

重点産業利用課題報告書

(1)実施課題番号
2007A1943

(2)実施課題
『ヒト皮膚保湿機構の観点からの角層ケラチンの構造解析』

(3)実施責任者
株式会社ナリス化粧品、 辻恵子

(4)使用ビームライン
BL40B2

(5)実験結果

【利用目的・概要】

これまで皮膚中に存在するさまざまな微細構造が明らかになってきており、この微細構造の演ずる役割について明らかにすることが我々化粧品業界の取り組むべき課題である。中でも皮膚の細胞間脂質が持つバリア機能とその構造解析がその先駆となっているが、皮膚において重要な役割を持つものは他にも、弾力をつかさどると考えられている真皮コラーゲン、表皮のハリや保湿を有しているといわれる表皮角層ケラチンなどが挙げられる。化粧品業界において表皮角層ケラチン構造に関する研究は数例のみであり^{1) 2)}、その機能については未知な部分が多い。加齢によるハリ低下、保湿性の減少は良く知られている現象であるが、ケラチン構造との関連については明確になっていない。よってこれらの役割について明確にすることは、皮膚本来の役割を理解する上での基礎研究となる。また、化粧品開発においては、機能性材料との相互作用の知見を得るための重要な課題である。

2006B 期の測定結果より、ヒト皮膚角層を採取した試料からケラチン由来のピークを明確に検出できた³⁾。この結果はヒト試料からはじめて得られ、放射光 X 線を用いたヒト角層ケラチンの構造解析を行っていく上で非常に有用なデータを得た。よってさらに詳細な情報を得るため、ヒト皮膚角層を各種保湿剤処理し、角層内ケラチン構造の挙動を検証し、保湿とケラチン構造の関係を明らかにすることを目的として実験を行った。

【実験方法】

(1)試料作成方法

角層試料は、ヒト足裏から角層を採取し細分化した後、水処理を行いアミノ酸類の除去を行った²⁾。凍結乾燥により水分を完全に除去したものを前処理試料とし、これら前処理した角層試料を化粧品において代表的な保湿剤である尿素およびグリセリンで処理し、再度凍結乾燥した後水分量調整したものをガラス管(φ 1mm)に充填して X 線回折測定用試料とした。

(2)測定方法

X 線回折測定: SPring-8 ビームライン BL40B2 において小角・広角 X 線回折測定を行った。加熱ステージシステム(メトラー社製: FP84HT)を試料ホルダーとして使用しながら液体窒素を冷媒として温度保持を行った。検出およびデータ保存にはイメージングプレートシステム(RAXIS)を用いた。イメージングプレートは、300mm x 300mm の面積のものを用いた。試料から検出器までの距離は 400mm で、真空パスを用いた。X 線は波長 0.1nm (12keV)を用い 30 秒間の露光を行った。

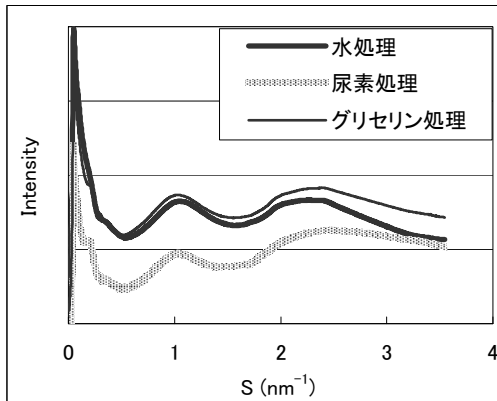
【結果および考察】

(1) 保湿剤処理による水分量に対する挙動変化

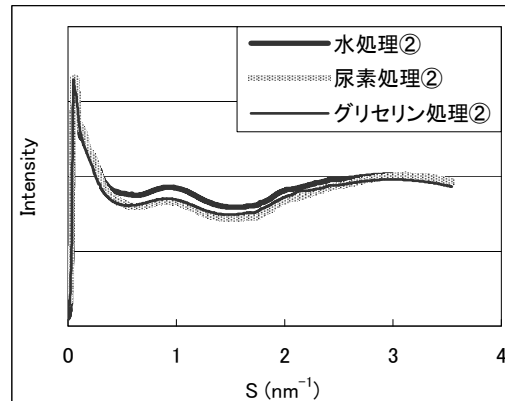
水分量 0wt% および水分量 50wt% 以上に調整した各試料から得られた Profile を Figure 1 および Figure 2 に示す。また、散乱ベクトル S は以下の式から算出した。

$$S = (2/\lambda) \sin(2\theta/2) \quad (\lambda: X \text{線波長}, 2\theta: \text{散乱角})$$

$S=1(\text{nm}^{-1})$ 付近のケラチン由来のピークを比較すると、どの保湿剤処理方法においても水分量を増加させるとピークがシフトし、ケラチン間距離が広がることを確認できた。この結果は以前行った実験(水分量によるケラチン構造変化に関する実験)³⁾で得られたデータと同様の傾向を示しており、保湿剤処理を行った場合でも同様の挙動を示すことが明らかになった。



【Figure 1】
足裏角層を測定した際の Intensity Profile。
(水分量 0wt%、温度 25°C)



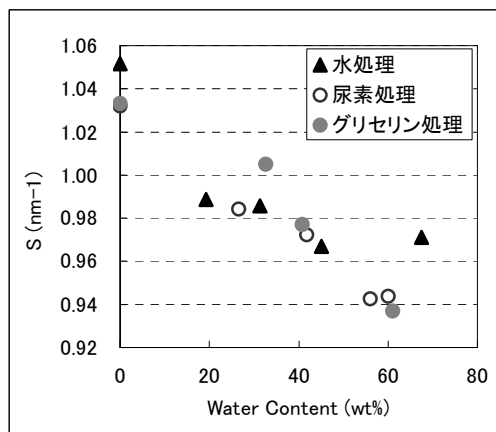
【Figure 2】
足裏角層を測定した際の Intensity Profile。
(水分量 50~70wt%、温度 25°C)

(2) 保湿剤処理によるケラチン構造変化の違い

さらに詳細な検討を行うため、各種保湿剤処理した試料の水分量を各種調節し、 $S=1(\text{nm}^{-1})$ 付近のケラチン由来のピークについて水分量に対する挙動を調査した(Figure 3)。

水分量 0wt% 試料を比較すると、保湿剤処理を行った試料は水処理だけに比べてケラチンピークが約 0.02nm^{-1} シフトしていることが明らかになった。また、水分量 50wt% 以上の試料については約 0.03nm^{-1} シフトしており、以上の結果から保湿剤処理によってケラチン間距離に変化が生じることが明らかになった。

また、水分量変化に対する挙動をみると、水処理のみの場合は水分量約 20wt% 以上では S の値にあまり変化がないのに対し、保湿剤処理した 2 種については水分量増加に伴って、 S の値が小さくなる傾向が見られた。以上の結果から、保湿剤処理を行うことにより、未処理の場合に比べ、よりケラチン間距離を広げることが明らかになった。



【Figure 3】
各種保湿剤処理した試料に対する各水分量におけるケラチン由来ピーク位置の変化

【結論】

以上の結果から、保湿剤処理を行うことにより、水処理(Blank)よりもケラチン間距離を広げることが明らかになった。これは皮膚の保湿を考える上で新たな知見であり、また、この結果と角層中の結合水量との関係から、皮膚角質層の保湿メカニズムについて次のような推察ができる。化粧品において代表的な保湿剤である尿素およびグリセリンは、角層ケラチンと結びつくことで角層中の結合水量を増加させてケラチン間距離を広げ、それにより皮膚の保湿性を向上させていると考えられる。またケラチンに対して何らかの作用を起こすことで角層中の水分量が20wt%以上となってもさらにケラチン間距離を広げると推察できる。

今後はさらに水分量による各種保湿剤処理によるケラチン構造変化と皮膚保湿・柔軟性の関係について調べていきたい。また、実際の化粧品使用シーンを想定し、保湿剤塗布後の経時変化を追うことでより明確な保湿メカニズムを明らかにしたい。

【参考文献】

- (1) 川田裕三ら、フレグランスジャーナル, 53-58, 2004年9月号
- (2) Yoji Jokura, J. Invest. Dermatol., 104:806-812,(1995)
- (3) 戦略活用プログラム課題利用報告書, 2006B0914