

1. 実施課題番号：2007B1806
2. 実施課題名：溶液セルを用いた生体皮膚角層の構造解析 -アクアポリンノックアウトマウスを用いたグリセロールの経皮吸収研究-
3. 実験責任者所属機関および氏名：関西学院大学理工学部 中沢 寛光
4. 使用ビームライン：BL40B2
5. 実験内容：

利用目的および利用成果の概要

生体皮膚の最外層には角層と呼ばれる構造体が存在し、アレルギーなどの物質が体内へ侵入することや体内から水分が過剰に蒸散するのを防ぐ、いわゆるバリア機能を発揮している。角層は主にケラチン束で満たされた角質細胞とその周りを取り囲む細胞間脂質の領域から構成されるが、近年、この細胞間脂質の充填配列構造の秩序性が、皮膚バリア機能に大きく寄与していることが X 線構造解析などから明らかになった。この角層は様々な外部環境に直接晒されているため、肌に塗布した薬剤や化粧品などは直接細胞間脂質に作用しバリア機能に影響を与えている可能性が考えられる。そこで我々はこれら製剤の皮膚への直接的影響や浸透性などを評価するため、独自に作製した溶液セルを用いることにより、様々な溶液に暴露した時の角層細胞間脂質の挙動をリアルタイムで観察することを検討している。

しかしながらこれら細胞間脂質の溶液に対する挙動は微妙であり、それゆえ溶液セルを用いた評価系を確立していく現段階においては、構造変化の挙動ができるだけ顕著であるような条件の試料を用いることが望ましい。その一つの方法として、ノックアウトマウスの皮膚を用いた解析が考えられる。今回我々は、水やグリセロールのトランスポーターとして知られるアクアポリン 3 タンパク (AQP3) の発現をノックアウト (KO) したマウスの皮膚角層を入手し、水やグリセロールといった基本物質が角層の構造にどのような影響を与えるのかについて検討した。

利用方法および利用の結果得られた主なデータ

今回開発した溶液セルにこれらのマウスの角層を固定し、いったん回折像を得た後、溶液 (水やグリセロール水溶液) を注入して角層に対する溶液の浸透性、溶液浸透に伴う角層の構造の変化を連続観察したところ、これらの溶液が角層中に吸着することで生じる角層の構造変化を捉えることができる可能性がある。AQP3KO マウスの皮膚は、通常の Wild マウスと比べて水分量や粘弾性など物性的に有意に変化していることが報告されているが[1][2]、溶液注入前の細胞間脂質の配列構造に関しては Wild と KO で大きな違いは認められず、また水分子がケラチンに吸着していく挙動に関しても、Wild と KO で大きな差が無いことが示唆された。一方で水と親和性を持つとされる 6nm 周期のラメラ構造に関しては[3]、水の浸透過程の挙動が両者で若干異なっている傾向があったが、今回の実験だけでは有意差を議論するに足るだけのデータが得られなかった (図 1、図 2)。今後さらにデータ数を充実させ議論を重ねていく必要がある。

結論

化粧品や医薬品の基本物質である水やグリセロールなどの角層浸透挙動に関する情報は、経皮吸収促進剤を始とする多くの基剤の機能特性を評価する上で必要不可欠なものである。今後も様々な条件の下で、種々の物質が角層の構造に与える影響を検討する計画である。

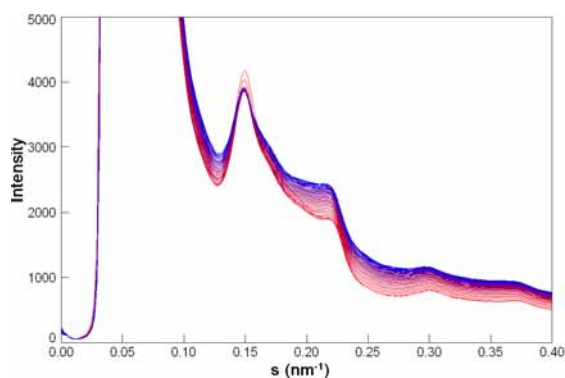


図1 WildマウスのSAXS連続プロファイル

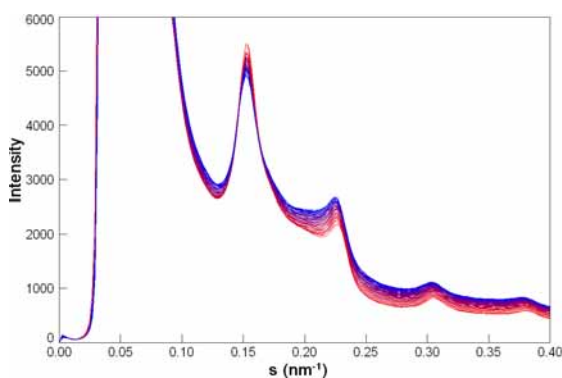


図2 AQPKOマウスのSAXS連続プロファイル

参考文献

- [1] M. Hara, Tonghui Ma, and A. S. Verkman., Selectively Reduced Glycerol in Skin of Aquaporin-3-deficient Mice May Account for Impaired Skin Hydration, Elasticity, and Barrier Recovery. (2002) *J. Biol. Chem.* 277 (48), 46616–46621.
- [2] M. Hara and A. S. Verkman., Glycerol replacement corrects defective skin hydration, elasticity, and barrier function in aquaporin-3-deficient mice. (2003) *PNAS* 100 (12), 7360–7365.
- [3] Ohta N, Ban S, Tanaka H, Nakata S, Hatta I., Swelling of intercellular lipid lamellar structure with short repeat distance in hairless mouse stratum corneum as studied by X-ray diffraction. (2003) *Chem. Phys. Lipids.* 123, 1-8.