

重点産業利用課題報告書

実施課題番号： 2007A1893

実施課題名： マイクロビームX線小角散乱を用いた角層深さ方向に関する細胞間脂質
ラメラ構造の解析

実験責任者所属機関及び氏名： 花王株式会社 片山靖

使用ビームライン： BL40XU

実験結果：

【利用目的および利用成果の概要】

皮膚最外に在る角層は、外界からの化学的・物理的バリア、光学的な膜、肌内部の恒常性維持などの機能を有する極めて重要な器官である。角層の本質を理解することは、エビデンスに基づいた機能性化粧品の開発において欠くことができないポイントの一つである。

中でも、角層細胞間に存在する脂質類が機能発現に重要な役割を担っており、近年、それらが形成する組織構造（ラメラ）に関する研究が盛んに行われている。これまでの研究より、角層細胞間脂質は不均質な膜であることが明らかになりつつある。現在までに、ラメラ周期に関しては、約13nmの長周期と約6nmの短周期の2種類存在し¹⁾、また、側方充填構造に関しては、斜方晶、六方晶と液晶の3種類存在する²⁾ことがわかっている。

我々は、深さ方向における角層細胞間脂質ラメラの不均質性に着目した。これまで、電子線回折を用いた実験により、側方充填に関しては深さ方向で異なることが報告されている³⁾が、ラメラに関しては未だ報告例が無い。マイクロビームX線を用いることにより、1枚の角層に対して、上層（表皮近傍）・中層・下層（表皮顆粒層近傍）を独立して解析可能と考え、実験を行った。その結果、上・中・下層におけるラメラの不均質性を示唆する結果が得られたので報告する。

【利用方法および利用の結果得られた主なデータ】

特製治具に固定した1枚の豚角層シート（n=2頭）を上層から下層へ5μm毎に移動させながら、エッジ方向から5μm径のマイクロビームX線を照射した。厚さ数十μmの角層において、5μm幅という微小領域で上・中・下層にビームを狙って当てることは極めて困難である。そこで、得られた散乱像において、ビームが当たり始めた（角層の散乱データが得られ始めた）部位を上層、ビームが当たらなくなる直前（角層の散乱データが得られなくなる直前）の部位を下層、それらの中間の部位を中層と定義した。

本実験では、赤道軸方向に細胞間脂質ラメラの長周期構造に由来する2次元散乱像が得られた（図1）。これらの散乱像における方位角の大きさ（方位角方向のピーク半値幅）を上・中・下層に分けて解析した結果を図2に示す。この結果、角層上層は、中・下層に比べて有意に方位角が大きい傾向を示した。

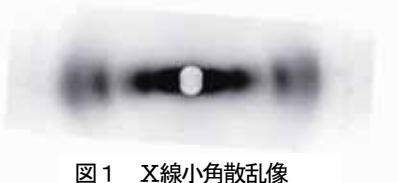


図1 X線小角散乱像

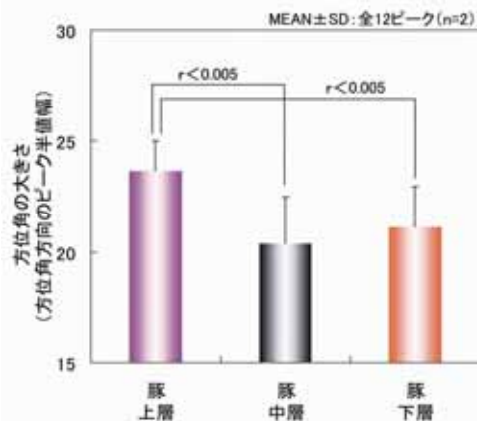


図2 上・中・下層における散乱像の方位角の大きさ

【結論、考察】

マイクロビーム X 線を用いることにより、角層の深さ方向で細胞間脂質ラメラの 2 次元散乱像に差異（方位角の違い）が観られた。この結果より、角層の深さ方向における細胞間脂質ラメラの不均質性が示唆された。上・中・下層における方位角の違いに関してさらなる解析を進めているが、現時点では、ラメラの配向性の違いを意味しているのではないかと考えている。

また、本実験の結果、角層シートに対してマイクロビーム X 線をエッジ方向から照射することにより、1 枚のシートでも十分に解析可能な情報が得られることがわかった。

以上のように、角層細胞間脂質ラメラの解析において、マイクロビーム X 線散乱は極めて有用な手法であることが明らかとなった。

【引用文献】

- 1) N. Ohta, S. Ban, H. Tanaka, S. Nakata, I. Hatta, Chem. Phys. Lipid, 123, 1-8(2003).
- 2) J. A. Bouwstra, M. Ponc, Biochim. Biophys. Acta, 1758, 2080-2095(2006).
- 3) G. S. K. Pilgram, M. E. Pelt, J. A. Bouwstra, H. K. Koerten, J. Invest. Dermatol., 113(3), 403-409(1999).