

1. 課題番号： 2006B0101

2. 課題名： ヒト角層内深さ方向の角層細胞間脂質の構築状態分布の解明

The depth distribution of modulation of intercellular lipids matrix of human stratum corneum

3. 実験責任者： (株)資生堂 國澤直美

4. 使用ビームライン： BL40XU

5. 実験

角層は皮膚の最上部に位置するバリア機能に重要な層である。角層の厚さは10数 μm と非常に薄い、死んだ細胞の集まりによる1枚の均質な膜ではなく、角層細胞が生成されて剥がれ落ちるまでの間に化学的修飾や代謝を受けて、深さ方向に劇的に変化している。しかし、測定・分析に必要な分量の角層試料を非侵襲で採取することが困難なため、角層の深さに依存した複雑な構造や機能変化には未だ不明な点が多い。この解決手段としてマイクロビームX線を用いて、異なる深さからテープストリッピングにより採取した角層試料の細胞間脂質の構造解析を行い、角層細胞間脂質構造の角層内の深さ依存性を調べた。

角層試料は粘着テープでヒト前腕屈側部からテープストリッピングにて採取し、角層がテープに付着した状態のまま実験に供した。同一箇所を新しいテープで繰り返し剥離し、異なる深さの角層を採取した。1回の剥離でテープに付着する角層の厚みは角層細胞1~2層分と薄いため角層からの散乱信号は非常に弱く、土台であるテープの吸収や散乱が問題となる。そこで、本実験ではテープをX線ビームと平行にし、テープに付着した角層をコリメーターで5 μm に絞ったX線ビームで掠めるように照射した。細胞間脂質の6nmと13nm周期のラメラ構造を解析するため、格子定数で2.5-50nmの小角領域のX線回折像を取得した。また、テープに付着する角層細胞のばらつきを考慮して、角層試料近傍を5~20 μm ステップでスキャンした。

テープをX線ビームと平行にしたことで、Fig.1に示すX線回折像のようにテープの影響がない角層からの散乱信号を計測することができた。Fig.1(a)の矢印で示す散乱強度の強いスポットは格子定数13nmの細胞間脂質のラメラ構造の2次反射である。また、同じ試料でもビーム照射位置を変えると、角層ケラチンの信号のみが観測され、位置による信号のばらつきがあった(Fig.1(b))。採取した角層表面の細胞間脂質のラメラ構造は一様ではないことが推測される。また、角層最上部では、脂質からの信号は全く観測されず、中層より下でラメラ構造の信号が観測できた。

以上の検討より、ヒトの角層最上部では細胞間脂質がラメラ構造を形成していないことが示唆された。これは、角層最上部では様々な外因により細胞間脂質の構造が乱れたり、損失したりするためと考えられる。また、本検討により、角層深さごとに細胞間脂質構造が異なることが分かり、化粧料の作用機序解明や、深さの違いをターゲットとした化粧料の開発に期待できる。

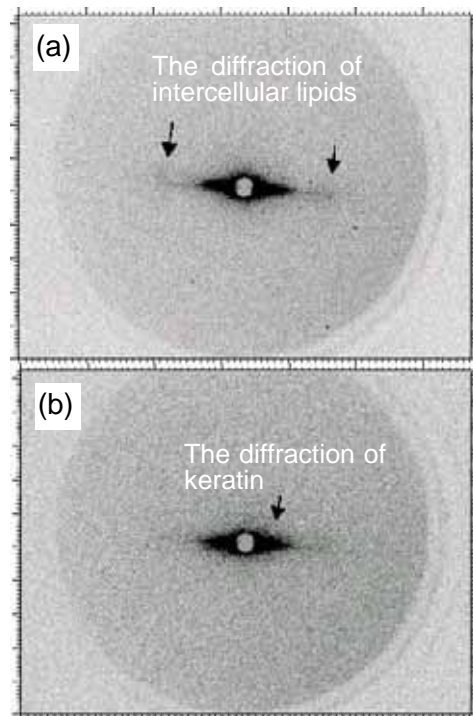


Fig.1 The small angle diffraction patterns of human stratum corneum (male of 38 y. o.)