

三次元培養ヒト皮膚モデル角層中への

DPPC / DHPC Bicelles の浸透

(日本メナード化粧品(株) 総研)

○大矢 真由・足立 浩章・中間 満雄・坂 貞徳・中田 悟

1. 緒言 我々はこれまでの研究で、三次元培養ヒト皮膚モデル（以下、3D皮膚モデル）にリポソームを適用すると、角層細胞間脂質の自己組織化が起こることを明らかにしている¹⁾。一方、Bicelleとは長鎖と短鎖のリン脂質によって形成されるディスク型ミセルであり、これまでにBicelleがブタ皮膚の角層内部へ浸透すること等が報告されている²⁾。そこで本研究では、リン脂質のリポソーム以外の形態での3D皮膚モデルとの相互作用について検討するため、皮膚角層への浸透性が高いBicelleを3D皮膚モデルに適用し、3D皮膚モデル角層構造についてX線回折実験により評価した。

2. 方法 Bicelleはジパルミトイルホスファチジルコリン(DPPC)およびジヘキサノイルホスファチジルコリン(DHPC)(Avanti Polar Lipids社)を用いて、既報の方法²⁾に従って調製した。3D皮膚モデル(TESTSKIN LSE-high、東洋紡)をフランチ型拡散セル(パーメギア社)に挟みこみ、角層側からBicelleを適用して24時間後に皮膚を回収した。既報の方法³⁾に従い試料を作製した後、SPRING-8のビームラインBL40B2にて、温度走査をしながら小角・広角X線回折同時測定を行った。

3. 結果及び考察 図1より、Bicelleを適用していない3D皮膚モデルにおいては、 $S = 0.176 \text{ nm}^{-1}$ (5.68 nm)に短周期ラメラ構造由来の回折ピークが、 $S = 0.273 \text{ nm}^{-1}$ (3.66 nm)にコレステロール/脂肪酸ないしはセラミド/脂肪酸由来の回折ピークが観察された。一方、Bicelleを適用した3D皮膚モデルにおいては、 $S = 0.158 \text{ nm}^{-1}$ (6.35 nm)、 $S = 0.166 \text{ nm}^{-1}$ (6.03 nm)に大きな回折ピークがみられ、これに対応した二次回折ピーク($S = 0.311 \text{ nm}^{-1}$ 、 $S = 0.332 \text{ nm}^{-1}$)や三次回折ピーク($S = 0.467 \text{ nm}^{-1}$ 、 $S = 0.498 \text{ nm}^{-1}$)も観察された。また、45~50℃付近でこれらのピークが広角側へシフトする現象が観察された。Bicelleは濃度変化によって二分子膜へ転移する²⁾ことから、これはDPPCないしはDPPC/DHPC二分子膜のゲル-液晶転移点であると考えられる。これらの結果から、Bicelleは3D皮膚モデル角層中へ浸透し、その後、およそ6 nmの面間隔を持つラメラ構造へ転移することが示唆された。本発表では、3D皮膚モデルにおける広角X線回折ピークおよび温度走査の詳細についても報告する。

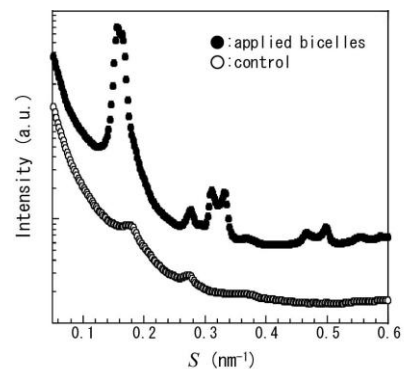


Fig.1 SAXD profiles of intercellular lipid matrix in the three-dimensional cultured human skin model.

参考文献

- 1) 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 p. 168
- 2) L. Barbosa-Barros, et al. Langmuir 24, 5700-5706 (2008)
- 3) N. Ohta, et al. Chem. Phys. Lipids 123, 1 (2003)

Penetration of DPPC/DHPC Bicelles inside Stratum Corneum of the Three-Dimensional Cultured Human Skin Model

M. OYA, H. ADACHI, M. NAKAMA, S. BAN, S. NAKATA (Nippon Menard Cosmetic Co. Ltd., oya.mayu@menard.co.jp)

Bicelles are discoidal lipid aggregates formed by long and short chain phospholipids dispersed aqueous solution. Recently, it has been reported that bicelles penetrate and growth inside the pig stratum corneum (SC). In this study, the effect of bicelles formed by dipalmitoyl phosphatidylcholine (DPPC) / dihexanoyl phosphatidylcholine (DHPC) on SC of three-dimensional cultured human skin model was evaluated by small and wide angle X-ray diffraction (SAXD and WAXD). The SAXD in Fig.1 shows that new diffraction peaks appeared by applying bicelles. These results suggest that DPPC / DHPC bicelles penetrate inside SC of the three-dimensional cultured human skin model and perform phase transition to lamellar structure after penetrating inside SC.