

スキンケア化粧料用素材の適用による
ヒト角層細胞間脂質微細構造の変化の解析
**Evaluation of Nano-structural Changes in Intercellular Lipids in Stratum
Corneum Affected by Application of Skincare Cosmetic Materials**

大成 宏樹^a, 関谷 匡俊^a, 小幡 誉子^b
Hiroki Onari^a, Masatoshi Sekiya^a, Yasuko Obata^b

^a株式会社コーセー, ^b星薬科大学
^aKOSÉ Corporation, ^bHoshi University

皮膚角層細胞間脂質は生体からの水分蒸散を抑える上で重要なバリアである。この細胞間脂質の側方配列充填構造は、温度や化合物の適用により変化が生じる。温度によって生じる変化を理解し、バリア能を高める変化を化粧料の適用によって再現できれば、細胞間脂質バリアを自由に制御できると考えられる。そこで、ヒト角層を用いて、温度変化の際に生じる構造変化を、放射光 X 線散乱法を用いて小角・広角同時測定によりを解析した。さらに、スキンケア化粧料用素材であるアミノ酸の細胞間脂質の充填構造への影響を検討した。その結果、低温域の降温過程では構造は大きく変化しないことが示唆された。また、水と比較して N-アセチル-L-グルタミン水溶液はより長時間細胞間脂質の充填構造を整える可能性が示唆された。

キーワード： 皮膚角層、細胞間脂質、ラメラ構造、バリア能、小角・広角同時測定

背景と研究目的：

皮膚角層細胞間脂質は、セラミド、コレステロール、脂肪酸からなるラメラ構造を形成することによりバリア能を発揮している。このラメラ構造には側方配列の充填構造として斜方晶、六方晶を形成していることが知られており、充填構造を示さない液晶相の存在も知られている。この細胞間脂質の側方配列の充填構造が六方晶、液晶相優位になると外因性物質の侵入に対するバリア能が低下することが知られており、経皮水分蒸散量 (TEWL) も上昇することが報告されている。したがって、六方晶や液晶相を、よりバリア能の高い斜方晶に構造化することができれば、水分蒸散の小さい、より高い水分保持性を有した肌に導くことができると考えられる。これまでに、生体温度付近での温度変化に伴う細胞間脂質の構造変化解析は数多くなされており、35 °C から 20 °C の降温過程においては、斜方晶のピーク強度が増加することが報告されている[1]。一方、生体温度以下である低温にかけての温度変化に伴う構造変化解析の研究は行われていない。そこで我々は本実験にて、ヒト皮膚角層を温度走査により 5 °C まで冷却することにより、構造化する細胞間脂質に対する液晶相の寄与に関する検討を行った。また、ヒト皮膚角層にスキンケア化粧料素材として用いられているアミノ酸である N-アセチル-L-グルタミン溶液を適用し、液晶相が斜方晶、六方晶に構造変化する様子を観察した。

実験：

角層と処理溶液：ヒト腹部由来の角層シート (Biopredic 社より購入) を試料とした。2.0×3.0 mm² に切り出した角層シートを 5 枚積層して温度制御セル内に固定した。処理溶液として、水および N-アセチル-L-グルタミン (NAG) 溶液 (2 wt%) を用いた。

溶液適用実験：乾燥積層角層シートの X 線散乱測定を行い、コントロールとした。続いて処理溶液 (水または N-アセチル-L-グルタミン溶液) をセル内に注入し、注入直後から約 1.5 時間後まで、時分割の小角・広角 X 線散乱測定を行った。

温度走査実験：乾燥積層角層シートを温度走査しながら、小角・広角 X 線散乱測定を行った。23 °C から 3 °C 毎に散乱測定を行いながら 5 °C まで冷却し、その後、54 °C まで 3 °C 毎に X 線散乱測定を行いながら昇温した。温度走査速度は 3 °C/min とした。

装置および測定条件：SPring-8 の BL19B2 において、X 線の波長は 0.050 nm (25 keV)、カメラ長

は 771 mm (ベヘン酸銀で較正) とした。検出器には PILATUS-2M を用い、露光時間は 120 秒として 2 次元散乱像を取得した。

結果および考察：

図 1.(a)に示すように、水の適用では、適用 30 分後に $q=15.1 \text{ nm}^{-1}$ 、 $q=16.7 \text{ nm}^{-1}$ の脂質充填構造のピーク強度が増加し、ピークの形状は鋭くなった。これは、角層の湿潤に対応した散乱プロファイルの変化であることが明らかになった。ピーク強度の増加やピーク形状が鋭くなることは、細胞間脂質の構造化を示しており、バリア能の増大に寄与すると考えられる。これに対して、乾燥 60 分後には、散乱ピークは再び小さくブロードになった。一方、図 1.(b)に示す NAG 溶液適用では、適用 30 分後に、 $q=15.1 \text{ nm}^{-1}$ 、 $q=16.7 \text{ nm}^{-1}$ の脂質充填構造のピーク強度が増加し、鋭くなる様子は、水の適用時と同様であった。しかしながら、乾燥 60 分後では、水の適用とは異なり散乱ピークの形状が維持された。この結果から、湿潤や乾燥過程あるいは化合物の適用により、細胞間脂質の構造が変化することが明らかになった。

また、散乱ピークの形状変化から、角層水分量が少ない時には細胞間脂質の構造は乱れているが、湿潤から乾燥過程の適度な水分量を維持している状態では、細胞間脂質の充填構造が整ってることが分かった。また、水適用角層は乾燥 60 分で水分蒸散が完了し、細胞間脂質の構造が乱れた状態に戻るが、NAG 溶液を適用した角層では、乾燥 60 分後も細胞間脂質の充填構造が整っていることが示された。今回実験に使用した乾燥角層は、角層水分量の低下が原因で生じる「ドライスキン」のモデルである。ドライスキンでは、充填構造が乱れバリア能が低下しているが、化粧品素材の適用により、細胞間脂質の充填構造が整った状態が、より長時間維持される可能性が示唆された。

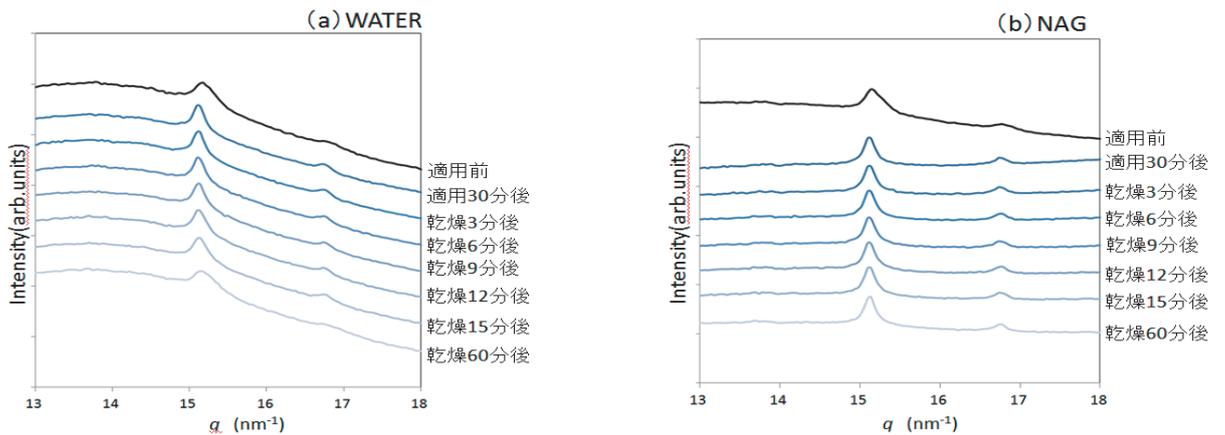


図 1. 水および NAG 適用によるヒト角層広角 X 線散乱プロファイルの経時変化

次に、温度走査による実験では、図 2 に示すように、細胞間脂質は 5 °C まで冷却しても、液晶相が斜方晶や六方晶に構造化するような急激な変化は認められなかった。一方、昇温過程では、従来報告されている六方晶の炭化水素鎖融解による相転移が 40 °C 付近から確認された[2]。角層は、水分量に依存して充填構造に変化が起きることが確認されており、乾燥した角層では斜方晶由来のピークが観察しにくかったことから、水分量を調整した角層試料を使用することにより、降温過程における充填構造を詳細に検討できると考えられる。

参考文献：

- [1] T.Imai., Doctor's Thesis, Kwansai Gakuin University. (2014).
- [2] I.Hatta et al., *Biochim. Biophys. Acta.*, **1758**, 1830–1836 (2006).

図 2. 温度走査によるヒト角層広角 X 線散乱プロファイルの変化

