

溶液中に浸漬した皮膚角層細胞からの超小角 X 線散乱測定による構造評価 Evaluation of structure by means of ultra-small angle X-ray scattering from stratum corneum in solutions

湯口 宜明^a, 坂崎 吉彦^a, 太田 昇^b, 佐藤 眞直^b, 八田 一郎^b
Yoshiaki Yuguchi^a, Yoshihiko Sakazaki^a, Noboru Ohta^b, Masugu Sato^b, Ichiro Hatta^b

^a大阪電気通信大学, ^b(財)高輝度光科学研究センター
^aOSAKA ELECTRO-COMMUNICATION UNIVERSITY, ^bJASRI

皮膚角層細胞の異なる溶液中に浸漬した時の挙動を観察する目的で、溶液セルを用いて超小角領域での X 線散乱像を測定した。小角側の立ち上がりはかなり急激である。尿素系はそれらの中で比較的緩やかであった。立ち上がりの最も大きいのが乾燥皮膚試料であり、次いでエタノール、リモネン、水であった。両対数プロットによりフラクタル次元を見積もると、乾燥皮膚、エタノール、リモネンはそれぞれ 3.6, 3.6, 3.3 であった。また水、5%尿素水溶液、20%尿素水溶液、40%尿素水溶液はそれぞれ 2.9, 2.6, 2.8, 2.5 であった。また尿素が皮膚角層への水分浸透に何らかの影響を与えていることが示唆された。

キーワード： 角層, 尿素, 超小角 X 線散乱, フラクタル次元

背景と研究目的：

皮膚の最外層にある皮膚角層には保湿機能とバリア機能がある。皮膚角層構造は角層細胞がレンガ状に積み重なり、その間を細胞間脂質が埋めている。このような構造をレンガ、モルタルに似ていることからレンガ・モルタルモデルと呼ばれる。細胞間脂質はセラミド、遊離脂肪酸、コレステロールなどからなる脂質分子集合体である。これに、化粧品、薬剤、保湿剤などが作用し、構造化していると考えられる。

保湿機能においては、細胞間脂質だけでなく天然保湿因子、皮脂膜などが関わっていると考えられている。一般的に保湿剤の化学成分は尿素などがあるが、それら薬剤の効果と分子や分子集合体レベルにおける水分との関わりを明らかにすれば、保湿剤や薬剤の開発において重要な指針を提供することができると考えている。そこで、本研究では、極小角 X 線散乱実験によって、各種溶媒に浸漬した皮膚角層試料の散乱測定により、水の分布状態の知見を得ることを目的とした。

実験：

ヘアレスマウス (HR-1, 星野, 日本) 皮膚を処理することにより角層試料を調製した。水、尿素水溶液、エタノールなどの溶媒を長時間浸漬させ、溶液セルを用いて超小角 X 線散乱測定に供した。実験は大型放射光施設 SPring-8 の BL-19B2 を用いた。光学系は、波長 0.069 nm, カメラ距離約 40 m で、露光時間は 5 分とした。検出器には PILATUS-2M を用い、解析するのに十分な精度のデータを得た。散乱ベクトルの大きさ q にして、 $0.005 \sim 0.2 \text{ nm}^{-1}$ の範囲を測定した。ここで 2θ を散乱角, λ を入射 X 線の波長とすると $q = (4\pi/\lambda)\sin\theta$ と定義できる。

結果および考察：

皮膚角層からの X 線散乱・回折の測定は、すでに八田らによって進められている。それによれば細胞間脂質における脂質炭素鎖の結晶構造および脂質の形成する約 13 nm の周期をもつ長周期ラメラ構造が確認されている。超小角 X 線散乱実験ではそれよりも大きなスケールの構造が観測されると予想される。

図1は乾燥皮膚の角層と水、5~40%尿素水溶液、エタノール、リモネンに1日間浸漬した皮膚角層試料からの超小角X線散乱である。ここで $I(q)$ は散乱強度、 q は散乱ベクトルの大きさである。散乱は各溶媒の散乱を差し引いた過剰散乱強度として算出したものである。いずれも小角側で単調減少関数を示し、回折ピークなどは観察されなかった。小角側の立ち上がりはかなり急激である。尿素系はそれらの中で比較的緩やかであった。立ち上がりの最も大きいのが乾燥皮膚試料であり、次いでエタノール、リモネン、水であった。両対数プロットにおいて比較的直線性のある q にして 0.02~0.054 の範囲における傾きからフラクタル次元を見積もると、乾燥皮膚、エタノール、リモネンはそれぞれ 3.6, 3.6, 3.3 であった。また水、5%尿素水溶液、20%尿素水溶液、40%尿素水溶液はそれぞれ 2.9, 2.6, 2.8, 2.5 であった。さらに尿素水溶液ではその尿素濃度が上がるにつれて、フラクタル次元は減少した。これらの結果は有機溶剤の場合、細胞間脂質に作用し構造を乱すことによって大きな立ち上がりを持った散乱曲線を与えていると考えられる。水系ではやはり細胞間脂質に水分が浸入し角層細胞にも水分が浸透することで、それに対応した密度揺らぎとなり、フラクタル次元が減少したといえる。

また水溶液系では、 $q > 0.054$ の範囲で湾曲した上に凸の曲線が伺える。特に尿素水溶液で顕著となるが、保湿性能が高いとされる尿素の作用により皮膚角層への水の浸透性と関わりがあるかもしれない。より散乱曲線の挙動をとらえるために縦軸に $q^4 I(q)$ をとる Porod プロットを行った(図2参照)。散乱体の表面がなめらかな場合、Porod 則に従って q^{-4} 則で散乱は減衰する。このプロットは表面の構造を反映すると考えられるが、溶液によってその構造が異なることが確認できた。

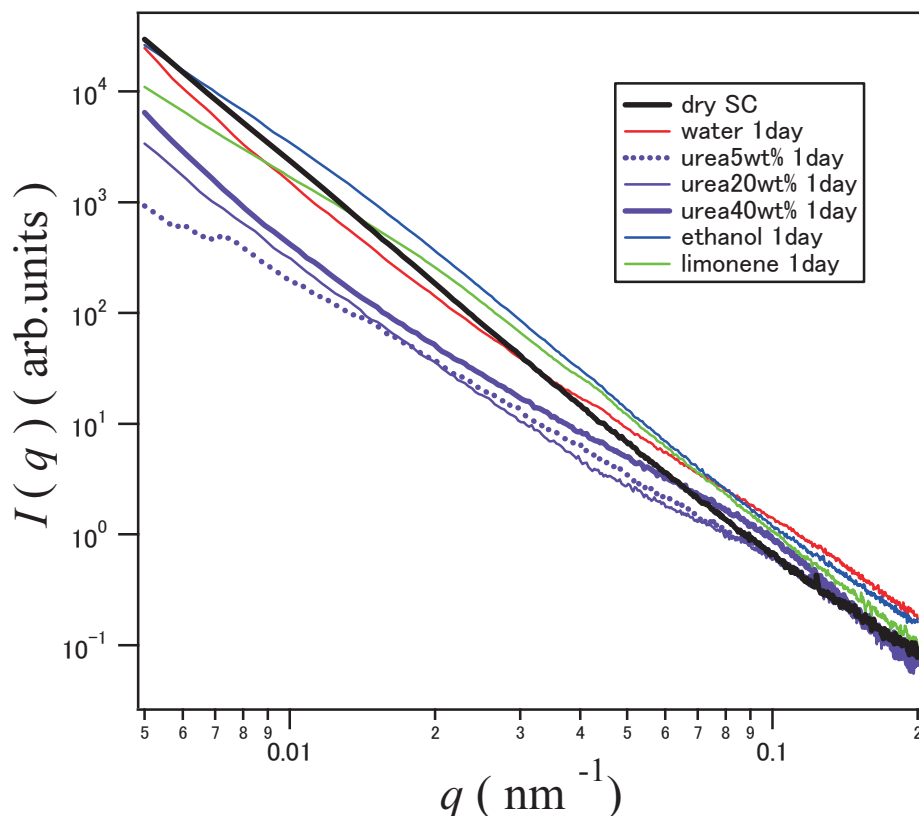


図1. 様々な溶液に浸漬したヘアレスマウス皮膚角層から超小角X線散乱.

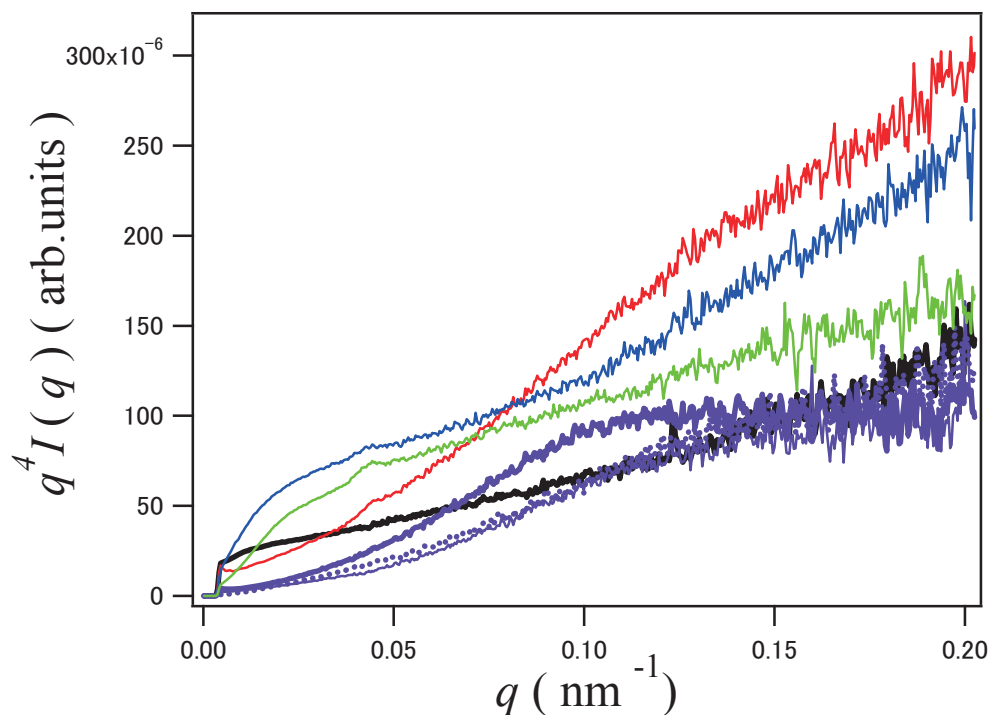


図2. 様々な溶液に浸漬したヘアレスマウス皮膚角層からの超小角 X 線散乱の Porod プロット. (各データの対応は図1の記載と同じ).

今後の課題：

本実験によって、ヘアレスマウス皮膚角層の直接角層細胞の異なる溶媒による構造変化を観察することができた。しかしその散乱パターンが主としてどの密度揺らぎ構造を反映したものは明確になっていない。実験系も細胞間脂質を含み多成分で複雑である。しかし尿素が皮膚への水分浸透に関わっている可能性を示唆する結果を得たのは意義深い。今後は実際の水分が皮膚角層内でどのように分布しているかを様々な溶液や測定手法の工夫によって知見を得ていく必要がある。それらの情報は保湿剤の開発に有効な指針を提供すると推測できる。

参考文献：

- [1] J. A. Bouwstra, A. de Graaff, G. S. Gooris, J. Nijssse, J. W. Wiechers and A. C. van Aelst, *J. Invest. Dermatol.* **120**, 750-758 (2003).
- [2] I. Hatta, H. Nakazawa, Y. Obata, N. Ohta, K. Inoue and N. Yagi, *Chem. Phts. Lipids* **163**, 381-389(2010).