

リン脂質ベシクルの皮膚角層への透過機構 Penetration mechanism of phospholipids vesicles into stratum corneum

八田一郎^a, 太田昇^a, 八木直人^a, 小幡蒼子^b

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

^a高輝度光科学研究センター, ^b星薬科大学

^aJASRI, ^bHoshi University,

多量の水に取り込んだ角層にリン脂質ベシクルを作用させたときの構造変化を SPring-8 の BL40B2 で小角広角 X 線回折時間変化測定により検討した。今回の実験条件では、ジラウロイルホスファチジルコリンを含むリン脂質ベシクルは角層中の細胞間脂質の構造に大きな影響を与えないようである。

Based upon the results obtained from small- and wide-angle diffraction measurements at BL40B2 of Spring-8 in fully hydrated stratum corneum, the structural changes of the intercellular lipids of stratum corneum were measured after applying vesicles of phospholipids with short chains. Within the present experimental conditions, we could not detect clear difference between stratum corneums with and without the vesicles.

キーワード：経皮吸収, リポソーム, ナノパーティクル, 炭化水素鎖

背景と研究目的： 皮膚角層は角層細胞と細胞間脂質から成っており、平坦な角層細胞が細胞間脂質に囲まれて、いわば角層細胞をレンガ、細胞間脂質をモルタルと見たとき、角層の構造はレンガモルタル・モデルで説明されている。皮膚のバリアー機能において角層中の細胞間脂質が取り分け重要な働きをしていると考えられている。したがって、皮膚角層に作用する化粧品や経皮吸収型薬剤の場合、このバリアーを越えて如何にこれらの化学物質を角層に透過あるいは作用するかが重要な課題となる。

このような観点から、ナノパーティクルの角層への作用が注目されており、それらの効果についての研究がいろいろと行われている。ここでは、ナノパーティクルの細胞間脂質中の透過あるいは作用機構を明らかにする上で重要であるミクロなレベルでの角層の構造変

化にしぼる。電子顕微鏡観察や蛍光顕微鏡観測が行われているが、いずれも細胞間脂質の構造に対する明解な結論が得られていない。特に分子レベルでの作用機構が分かっていない。そこでこの研究ではナノパーティクルが皮膚角層に作用したときの細胞間脂質の構造を検討することにした。

先ずナノパーティクルとしてリン脂質ベシクルあるいはリポソームを角層に作用したときに X 線回折実験を行った。リポソームによる作用の目的はリポソーム内に閉じ込めた化粧品、ビタミン C、ワクチンなどを皮膚表面から投与しようというものである。したがって、先ずリポソームそのものの皮膚角層中の振舞を明らかにすることが必要となる。

実験： 実験はわれわれが開発した溶液セルを用いて BL40B2 で行われた。小角広角同時 X 線回折測定を行い、いわゆるラメラ周期に

よる反射（ラメラ反射）と炭化水素鎖の充てん構造による反射を測定した。リポソームとしては、これまで電子顕微鏡観察が行われているジラウロイルホスファチジルコリン (DLPC)/ コレステロール/ ステアリン酸 (48:30:22) を用いた。¹⁾ 角層に作用するリポソームとして *elastic vesicle* が有力な候補になっている。すなわち、*liquid-state* にある脂質が向いているが、DLPC は 1 本の炭化水素鎖の炭素数が 12 と短く、主転移温度が -1°C であり、室温では *liquid-state* にある。これに細胞間脂質中の脂質成分とほぼ同等の割合でコレステロールと脂肪酸を入れたものから混合脂質は成っている。混合脂質リポソームは文献 1 の方法に従って作っており、そのサイズは 120~200 nm 程度である。ヘアレスマウス角層を PBS 中に 24 時間以上浸し、十分水和した状態の角層に 5%(w/v) の上の混合脂質リポソームを作用したときの細胞間脂質の構造変化を測定した。²⁾ この操作により細胞間脂質のラメラ構造間に *water pool* が現れる状態になっている。

X 線回折実験で用いた溶液セルによる方法は試料に X 線入射ビームを当てながら、試料の周りを溶液で満たし、経過時間による構造変化を測定するというものである。この方法の特徴は、角層に溶液を作用した場合、構造変化は微小であり、局所的であるが、その変化を高感度で観測できるという点にある。

結果、および、考察： Figure 1 の A は水和した角層にさらに水を加えたときの炭化水素鎖の充てん構造による回折像変化を表し、また B は同等に水和した角層に混合脂質分散液を加えたときの回折像変化を表す。A と B において、溶液を加える前の回折像を時間と

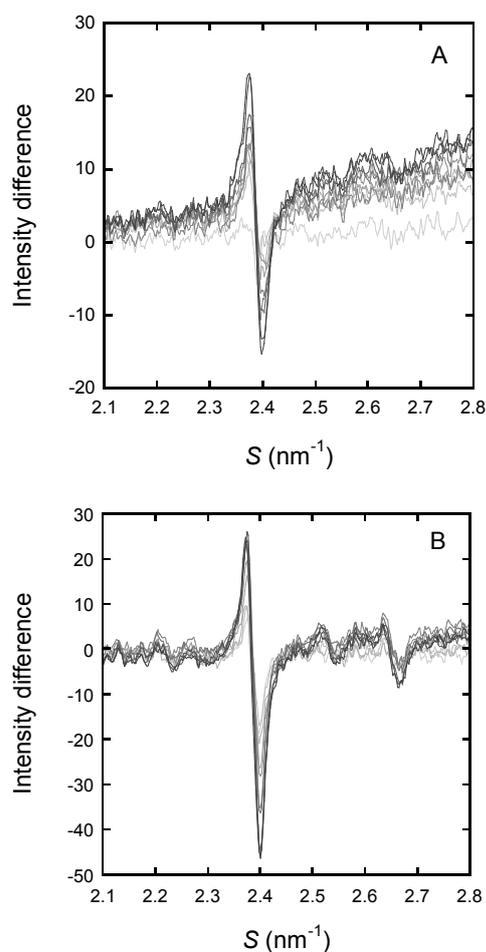


Fig. 1. Intensity difference of wide-angle X-ray diffraction profiles in (A) water and (B) lipid mixture.

もに変化する回折像を差し引いて求めた強度差を表しており、はじめはほぼ平坦に近く、薄い線で描かれている。また、時間が経つとともに濃い線で描かれている。このように強度差で表すことにより、A と B でほぼ同じように 0.42 nm と 0.37 nm のピークが時間とともに小角側に移動していることが分かる。したがって、現在の条件下ではリポソームが有る無しに関わらず、同様な変化が起きている。

参考文献

- 1) B. A. I. van den Bergh, I. Salomons-de Vries and J. A. Bouwstra, *Int. J. Pharm.* **167** (1998) 57.
- 2) J. A. Bouwstra, A. de Graaff, G. S. Gooris, J. Nijssse, J. W. Wiechers and A. C. Aelst, *J. Invest. Dermatol.* **120** (2003) 750.