SH/SS の低下及び CE の成熟が確認されている (未発表データ). これらの事実は角層細胞の成熟及び CE の形成には適正な角層水分量の維持が重要な因子として考えられる.

また, 角層細胞内 CP の減少もサクラン配合製剤連用により確認されたことから, 表皮内酸化状態の軽減も示唆された [Fig. 8 (f)]. 表皮内酸化状態は

Fig. 8. Effects of Sacran-serum on Parameters of Corneocytes

The sample, sacran-serum, and the placebo were topically applied on each inner forearm (a left-right comparison study) every morning and night for four weeks. Parameters of corneocytes collected using the tape stripping method were evaluated at pre- and post- application of each treatment for (a) changes in mean size of corneocytes, (b) changes in percentage of thick abrasion of corneocytes, (c) changes in ratio of SH to SS, (d) changes in immunostainability of involucrin normalized with Nile red fluorescence, (e) changes in ratio of IL-1RA to IL-1 α , (f) changes in protein carbonylation in corneocytes. Wilcoxon rank sum test, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

皮膚の乾燥の程度により亢進することが確認されている。冬期の乾燥性皮膚では角層内に CP が多くなること、再生表皮モデルの表面を乾燥することによっても表皮全層に高い CP が観察されている。サクラン配合製剤には皮膚保湿機能を改善することにより角層細胞が成熟する環境を整えて、高酸化状態となる環境を改善している可能性が示唆される。

7. サクランのスキンケア効果

これまでのサクランの物理学的特性及びヒト皮膚への連用による皮膚状態の解析結果を総合的に考察するとサクランのスキンケア効果の本質は以下のように考察される。サクランは角層表面において含水ゲル状のシートを形成する。このとき、ポリオールが共存することにより、その効果は強くなる。ゲル状シートは皮膚内部からの水分の蒸散及び環境からの種々の因子、成分の皮膚内部への侵入あるいは刺激を妨げる。この効果により表皮が本来の分化過程

が適正に進行でき得る環境を提供している可能性が考えられた。

以上のことから、サクランは皮膚表面で保護膜を形成し、表皮本来が正常な分化を営む環境を提供する。これが、サクランのスキンケア効果の本質ではないかと考える。

利益相反 土井萌子（大東化成工業株式会社の社員）。

REFERENCES

- Okajima M. K., Bamba T., Kaneko Y., Hirata K., Fukusaki E., Kajiya S., Kaneko T., *Macromolecules*, **41**, 4061–4064 (2008).
- Doi M., Sagawa Y., Mizutani T., Okano Y., Momose S., Tanaka T., Masaki H., *J. Soc. Cosmet. Chem. Jpn.*, **51**, 117–125 (2017).

- 3) Doi M., Sagawa Y., Momose S., Tanaka T., Mizutani T., Okano Y., Masaki H., *J. Dermatol.*, **44**, 1360–1367 (2017).
- 4) Eckert R. L., Yaffe M. B., Crish J. F., Murthy S., Rorke E. A., Welter J. F., *J. Invest. Dermatol.*, **100**, 613–617 (1993).
- 5) Stewart M. E., Downing D. T., *J. Lipid Res.*, **42**, 1105–1110 (2001).
- 6) Kurasawa M., Maeda T., Oba A., Yamamoto T., Sasaki H., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **406**, 506–511 (2011).
- 7) Denecker G., Hoste E., Gilbert B., Hocheplied T., Ovaere P., Lippens S., Van den Broecke C., Van Damme P., D’Herde K., Hachem J. P., Borgonie G., Presland R. B., Schoonjans L., Libert C., Vandekerckhove J., Gevaert K., Vandenabeele P., Declercq W., *Nat. Cell Biol.*, **9**, 666–674 (2007).
- 8) Choi H. K., Cho Y. H., Lee E. O., Kim J. W., Park C. S., *Arch. Dermatol. Res.*, **309**, 795–803 (2017).
- 9) Hoath S. B., Leahy D. G., *J. Invest. Dermatol.*, **121**, 1440–1446 (2003).
- 10) Caubet C., Jonca N., Brattsand M., Guerrin M., Bernard D., Schmidt R., Egelrud T., Simon M., Serre G., *J. Invest. Dermatol.*, **122**, 1235–1244 (2004).
- 11) Horikoshi T., Igarashi S., Uchiwa H., Brysk H., Brysk M. M., *Br. J. Dermatol.*, **141**, 453–459 (1999).
- 12) Hashimoto Y., Suga Y., Matsuba S., Mizoguchi M., Takamori K., Seitz J., Ogawa H., *Arch. Dermatol. Res.*, **292**, 570–572 (2000).
- 13) Hirao T., *Int. J. Cosmet. Sci.*, **25**, 245–257 (2003).
- 14) Hirao T., Aoki H., Yoshida T., Sato Y., Kamoda H., *J. Invest. Dermatol.*, **106**, 1102–1107 (1996).
- 15) Terui T., Hirao T., Sato Y., Uesugi T., Honda M., Iguchi M., Matsumura N., Kudoh K., Aiba S., Tagami H., *Exp. Dermatol.*, **7**, 327–334 (1998).
- 16) Fujita H., Hirao T., Takahashi M., *Skin Res. Technol.*, **13**, 84–90 (2007).
- 17) Katoh K., Shibayama M., Tanabe T., Yamauchi K., *Biomaterials*, **25**, 2265–2272 (2004).
- 18) Polcari I., Becker L., Stein S. L., Smith M. S., Paller A. S., *Pediatr. Dermatol.*, **31**, 489–492 (2014).
- 19) Masaki H., Yamashita Y., Kyotani D., Honda T., Takano K., Tamura T., Mizutani T., Okano Y., *J. Cosmet. Dermatol.*, **18**, 308–314 (2019).