

# X線回折による培養ヒト皮膚モデルの キャラクタリゼーション

(日本メナード化粧品(株)総研) ○坂 貞徳・中田 悟

皮膚は体内環境と体外環境を隔てる境界臓器であり、皮膚の第一義的な機能は体外からの様々な有害物の侵入を阻止し、体内の水分、有用物質が体外に漏出するのを防ぐバリア機能である。このバリア機能は、皮膚の最外層に位置する角層が主として担っており、角層はおよそ20 $\mu\text{m}$ の薄膜であるが、物理化学的に強靱・安定な膜であり、あたかもプラスチックフィルムのように生体を覆っている<sup>1)</sup>。角層の構造モデルは、角質細胞を煉瓦、細胞間脂質をモルタルにたとえ、「煉瓦とモルタル構造」といわれている。細胞間脂質は、主にセラミド、遊離脂肪酸、コレステロールからなり、角質細胞間で多層のラメラ構造を形成した脂質分子集合体である。細胞間脂質の構造は X 線回折実験や透過型電子顕微鏡で観察することができる。特に、放射光（シンクロトロン光）を光源とした X 線は一般の光源と比べて輝度が高く、指向性が良いため、細胞間脂質のような極微量な物質の観察、解析を行うことに有用である。図1に、ヒトとヘアレスマウス角層の X 線回折実験の結果を示す。

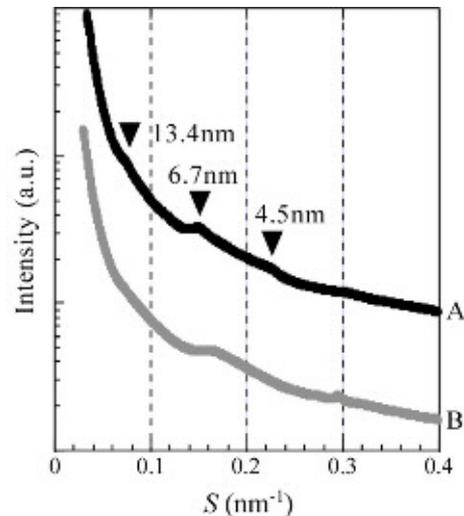


Fig.1 Small angle X-ray diffraction profiles of the stratum corneum of hairless mouse (A) and human skin (B).

図1のヘアレスマウスの結果をみると、ラメラ構造の1次反射、2次反射、3次反射が、それぞれ13.4nm、6.7nm および4.5nm に現れており、約13nmの周期をもつラメラ構造が存在する。

一方、化粧品を開発する上で、化粧品の安全性、皮膚の洗浄、整肌あるいは保護（保湿）といった皮膚に関する研究は必要不可欠であり、皮膚あるいは角層の物性について数多く研究されている。これらの研究はヒトだけでなく動物試験も数多く行われているが、2009年3月以降に動物実験を行った化粧品はE.U.圏で販売できなくなった。化粧品業界では、動物実験代替法がOECDにてガイドライン化され、培養ヒト皮膚モデル（以下、皮膚モデル）での評価が行われるようになった。しかし、皮膚モデルはヒト皮膚や動物皮膚に比べて物質の透過性が高いこと<sup>2)</sup>や細胞間脂質はヒトや動物に比べて不完全であることが指摘され、X線回折実験を行うと皮膚モデルはラメラ構造が不完全で脂質の結晶化がみられる。我々は皮膚モデルへ化粧品製剤を適用し、皮膚モデルの透過性評価を検討している。その中で、リポソームの適用によって皮膚モデルの透過性が動物実験と異なる結果を得た。そこで、リポソームを適用した皮膚モデルの角層についてX線回折実験を行った結果、皮膚モデルの細胞間脂質が自己組織化されて皮膚モデルの角層がヒト皮膚に近づくことを見出した<sup>3)</sup>。本発表では、リポソーム適用による皮膚モデルの改善とリン脂質のリポソーム以外の形態での皮膚モデルとの相互作用について紹介する。

1) 大塚藤男, “皮膚科学” (金芳堂, 2011), p9-12

2) Watanabe, T., et al., Altern. Animal Test. Experiment, 8, 1-14 (2001)

3) 小椋彩子, 中間満雄, 坂 貞徳, 中田悟, 第63回コロイドおよび界面化学討論会要旨集, p168

## Characterization of cultured human skin models by X-ray diffraction

S. BAN, (Nippon Menrad Cosmetic Co. LTD., s.ban@menard.co.jp)

The stratum corneum (SC) is the outermost layer of the epidermis, consisting of dead cells (corneocytes). The thickness of SC is approximately 20 $\mu\text{m}$  and the SC composed of corneocytes and an intercellular lipid matrix. The ordered structure of the intercellular lipid matrix plays an important role in skin barrier function. Recently, some structural analyses of intercellular lipids in mammalian SC by Synchrotron X-ray diffraction have shown more detailed lipid structure models. In the SC, consisting of lamellar structures with repeat distances of about 13 nm, respectively, has been observed by SAXD. On the other hand, by using the cultured human skin model (skin model), we have evaluated the permeability of the cosmetic formulations. It has resulted in permeability of the skin model is different from the animal studies by applying liposomes. As a result of the SAXD experiments on SC of the skin model is applied to liposomes, it was found that the skin model can be improved to be more similar to human skin by liposomes.