

新規皮膚保護機能を有するストーマ装具開発を目指した粘着ゲル中におけるセラミド分子移動の赤外顕微分光法による研究  
**Infrared Micro-spectroscopic Imaging Study of the Movement of Ceramide Molecules in Gel Matrix, Aiming at the Development of Ostomy Appliance with a Novel Skin Protection Function**

高橋 浩<sup>a</sup>, 渡邊 亮太<sup>b</sup>, 西村謙一<sup>b</sup>  
Hiroshi Takahashi<sup>a</sup>, Ryota Watanabe<sup>b</sup>, Kenichi Nishimura<sup>b</sup>

<sup>a</sup>群馬大学, <sup>b</sup>(株)アルケア  
<sup>a</sup>Gunma University, <sup>b</sup>ALCARE Co., Ltd.

人工肛門（ストーマ）交換度に装具接着面の皮膚へ直接的な接着・剥離を繰り返し行わなくてはならず、ストーマ利用者の多くは、それが原因となる皮膚の炎症に悩まされている。この解決策の一つとして接着面のゲル中に皮膚保護作用をもつセラミドを添加することを提案してきている。ゲル中からセラミドが皮膚に移動するかを検討する目的で、接着面のゲル中におけるセラミド分子の移動を赤外顕微分光法で調べることを試みた。前回の実験では、切片試料の厚さの不均一からセラミドのアミドピークは観測できたが、定量的な解析は不可能であった。今回、試料作製法を改良して、定量的解析が可能なデータを得ることが出来るようになった。

**キーワード：** ゲル、セラミド、ストーマ（人工肛門）装具、皮膚保護、赤外顕微分光

**背景と研究目的：**

最も普及している人工臓器は人工肛門（ストーマ）で、日本でも 20 万人程度の利用者がいる。それを取り付けるためのストーマ装具の接着面は、皮膚に直接接し、かつ、交換のために着脱を繰り返す必要がある。その刺激により、皮膚が炎症を起こすことがストーマ利用者にとっては切実な問題である。我々は、この問題に、ストーマ装具の接着剤ゲルにセラミドを添加することで接着面自体に皮膚保護機能を持たせられないか検討してきている。セラミドは皮膚のバリア機能の要と言われ[1]、セラミドの減少は肌荒れを起こす。アルケアが行った臨床試験では、セラミドの有無によって経表皮水分蒸発量の抑制に優位な差が出ている。このことより配合したセラミドが皮膚へ移行したと考えているが、現時点では、それを実証する証拠はない。

我々は、ストーマ装具接着面であるゲル・シートをその面の法線方向に切り出し、そのゲル切片に放射光源を利用した赤外（IR）顕微分光測定で局所的な IR スペクトル観察することで、局所的なセラミド量を評価し、移行過程を定量化しようと試みて研究をしてきている。2015 年 B 期（課題番号 2015BA1581）に行った実験では、ゲル中のセラミドからの amide I および amide II のシグナルを明確に捉えることは出来たが、ゲル試料切片の作製が上手く行かず、厚さが一定でない試料のみしか得られなかった。そのため、場所ごとにセラミド量の違いが、セラミドの移行によるものか、試料の厚さの違いなのか、判断できない結果となった[2]。そこで今回は、切片作製法を改良して実験を行った。

**実験：**

セラミドは、疎水鎖が全て飽和で疎水鎖 1 本あたり炭素数が 18 のものを使用した。ゲルには、光架橋型の分子量 20 万程度のアクリルゲルを用いた。試料の作製方法は、以下の通りである。ゲル単体、及びセラミドを配合したゲルを作製した。そのゲルを、培養皮膚（EpiSkin, ニコダームリサーチ社）に一定期間（10 分、1 日、3 日）貼付した後に、試料面の法線方向に厚み 40  $\mu\text{m}$  以下で切削した。その際、前回の経験を踏まえドライアイスを使い、マイクローム室内温度の設定を、 $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$  にして切削作業を行った。その結果、3 次元顕微鏡観察で、厚さ  $34\pm 5\text{ }\mu\text{m}$  程度と厚さの変動率が約 9%と見積もることができた切片試料が得られた。その後、支持体に貼り付けて観察試料とした。

放射光を用いた赤外（IR）顕微分光測定は、SPring-8 の赤外顕微分光ステーションビームラインのBL43IRでVertex 70分光光度計とHyperion 2000赤外顕微鏡を組み合わせたシステムを使って行った[3]。本実験では、開口  $10\ \mu\text{m} \times 10\ \mu\text{m}$ 、分解能  $4\ \text{cm}^{-1}$  で波数域は  $600\text{--}4000\ \text{cm}^{-1}$  を測定した。インターフェログラムは、128 回分の信号を平均し取得した。1 次元的なスキャンにおいては、 $8\ \mu\text{m}$  ごとにデータを取得していった。

### 結果および考察：

図 1 に示したものは、培養皮膚にセラミド含有ゲルを添付して 1 日経過したものから得られた IR スペクトルを、横軸に波数、縦軸に位置、そして、吸光度を色で 2 次元的に表示したものである。縦軸の数字の大きい方に行くと、培養皮膚であり、数字の小さい方がセラミドを含む接着面のゲル状樹脂である。全体的なスペクトルの変化から、赤い矢印で示した位置  $335\ \mu\text{m}$  付近が、ゲルと培養皮膚の境界であることが分かる。セラミドはアミド結合を持つため、タンパク質等で観察されるのと同じく  $1650\ \text{cm}^{-1}$  付近とにアミド I のピークと  $1540\ \text{cm}^{-1}$  付近とにアミド II のピークが吸収スペクトルに現れる。実際、図 1 ではわかりにくいですが、この二つのピークは確認できている。それらのピークを追っていくと図の下側より培養皮膚に近い方が、弱いことが定性的には見て取れる。ただし、3 次元顕微鏡の観察結果からは、ゲル切片は完全には平らではなく、10% 程度の厚さの揺らぎがある。そこで、厚さの不均一性による見かけのセラミド濃度の変化を補正する試みとして、セラミドを含まないゲルのみの IR スペクトルに適切な係数をかけ、それをセラミド含有ゲルのスペクトルから差し引くことを行った。係数は、セラミド由来のピークのみが残り、ゲルの部分は差し引きゼロとなるように調整することにした。結果、その係数の場所による変化率は、約 6% 程度であった。全く同じ位置で 3 次元顕微鏡観察と IR 測定ができていないので、そのことを考慮すると両者の厚さ均一さのそれぞれの見積もり約 9% と約 6% の値は良い一致を示していると言える。

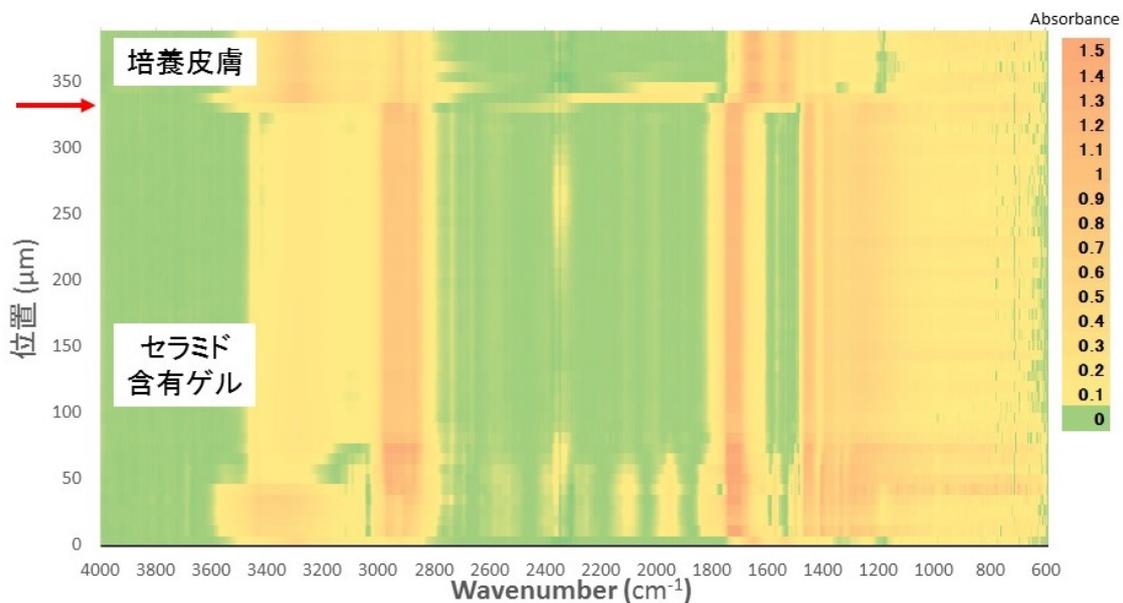


図 1 ゲル粘着シートを培養皮膚に 1 日添付した後に、切片試料を作製し、その切片試料の顕微法で得られた IR スペクトルの場所による変化を 2 次元表示したもの。詳しくは本文参照。

### 今後の課題：

今回の新しい試料作製法より、前回よりも平坦な切片試料が得られた。しかしながら、それでも 9% 程度の場所による厚みの変動は残っている。その変化を補正する方法として、セラミドを含まないサンプルからのスペクトルで規格化する解析を試みた。その解析法の有効性は示されたので、

添付時間の異なる他のサンプルについても同様な解析を行い、セラミドの移行を定量的に解析していく予定である。また、種類の異なるゲルについても実験することが、今後の課題である。

**参考文献：**

- [1] C. K. Angerhofer, D. Maes, P. U. Giacomoni, in “Skin Aging Handbook”, N. Dayan, ed., William Andrew Inc., New York, 2008, Chapter 10. P 205.
- [2] 高橋 浩 他、平成 28 年度 SPring-8 産業分野支援課題・一般課題（産業分野）実施報告書 (2015B), pp. 34, 2015BA1581.
- [3] Y. Ikemoto et al., Optics Communications **285**, 2212 (2012).