

## 皮膚角層の構造と皮膚バリア機能の関係性の解析 Analysis on the Relationship between Skin Barrier Properties and Skin Stratum Corneum Structures

中沢 寛光<sup>a</sup>, 鈴木 美香<sup>a</sup>, 今井 友裕<sup>a</sup>, 八田 一郎<sup>b</sup>, 加藤 知<sup>a</sup>  
Hiromitsu Nakazawa<sup>a</sup>, Mika Suzuki<sup>a</sup>, Tomohiro Imai<sup>a</sup>, Ichiro Hatta<sup>b</sup>, Satoru Kato<sup>a</sup>

<sup>a</sup> 関西学院大学理工学部, <sup>b</sup> 名古屋産業技術研究所

<sup>a</sup> School of Science and Technology, Kwansai Gakuin University

<sup>b</sup> Department of Research, Nagoya Industrial Science Research Institute

皮膚角層は生体の最外層を覆い、そこでバリア機能を発揮する。このバリア機能の発現メカニズムについては、まだまだ未解明な部分が多く、それには放射光による分子レベルの構造特性解析が重要となる。本研究では、X線小角広角同時散乱法により、溶液浸透過程に伴う角層の構造変化を解析することで、角層の構造と機能の関係解明を試みた。その結果、細胞間脂質のラメラ構造と側方パッキング構造由来の散乱ピークの構造変化の時定数が、両者で異なることが解り、浸透過程解析の可能性が示唆された。

キーワード： 皮膚角層、経皮吸収、小角広角同時測定

### 背景と研究目的：

皮膚角層は生体の最外層を覆い、そこでバリア機能を発揮する[1]。この機能は生体の恒常性の維持には必須の機能であるが、医薬品や医薬部外品の有効成分を積極的に体内へ浸透させたいような場合には逆に大きな障壁となる。本研究では、溶液浸透に伴う角層の構造変化について、放射光を用いて解析することにより、物質の経皮吸収メカニズムを明らかにし、さらに角層の構造と溶液浸透時の構造変化の関係を広く調べることで、角層のバリア機能と構造の関係性を明らかにすることを目指す。

角層は主に扁平状の角質細胞とその周りを取り囲む細胞間脂質の領域から構成され、これらが高密度化、高秩序化して存在することで、それを介する物質の透過を抑制し、高いバリア機能を発揮していると考えられている[2]。バリア機能が低下していると考えられるアトピー性皮膚炎や魚鱗癬患者の皮膚の疾患部では、細胞間脂質分子の配列構造に乱れが生じていることが報告されている[3]。よって、角層の機能を理解する上で、透過物質と細胞間脂質の相互作用を知ることが重要な課題の一つとなる[4]。

### 実験：

角層の自重量に対し水分量が25 wt%となるように水和したヒトの胸部由来皮膚角層(Biopredic、フランス)を特製の試料セル内に固定し、そこに外部からミリスチン酸イソプロピル(以下 IPM)溶液を注入して連続的に小角広角同時 X線散乱像を取得した。ヒトの皮膚角層に X線(放射光)を照射すると、小角領域には角層内に存在する細胞間脂質のラメラ構造由来の散乱ピーク( $s \sim 0.15 \text{ nm}^{-1}$ ,  $s=2\sin\theta/\lambda$ ,  $\lambda$ は X線の波長、 $2\theta$ は散乱角)が、中角領域には同じく角層内に存在する角質細胞の主要成分であるケラチン繊維間隔由来の散乱ピーク( $s \sim 1 \text{ nm}^{-1}$ )が、広角領域には細胞間脂質の側方配列構造(ゲル相)由来の散乱ピーク( $s \sim 2.4 \text{ nm}^{-1}$ )が観察される。それら広範囲の散乱を同時に観測する為、X線の波長 $\lambda$ は0.0775 nm(16 keV)、カメラ長はおおよそ50 cm(コレステロール粉末(室温)、 $d=3.39 \text{ nm}$  反射にて校正)に設定し、検出器にはイメージングプレート(RAXIS-VII、RIGAKU)を用いて実験を行った。1プロファイルあたりの露光時間を30秒に設定し、また IPM溶液の浸透に対する温度効果を確認するため、試料温度を25℃、35℃、40℃に設定して同様の実験を実施した。IPMの浸透に伴う構造変化を感度良く検出するため、IPM注入直後の散乱プロファイルを各経過時間の散乱プロファイルから差し引き、その変化分を解析した。ビーム径は、試料部においておおよそ100  $\mu\text{m} \times 200 \mu\text{m}$ になるように調整した。

## 結果および考察：

各試料温度に設定した角層に X 線を照射し、IPM の浸透過程における角層の構造変化の様子を連続的に解析したところ、いずれの試料温度においても小角領域の散乱ピークが徐々に減衰することが判った(図 1a)。これらの結果から、IPM は細胞間脂質のラメラ構造に影響を与えながら、角層の細胞間脂質領域を浸透していく可能性が示唆された。さらに、広角領域の細胞間脂質の側方配列構造由来の回折ピークの変化を詳細に解析したところ、25°Cにおいた試料では、回折ピークの強度は全く変化しないが、35°C、40°Cの試料では、時間の経過と共にわずかにピーク強度が減衰することが判った(図 1b)。

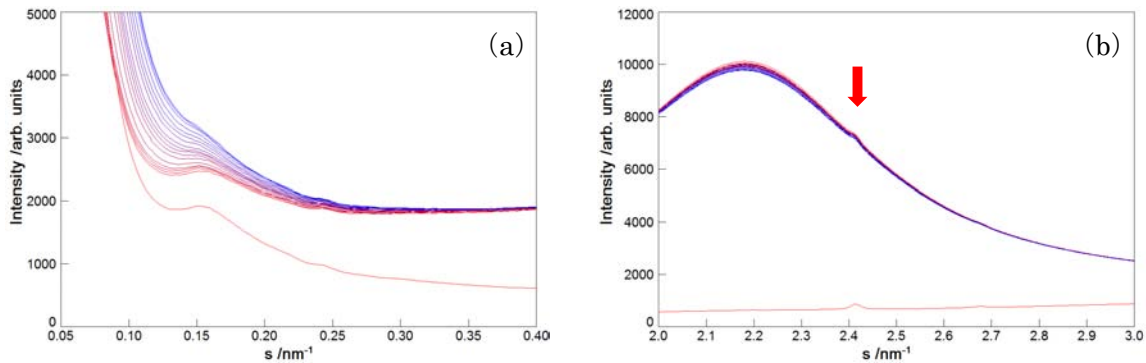


図 1. 角層に IPM 溶液を塗布した際の X 線小角 (a) 広角 (b) 散乱一次元化プロファイル

IPM 注入前後の X 線散乱一次元化プロファイルの時間変化の様子を、色変化(赤→青)で示した。縦軸は散乱強度 (arb. units)、横軸は  $s$  値 ( $\text{nm}^{-1}$ ) で表示されている。図 (b) の矢印が、細胞間脂質の側方充填配列構造由来の散乱ピークを示す。

## 今後の課題：

今回の検討により、IPM は細胞間脂質の側方配列よりもラメラ構造に影響を与えつつ経皮吸収している可能性が示唆された。しかしながら、小角のラメラ構造由来の散乱ピークは、角層の含有水分量など様々な要因により変化することが知られている[5]。今後、再現性の確認などさらに詳細な解析を行い、ラメラ構造の電子密度分布を調べるなどした上で、議論を展開することが重要と考えられる。

## 参考文献：

- [1] P. M. Elias, *J. Invest. Dermatol.* **80**, 44 (1983).
- [2] P. W. Wertz, B. van den Bergh, *Chem. Phys. Lipids.* **91**, 85 (1998).
- [3] G. S. K. Pilgram, et al., *J. Invest. Dermatol.* **117**, 710 (2001).
- [4] I. Hatta, et al., *Chem. Phys. Lipids.* **163**, 381 (2010).
- [5] H. Nakazawa, et al., *Chem Phys Lipids.* **165**, 238 (2012).