

ヒト皮膚角層細胞間脂質の構造および熱特性の定量的解析 Determination of microstructure and thermotropic behavior of intercellular lipid lamellar structure in human stratum corneum

小幡 誉子^a、八田 一郎^b、太田 昇^b、八木 直人^b

Yasuko Obata^a, Ichiro Hatta^b, Noboru Ohta^b, Naoto Yagi^b

^a 星薬科大学、^b (財) 高輝度光科学研究センター

^a Hoshi University, ^b SPring-8/JASRI

アブストラクト

ヒト角層の細胞間脂質は約 13 nm の長周期ラメラおよび約 6 nm の短周期ラメラが、六方晶あるいは斜方晶に充填していることが明らかになった。また、温度走査を行いながら経時的に X 線回折プロファイルの変化を観察したところ、マウスやラット角層と同様に高温型六方晶の形成が認められた。さらに外用剤の成分として繁用される *l*-メントールを適用すると高温型六方晶の形成を妨げるという知見が得られ、このことから *l*-メントールは体温付近では斜方晶への影響が大きいと推察した。

Abstract

The intercellular lipids in human stratum corneum formed long and short lamellar structure whose repeat distance is 13 nm and 6 nm, respectively. Furthermore, those lamellar might be organized hexagonal and orthorhombic lattice packing. From the results of the time-resolved synchrotron WAXD, high-temperature hexagonal packing was observed at around 50 °C. It was suggested that human stratum corneum have almost similar lamellar structure to mice and rats stratum corneum. Moreover, the diffraction peak derived from the high-temperature hexagonal packing became weak when *l*-menthol was administered. Thus, it was suggested that *l*-menthol affected to orthorhombic packing at physical temperature.

【目的】皮膚は生体と外界の境界として重要な役割を持っており、とくに角層細胞間脂質がラメラ構造を形成していることで生体は異物侵入や脱水から保護されている。皮膚を投与部位とする経皮吸収型製剤は、注射にかわる新たな薬物投与方法として注目を集めているが、角層細胞間脂質の障壁能によって通常の状態では治療上必要量の薬物を皮膚から体内へと送達することは困難である。そこで角層細胞間脂質の構造を熱特性とともに詳細に調べ、これらの構造に直接働きかけ薬物の皮膚透過を向上させる製剤成分を探索することは重要である。このような手法によって、より効果

的な成分を組み込んだ製剤開発が可能になれば多くの薬物に応用でき、医療に貢献する経皮吸収型製剤の創製に向けた道筋をつくることができる。本研究では、角層細胞間脂質の微細構造を調べることにより、まず製剤開発の基盤情報を得ることを目的とした。

【実験方法】角層の剥離：ヒト組織からトリプシン処理により剥離した角層 (BIOPREDIC International, Rennes, France) を実験に供した。放射光 X 線回折実験：角層をガラスキャピラリーに充填し、示差走査熱量測定装置 (FP90, Mettler) の加熱ステージを用いて、

温度走査を行いながら小角・広角同時測定を行った。

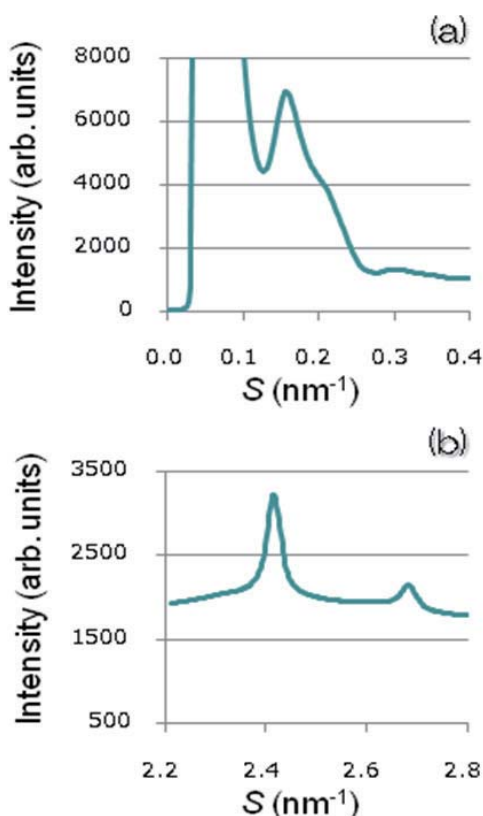


Fig.1 Small (a) and wide (b) angle X-ray diffraction profiles of intercellular lipids in human stratum corneum.

【結果・考察】

ヒト角層の放射光 X 線回折プロファイルを図.1 に示した。ラメラの周期構造が観察できる小角領域のプロファイルから、6nm の一次、13nm の 3 次、4 次の回折が認められた (Fig.1(a))。また、ラメラ構造の充填構造由来の回折があらわれる広角領域のプロファイルからは、六方晶および斜方晶由来の回折が認められた (Fig.1(b))。したがって、ヒト角層も、これまでに報告されているマウスやラット角層と同様の構造を有していることが明らかになった[1]。

また温度走査を行いながら経時的に X 線回

折プロファイルの変化を観察したところ、Fig.2 に示すようにヒト角層でも 39°C 付近の相転移が認められた。加えて相転移温度以上では、高温型六方晶が形成される様子が観察されている。

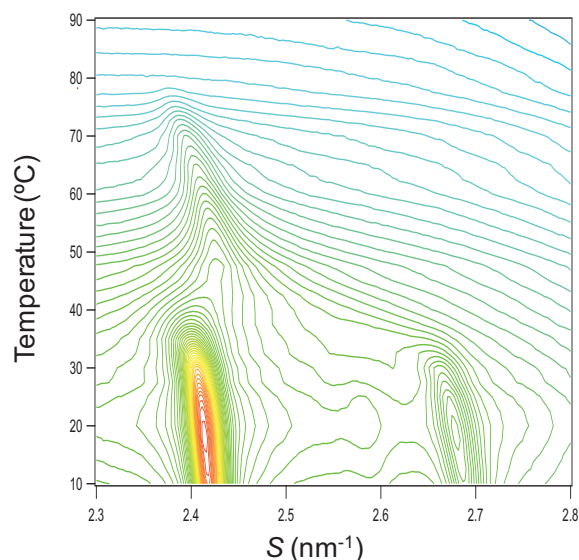


Fig.2 Contour map of wide angle X-ray diffraction profiles of intercellular lipids in human stratum corneum

さらに、皮膚表面温度といわれている約 32°C 以下の、いわゆる相転移以下の温度における六方晶および斜方晶の割合の推定を試みた。この温度領域は通常的生活条件の範囲であり、実際に 2 つの結晶形由来の回折が 2.4nm^{-1} に重畳していることから、この回折をガウス関数に近似して、それぞれの回折が 2 つのガウス関数の重ね合わせで表現できるものと仮定した。得られた 2 つの関数から 2.4nm^{-1} 付近の六方晶由来および斜方晶由来のピークの積分強度の比 ($R_{H/O}$) を求めた[2]。

その結果、測定開始温度である 10°C では六方晶が約 53.1%であったが、Fig.3 に示すように温度の上昇に伴って $R_{H/O}$ の値が大きくなる、すなわち六方晶の割合が増大した。こ

のことは、斜方晶が相転移温度に向かって減少していく状況とよく一致していることから、解析が妥当である可能性が示唆された。

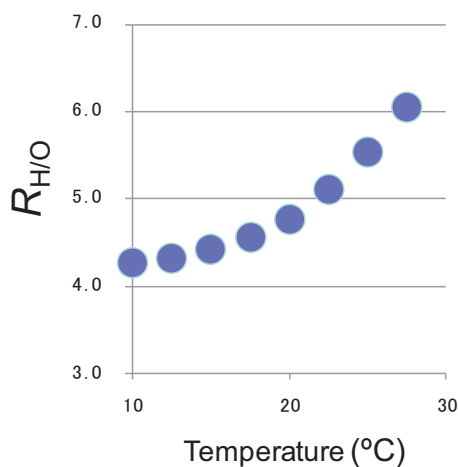


Fig.3 Change of proportion in lateral packing of lipids in untreated human stratum corneum as a function of temperature

次に、食品や外用剤に繁用される *l*-メントールで2時間前処理を行ったヒト角層で同様の実験を行った。 $R_{H/O}$ の値は無処置の角層に比較して小さくなり、斜方晶の割合が多くなった。これは、皮膚表面温度より低温ですでに六方晶が少なくなっていることを意味している。したがって、*l*-メントールの適用により六方晶が液晶へと変化する可能性が示唆された。さらに温度の上昇に伴う六方晶の増加率も小さいことから、皮膚表面温度付近においても相対的に六方晶が少なく、このことが、たとえば *l*-メントールの薬物吸収促進機構に関連するのではないかと考えられる。また、*l*-メントールで前処理を行った角層の温度走査実験の結果では、ヒト角層ではヘアレスラットの場合と異なり、高温型六方晶の形成が認められたものの、形成の割合は無処置に比較して小さかった。これらの結果から、*l*-メントールは六方晶形への影響が大きいといえ

るが、高温型六方晶は体温付近では斜方晶を形成していると考えられることから、*l*-メントールは六方晶に優先的に働きかける一方で、斜方晶への影響も同時に起こっている可能性を示すものと推察した。

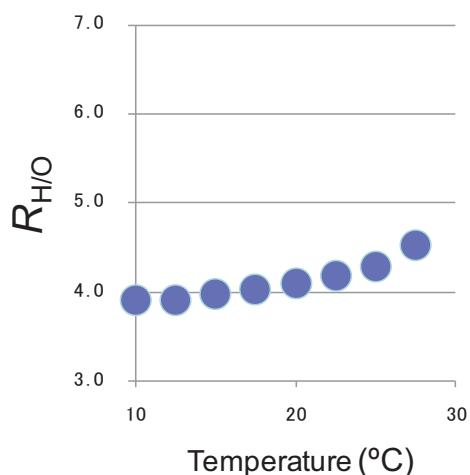


Fig.4 Change of proportion in lateral packing of lipids in human stratum corneum treated by *l*-menthol as a function of temperature

以上の結果を踏まえて、今後は実際製剤に配合されている成分をはじめ、あらたに製剤添加物として提案できる化合物の皮膚表面における作用を、角層細胞間脂質との分子レベルでの相互作用と捉えて解析することで、経皮吸収型製剤や化粧料の開発に役立てていきたいと考えている。

【参考文献】

- [1] I.Hatta, N.Ohta, K.Inoue, N.Yagi, *Biochim.Biophys.Acta*, **1758**, 1830-1836 (2006).
- [2] Y.Obata, I.Hatta, N.Ohta, N.Kunizawa, N.Yagi, K.Takayama, *J.Contr.Rel.*, **115**, 275-279 (2006).