

ヒト角層の保湿剤水溶液への浸漬時と乾燥時における角層構造の変化(7) Structural Changes of Human Stratum Corneum by Treating with the Moisturizer Aqueous Solutions in Wetting and Drying Processes (7)

豊島 亮祐^a, 村島 健司^a, 羽深 朱里^a, 野々部 瑛^a, 村尾 友紀^a,
大畑 哲也^a, 山下 耕司^a, 山田 武^a, 八田 一郎^b
Toyoshima Ryosuke^a, Kenji Murashima^a, Akari Habuka^a, Hikaru Nonobe^a, Yuki Murao^a,
Tetsuya Ohata^a, Koji Yamashita^a, Takeshi Yamada^a, Ichiro Hatta^b

^a 阪本薬品工業(株), ^b(公財)名古屋産業科学研究所

^aSakamoto Yakuhin Kogyo Co., Ltd., ^bNISRI

我々は、化粧品の保湿剤として用いられる多価アルコールや天然保湿因子 (NMF) について、皮膚角層への作用機構を解明するため評価を進めている。これまで、角層試料を多価アルコール水溶液に浸漬し、その後に乾燥させた際の一連の構造の変化を X 線回折法で計測し、多価アルコールの種類や組み合わせによって構造の変化が異なることを明らかにした。本課題では、保湿剤として用いられる多価アルコールのグリセリンや天然保湿因子 (NMF) の尿素について、角層細胞内のソフトケラチンに由来する構造や細胞間脂質の炭化水素の充填構造に及ぼす影響を X 線回折法によって測定した。その結果、尿素水溶液に浸漬した角層においては、乾燥によるソフトケラチン構造の収縮がグリセリン水溶液に浸漬した場合と同様に抑制されることを明らかにした。

キーワード： ヒト角層、細胞間脂質、多価アルコール、尿素、X 線回折

背景と研究目的：

化粧品や医薬品などの皮膚外用剤には、皮膚角層に水分を保つ目的で NMF (天然保湿因子) の一種である尿素や多価アルコールのグリセリンが配合されている。これらの保湿剤は、いずれも分子中に極性基を有する化合物であり、尿素は分子中に 2 つのアミノ基を有し、グリセリンは分子中に 3 つの水酸基を有する。尿素とグリセリンは、いずれも角層中の水分と結合することにより保湿効果を発現するが、分子構造の違いから保湿効果は異なり、その作用機構も異なると考えられる。

グリセリンや尿素などの保湿に関する作用機構を解明するには、角層試料に保湿剤を作用した後の乾燥時における角層構造の変化を追跡し、角層内の水の動的な振舞いを把握することが重要と考える。これまでの課題において、我々は BL19B2 や BL40B2 にて検出器に PILATUS-2M を用い、多価アルコールが角層構造に及ぼす影響について評価を進めてきた[2017A1559, 2017B1607]。その結果、乾燥時における角層試料の構造変化を短い時間間隔で測定することで、角層細胞内のソフトケラチンに由来する構造や細胞間脂質の形成する構造の振舞いが、水とグリセリン水溶液で異なることを明らかにした。一方で、尿素水溶液に浸漬した角層の内部構造の変化については明らかになっていない。尿素水溶液についても同様に、乾燥過程における角層細胞内の構造の変化を追跡することで、尿素とグリセリンの作用機構の違いについて解明できると考えられる。

そこで本課題では、BL40B2 にて PILATUS-2M を用い、グリセリンまたは尿素水溶液を浸漬した角層の乾燥時における変化を短い時間間隔で X 線回折測定し、ソフトケラチンに由来する構造および炭化水素鎖の充填構造に対する保湿剤の分子構造による影響を評価することとした。

実験：

ヒト腹部由来の角層 (BIOPREDIC International) 社を重量測定より水分量 0 wt% に調製し、1 cm² に切り出したものを角層試料として用いた。作用する保湿剤の水溶液には、10 wt% グリセリン水溶液、10 wt% 尿素水溶液を用い、比較対照は水とした。試料セルとして '溶液セル' [1] を用い、PEEK フィルムで覆われた試料部にガラス製のろ紙を用いて角層試料を保持した。

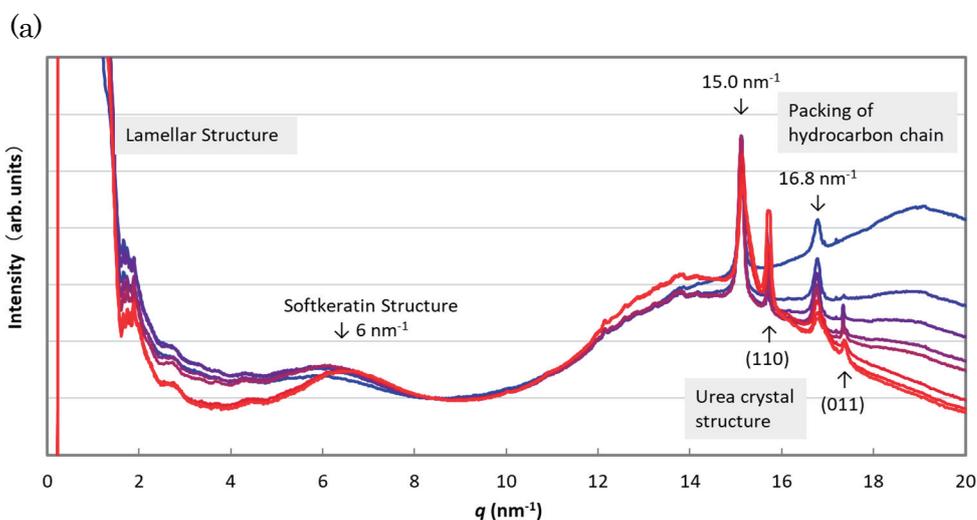
X 線回折測定は、溶液を作用する前の角層と、溶液セルに保湿剤の水溶液を注入直後から 30 分後までの構造の経時変化を 30 秒間隔で、および 60、120 分後に測定を行った。その後、角層試料を乾燥す

るため、溶液セル内の溶液を除去し、窒素ガスを流量 0.3 L/min で通気した。窒素ガス通気直後から 45 分後までの構造の経時変化を 30 秒間隔で、および 120、180、260 分後の構造を測定した。これらの小角・広角 X 線回折測定は、SPRing-8 のビームライン BL40B2 において実施し、X 線のエネルギーは 15 keV (波長 0.083 nm)、カメラ長は 570 mm (ペヘン酸銀で較正) とした。検出器には PILATUS-2M を用い、露光時間を 20 秒とした。得られた散乱像を一次元化したのち、PEEK フィルムに由来する散乱をバックグラウンドとして除き、回折プロファイルを得た。

結果および考察：

図 1.(a)に、尿素水溶液を浸漬した角層試料を乾燥した際の X 線散乱プロファイルの全体像を示す。測定時に経時的なビーム強度の低下が生じ、散乱強度の低下が見られたため、散乱ベクトル (q) 8.37 nm^{-1} の強度で規格化した。プロファイルを解析して得られたピーク位置 (q) から (式) $d = 2\pi/q$ で算出される構造の大きさ $d(\text{nm})$ を求め、それぞれの構造を帰属した。角層プロファイルの小角領域 ($q = 1 \text{ nm}^{-1}$ 付近) には、細胞間脂質が形成するラメラ構造のピークが検出されたが、角層試料ごとのピーク強度の差異が大きく、保湿剤の種類による傾向の解析が困難であった。 $q = 6 \text{ nm}^{-1}$ 付近には、角層細胞が形成するソフトケラチンに由来する構造 (約 1 nm) のブロードなピークが検出された。 $q = 15.0, 16.8 \text{ nm}^{-1}$ 付近には、細胞間脂質の炭化水素鎖の充填構造である六方晶 ($d = 0.42 \text{ nm}^{-1}$) と直方晶 ($d = 0.37, 0.42 \text{ nm}^{-1}$) に由来するピークがそれぞれ検出された。また、尿素水溶液に浸漬した角層では、乾燥によって、 $q = 15.7, 17.3 \text{ nm}^{-1}$ 付近に尿素の結晶構造 (正方晶系の体心格子構造 (110)、(011) 面) に由来するピークがそれぞれ検出された。中角領域のプロファイルの経時変化を図 1.(b), (c) に示す。水溶液に浸漬することで、ソフトケラチン構造に由来するピークが経時的に小角側へシフトし、乾燥時には経時的に広角側へシフトして浸漬前と同等のピーク形状を示した。広角領域のプロファイルの経時変化を図 1.(d), (e) に示す。水溶液に浸漬することで、炭化水素鎖の充填構造に由来するピークはわずかに小角側へシフトし、シャープな形状を示した。また、乾燥時には、経時的にピーク形状がブロードとなり、浸漬前と同等のピーク形状を示した。プロファイルの形状は、 $q = 20 \text{ nm}^{-1}$ 付近に検出される水に由来するブロードなピークによる影響で、散乱強度が浸漬時には増大、乾燥時には減少した。

ソフトケラチン構造に由来する構造 (1 nm) および炭化水素の充填構造に由来する構造 (0.37 nm, 0.42 nm) の d 値の経時的な変化を検討した。図 2. に水および保湿剤の水溶液を作用した角層試料を 45 分間乾燥させた際の、ソフトケラチンに由来する構造の変化を示す。水を作用した角層は、乾燥 14 分付近までは緩やかに d 値が縮小し、15 分以降は急激に d 値が縮小する傾向を示した。これに対し、グリセリンまたは尿素水溶液を作用した角層では、いずれも乾燥 45 分まで緩やかに d 値が縮小する傾向を示した。これより、グリセリンと尿素は乾燥時において、いずれもソフトケラチン構造中に含まれる水分を保持していることが示唆された。また、炭化水素の充填構造に由来するピーク (0.37 nm, 0.42 nm) は、乾燥過程において、水、グリセリン、尿素水溶液でそれぞれ異なる振舞を示し、グリセリンと尿素で作用機構が異なる可能性が示唆された。しかし、同一ドナーに由来する角層試料間においても差異が大きいことから、ドナーの違いも含めて測定点数を増やし、傾向を確認する必要がある。



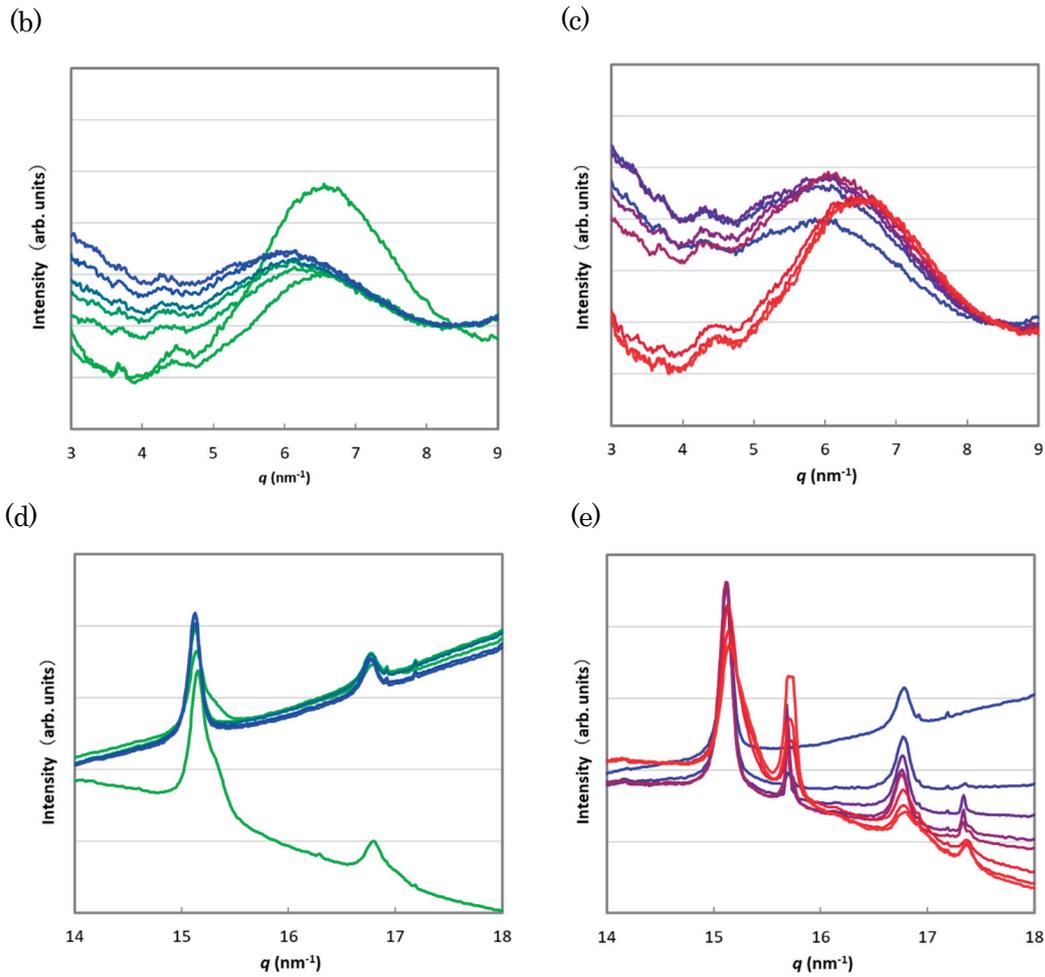


図1. 尿素水溶液を作用した角層の浸漬時(緑→青)および乾燥時(青→赤)における X 線散乱プロファイル

- (a) $q = 0-20 \text{ nm}^{-1}$ 乾燥時(乾燥 0, 10, 20, 30, 40, 120, 180, 260 分後)
- (b) $q = 3-9 \text{ nm}^{-1}$ 浸漬時(作用前, 湿潤 0, 10, 20, 30, 60, 120 分後)
- (c) $q = 3-9 \text{ nm}^{-1}$ 乾燥時(乾燥 0, 10, 20, 30, 40, 120, 180, 260 分後)
- (d) $q = 14-18 \text{ nm}^{-1}$ 浸漬時(作用前, 湿潤 0, 10, 20, 30, 60, 120 分後)
- (e) $q = 14-18 \text{ nm}^{-1}$ 乾燥時(乾燥 0, 10, 20, 30, 40, 120, 180, 260 分後)

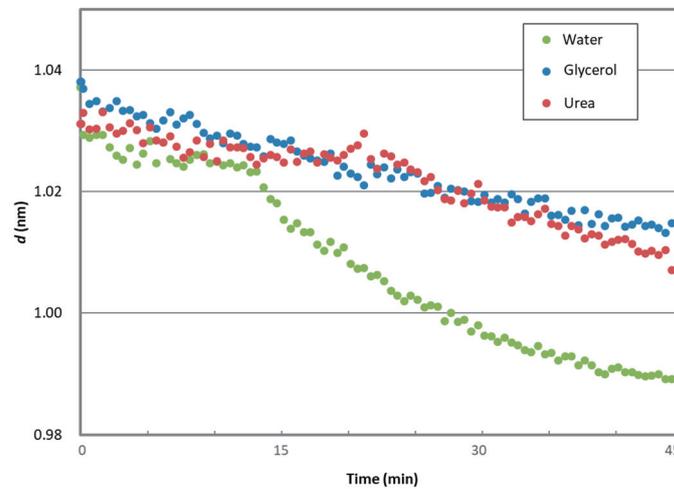


図2.ソフトケラチンに由来する構造の乾燥過程における経時変化

今後の課題：

角層中のそれぞれの構造について、保湿剤の種類による構造変化への影響を追跡することにより、保湿剤によって角層中での作用機構が変化する可能性が見出された。しかし、測定時のビーム強度が不安定であったことや、角層試料の部位差による影響で、ラメラ構造に及ぼす影響を十分に解析出来なかった。また、本課題で用いた角層は1種類のドナー由来であり、ソフトケラチン由来の構造や炭化水素の充填構造の影響についても普遍的な結果であるとは言えないため、追試を行いたい。小角～広角領域に検出される種々の構造の変化を総合的に解析することで、保湿剤の分子構造による影響について解明できると考えられる。

参考文献：

[1] I. Hatta et al., *Chem. Phys. Lipids*, **163**, 381 (2010).