



# 保湿剤の作用過程における角層構造変化の測定方法の開発

山田 武、羽深 朱里、小林 加奈  
阪本薬品工業株式会社 研究所

## 1. 測定実施日

2016 年 8 月 23 日 10 時 - 18 時 30 分 (2 シフト) , BL8S3  
2016 年 9 月 14 日 10 時 - 18 時 30 分 (2 シフト) , BL8S3  
2016 年 10 月 13 日 10 時 - 18 時 30 分 (2 シフト) , BL8S3  
2016 年 10 月 14 日 10 時 - 18 時 30 分 (2 シフト) , BL8S3

## 2. 概要

これまでに様々な研究者たちによって、角層が溶液によって湿潤する過程の角層構造の経時変化が小角・広角 X 線回折測定により評価されている。我々は、保湿剤の作用機構を解明するため、保湿剤を作用して予め湿潤させた角層の乾燥時の構造変化について、時間分割による X 線回折測定を試みている。しかし、これらの評価においては角層の個体差があるため、保湿剤が角層に湿潤し、乾燥するまでの角層構造の変化について、同一の試料位置での連続測定が重要であると示唆された。そこで、本研究では角層試料を固定した状態で、保湿剤の作用前、湿潤時、乾燥時の角層構造の変化を連続的に測定する方法の確立を目標とした。角層試料に水あるいはグリセリン水溶液を作用し、湿潤してから乾燥するまでの過程を小角・広角 X 線回折を用いて連続測定したところ、作用する溶液によって角層の回折プロファイルの経時的な振舞に差が見られることを確認した。この条件で種々の保湿剤が角層に及ぼす影響を評価することにより、保湿剤の作用機構を解明できると考えられる。

## 3. 背景と研究目的

近年、化粧品分野では保湿剤の皮膚角層に及ぼす影響に関する研究が盛んに行われており、保湿剤の作用機構を解明することが化粧品やその基材開発分野における課題の一つである。我々は、これまでに保湿剤として汎用される多価アルコールを作用した皮膚の角層水分量を静電容量によって評価し、保湿剤の

種類により角層中の水分を保持できる時間が異なることを把握している[1]。また、これまでに保湿剤の角層構造に対する作用機構を解明するため、予め保湿剤により湿潤させたヒト角層を窒素ガス気流下で乾燥した際の角層構造の経時変化について、時間分割による小角・広角 X 線回折測定を行い、保湿剤の種類によって角層構造に由来するピークの振舞が異なることを確認した[2]。しかし、角層試料はヒト由来であるため個体差や部位差があり、同じ試料であってもビームの照射位置によって得られるプロファイルの形状が異なり、解析に影響を及ぼすという課題が生じた。この課題を解決する方法として、角層試料の測定位置を固定し、同一の試料位置について保湿剤を作用する前から、湿潤して乾燥するまでの構造変化を連続で測定する方法が考えられた。そこで、本研究では保湿剤による角層構造への影響を評価するために、同一の試料位置について、保湿剤を作用する前、湿潤時、乾燥時の経時変化を連続的に測定する方法の確立を目標とした。

#### 4. 実験内容

測定用の試料には、水分量を 10 wt% に調製したヒト腹部由来の角層 (BIOPREDIC International 社) を用い、約 1 cm 四方に切り出したものを角層試料とした。角層試料を‘溶液セル’ [3] 内にセットし、そこへ水、あるいは 10 wt% グリセリン水溶液を注入し、溶液を注入してから 30 分後までの経時的な角層構造の変化を小角・広角 X 線回折により 10 分毎に測定した。その後、溶液セル内の溶液を除去し、角層試料を乾燥した。乾燥は、試料の乾燥を促進するため、溶液セルに窒素ガスを流量 0.3 L/min で通気し、通気直後から 30 分後までの経時変化を 10 分毎に測定した。

測定には、あいちシンクロトロン光センター BL8S3 を使用し、X 線のエネルギーは 13.5 keV (波長 : 0.092 nm)、カメラ長は 470 mm (ステアリン酸鉛で較正) とし、実空間で 10.4 - 0.31 nm の領域を測定した。検出器にはイメージングプレート (R-AXIS-IV++, 300 mm × 300 mm) を用い、露光時間を 360 s とした。試料セルには溶液セルを用い、ポリイミドフィルムで覆った試料部に角層試料を乱れた状態で詰め込み、ガラス濾紙を用いて固定した。また、得られた回折像を一次元化して回折プロファイルを得た。プロファイル中の各ピークに対して直線のベースラインを引き、ガウス関数でフィッティングすることで各ピークの解析値を得た。

## 5. 結果および考察

角層試料の回折プロファイルには角層構造に由来する種々のピークが確認され、散乱ベクトル  $q = 0.8-1.5 \text{ nm}^{-1}$  の小角領域には、細胞間脂質が形成する周期構造が約  $6 \text{ nm}$  の短周期ラメラ構造に由来するピークと周期構造が約  $13 \text{ nm}$  の長周期ラメラ構造の三次反射に由来する弱いピークが確認された。また、 $q = 6 \text{ nm}^{-1}$  付近の中角領域には、角層細胞内のソフトケラチン構造に由来するピークが確認された。 $q = 15 \text{ nm}^{-1}$  以降の広角領域には、細胞間脂質の炭化水素鎖の充填構造に由来する六方晶や直方晶の回折ピークがそれぞれ確認された。

Fig.1(a)に小角領域に検出された短周期ラメラ構造の格子定数  $d$  の経時的な変化を示す。 $d$  はピーク位置  $q$  から算出され ( $d = 2\pi/q$ )、角層試料の個体差によって  $d$  値には差が見られた。個体差を考慮するため、溶液を作用した直後の角層の  $d$  値 ( $d_0$ ) で経時の  $d$  値を規格化した値をプロットした。角層に水を作用して湿潤することによりピーク位置は小角側へシフトし、乾燥することで経時的に広角側へシフトすることが確認された。短周期ラメラ構造中の親水部には水層が存在しており、水によって短周期ラメラ構造中の水層の水分が増加したことで  $d$  値が拡大し、乾燥によりその水分が蒸散したことで  $d$  値が縮小したと考えられる。また、水の作用とグリセリン水溶液の作用ではピークの振舞に差が見られ、水では  $d$  値の拡大が早いですが乾燥 20 分後の  $d$  値は作用前と同等の値に戻っており、グリセリン水溶液では湿潤時の  $d$  値の拡大は穏やかで乾燥時には 20 分後も  $d$  値がほぼ同じ状態を保持することを確認した。この結果から、グリセリンは角層中の短周期ラメラ構造中の水分を保持する効果を有すると考えられる。

中角領域に検出される角層細胞のソフトケラチン構造に由来するピークも短周期ラメラ構造と同様に、溶液の作用により角層が湿潤する際は経時的に  $d$  値が拡大し、乾燥により縮小することを確認した (Fig.1(b))。また、水の方がグリセリン水溶液に比べ  $d$  値の変化がやや大きいことを確認した。

広角領域に検出される細胞間脂質の炭化水素鎖の充填構造に由来するピークに関しては、 $q = 15 \text{ nm}^{-1}$  付近に検出される六方晶と直方晶の  $0.42 \text{ nm}$  の構造に由来するピークと  $q = 17 \text{ nm}^{-1}$  付近の直方晶の  $0.37 \text{ nm}$  の構造に由来するピークは、いずれの溶液を作用した場合も、湿潤によってピーク位置が僅かに小角側へシフトし、乾燥によって広角側へシフトすることが確認された。

(Fig.1(c), (d))。したがって、細胞間脂質の炭化水素鎖の充填構造は、保湿剤によって湿潤することで構造が多少緩まり、乾燥することで密になったと考えられる。これまで水系の溶液の作用では充填構造はほとんど変化しないと言われていたが、溶液の作用について湿潤と乾燥を連続測定したことで、その僅かな変化を明らかにすることができた。

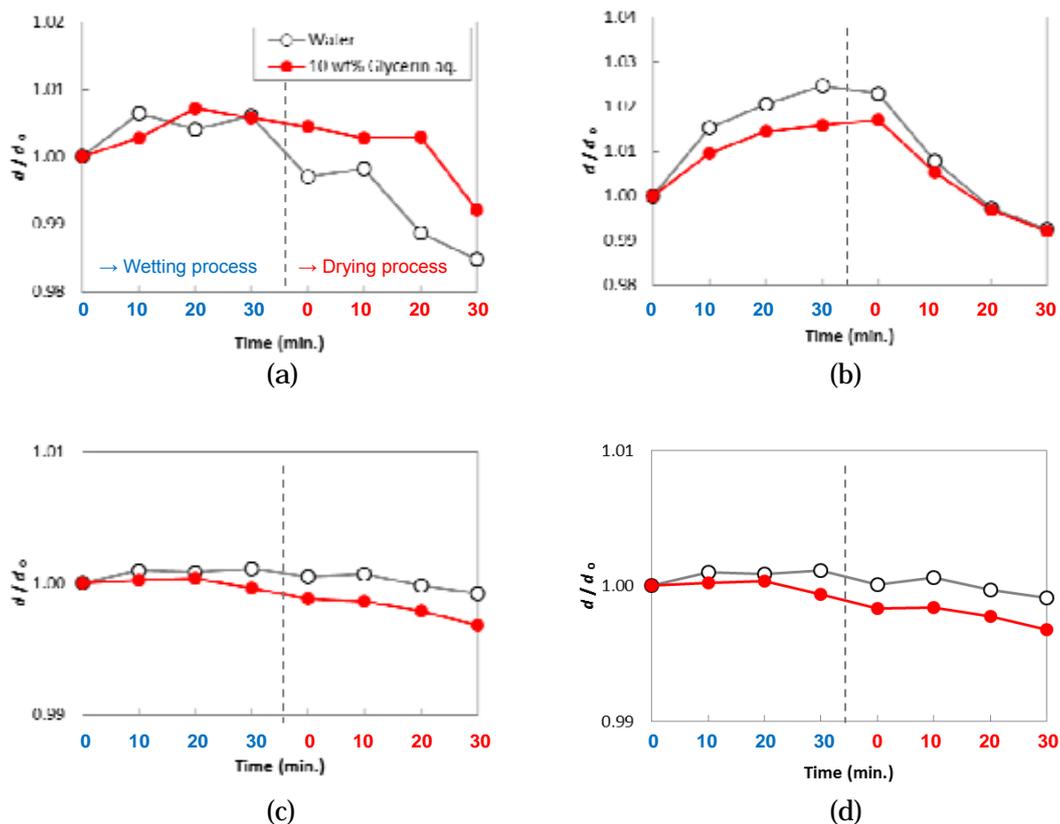


Fig.1  $d$ 値の変化の割合

各ピークより算出される  $d$ 値を溶液作用直後の角層の  $d$ 値( $d_0$ )で規格化

(a)短周期ラメラ構造、(b)ソフトケラチン構造、(c)炭化水素鎖の充填構造(0.42 nm)、(d)炭化水素鎖の充填構造(0.37 nm)

## 6. 今後の課題

本検討の結果から、角層試料を固定した状態で、同一の試料位置について溶液の作用による湿潤時と乾燥時の変化を連続的に測定することにより、溶液による元の角層構造からの相対的な変化を確認することができた。今後、保湿剤として、他の多価アルコールや天然保湿因子等についても同様の評価を進めることで、保湿剤の角層に対する作用機構を解明することができると思う。

## 7. 参考文献

- [1] Ai Tomiie et al., *J. Oleo Sci.*, **65**, 681-684,(2016).
- [2] 山田武 他. 利用課題実験報告書(2016A1508).
- [3] 公益財団法人名古屋産業科学研究所. ビーム照射による軟質材料の構造解析方法及びそれに用いる軟質材料保持装置. 特許第 5028588 号. 2008-3-21.

## 謝辞

あいちシンクロトロン光センターの 2016 年度 成果公開無償利用事業を実施させて頂くにあたり、産業利用アドバイザーの八田一郎先生に多大なるご指導、ご支援を頂きました。また、ビームライン課の杉山信之氏、産業利用コーディネーターの野崎彰子女史には、実験のアドバイスや機器・器具の手配等の調整に応じて頂きました。その他、同センターにてお力添え頂きました関係者の皆様に厚く御礼申し上げます。