

皮膚角層内の水分子の浸透挙動の解析 Analysis for the Permeation Behavior of Water in the Human Skin Stratum Corneum

中沢 寛光

Hiiromitsu Nakazawa

関西学院大学 理学部

School of Science, Kwansai Gakuin University

正常な皮膚の状態や皮膚の経皮吸収現象を考察する際に、皮膚角層内に存在する水の存在状態を明らかにしておくことは重要である。本研究では、高輝度放射光を用いて加湿及び乾燥過程における皮膚角層の微細な構造変化を捉えることで、角層内における水分子の動きを明らかにすることを試みた。

独自に開発した試料保持装置に湿度制御装置を組み込み、角層周りの環境湿度を変化させながら角層の構造を放射光X線で連続的に解析したところ、水分子の移動に伴う角層構造の連続的な変化を捉えることに成功し、これらの変化特性は角層の構成物によって異なることが分かった。

キーワード： 皮膚角層、経皮吸収、角層と水、小広角X線散乱、斜入射セル

背景と研究目的：

皮膚表皮の最外層に位置する角層は、そこで生体と外界を隔離する皮膚バリア機能に対して重要な役割を果たす。角層は主に脱核し扁平状になった角質細胞と、その周りを取り囲む細胞間脂質の領域から構成され、それらが比較的規則正しい配列構造を形成することで、高いバリア性能が発揮されていると考えられている[1-3]。角質細胞の内部は繊維状のケラチンたんぱく質で満たされ、またその外周部では細胞間脂質が脂質ラメラ構造を形成する[4-6]。近年の放射光技術の目覚ましい革新により、角質細胞内部でケラチン分子は中間径フィラメント (IF) を形成し、また細胞間の脂質ラメラ内部では、脂質分子の炭化水素鎖が中心となって流動相やヘキサゴナル相、オーソロンビク相を形成していることが明らかとなっており、さらに、細胞間脂質の存在量や構成比、炭化水素鎖の鎖長やそれらの配列構造が、皮膚バリア機能と大きく関係していることも指摘されている[7-9]。

一方で、正常な状態の角層にはその自重量に対しておおよそ25 wt%程度の水分が含まれており、この水が多いといわゆるふやけた状態に、少ないと乾燥肌状態になり、どちらの状態も角層のバリア機能は低下することが示唆されている[6, 10, 11]。水は生体を構成する基本物質であり、また皮膚に塗布する医薬品や化粧品の基剤としても広く利用されている。よって、角層のバリア機能を考え理解しようとする際には、角層と水の相互作用を詳細に解析し、角層内の水の存在様態を明らかにしておくことが重要な課題となる。そこで、本研究では独自に開発した試料保持装置 (斜入射セル、特許第 5904835 号) を用いて、加湿乾燥過程にある角層の微細な構造変化を放射光 X 線で高感度に捉え、間接的に角層内における水の動きを捉えることで、角層内の水の浸透挙動を明らかにすることを試みた。

実験：

美容外科手術において皮膚片より剥離切除され抽出したヒト皮膚角層 (Biopredic、フランス) を、角層の表裏の環境を独自に制御することができる斜入射セル内に設置し、そこに湿度制御装置を組み込んで、角層表面の湿度をさまざまな値に変化させた。斜入射セル内において、角層試料は入射 X 線に対して角層面を 45° 程度傾けて設置されており、そこに直接放射光を入射して構造変化を連続的に解析した。

皮膚角層に X 線を照射すると、小角領域には角層内に存在する細胞間脂質のラメラ周期由来の散乱ピーク ($s \approx 0.15 \text{ nm}^{-1}$, $s = 2 \sin \theta / \lambda$, λ は X 線の波長、 2θ は散乱角) が、中角領域には角質細胞内に存在するケラチンフィラメント間隔由来の散乱ピーク ($s \approx 1 \text{ nm}^{-1}$) が、広角領域には細胞間脂質の側方配列構造由来の散乱ピーク ($s \approx 2.4 \text{ nm}^{-1}$) が観察される。それら広範囲の散乱を同時に観測する為、ビームラインは SPring-8 BL03XU および BL40B2 を選択し、X 線の波長 λ は 0.0827 nm (15 keV)、カメラ長はおおよそ 50 cm (コレステロール粉末 (室温)、 $d = 3.39 \text{ nm}$ 反射にて校正) に設定し、小広角同時 X 線散乱実験を実施した。

検出器には半導体検出器 Pilatus 1M もしくは 2M (RIGAKU) を用いた。1 プロファイルあたりの露光時間を 30 s に設定し、1 分おきに回折像を取得した。ビーム径は、試料部においておおよそ $200 \mu\text{m} \times 200 \mu\text{m}$ になるように調整して実験を行った。

結果および考察：

角層試料周りの環境湿度をハッチ内の湿度よりも、高湿度 (加湿過程、 $\sim 70\%$ 程度)、低湿度 (乾燥過程、 $\sim 30\%$ 程度)、高湿度 (加湿過程、 $\sim 70\%$ 程度) と順に変化させ、それぞれの湿度で 30 分間保持して、角層の構造変化を連続的に解析したところ、角質細胞内部の IF 由来の散乱ピーク (中角領域) と細胞間脂質側方配列構造由来の散乱ピーク (広角領域) の両方が湿度応答的に変化することが分かり、当手法により角層内部の水の浸透挙動が解析可能であることが分かった。またこれらの構造の応答性の時間特性 (変化の時定数) は両構造体で微妙に異なることが分かり、これにより加湿過程および乾燥過程で角層内をどのように水が移動するのかが明らかとなった。今後、試料の個体差などを考慮してさらに詳細な解析を継続し、角層内の水の浸透挙動を明らかにしていく予定である。

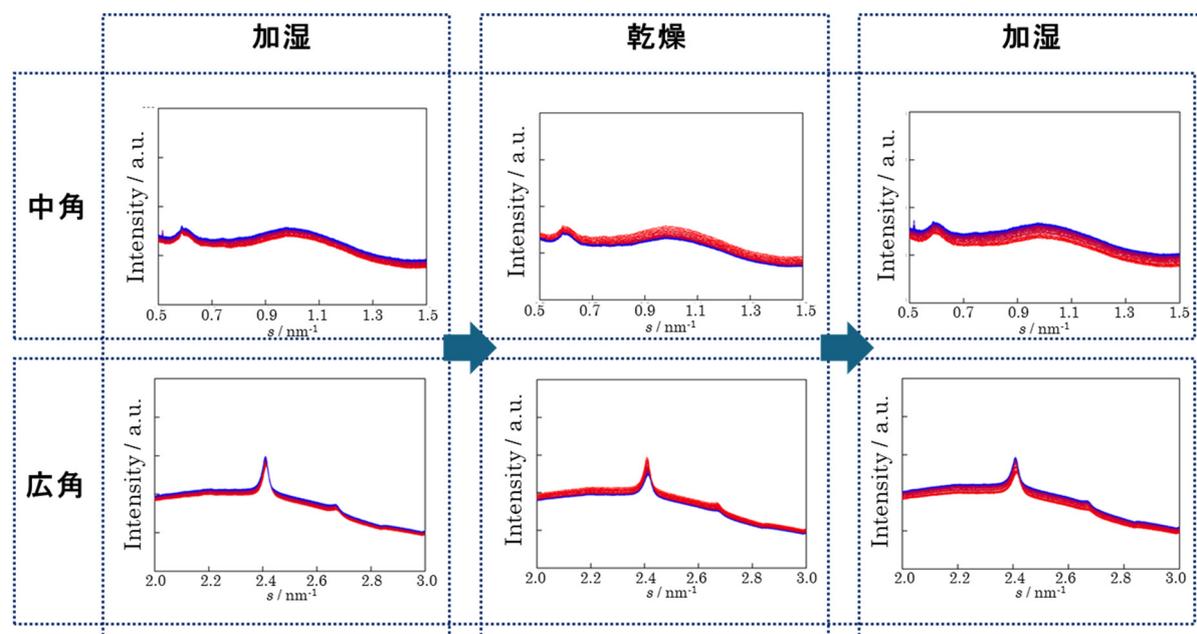


図 1. 角層周りの環境湿度を高湿→低湿→高湿と連続的に変化させた際の角層の中角および広角散乱一次元化プロファイル

高湿 (加湿過程、 $\sim 70\%$ 程度)、低湿 (乾燥過程、 $\sim 30\%$ 程度)、高湿 (加湿過程、 $\sim 70\%$) とそれぞれの湿度で 30 分間連続的に測定した 1 分おきの X 線散乱プロファイルを示した。縦軸は散乱強度 (arb. units)、横軸は s 値 (nm^{-1}) で表示されている。

今後の課題、発展性：

本検討により加湿乾燥過程に伴う角層内の詳細な水の動きを捉えることに世界で初めて成功した。今後、さらに多様な個体や環境下での実験を継続し、角層内の水の浸透挙動を明らかにしていく予定である。また角層の構造変化特性に対する加湿方法の違いによる影響も興味深く、今後、さらに詳細な実験を継続していく予定である。

参考文献：

- [1] P.M. Elias, D.S. Friend, *J. Cell Biol.*, **65**, 180-191 (1975).
- [2] Elias PM, *J. Invest. Dermatol.* **80**, 44-49 (1983).
- [3] G.S.K. Pilgram et al., *J. Invest. Dermatol.*, **117**, 710-717 (2001).
- [4] J.A. Bouwstra et al., *Int. J. Pharm.* **84**, 205-216 (1992).
- [5] N. Ohta et al., *Chem. Phys. Lipids*, **123**, 1-8 (2003).
- [6] H. Nakazawa et al., *Chem. Phys. Lipids*, **165**, 238-243 (2012).
- [7] J.A. Bouwstra et al., *J. Invest. Dermatol.* **118**, 606-617 (2002).
- [8] J.A. Bouwstra, et al., *J. Invest. Dermatol.* **97**, 1005-1012 (1991).
- [9] G.S.K. Pilgram, et al., *J. Invest. Dermatol.* **113**, 403-409 (1999).
- [10] G. Imokawa et al., *J. Invest. Dermatol.* **96**, 845-851 (1991).
- [11] T. M. Suhonen et al., *J. Control. Rel.* **59**, 149-161 (1999).