

## 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(6) Structural Changes of Human Stratum Corneum by Treating with the Moisturizer Aqueous Solutions in Wetting and Drying Processes (6)

羽深 朱里<sup>a</sup>, 山内 加奈<sup>a</sup>, 大畑 哲也<sup>a</sup>, 山下 耕司<sup>a</sup>, 山田 武<sup>a</sup>, 八田 一郎<sup>b</sup>  
Akari Habuka<sup>a</sup>, Kana Yamauchi<sup>a</sup>, Tetsuya Ohata<sup>a</sup>, Koji Yamashita<sup>a</sup>, Takeshi Yamada<sup>a</sup>,  
Ichiro Hatta<sup>b</sup>

<sup>a</sup> 阪本薬品工業(株), <sup>b</sup>(公財)名古屋産業科学研究所

<sup>a</sup>Sakamoto Yakuhin Kogyo Co., Ltd., <sup>b</sup>NISRI

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。本課題では、角層内の細胞間脂質が形成するラメラ構造について、多価アルコール水溶液に浸漬した角層試料を乾燥した際の経時的な変化について X 線回折法による計測を行った。周期約 6 nm の親水部に層状に水を含む、短周期ラメラ構造 (Short Lamellar Structure, SLS) の面間隔  $d$ (nm) は、水に浸漬した角層では乾燥により縮小したが、多価アルコール水溶液では変化しなかった。一方、水の層が存在しない長周期ラメラ構造 (Long Lamellar Structure, LLS) については、いずれの溶液においても乾燥による面間隔の変化は見られなかった。

**キーワード：** ヒト角層、細胞間脂質、多価アルコール、小角 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多価アルコールなどの保湿剤が配合される。これまでに、汎用の多価アルコールであるグリセリンやその二量体のジグリセリンを塗布した肌の水分量を静電容量法により評価し、これらの多価アルコールを組み合わせることで水分量が高い状態を長時間保持することを確認している[1]。角層内では、角層細胞とそれを取り巻く細胞間脂質が複雑な構造を形成しており、多価アルコールの種類によって角層内部の構造の異なる部位に作用したため、組み合わせによる保湿効果の向上が見られたと推測しているが、その作用機構は把握できていない。

多価アルコールの保湿に関する作用機構の解明には、作用後の乾燥時について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。そこで我々は、水や多価アルコール水溶液に浸漬した角層を試料とし、BL19B2にて検出器として PILATUS-2M を用い、乾燥時の構造の経時的な変化を短い時間間隔で X 線回折測定することで、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、多価アルコールの種類や組み合わせより、中角領域に検出される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鎖の充填構造の振舞いに差が見られることを明らかとした。一方で、小角領域に検出される細胞間脂質が形成するラメラ構造については、我々が求める時間間隔での評価は困難であった[2017A1559, 2017A1821]。ヒト細胞間脂質が形成するラメラ構造には、親水部に層状に水を含む SLS と水を含まない LLS の二種が存在するが[2]、多価アルコールの保湿に関する作用機構の解明には、特に SLS の変化を追跡し、水の挙動を把握することが重要と考えられる。

そこで本課題では、これまで使用してきた BL19B2 に比べ、SLS および LLS の回折像を高分解能で解析できる BL40B2 にて PILATUS-2M を用い、多価アルコール水溶液に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、ラメラ構造に対する多価アルコールの影響を評価することとした。

### 実験：

試料には、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 cm<sup>2</sup> に切り出したものを用いた。作用する多価アルコール水溶液には、10 wt% グリセリン水溶液、7 wt% グリセリン + 3 wt% ジグリセリン水溶液、7 wt% グリセリン + 3 wt% 1,3-BG 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’ [2]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。

小角・中角 X 線回折測定は、溶液を作用する前の角層と、溶液セルに多価アルコール水溶液を注入してから 30、60、120 分後に測定を行った。その後、溶液セル内の溶液を除去し、試料の乾燥を促進するため、溶液セルに窒素ガスを流量 0.3 L/min で通気し、角層試料を乾燥した。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、240 分後の構造を測定した。これらの小角・中角 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 (ベヘン酸銀で校正) 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。SLS と LLS の複合ピークの解析については、ベースラインを横軸と並行する直線線を取り、ガウス関数によりフィッティングすることで解析値を得た[3]。

### 結果および考察：

水に 2 時間浸漬した角層試料の小角領域のプロファイルを図 1 に示す。 $q = 1 \text{ nm}^{-1}$  付近に SLS の一次反射、 $q = 1.3 \text{ nm}^{-1}$  付近に検出される LLS の三次反射に由来するピークが検出され、いずれの多価アルコール水溶液を用いた場合にも類似したピーク形状であった。この複合ピークをガウス関数でフィッティングすることで分離し、ピーク位置  $q \text{ (nm}^{-1}\text{)}$  を求め、面間隔  $d \text{ (nm)}$  を算出した。乾燥時における角層の内部構造の変化について評価するため、経時的な変化を乾燥前の  $d$  値( $d_0$ ) で規格化し、溶液種による影響を比較した。図 2(a) に示した乾燥時の SLS の変化については、水に浸漬した角層では経時的に構造が収縮し、ラメラ層間の水の蒸散が示唆された。一方、多価アルコール水溶液に浸漬した角層については、いずれの多価アルコールにおいても構造の変化はほとんど見られなかった。さらに、乾燥 240 分後においても、多価アルコールの種類によらず  $d/d_0 = 0.98$  程度となり、水に比べ、構造の収縮が抑制された。多価アルコールによってラメラ層間の水分の蒸散が抑制された、あるいは多価アルコールがラメラ層間に留まることで収縮が抑制されたと考えられる。

また、図 2(b) には乾燥時の LLS の変化を示したが、いずれの溶液に浸漬した角層もほとんど変化しなかった。LLS はラメラ層間に親水部に水を含む層が存在しないため、乾燥時の  $d$  値の変化が少なかったと考えられる。

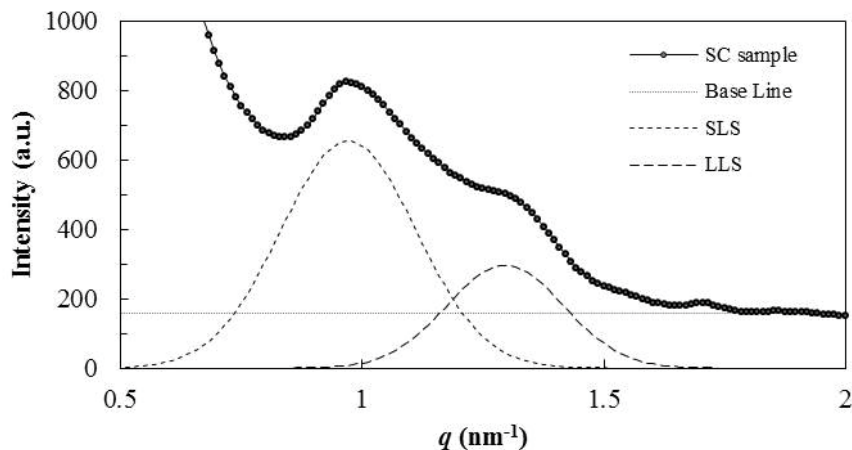


図 1. 水に浸漬した角層試料の小角領域のプロファイル

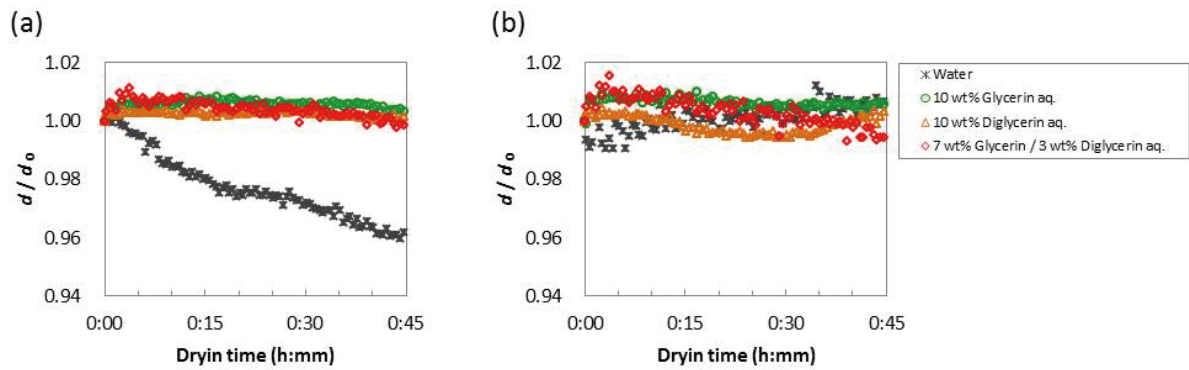


図 2. ラメラ構造の乾燥時における  $d$  値の変化 (乾燥前の  $d$  値で規格化)  
 (a) 短周期ラメラ構造、(b) 長周期ラメラ構造

#### 今後の課題：

これまでの課題で、多価アルコールにより細胞間脂質の充填構造に及ぼす影響が異なることを把握している。本検討では、細胞間脂質のラメラ構造への影響を評価し、多価アルコールと水との影響の違いが見られたが、多価アルコールの種類や組み合わせによる差は見られなかった。

#### 参考文献：

- [1] A. Tomiie et al., *J. Oleo Sci.*, **65**, 681 (2016).
- [2] I. Hatta et al., *Chem. Phys. Lipids*, **163**, 381 (2010).
- [3] K. Yanase et al., *SPring-8 利用研究成果集(2014A1551)*, **6**, 1, 96 (2018).