

- ① 実施課題番号 : 2006B0177
② 実施課題名 : 自己組織化された擬似 (皮膚) 細胞間脂質の開発
③ 実験責任者所属機関 : 日本メナード化粧品(株)
氏名 : 坂 貞徳
④ 使用ビームライン : BL40B2
⑤ 実験結果 :

【利用目的および利用成果の概要】

皮膚の重要な機能としてバリア機能があり、皮膚角層中の細胞間脂質がバリア機能で重要な役割を果たすと考えられている。X線回折において、細胞間脂質がラメラを形成して、長周期 (13nm) と短周期 (6nm) の2つのラメラ周期が測定され、この2種の周期構造がバリア機能と水分保持機能に関わっていると提案されている。一方、細胞間脂質は、セラミド、脂肪酸、及びコレステロールが主な構成成分として知られている。これまで、不飽和炭化水素鎖を含まない合成のセラミド1 (以下、CER1-ste) と合成セラミド3 (以下、CER3) からなる混合セラミド、脂肪酸及びコレステロールからなる長周期ラメラ構造を形成する擬似細胞間脂質について検討を進めてきた。先回の測定結果¹⁾では、すべての脂質が飽和の炭化水素鎖をもつ擬似細胞間脂質の安定相において長周期構造はみられなかった。しかし、脂質を加熱し融解させた後、室温付近まで冷却させた準安定相では、CER3のモル比70%付近で11.59~12.09nmの長周期のラメラ構造を見出した。その組成は、CER1-ste/CER3のモル比が2/8から4/6の範囲にみられ、特に3/7の組成で顕著にみられた。この時の混合合成セラミド/ステアリン酸/コレステロールの組成はヒト皮膚角層の割合から1/1/1で行った。しかしながら、得られた擬似細胞間脂質とヘアレスマウスの皮膚角層の細胞間脂質を比較するとCER1-ste、CER3及びステアリン酸の相分離がみられた。特に、セラミド1は長周期構造を得る主要な要素であるにもかかわらず、CER1-steの相分離によって別の構造も形成してしまうために、機能性があると示唆されている構造を効率良く形成することができない。そこで、今回はCER1-ste/CER3のモル比を3/7に固定し、合成セラミド/ステアリン酸/コレステロールの組成を変化させた時の長周期ラメラ構造の発現について検討し、自己組織化された擬似細胞間脂質含有する化粧品開発において構造的な基礎を築くことを目的とした。

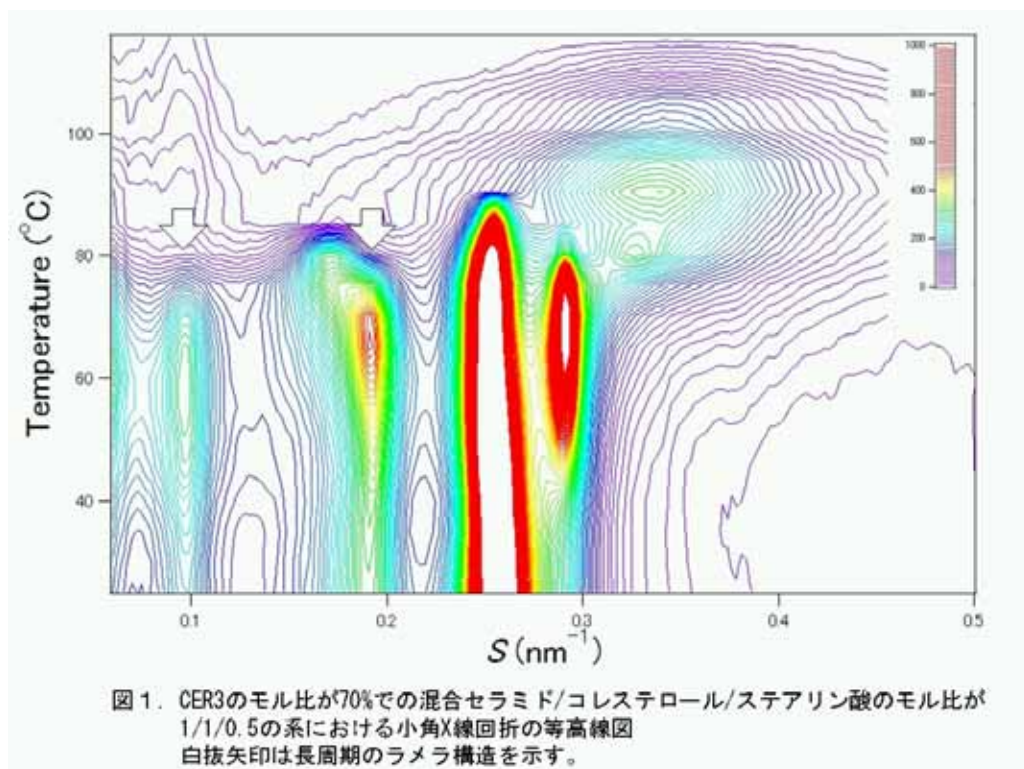
測定脂質サンプルは先回サンプルであるCER1-ste/CER3のモル比が3/7の混合セラミド/コレステロール/ステアリン酸のモル比を1/1/1の等モル比から等モルのコレステロール/ステアリン酸を減らしたものと及びステアリン酸のみを減らしたものをサンプルとし、X線装置を使い脂質の構造解析を行った。その結果、すべての脂質が飽和の炭化水素鎖をもつ擬似細胞間脂質では、脂質の安定相において長周期構造はみられなかった。しかし、脂質を加熱し融解させた後、室温付近まで冷却させた準安定相では、先回同様に10.16~12.16nmの長周期構造を得た。また、混合セラミド/コレステロール/ステアリン酸のモル比を1/1/0.5とした脂質は室温付近まで冷却させた準安定相においてCER1-steの相分離を抑えることができ、効率良く長周期構造を得ることができた。

【利用方法および利用の結果得られた主なデータ】

脂質系のラメラ構造と脂質の充填構造を同時に測定するために、小角・広角X線回折同時測定はビームライン BL40B2を使用した。示差走査熱量計による同時測定を行った。測定条件は、X線の波長は0.1nm、カメラ長は400mmで行った。カメラはRAXIS (リガク製)を用い、IPは300mm×300mmを使用した。温度走査には示差走査熱量計 (メトラー製)を使い、X線回折実験のインターバルが5minであることから、X線回折実験は1°C/minで5°C毎に測定を行った。脂質サンプルはキャピラリチューブ (φ 1mm; W. Muller 製)に詰め、チューブを密閉した。

図1は、CER3のモル比が70%での混合セラミド/コレステロール/ステアリン酸のモル比

を1/1/0.5の系に関する小角X線回折の回折強度に関する等高線図を示す。図1に示されるように、40℃以下の小角X線回折において、回折ピークが $S=0.097\text{nm}^{-1}$ (10.30nm)、 0.192nm^{-1} (5.21nm)、 0.258nm^{-1} (3.86nm)にみられた。 $S=0.097\text{nm}^{-1}$ (10.30nm)、 0.192nm^{-1} (5.21nm)は、自己組織化された混合セラミド/コレステロール/ステアリン酸の1次及び2次のラメラ構造に対応していると考えられる。また、 $S=0.258\text{nm}^{-1}$ (3.86nm)はCER3の周期と一致する。40℃から85℃の温度範囲では、 $S=0.294\text{nm}^{-1}$ (3.40nm)にピークが出現する。これは、コレステロールの周期と一致し、コレステロールが40℃付近で結晶化していることを示す。80℃を超えると長周期構造が消失し、長周期構造に変わり75～85℃の範囲に $S=0.170\text{nm}^{-1}$ (5.88nm)の別のピークが現れた。これは、長周期構造とは異なるCER1-steを含む混合脂質の周期構造を示す。85℃を超えるとコレステロールの回折ピークが消失し、コレステロールが溶けたことを示す。90℃を超える温度では、CER3の回折ピークが完全に消えるので、これらの結晶は完全に融ける。



【結論、考察、引用（参照）文献等】

先回の結果では、CER1-ste/CER3を含む混合セラミド/コレステロール/ステアリン酸のモル比の混合脂質において11.59～12.17nmの長周期構造があることを見出した¹⁾。しかし、CER1-ste、CER3及びステアリン酸それぞれの結晶ピークがみられた。今回の測定結果から、ステアリン酸のみのモル比を下げると室温付近でのステアリン酸およびCER1-steの相分離を抑えることができ、効率良く長周期構造を得ることができた。以上の結果をもとに、擬似細胞間脂質を利用したアトピー皮膚炎の改善薬あるいは皮膚バリア機能を回復させる化粧品の開発に応用できる。

- 1) 坂貞徳, 平成17年度先端大型研究施設戦略活用プログラム成果報告書, 221-223: 自己組織化された擬似(皮膚)細胞間脂質の開発