

課題番号：2006B0206 (※)

課題名：溶液環境制御セルを用いた皮膚角層の細胞間脂質の構造変化の研究

実験責任者：中沢 寛光 (関西学院大学)

共同実験者：八田 一郎 (JASRI/SPring-8)

太田 昇 (JASRI/SPring-8)

加藤 知 (関西学院大学)

使用ビームライン：BL40B2

報告内容：

【目的】

皮膚角層の最も重要な役割の一つとして、刺激性物質（アレルゲンなど）の体内への侵入や体内から過剰な水分が蒸散することを抑制する、いわゆる皮膚バリア機能が挙げられる。角層は主に、核を持たない扁平の角質細胞とその周りを取り囲むラメラ状の細胞間脂質（種々のセラミドや脂肪酸、コレステロールなど）の領域で構成されているが、近年この細胞間脂質のアシル鎖の側方配列構造がバリア機能と密接に関係していることが示された。具体的にはアトピーや魚鱗癬患者の皮膚炎症部、冬場の乾燥肌などでは、健常部位と比較してバリア能が高いとされるアシル鎖の最密充填構造である **Orthorhombic (Ort)** 構造が減少し、逆に **Ort** より密度の低い **Hexagonal (Hex)** 構造が増加していることが明らかになっている。現在、これらの研究が医薬品や化粧品の開発分野で注目され始めている。

X線構造解析により分子レベルでその機構を明らかにすることは重要な課題であるが、生体皮膚の構造解析を行う場合に避けて通れないのが個体差や部位差の問題である。従来の手法では複数の個体を同系列の実験に用いて比較する必要があったり、溶液の吸収過程でX線の照射部位が変化してしまったりして、そのことが解析をより複雑にしていた。さらに、構造の微細な変化を測定することは難しい。今回我々は、これらの問題を解決する一つの方法を開発し、種々の溶液で解析を行った。

【方法】

微量のマウスやラットの皮膚角層（1mg 程度）を固定しつつ、サンプルの外部溶液環境を変化させることができる“溶液セル”（八田一郎 特許申請中）を独自に開発し、さらに **SPring-8 (BL40B2)** の高輝度な放射光を用いることにより、様々な溶液に暴露した時の角層の細胞間脂質の挙動をリアルタイムで解析することを試みた。露光時間を 30 秒に設定し、溶液注入前に 1 ディフラクション、注入後は 5 分置きに 180 分後まで同一部位からディフラクションを取得し連続 **IP** データを得た。それぞれの時間における **IP** データのビーム中心座標はほとんど変化しないので、オリジナルの解析プログラムを用いて一括して一次元化処理した。溶液注入後の各一次元化データより溶液注入前のデータを引算して差分を表記する方法と、それぞれの一次元化プロファイルにモデル関数をフィッティングしてその変化を解析する方法によりデータ解析を行った。

【結果】

外部溶液環境に水やグリセロール水溶液を選択すると、一連の短周期ラメラ構造の膨潤現象や散乱バックグランドの変化が観測され、それらは角層の初期含有水分量に依存することが分かった。

【考察】

バックグランドの変化は主に水やグリセロール水溶液が角質細胞に浸透し、ケラチンと結合することで生じると考えられる。今回開発した溶液セルを用いることで、溶液暴露の前後で皮膚の同一領域に X 線を照射することが可能となり、また X 線回折プロファイルを溶液暴露の前後で引算して分析することで、溶液の作用により生じる微細な構造変化を捉えることができた。これらの結果は経皮吸収を理解する上で重要な知見を与えると思われるが、再現性の確認や注入溶液の濃度変化実験など更なる基礎データの蓄積が必要である。

以 上