

皮膚保護機能を備えたストーマ装具開発を目指したゲル中におけるセラミドの分布と移動の赤外顕微分光法による研究

Infrared Spectroscopic Imaging of the Distribution and Movement of Ceramide in Gel Matrix, Aiming at the Development of the Ostomy Appliances with a Skin Protection Function

高橋 浩^a, 渡邊 亮太^b, 神原 紀之^b
Hiroshi Takahashi^a, Ryota Watanabe^b, Noriyuki Kanbara^b

^a群馬大学, ^b(株)アルケア
^aGunma University, ^bALCARE Co., Ltd.

ストーマ装具の接着面のゲルにセラミドを添加することで、皮膚保護機能を付加することが実現できている。セラミドは皮膚角層においてバリア機能の要とされている。接着面ゲルに存在しているセラミドが皮膚に移行することで保護機能が発揮されることの実証をめざして、赤外顕微分光測定実験を行った。セラミドの検出は十分の感度で行えたが、ゲルを均一の厚さに切り出すことの困難さのために、場所ごとのセラミド濃度の見積り誤差は大きく、現段階では、ゲル内でのセラミドの移動を確認できなかった。しかしながら、切片試料の作製法が確立できれば、セラミドの移動を赤外顕微分光法で十分捉えることが可能であることが、今回の実験で示唆された。

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：

日本でも 20 万人程度いると推定されている人工肛門(ストーマ)装具は、着脱を繰り返すため、ストーマ装具の皮膚接着面が皮膚を刺激して、しばしば炎症を起こすことが問題となる。我々は、この問題に、ストーマ装具の接着面自体に皮膚保護機能をもつ物質を添加することで解決できないか検討してきている。具体的には、接着面のゲル・シート内に、皮膚の最外層である角質の主成分で、かつ、皮膚のバリア機能の担っていると考えられるセラミド分子を含ませることにした。臨床試験では、セラミド有無によって炎症の発生に優位な差がでた。これは配合したセラミドが皮膚へ移行したためと考えられる。

移行過程を定量化し、セラミド移行の機構を解明し、より効率的な製品開発ができるに、本研究では、放射光源を利用した赤外(IR)顕微分光測定により、局所的な IR スペクトルから局所的なセラミド量を評価し、その濃度をマッピングすることでストーマ装具の接着面のゲル内でのセラミドの移行を観察すること目的に実験を行った。

実験：

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、ヒト皮膚に一定期間(10分、1日、3日、1週間)貼付した後に、剥離した試料の縦方向断面を厚み 10 μm 以下で切削し、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で行った。BL43IRでは、ブルカー社の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により、数 μm オーダーの狭い領域からのIR吸収スペクトルを観察できるようになっている。本実験では、開口 10 μm \times 10 μm 、分解能 4 cm^{-1} で波数域は 600–4000 cm^{-1} を測定した。インターフェログラムは、128回のスキャンで得た信号を平均し取得した。

結果及び考察：

接着面の基剤であるゲル状樹脂と異なり、セラミドは窒素を含んでおり、窒素の部分はアミド結合を形成している。そのためセラミドを含む試料は、タンパク質等で観察されるのと同じく

1600–1650 cm^{-1} の範囲にアミド I のピークと 1540–1590 cm^{-1} の範囲にアミド II のピークが吸収スペクトルに現れる。この 2 つのピーク強度(積分強度)を追跡することで、ゲル中でのセラミドの移動を評価する計画であった。ゲル試料は、一定期間、実際にヒト皮膚に貼付した後に、剥がして面の法線方向に沿って厚み 10 μm の切片とした。図 1 にはヒト皮膚貼付 10 分後に、ゲル試料を剥がし測定した IR スペクトルである。赤い線で示したスペクトルは、セラミドを含まない接着剤としてのゲルだけの試料から得たものであり、青い線で示したスペクトルはセラミドを含むものから得たものである。この図から分かるように、セラミド由来のアミド I および II バンドが、セラミドを配合したゲル・シートから観察された。この各ピークの積分強度は、セラミド量に比例するから、積分強度を場所ごとに測定すれば、セラミドの分布が分かるはずである。

この様な測定を、皮膚添付時間を変えた複数の試料で行った。結果は、一定の傾向というものではなく、1 つの試料においてもセラミドの分布は滑らかでなく不規則な変化であった。この原因を調べるために、3 次元顕微鏡を用いて、切片試料の厚さ・形状を測定・観察することを行った。その結果、厚さは均一でなく形状も明らかに試料がよじれていることが分かった。先の IR 顕微測定の結果の不規則性は、セラミドの濃度が不規則に変化しているのではなく、試料の厚さが変化しているために起こった見かけ上のものの影響が大きく、真の変化ではないと解釈される。

今後の課題：

今回の測定より、アミドバンドに注目することで、セラミド含有ゲルにおいて、セラミドのみを観察・マッピングできることが確実に分かった。ただ、セラミド濃度分布を求めるためには、切片試料の厚さを一定にする必要があり、その条件を満たす試料を確実に作製することが、今後の課題である。

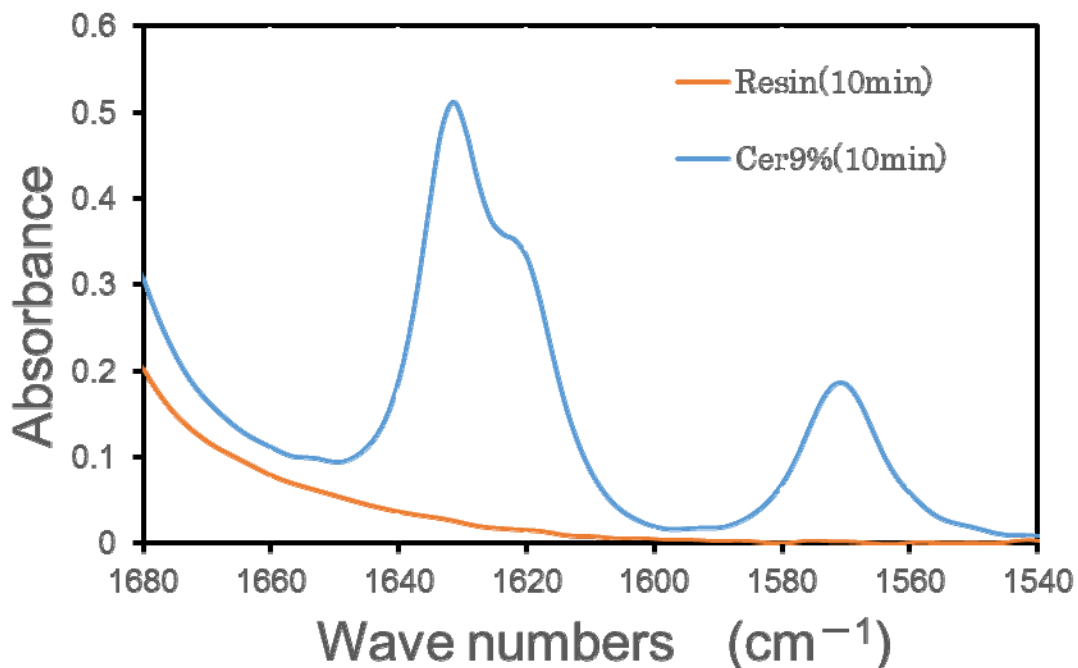


図 1. ゲル粘着シートのみと(赤)とセラミドを含むゲル粘着シート(青)の IR スペクトル。セラミドを含む試料ではアミド結合に由来するピークが明確に観察されている。両者とも皮膚貼付 10 分後のもの。