

1. 課題番号： 2006B0208 (※)

2. 課題名： ヒト皮膚三次元培養皮膚の細胞間脂質の解析

Structural analysis of intercellular lipid of reconstructed human skin models

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

角層細胞間脂質は、皮膚バリア機能に重要な役割を果たしている。これまで我々は健康ヒト皮膚角層の細胞間脂質の構造解析を行ってきた。しかし、ヒトから試料となる角層を直接採取することは容易ではないため、我々は同一の角層試料を安定して入手できる方法として、三次元培養ヒト皮膚の利用について検討を始めた。最近市販されている三次元培養ヒト皮膚は、角層の物理的性質や組成はヒト角層に非常に近似しており、薬剤のスクリーニングなどにも活用されている。そこで、本課題において三次元培養ヒト皮膚角層の細胞間脂質の構造解析を行い、化粧料の作用機序解明、製品開発の評価方法のあらたなツールとしての妥当性ならびに有用性を検討した。

角層試料は三次元培養ヒト皮膚からトリプシン処理によって角層を剥離し、水分量を約30%に調整した後、ガラスキャピラリーチューブに封入した。格子定数で0.25-15 nmの小角から広角に渡る広い領域のX線回折像を取得した。

Fig.1に三次元培養ヒト皮膚の角層及び健康ヒト皮膚から採取した角層のX線散乱プロファイルを記す。Fig.1(a)の小角散乱の範囲において、健康ヒト皮膚では $d = 13 \text{ nm}$ のラメラ構造に非常にブロードなピークを観察することができるが、三次元培養ヒト皮膚では、ほとんど観察できなかった。Fig.1(b)の広角範囲に見られる $S=1.0 \text{ nm}^{-1}$ および 2.3 nm^{-1} のブロードな散乱は角層細胞のケラチンの散乱であり、三次元培養ヒト皮膚も健康ヒト皮膚と同様の散乱ピークが観察できた。しかし、三次元培養ヒト皮膚では、健康ヒト皮膚の $S=2.4 \text{ nm}^{-1}$ および 2.7 nm^{-1} に見られる細胞間脂質のピーク以外にも多数のピークが観察され、有機溶媒で洗った角層ではこれらのピークが消失した。以上のことから、三次元培養ヒト皮膚ではヒト角層に相当する充填構造のピークも認められるが、細胞間脂質のラメラ構造の構築は不完全で、脂溶性の物質が結晶化している可能性があることがわかった。よって、細胞間脂質構築に関しては三次元培養皮膚モデルに改良の余地が残されていると考えられる。

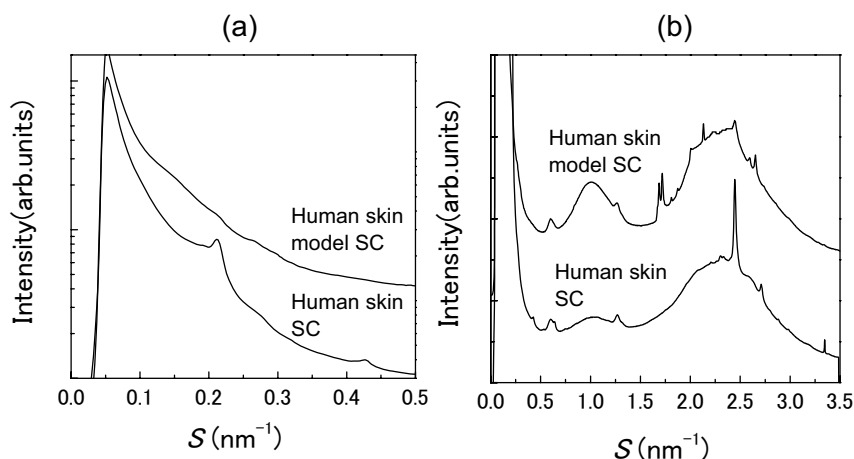


Fig.1 Intensity of small-angle (a) and wide-angle (b) X-ray diffraction of human skin model stratum corneum (SC) and human skin SC (male of 45 y. o.).