

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(4) Structural Changes of Human Stratum Corneum by Treating with the Moisturizer Aqueous Solutions in Wetting and Drying Processes (4)

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

^a 阪本薬品工業(株), ^b (公財)名古屋産業科学研究所

^a Sakamoto Yakuhin Kogyo Co., Ltd., ^b NISRI

化粧品などの皮膚外用剤には、保湿剤としてグリセリンを始めとする種々の多価アルコールが使用されており、その種類や組み合わせによって保湿効果が異なることが知られている。我々は、多価アルコールのヒト皮膚角層に対する作用機構を解明するため、水分量 0 wt%の角層に多価アルコール水溶液を作用した試料の乾燥時における構造変化について、X 線回折測定による評価を進めてきた。その結果、多価アルコールの種類や組み合わせによって経時的な構造変化が異なることが明らかとなった。一方で、保湿に関する多価アルコールの作用機構の解明には、測定時の構造変化とあわせて水分量の推移を把握することが重要と考えられた。そのため、正常な皮膚表面の水分量である 25 wt%に調製した角層試料のプロファイルを水分量の指標とし、角層の乾燥時における構造と水分量との関係について評価した。しかし、水分量を調製した角層のプロファイル形状は調製ごとに異なっており、水分量の調製から測定までの間に水分が減少していたと考えられた。また、それらの角層に溶液を作用し、経時的な構造変化を測定したが、多価アルコールによる影響や構造変化と水分量との関係性を評価することはできなかった。

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：

化粧品などの皮膚外用剤には、保湿剤として多価アルコールが使用されている。汎用の多価アルコールとして、グリセリンやその二量体であるジグリセリン、1,3-ブチレングリコールなどが挙げられる。これらの多価アルコールは種類によって保湿効果が異なり、組み合わせることで保湿力が向上することが知られている [1]。我々は、多価アルコールの角層に対する作用機構を解明するため、多価アルコール水溶液を作用した角層の乾燥時における微細な構造変化を X 線回折により測定し、評価してきた [2, 3]。これまでの検討で、水分量 0 wt%に調製した角層試料に対し、多価アルコール水溶液を作用した場合、乾燥時の経時的な構造変化は多価アルコールの種類や組み合わせによって異なることを把握している。角層構造はその水分量によって構造が変化することが知られており、測定時の水分量の変化が乾燥時の経時的な構造変化に影響していると考えられた。そこで本検討では、水分量 25 wt%に調製した角層試料を用い、多価アルコール水溶液を作用する前のプロファイル形状を指標とし、作用後の経時的な構造変化と水分量との関係について評価した。

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 25 wt%に調製し、1 cm²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’ [4]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・広角 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 分後までの角層が湿潤する過程における角層構造の経時的な変化を 30 秒間隔で、さらに 60、120 分後の構造について実施した。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・広角 X 線回折測定は、SPring-8 のビームライン BL19B2 において実施し、X 線のエネルギーは 18 keV (波長 0.069 nm)、カメラ長は 770 mm (ペヘン酸銀で校正) とした。検出器には PILATUS-2M を使い、露光時間を 20 秒とした。

結果および考察：

多価アルコール水溶液を作用前の水分量 25 wt%の角層試料のプロファイルは、散乱ベクトル (q) 6 nm^{-1} 付近に角層細胞内のソフトケラチン構造に由来するブロードなピークが検出され、広角領域の $q = 15.3, 16.8 \text{ nm}^{-1}$ 付近には、細胞間脂質の炭化水素鎖の充填構造である六方晶 (0.42 nm) と直方晶 (0.37, 0.42 nm) に由来するピークがそれぞれ検出された [4, 5]。

水分を含む角層は、 $q = 20 \text{ nm}^{-1}$ 付近の水に由来するピークが現れることにより広角領域の散乱強度が増加し、プロファイルの形状が変化することが知られている [6]。本検討に用いた水分量 25 wt%の角層試料 8 点のプロファイルのほとんどは、広角領域の散乱強度が増大せず、水分量 0 wt%の角層試料と類似した形状であった (図 1 (a))。

次に $q = 3 - 10 \text{ nm}^{-1}$ の領域のプロファイルを図 1 (b)に示す。この領域には、ソフトケラチン構造に由来するブロードなピークが検出され、水分量が多い角層ではピーク位置が小角側へシフトし、ピークが不明瞭になることが知られている [6]。図 1 (b)では、広角領域のプロファイルと同様に、一部のピークは小角側へのシフトが確認されたが、ほとんどは水分量 0 wt%と類似したピークを示した。

以上より、測定に用いた角層試料は水分量を 25 wt%に調製したものの、測定時の試料間で水分量は異なり、その大半は測定時には水分量が低下していると考えられた。そのため、これらのプロファイルを水分量の指標として用いることは難しいと考えられた。また、角層構造の経時的な変化については、同一の溶液を作用したものと士であっても異なった挙動を示しており、多価アルコールによる影響を評価することは困難と判断した。

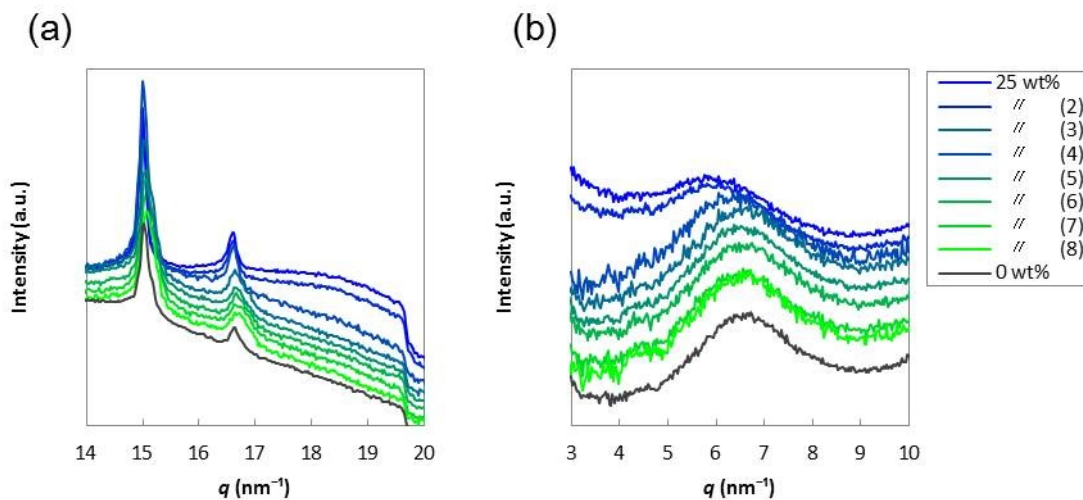


図 1. 水分量 25 wt%に調製した角層試料のプロファイル (縦軸をずらして表示)
(a) $q = 14 - 20 \text{ nm}^{-1}$ 、(b) $q = 3 - 10 \text{ nm}^{-1}$

今後の課題：

今回の実験では、角層試料の水分量を調製することが難しく、そのプロファイルを水分量の指標とすることは困難であった為、多価アルコール水溶液による角層構造への影響と水分量との関係の評価には至らなかった。測定時に水分量が減少した要因として、試料調製から測定までの間に角層を保管した容器内で、水分が蒸発した可能性が考えられる。また、試料を溶液セルへ充填する際の作業環境の湿度の低さも原因の一つと考えられる。これらを踏まえ、次回の実験では角層試料の保管条件や、測定前の溶液セルを高湿度下に保管する等の対策を行い、多価アルコール水溶液による構造変化と水分量との関係を明らかにしたいと考える。

参考文献：

- [1] A. Tomiie et al., *J. Oleo Sci.*, **65**, 681 (2016).
- [2] 山田武 他、利用課題実験報告書(2017A1559)
- [3] 山田武 他、利用課題実験報告書(2017B1607)
- [4] I. Hatta et al., *Chem. Phys. Lipids* **163**, 381 (2010).
- [5] Bouwstra, J.A. et al., *Intern. J. Pharm.*, **84**, 205–216, (1992).
- [6] 國澤直美 他、SPring-8 重点利用課題成果報告書(2008B1945).