

皮膚角層細胞間脂質がつくる ラメラ構造中の水層の解析

利用者 華房正芳¹、國沢直美¹、太田昇²、高橋浩³、小幡誉子⁴、八田一郎⁵
 所属 ¹(株)資生堂、²JASRI、³群馬大学、⁴星薬科大学、⁵福井工業大学

【目的】

角層細胞間脂質は、皮膚バリア機能に重要であり、薬剤の透過や水分保持の制御を行っている。哺乳動物の角層細胞間脂質のラメラ周期には13 nm（長周期ラメラ構造）と6 nm（短周期ラメラ構造）の2つがあり、短周期ラメラ構造は水分量の増加とともに周期が長くなることが報告されており、疎水性および親水性物質の角層内透過経路に関連していると考えられる。しかし、ヒトの角層においては、我々がこれまでに行ってきたX線回折では、種々の解析を行うための十分な回折が得られていない。そこで、中性子散乱で重水を用いてコントラストを強調し、生体の恒常性維持に欠かせない“水”とラメラ構造の関係の解明、具体的には、ラメラ構造での水分子の分布、存在位置を明らかにすることにより、皮膚バリア機能の分子メカニズムを探ることを目的とする。

【実験方法】

角層への水の適用：所定の重水比割合（重水 / 軽水の割合 = 1.0、0.8、0.6、0.4）に調整した水に既知質量の乾燥ヒト角層を浸漬し、2時間、37℃で静置してから20%水分量に調整した。また、所定の重水比割合に調整した大過剰の水を測定8時間前に加えて、水と角層が十分に存在する状況にし、中性子散乱測定を実施した。

中性子散乱測定：日本原子力研究開発機構SANS-Jにおいて中性子小角散乱測定を行った。測定条件はカメラ長 2.5 m、波長0.45 nm、カメラアングル4°で、およそ $q = 2 \text{ nm}^{-1}$ の広角までを計測した（ $q = (4 / \lambda) \sin(\theta / 2)$ 、 λ ：波長、 2θ ：散乱角）。試料温度は室温、露出時間2 hr / 1 sample。試料量約30 mgを角層細胞の方向がランダムになるように細かい切片にし、1 mm厚のシリコン板をスペーサーにして石英ガラスで挟み込んだ。

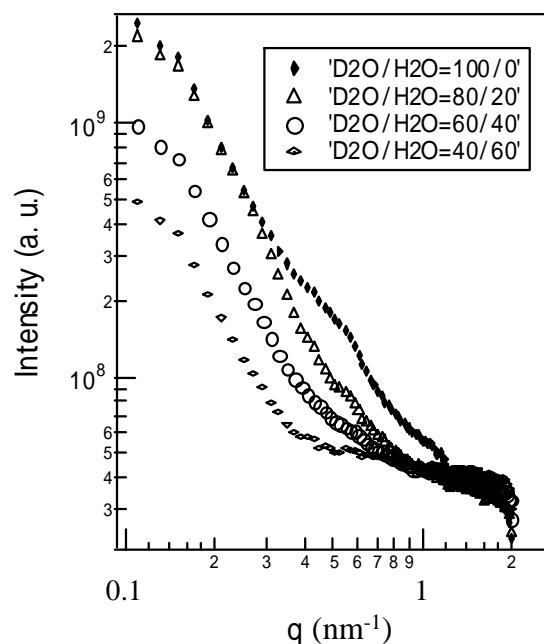


Fig.1 The diffraction curves of human stratum corneum at various D₂O/H₂O ratios. (Water exposure time was 8 hr.)

【結果と考察】

Fig.1に重水比割合を変えた水に8時間浸漬した角層の中性子散乱曲線を示す。重水比率の変化とともに、 $q = 0.5 \text{ nm}^{-1}$ の強度が変化した。すなわち13 nmの長周期ラメラ構造に水が含まれていることが示唆されるデータとなった。水分量20%の試料も散乱曲線の強度は低いがほぼ同じ結果であった（図省略）。この結果は、これまでのX線回折実験や中性子散乱実験の文献との結果とも異なる。

今回は、広角領域までの計測を試みてカメラアングルを変更したため、ビーム中心が検出器の中心から大幅に移動し、簡単な円環積分ができず、再解析をしている。また、結論を出すためには、1試料のみでなく、再測定や、実験条件を変えた再実験が必要であると思われる。しかし、本実験において、ヒト角層で中性子散乱実験を行い、非常に貴重な測定結果が得られた。

中性子散乱実験の実施にはJAEA小泉智主任研究員、増井友美研究員に多大なるご協力を頂きました。