

# 紫外線を照射した皮膚角層細胞間脂質の熱変化における組織構造解析

## Thermal analysis on intercellular lipid structure for stratum corneum with UV irradiation

吉田 友和, 片山 靖, 大窪 幸治, 内山 雅普  
Tomokazu Yoshida, Yasushi Katayama, Kouji Ookubo, Masayuki Uchiyama

花王株式会社 ケアビューティ研究所  
Care Beauty Lab., Kao Corporation

皮膚最外にある角層は、外界から皮膚内への異物侵入、及び皮膚内から外界への水分蒸散抑制、また外観の光学的制御や肌内部の恒常性維持など重要な機能を有する生体膜として様々な役割を担っている。今回、細胞間脂質における構造と機能との関わりについて、日常生活における外的刺激のひとつであり、皮膚老化の原因とされる紫外線が及ぼす細胞間脂質組織構造の質的变化を明らかにするため、加熱した際の挙動の解析を行った。

キーワード： 皮膚、老化、角層、細胞間脂質、組織構造、側方充填、紫外線、熱分析、相挙動

### 【背景と研究目的】

生体内と外環境との界面を形成する角層は、外部からの物理的・化学的刺激に対するバリアや皮膚の水分保持といった生体機能を担っている重要な組織である。これら機能発現に関わるメカニズムについての本質を理解することは、エビデンスに基づいた機能性化粧品を開発するうえで欠くことのできないポイントの一つである。

なかでも角層細胞間に存在する脂質類がバリアや保湿といった生体機能の発現に関わっており、細胞間脂質の組織構造(ラメラ周期構造や炭素鎖の側方充填構造)と皮膚バリア能とに関する研究が盛んに行われている。これまでに活性剤や有機溶剤などでバリア破壊を誘導した角層を用いた細胞間脂質組織構造と皮膚バリア能とに関する研究が多数報告されている。例えば、バリア病と呼ばれる魚鱗癬患者において、ラメラ周期長が短いという報告<sup>1)</sup>や側方充填がゆるんでいる(斜方晶が減少・六方晶が増加)という報告<sup>2)</sup>がある。また、活性剤(ドデシル硫酸ナトリウム: SDS)で意図的に生じさせたモデル荒れ肌において、経皮水分蒸散量(TEWL)が上昇し、細胞間脂質における炭素鎖の側方充填構造が乱れることが報告されている<sup>3)</sup>。

しかしながら、これまで皮膚老化による細胞間脂質組織構造への影響と皮膚バリア能との関連について報告された例は少ない<sup>4)</sup>。皮膚老化は、加齢による機能低下を因とする自然老化と太陽紫外線を因とする光老化が知られている。皮膚最外層に位置する角層は、外界からの影響を直接受けるため、光老化の寄与は大きいと考えられる。そこで我々は、まず初めに1)光老化による角層細胞間脂質への影響を明らかにする、次いで2)光老化に自然老化が加味された影響について明らかにするとの方針の下、検討を行う。

2008A 期(BL40B2)の課題では、光老化の原因となる紫外線を照射したマウスの角層に関して解析を行い、紫外線照射角層は未処理の角層に比べて、細胞間脂質における炭素鎖の側方充填構造にゆるみが生じる事、経皮水分蒸散量(TEWL)が有意に増加する事を明らかにし、紫外線の影響による細胞間脂質組織構造のゆるみと皮膚バリア能との関連を示した。2008B 期では、2008A 期において得られた知見をより詳細に解析すべく、紫外線を照射したマウスの角層について加熱した際の細胞間脂質組織構造の挙動を解析する。

### 【実験方法】

ヘアレスマウス(12週齢、HR-1、メス)の背部に75mJ/cm<sup>2</sup>の紫外線(UV-B)を照射した後、3日後に皮膚を採取し、トリプシン処理により角層をシート状にした。またコントロールとして未照射のマウスの角層も同様にシート状に処した。室温20℃、湿度30%の環境にて2日間調湿した後、キャピラリーに封入した。なお、実験条件は、X線波長:0.0827nm、カメラ長:526.28mm、X線

照射時間：45 秒であった。加熱条件は 25℃から 90℃、昇温速度は 1℃/分であった。

#### 【結果及び考察】

未処理マウス角層、紫外線照射マウス角層における広角領域( $Q=10\sim 20\text{nm}^{-1}$ )の温度変化プロファイルを Fig.1 と Fig.2 にそれぞれ示す。未処理、及び紫外線照射いずれの場合においても  $Q_H=14.8\text{nm}^{-1}$  (0.42nm、六方晶と斜方晶)、 $Q_O=16.5\text{nm}^{-1}$  (0.38nm、斜方晶)に回折ピークが得られた。紫外線を照射したマウスの角層は、未処理に比べて六方晶に対する斜方晶のピーク面積比が減少する傾向にあることから、炭素鎖の側方充填にゆるみが生じていることが確認された。一方、細胞間脂質組織構造の熱変化に関しては、約 42℃付近と約 75℃付近から相転移が観察された。約 42℃は斜方晶から六方晶、約 75℃は六方晶から液晶への相転移だと考えられた<sup>5)</sup>。斜方晶に由来する  $Q_O=16.5\text{nm}^{-1}$  の回折ピークにおいて、未処理角層は 50℃付近で回折ピークが消失したのに対し、紫外線照射角層では 40℃付近で消失した。本結果は、マウスに紫外線を照射したことによって、細胞間脂質の相転移温度が変化したことを示している。これら紫外線照射による細胞間脂質の質的な変化は、皮膚角層に対するバリア破壊や角化異常といった影響が関与しているものと考えられた。以上より、光老化の原因となる紫外線は細胞間脂質における炭素鎖の側方充填にゆるみを生じさせるだけでなく、細胞間脂質を形成する脂質類に質的な変化を生じさせる可能性が示唆された。

なお、光老化に自然老化が加味された際の角層細胞間脂質に及ぼす影響については、現在解析中である。

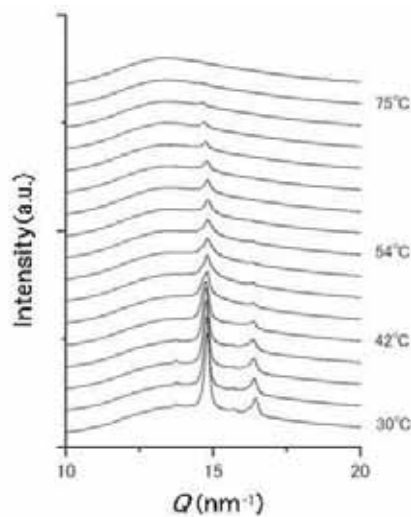


Fig. 1 未処理ヘアレスマウス角層における X線回折ピーク強度の温度変化

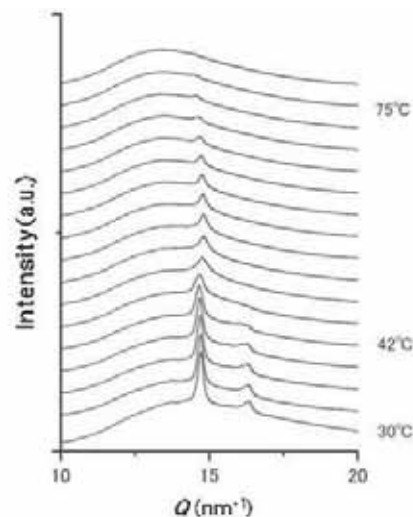


Fig. 2 紫外線照射ヘアレスマウス角層における X線回折ピーク強度の温度変化

#### 【今後の課題】

今回の実験では光老化の原因となる紫外線の単回照射による細胞間脂質の質的な変化を評価したが、日常生活では断続的に微弱な紫外線を浴びるといった環境にあり、皮膚に対して慢性的に紫外線を照射した場合などのような、より実環境に即した条件下における細胞間脂質組織構造の質的な変化を評価する必要があると考えられる。また、皮膚老化による細胞間脂質組織構造の影響を評価するには、光老化に加えて自然老化が及ぼす影響も同様に解析する必要がある。今後、光老化、自然老化による影響について詳細に解析し、皮膚老化と角層細胞間脂質の組織構造、及び皮膚生理機能との関連を明らかにしていく予定である。

#### 【参考文献】

- 1) A.P.M.Lavrijsen, et al., J.Invest.Dermatol., 105,619-624(1995).
- 2) G.S.K.Pilgram et al., J.Invest.Dermatol., 117,710-717(2001).
- 3) S.Ban et al., 第 42 回日本油化学会年会講演要旨集, 240(2003).
- 4) Ghadially R et al., J.Clin.Invest., 95, 2281-2290 (1995).
- 5) J.A.Bouwstra et al., Biochim.Biophys.Acta, 1212,183-192(1994).