

1. 課題番号： 2007B1808
2. 課題名： 角層の乾燥過程における角層細胞間脂質の構造変化の解析
The analysis of structural change on intercellular lipid matrix of stratum corneum during evaporation of water
3. 実験責任者： (株)資生堂 國澤直美
4. 使用ビームライン： BL40B2
5. 実験

背景および目的

角層は皮膚の最外層に位置する厚さ 10 数 μm の層で、生体を守るバリア機能を担っている。特に、体内からの水分蒸散を抑える機能は生命を保つための重要な役割である。角層のバリア機能には角層細胞間脂質が重要な役割を果たしており、水分の吸収・保持に密接に関連していると考えられる。放射光を使った X 線回折による角層細胞間脂質の構造解析の先行研究では、水分量に依存して角層細胞間脂質の構造が変化することが示唆されている。ただし、これらの検討は角層がある一定の水を含んでいる時の定常状態における構造を調べたもので、試料作製から測定までに長時間が経過したものに留まっている。

角層にはその深さ方向に水分勾配が存在し、通常、水分が豊富な表皮細胞と接する角層下層部の水分量はおよそ 70 w% で、乾燥した外気に触れる上層部では 30 w% 程度に保たれている。一方、角層は角層重量の数倍もの水を吸収する事が可能であり、日常生活の中では入浴などによる吸水と乾燥が繰り返し行われ、角層水分量は劇的に変化している。このような日常生活での角層水分量のダイナミックな変化に伴う角層構造の経時変化は、定常状態の構造と異なることは容易に推測される。しかし、水の吸収・乾燥の過程で起きる短時間の構造変化を経時的に計測できる手段はあまりなく、未だ不明な点が多い。そこで、同一試料を対象として、角層細胞間脂質の微細な構造変化を経時的に観察できる SPring-8 の放射光を用いて、角層が乾燥する過程を観測した。

実験

三次元培養ヒト表皮モデルから採取した角層を実験に供した。 $\phi 1\text{ mm}$ のホールを有する試料ホルダーに水を十分に吸収した角層（角層水分量 80 % 以上：乾燥重量で約 1 mg の角層が 3 mg 以上の水を吸収している）を詰めて光学系に固定し、角層が乾燥していく過程を経時で観察した。実験は温度 26 $^{\circ}\text{C}$ 、湿度 RH30 % でほぼ一定にコントロールされた室内で行った。角層中の細胞間脂質が形成するラメラ構造と炭化水素鎖の充填構造は、格子定数 d が 0.25-15 nm であり、小角から広角に渡る広い領域の X 線回折像を取得した。

結果

Fig.1 に横軸 S (nm^{-1}) ($S = 1/d$)、縦軸に X 線強度を表示し、経時で変化する X 線回折データを重ねて表示した ((a) : 小角領域、(b) : 広角領域)。水は $S = 2.0 \text{ nm}^{-1}$ より広角に強い散乱があるため、角層の乾燥に伴って矢印の方向に X 線回折データがシフトする (Fig. 1(b))。また、小角領域においても角層細胞の大きさが乾燥に伴って変化するため、広角領域と同様に矢印の方向に X 線回折データがシフトする (Fig. 1(a))。

Fig. 1(a) の小角領域では脂質のピーク以外の散乱をバックグラウンドとして着目すると、角層の乾燥に伴い、 $S = 0.1\text{-}0.25 \text{ nm}^{-1}$ のラメラ構造の 2 次、3 次反射の散乱ピークの強度が大きくなった。Fig. 1(b) の広角領域では角層の乾燥に伴い、 $S = 1.0, 2.3 \text{ nm}^{-1}$ 付近にあるケラチンの散乱ピークが現れる。また、角層ケラチン・水の散乱を含む脂質以外の散乱をバックグラウンドとして着目すると、 $S = 2.4 \text{ nm}^{-1}$ の脂質パッキング構造のピーク強度が増加し、鋭くなることが分かった。

考察

以上の結果から、角層が乾燥する過程で細胞間脂質の構造が変化することが分かった。具体的には、角層が十分に水を吸収している時には角層細胞間脂質の散乱ピークは小さくブロードであるが、水分量の低下に伴い散乱ピークの強度が強くなり鋭くなることが分かった。すなわち、角層水分量が高い時は角層細胞間脂質の構造は乱れているが、低水分量時に角層細胞間脂質の構造が整うことが分かった。

本課題では、水を吸収する時と乾燥する時を比較することも目標としていたが、ビームタイムの都合上、乾燥過程の観察のみを実施した。ただし、本課題の検討により、水の動的変化が細胞間脂質構造に及ぼす影響の解明に大いに貢献した。今後は化粧品などの保湿効果の機序研究への発展が期待される。

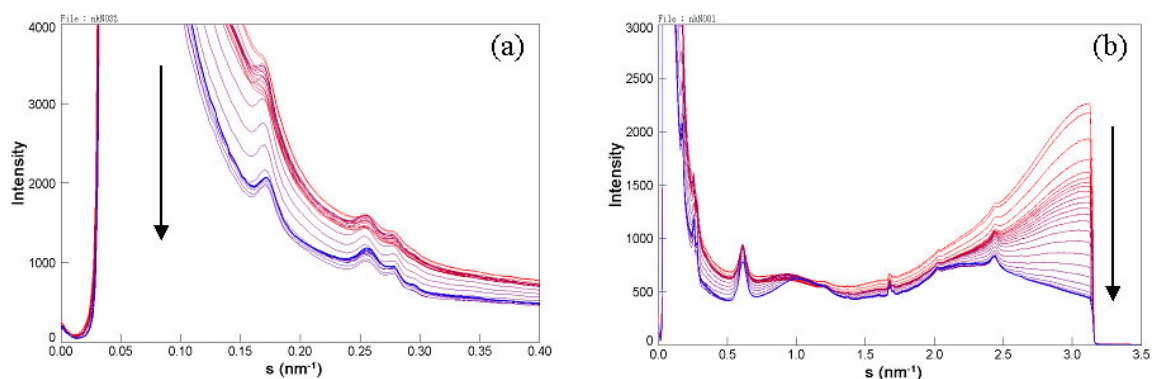


Fig. 1 The small angle (a) and the wide angle (b) diffraction patterns of stratum corneum samples during evaporation of water. The arrows indicate the direction of changes in the diffraction patterns during evaporation of water.