

戦略活用プログラム課題利用報告書

- ① 実施課題番号 : 2005B0905
- ② 実施課題名 : 自己組織化された擬似(皮膚)細胞間脂質の開発
- ③ 実験責任者所属機関 : 日本メナード化粧品(株)
氏名 : 坂 貞徳
- ④ 使用ビームライン : BL40B2
- ⑤ 実験結果 :

【利用目的及び利用成果の概要】

皮膚の重要な機能としてバリア機能が挙げられる。これまでの研究結果で皮膚角層中の細胞間脂質がバリア機能で重要な役割を果たすと考えられている。電子顕微鏡では、皮膚表面を覆うように細胞間脂質がラメラを形成して、広い幅-狭い幅-広い幅のバンドで周期的な構造を形成していることが見出されている。X線回折においては、長周期(13nm)と短周期(6nm)の2つのラメラ周期が測定され、この2種の周期構造がバリア機能と水分保持機能に関わっていると提案されている。一方、細胞間脂質は、セラミド、脂肪酸、及びコレステロールが主な構成成分として知られている。長周期ラメラ構造の形成において特に、長い炭化水素鎖を持つセラミド1と呼ばれるセラミドが重要な役割を果たす成分である。しかしながら、セラミド1が含まれていても3成分の組成比によっては、長周期ラメラ構造が形成されていない。したがって、本研究では不飽和炭化水素鎖を含まない合成のセラミド1(以下、CER1-ste)を含む混合セラミド、脂肪酸及びコレステロールによって長周期ラメラ構造を形成する組成比を見出し、自己組織化された擬似細胞間脂質含有する化粧品開発において構造的な基礎を築くことを目的としている。

混合セラミドはCER1-ste及び合成セラミド2(以下、CER2)あるいは合成セラミド3(以下、CER3)を使い各々のモル比を変え、CER1-steを含む混合セラミド、脂肪酸及びコレステロールのモル比を1:1:1の等モル比に固定し、X線装置を使い脂質の構造解析を行った。その結果、すべての脂質が飽和の炭化水素鎖を持つ擬似細胞間脂質では、脂質の安定相において長周期構造はみられなかった。しかし、脂質を加熱し融解させた後、室温付近まで冷却させた準安定相では、CER3のモル比70%付近で11.59~12.09nmの長周期構造を得た。

【利用方法及び利用の結果得られた主なデータ】

脂質系のラメラ構造と脂質の充填構造を同時に測定するために、小角・広角X線回折同時測定はビームライン BL40B2 を使用した。示差走査熱量計による同時測定を行った。測定条件は、X線の波長は0.1nm、カメラ長は400mmで行った。カメラはRAXIS(リガク製)を用い、IPは300×300mmを使用した。温度走査には示差走査熱量計(メトラ製)を使い、X線回折実験のインターバルが5minであることから、X線回折実験は1°C/minで5°C毎に測定を行った。脂質サンプルはキャピラリチューブ(φ1mm; W. Muller製)に詰め、チューブを密閉した。

図1及び図2は、CER3のモル比が70%での混合セラミド/ステアリン酸/コレステロールの等モル混合系に関する小角X線回折及び広角X線回折の回折強度に関する等高線図をそれぞれ示す。図1に示されるように、40°C以下の小角X線回折において、回折ピークが $S=0.086\text{nm}^{-1}(11.59\text{nm})$ 、 $0.248\text{nm}^{-1}(4.03\text{nm})$ 、 $0.256\text{nm}^{-1}(3.91\text{nm})$ にみられた。 $S=0.086\text{nm}^{-1}(11.63\text{nm})$ は、自己組織化された混合セラミド/ステアリン酸/コレステロールのラメラ構造に対応していると考えられる。広角X線回折において、強い回折ピークが $S=2.423\text{nm}^{-1}(0.41\text{nm})$ 、 $2.694\text{nm}^{-1}(0.37\text{nm})$ にみられる。これは、小角X線回折における $S=0.248\text{nm}^{-1}(4.03\text{nm})$ のステアリン酸の周期にあたる。また、 $0.256\text{nm}^{-1}(3.91\text{nm})$ はCER3の周期と一致する。40°Cから85°Cの温度範囲では、 $S=0.294\text{nm}^{-1}(3.40\text{nm})$ に弱いピークが出現する。これは、コレステロールの周期と一致し、コレステロールが40°C付近で結

晶化していることを示す。70°Cを超える温度範囲では、ステアリン酸のピークが消失し、70°C以下においてステアリン酸が融けたことを示す。85°Cを超えるとコレステロールの回折ピークが消失し、コレステロールが溶けたことを示す。90°Cを超える温度では、混合セラミド/ステアリン酸/コレステロール及びCER3の回折ピークが完全に消えるので、これらの結晶は完全に融ける。

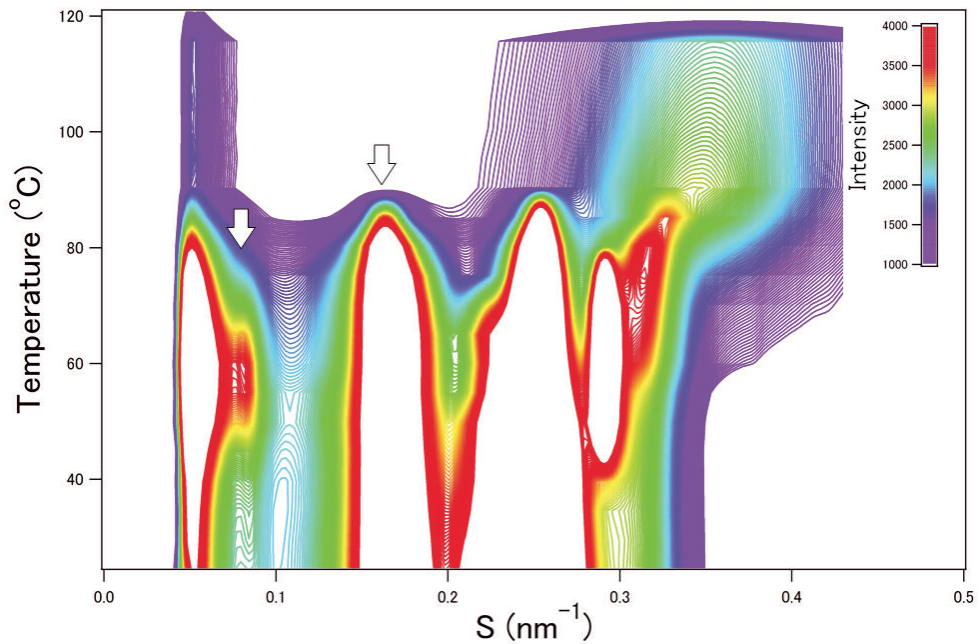


図1 70%CER3における小角X線回折の等高線図
矢印は11.59~12.17nmの長周期のラメラ構造を示す。

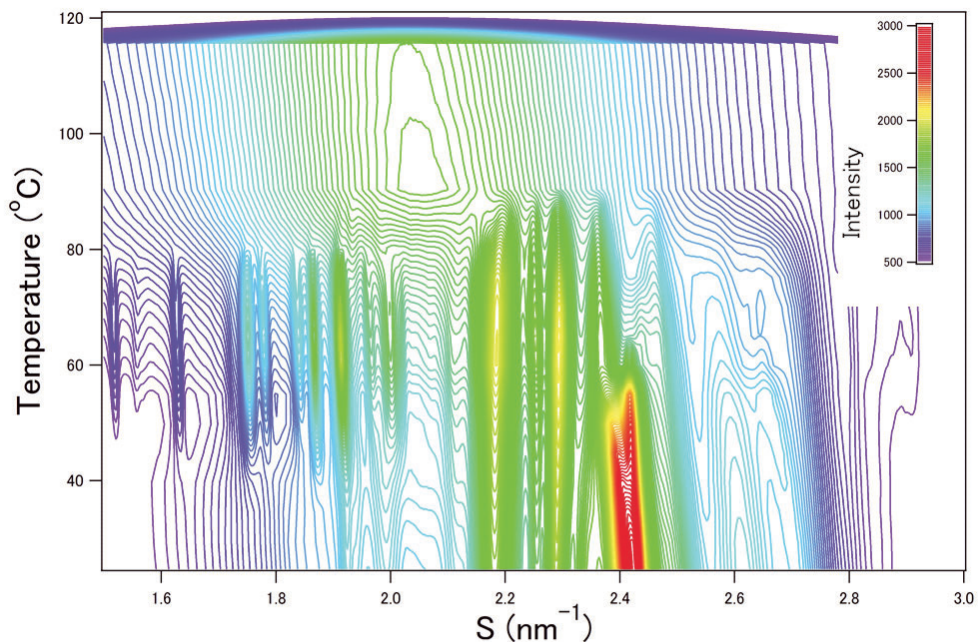


図2 70%CER3における広角X線回折の等高線図

【結論、考察、引用（参照）文献等】

セラミド1が細胞間脂質の長周期構造に大きく関与していることが知られており、天

然のセラミド1あるいは合成セラミド1を含む混合脂質の研究が行われてきた¹⁾。この中で、Bouwstra ら¹⁾は CER1-ste を含む自己組織化された混合脂質では長周期構造がみられないと結論付けられている。しかし、今回の測定結果から、CER1-ste/ CER3 を含む混合脂質においても 11.59~12.17nm の長周期構造があることを見出した。以上の結果から、擬似細胞間脂質を利用したアトピー皮膚炎の改善薬あるいは皮膚バリア機能を回復させる化粧品の開発に応用できる。

1) Bouwstra JA, Gooris GS, Dubbelaar FER, Ponc M: Phase Behavior of Stratum Corneum Lipid Mixtures Based on Human Ceramides: The Role of Natural and Synthetic. *J Invest Dermatol* 118:606-617, 2002