

## ヒト皮膚角層の構造と機能の関係性の解析 Analysis of the Relationship between Structure and Function of Human Stratum Corneum

中沢 寛光<sup>a</sup>, 加藤 知<sup>a</sup>, 八田 一郎<sup>b</sup>  
Hiromitsu Nakazawa<sup>a</sup>, Satoru Kato<sup>a</sup>, Ichiro Hatta<sup>b</sup>

<sup>a</sup> 関西学院大学理工学部, <sup>b</sup> 名古屋産業科学研究所  
<sup>a</sup> School of Science & Technology Kwansai Gakuin University,  
<sup>b</sup> Nagoya Industrial Science Research Institute

生体最外層に位置する角層は、過剰な水分蒸散や異物の侵入を防ぐバリア機能の発現には必須の組織である。このバリア機能のメカニズムについては、まだまだ未解明なところが多く、それには放射光による分子レベルの構造特性解析が重要となる。本研究課題では、X線小角広角同時散乱法を用いることにより、温度変化の際に生じる角層の構造変化を詳細に解析し、角層の構造と機能、特に水分子の振る舞いに着目した関係解析実験を展開した。結果、角層構造やその温度変化は個体差が大きく、これらの解析には、個別試料における角層の構造と水の振る舞いの温度変化の差分を取って解析する必要があることが示唆された。

キーワード： 皮膚角層、細胞間脂質、小角広角同時測定

### 背景と研究目的：

皮膚の最外層に位置する厚さわずか10数 $\mu\text{m}$ 程度の角層は、体内からの過剰な水分の蒸散や、アレルゲンなどの異物が体内へ侵入することを防ぐ、いわゆる皮膚バリア機能を発揮する[1]。角層は主に、脱核し扁平状となり内部がケラチンファイバー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で構成され、これらが高密度化、高秩序化して存在することで、適度な水分蒸散性を保ちつつも、それを介する物質の透過を抑制し得る高いバリア性能が発揮されると考えられている[2]。近年、この秩序化された角層に対し、高輝度な放射光や電子線、中性子線を照射することで、角層内部の秩序構造由来の散乱パターンが得られることが見いだされ[3-5]、現在のところ角層やそれを構成する細胞間脂質の構造特性が徐々に明らかにされつつある。近年の研究によると、角層内の細胞間脂質は13 nmと6 nmの2種類の周期性を持つラメラ構造を形成し、またそのラメラ内で脂質分子が側方に六方晶と斜方晶を形成してパッキングしていることがわかっている。

このように生体組織としては特異な構造を持つ角層であるが、角層の構造と機能の関係性についてはまだよく知られていない。アトピー性皮膚炎や層魚鱗癬の一部の病変皮膚において、角層内の細胞間脂質の側方配列構造に乱れが生じていることが報告されているものの[3]、医薬品や化粧品等の経皮吸収やその他バリア機能を考える際に重要となる、角層のどの構造体がどの局面でどれくらい寄与しているかという基本情報が、まだまだ不足しているように思われる。そこで我々は、SPring-8の高輝度な放射光を用いて様々な環境下における角層の構造変化を解析し、同時にバリア性を観察することで、角層の構造と機能の関係性を解明することを検討している。今回は角層のバリア性、特に水分子の動きに着目し、角層に温度変化を加えた際に生じる変化を捉えることで、角層の構造と機能の関係性を明らかにすることを試みた。

## 実験：

試料には、美容外科手術において切除された皮膚片より剥離抽出されたヒト胸部由来皮膚角層 (Biopredic、フランス) を用いた。角層の自重量に対し 25wt% の水分量に調整したシート状の皮膚角層を、特製の試料セル内に固定し、そこに外部から水を作用させ、角層の温度を 20°C から 70°C に変化させて構造の連続的な変化を観察した。この過程においては、温度上昇と水の浸透が並行して進んでいると推測される。ヒトの皮膚角層に X 線 (放射光) 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構造由来の散乱ピーク ( $s \approx 0.15 \text{ nm}^{-1}$ ,  $s = 2\sin\theta/\lambda$ ,  $\lambda$  は X 線の波長、 $2\theta$  は散乱角) が、中角領域には同じく角層内に存在する角質細胞の主要成分であるケラチンファイバー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 (ゲル相) 由来の散乱ピーク ( $s \sim 2.4 \text{ nm}^{-1}$ ) 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 BL40B2 を選択し、X 線の波長  $\lambda$  は 0.0775 nm (16 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、検出器にはイメージングプレート (RAXIS-VII、RIGAKU) を用いて実験を行った。1 プロファイルあたりの露光時間を 30 s に設定し、また温度操作には、ペルチェ温度制御装置 (TDC-1010A、Cell 社製) を用いた。ビーム径は、試料部においておおよそ  $100 \mu\text{m} \times 200 \mu\text{m}$  になるように調整して実験を行った。

## 結果および考察：

角層を温度変化させて連続的に散乱プロファイルを取得したところ、細胞間脂質の側方配列構造の相転移に伴う散乱ピークの温度変化が検出された (図 1a)。この変化の転移点は、試料ごとに多少異なっており、個人差や部位差等によるばらつきがあったが、変化の振る舞いはおおよそ再現されることが分かった。また同時に細胞間脂質のラメラ積層方向の温度変化も観測された (図 1b)。これら角層の温度構造特性と水分子の温度移動特性について、その関連性を今後詳細に解析する予定である。

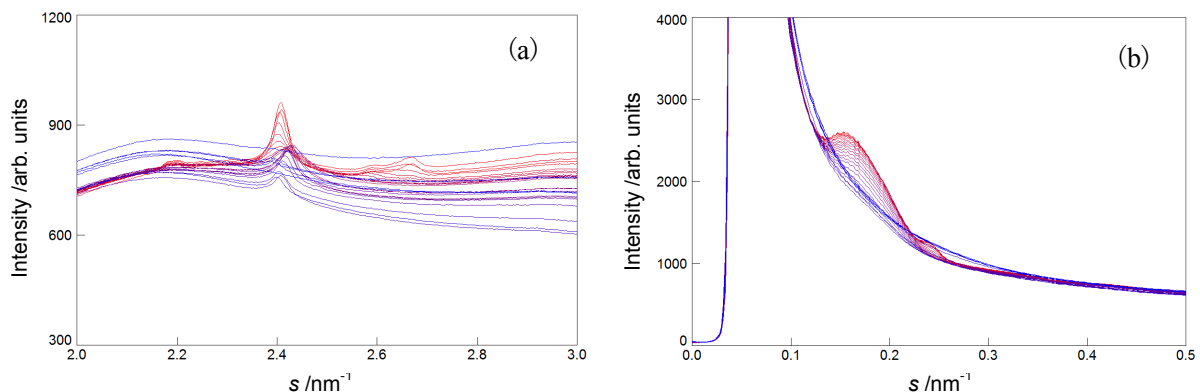


図 1. 水を付加した角層の X 線温度変化広角 (a) および小角 (b) 散乱一次元化プロファイル  
温度の上昇に伴う X 線散乱一次元化プロファイルの時間変化の様子を、色変化 (赤→青)  
で示した。縦軸は散乱強度 (arb. units)、横軸は  $s$  値 ( $\text{nm}^{-1}$ ) で表示されている。

## 参考文献：

- [1] P. M. Elias, *J. Invest. Dermatol.*, **80**, 44 (1983).
- [2] P. W. Wertz, B. van den Bergh, *Chem. Phys. Lipids*, **91**, 85 (1998).
- [3] G. S. K. Pilgram, et al., *J. Invest. Dermatol.*, **117**, 710 (2001).
- [4] I. Hatta, et al., *Chem. Phys. Lipids*, **163**, 381 (2010).
- [5] H. Nakazawa, et al., *Chem. Phys. Lipids*, **165**, 238 (2012).