



マンノシルエリスリトールリピッド(MEL)の 肌荒れ改善効果メカニズムの解明

船城 健一，小松 陽子，山本 周平，北澤 宏明
東洋紡株式会社

1. 測定実施日

2015年11月17日	10時 - 18時30分	(2シフト), BL8S3
2015年12月11日	10時 - 18時30分	(2シフト), BL8S3
2016年1月14日	10時 - 18時30分	(2シフト), BL8S3
2016年1月15日	10時 - 18時30分	(2シフト), BL8S3

2. 概要

マンノシルエリスリトールリピッドの肌荒れ改善効果メカニズムを調べるため BL8S3 においてヒト皮膚角層に対してドデシル硫酸ナトリウム(SDS)水溶液を浸透させ肌荒れを生じさせた後に，MEL-B 溶液を作用させる過程を時分割測定により観察した。SDS により角層中の細胞間脂質分子のラメラ構造が破壊され，MEL-B の作用により回復することが小角領域の変化より明らかとなった。加えて細胞間脂質分子の炭化水素鎖の充てん構造の変化より MEL-B 分子が角層細胞間に取り込まれている可能性が示唆された。

3. 背景と研究目的

近年，有限な石油資源から再生可能なバイオマス資源への原材料転換が求められており，化粧品においてもヒトだけでなく地球にも優しい化粧品 Sustainable Cosmetics が注目されつつある。化粧品には界面活性剤が必要不可欠な成分であるが，我々は環境に調和した界面活性剤として微生物によってバイオマス資源から量産されるバイオサーファクタント(BS)に着目した。バイオサーファクタントの合成はすべて酵素反応によって位置選択的・立体選択的に行われるため分子の向き・形がそろっている。その結果，界面で効率的な分子集合や配向が可能になるため既存の合成界面活性剤に比べてより低濃度で機能を発揮できる。

バイオサーファクタントは 1960 年代に発見され現在数十種類が知られているが，これまでに工業的に国内で実用化されたものはわずか 2 例(ペプチド型及び糖型)しかない。そこで我々は糖脂質型の BS であるマンノシルエリスリトール

ルリピッド(MEL) に注目した。MELには生産酵母により構造的な多様性(MEL-A, B, C)が存在するが, その中でも筑波山の花から単離された酵母 *P. tsukubaensis* が産出する MEL-B(図1)を化粧品原料としての製品開発を行っている。MEL-B は, 糖・糖アルコール・脂肪酸を同時に含有するという

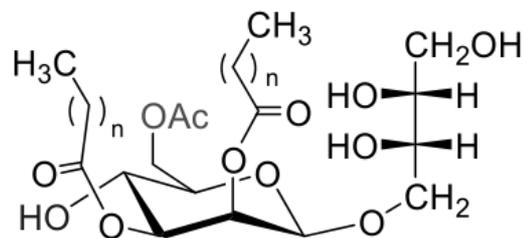


Fig.1 MEL-B の分子構造。Ac はアセチル基, n=8~12

構造を有し, 代表的な細胞間脂質である天然セラミドに類似した構造を有している。さらに MEL-B は優れたベシクル・ラメラ形成能を示し, バリア機能が失われた状態の荒れ肌に塗布した場合, 優れた改善作用を持つことがヒト 3 次元培養皮膚細胞を用いたモデル実験から明らかになった¹⁾。本研究ではこの肌荒れ改善作用のメカニズムの解明のためシンクロトロン光を用いた時分割測定をあいち SR BL8S3 にて行った。

4. 実験内容

測定は BL8S3 ビームラインで実施した。試料検出器間距離は約 0.45 m, X 線波長は 0.92 Å とし, 検出器には RIGAKU 製イメージングプレート R-AXISIV++を用いた。測定皮膚試料として BIOPREDIC International (株)社より購入したヒト角質層を使用した。前処理として室温で窒素雰囲気下のシリカゲル入りデシケータで 18 時間乾燥後, 34 ± 70%RH で 18 時間調湿した。調湿前後の重量より角層に含まれる水分量は約 20 wt%となり正常な皮膚に含まれる水分量とほぼ等しい状態

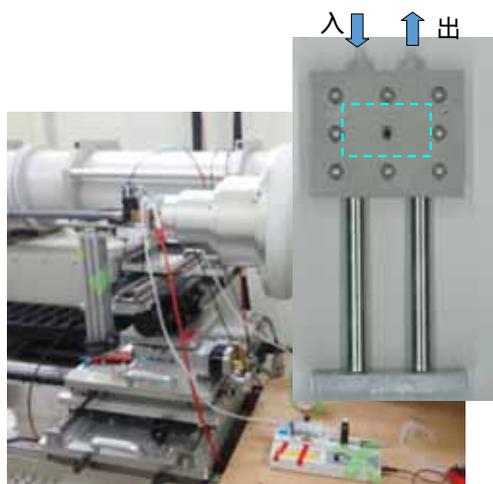


Fig.2 架台上に設置した自作溶液セルおよびシリンジポンプ

となった。角層約 0.4 mg をガラスフィルター(Whatman, 1842047, Grade GMF 2 μm)で固定し自作溶液セルに入れ BL8S3 の架台上に設置し(図 2), シリンジポンプ(アズワン SPE-1)をハッチ外から操作することにより溶液を注入し, 露光時間 60 秒で約 5 分ごとに同一部位からの散乱を連続記録した。

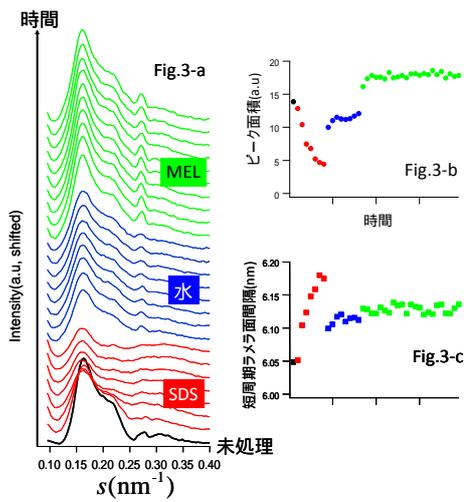


Fig.3 小角領域のプロファイルの変化 (a) および短周期ラメラ由来のピークの面積(b)および面間隔(c)の時間変化。

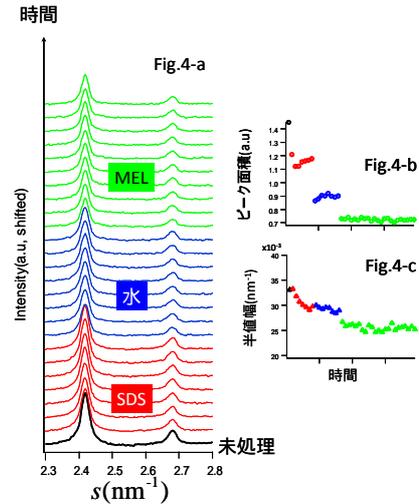


Fig. 4 広角領域のプロファイルの変化(a),および左側のピークの面積(b),半値幅(c)の時間変化。

5. 結果および考察

皮膚角層に対してドデシル硫酸ナトリウム(SDS)0.5 wt%水溶液 30分, 純水 30分, MEL-B 0.1 wt%/BG20 wt%/水 (BG:1,3 ブチレングリコール)60分を順に作用させた結果について記す。ここで SDS により肌荒れを生じさせ, 純水で洗浄後 MEL-B による効果を観察することを目的としている。測定により得られたイメージングプレート像を円環平均して 1次元化し, スプライン曲線でバックグラウンドを除去したプロファイルの時間変化を小角領域(図 3), 広角領域(図 4)に分けて示した。ここで横軸は散乱ベクトル $s=(2/\lambda)\sin\theta$, λ は X線波長, θ は散乱角)である。一般に皮膚角層は角層細胞の周りを細胞間脂質が取り囲んだレンガ/モルタルモデルと呼ばれる構造からなり, 細胞間脂質は皮膚のバリア機能において重要な役割を果たしている。その細胞間脂質はラメラ構造を形成し, 図 3 のピークはこのうち短周期ラメラ構造と呼ばれる脂質層と水層の繰り返しからなり, 水層は保湿に重要な役割を果たしている構造由来と考えられている²⁾。また短周期ラメラ構造をとる細胞間脂質分子の炭化水素鎖は直方晶を形成し, 2つの鋭いピークとして観察される(図 4)。

短周期ラメラのピーク面積は SDS 処理によって減少するが, MEL-B 処理により回復し初期状態より大きくなった(図 3-b)。これは SDS の処理によって失われたラメラ構造が MEL-B の作用によりラメラ構造が回復していると考えられる。また MEL-B の作用により面間隔がわずかに拡大しているがこれは水層が膨潤していることに対応していると考えている³⁾。

一方で細胞間脂質中の炭化水素充填構造由来のピーク面積は MEL-B 処理によりさらに減少する(図 4-b)。MEL-B はラメラ構造をとるが炭化水素鎖は充填構造をとらない L 相であることから角層中に MEL-B の炭化水素鎖が入り、充填構造を乱すためと考えている。また半値幅も減少している(図 4-c)ことから見かけの結晶子サイズは大きくなっているが、これは結晶子サイズが小さい領域に MEL-B が入りやすいためと考えている。こうした MEL-B の挙動がヒト 3 次元培養皮膚細胞を用いたモデル実験でみられた肌荒れ改善機構のメカニズムであると考えている。

6. 今後の課題

今回は散乱実験結果のみから現象の考察を行ったが推測の域を出ていないため、今後は計算化学などを併用することを予定している。実験面では小角領域から広角領域の広い範囲での観察を行うためカメラ距離を短く設定し検出面積の広いイメージングプレートを用いたが、皮膚の構造変化は想定より早く時間分解能が十分ではないことがわかった。今後は検出器にピラタス検出器とフラットパネルを併用するなどして時間分解能を高めた測定を行いたい。

7. 参考文献

- 1) 山本 周平, 北川 優, 柳谷 周作, 曾我部 敦, 北本 大, オレオサイエンス, 15(12), 547-554, (2015)
- 2) I. Hatta, N. Ohta, PhotonFactory Activity Report 2003 Part A, Highlight, 49, (2004)
- 3) あいち SR センター 2014 年度後期 成果公開無償利用事業成果報告書

謝辞

あいちシンクロトロン光センターの 2015 年度後期成果公開無償利用事業を実施するにあたり、名古屋産業科学研究所八田 一郎先生に多大なるご指導、ご支援をいただきました。また公益財団法人科学技術交流財団加藤 一徳博士、あいち産業科学技術総合センター杉山 信之氏には溶液セルの設置検討から測定に関し貴重なアドバイスをいただきました。加えて日程などの調整を行って下さいましたあいちシンクロトロン光センターコーディネーターの野崎様、他関係者の皆様に深く感謝いたします。