

脂質ならびに皮膚角質層の構造

日本メナード化粧品(株)
総合研究所
坂 貞徳

1. はじめに

脂質は、核酸、タンパク質、多糖類とならぶ生体の主要分子である。脂質 (Lipid) の定義は、大枠で 1) 水あるいは塩類水溶液に溶けないで、いわゆる脂肪溶剤 (fat solvent) に可溶性物質で、2) その構造上、エステル結合あるいはアミド結合の形で脂肪酸をもち、3) 生物体に利用されるものである¹⁾。脂質は、単純脂質、複合脂質、誘導脂質に分けられる。単純脂質には中性脂質 (トリグリセライド)、グリセロールエーテル、ロウなど、複合脂質にはリン脂質、スフィンゴ脂質 (セラミド) など、誘導脂質には脂肪酸、アルコール (コレステロールなどのステロール類も含む)、炭化水素などがある。

一方、皮膚の最外層である角質層は生体と環境との境界にあり、生体内からの水の損失を抑え外部からの異物の侵入を防ぐバリアとして重要な役割を果たす組織である。角質層は角化細胞 (Keratin) がレンガ状に積み重なり、その間を細胞間脂質 (Intercellular Lipid) によって埋められる構造、一般に、レンガ・モルタル構造と呼ばれる (図 1)。

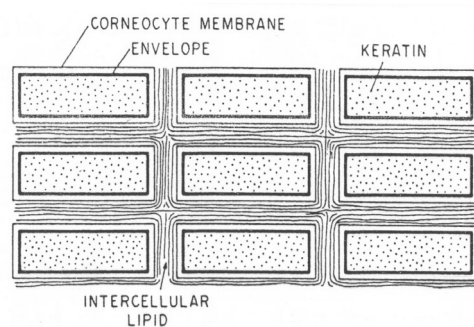


図 1. 角質層の構造²⁾

角質層中のモルタル部分は細胞間脂質にあたり、細胞間脂質はセラミド、脂肪酸及びコレステロールを主成分とする自己組織化された脂質分子集合体である。

本講演では、主に X 線回折を用いて、自己組織化された脂質ならびに皮膚角質層の細胞間脂質の構造について紹介する。

2. 脂質の構造

誘導脂質である長鎖アルコール (高級アルコールともいう) を例にして、示差操作熱量計 (DSC) 及び X 線回折像から自己組織化された長鎖アルコールの構造について解説する。長鎖アルコールは分子内に極性 (OH) 基をもつことから、水素結合によってラメラ型の結晶相をつくる。純粋な長鎖アルコールにおいて、偶数鎖長では高温が α 相、低温として γ 相、 β 相が表れ、奇数鎖長では高温が α 相、低温が β 相のみといわれている³⁾。

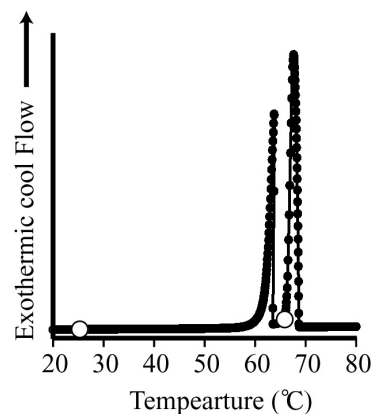


図 2 1-Docosanol の DSC 曲線

ここでは、偶数鎖長である炭素数 18、22 について述べる。

炭素数 22 の長鎖アルコールである 1-Docosanol (C22OH : ベヘニルアルコール) は、化粧品分野において乳化助剤あるいは増粘剤として広く使われている。C22OH の DSC 及び X 線回折測定結果を図 2、3 に示す。

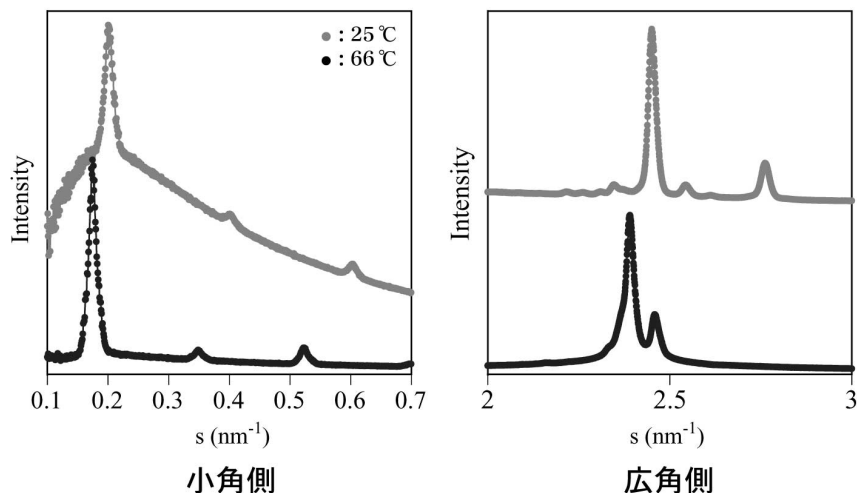


図 3 1-Docosanol の X 線回折像

DSC 測定 (降温) 結果から、63.6、68.7°C に発熱ピークが見られる。X 線回折から、63.6°C 以下では γ 相、63.6~68.7°C では α 相を示し、68.7°C 以上で溶融した状態となることがわかる。また、純度の高い C22OH は厳密に言えば α 相ではなく、 α 構造が歪んだ sub- α 構造となる。

次に、C18OH/C22OH (炭素数 18 の 1-Octadecanol : 一般にはステアリルアルコールと呼ばれている) の 2 成分系での相図を図 4、X 線回折測定結果を図 5 に示す。2 成分系になると 1 成分系とは異なり、低温部の γ 相が β 相に変わっていることがわかる。さらに、高温部の α 相も sub- α 構造が α 構造に変化する。特に、C18OH に C22OH を 10wt% 添加することで α 相領域が大きく広がっていることもわかる。次に、1 成分系 (図 3) と 2 成分系 (図 5) を比較した場合、2 成分系の方が広角側で単純なピークになっていることがわかる。一般に、高純度な試料ほど構造解析に適しているといわれている。当然、純度を上げるための操作を何度も繰り返した経験者もたくさんいるのではないであろうか。

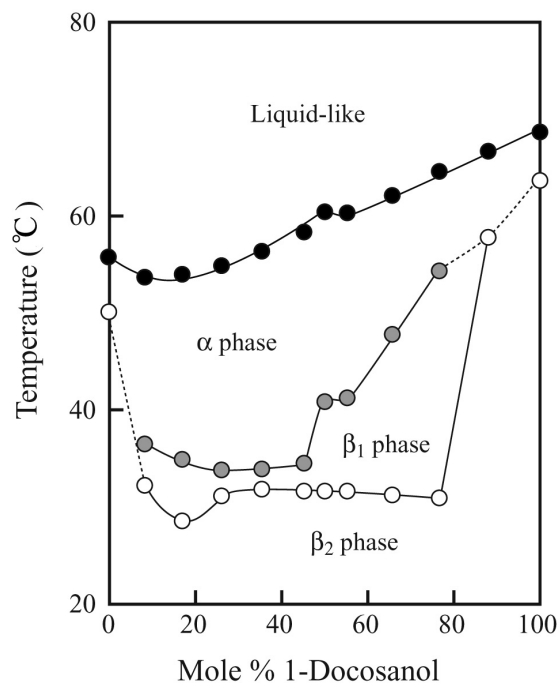


図 4 1-Octadecanol/1-Docosanol の相平衡図

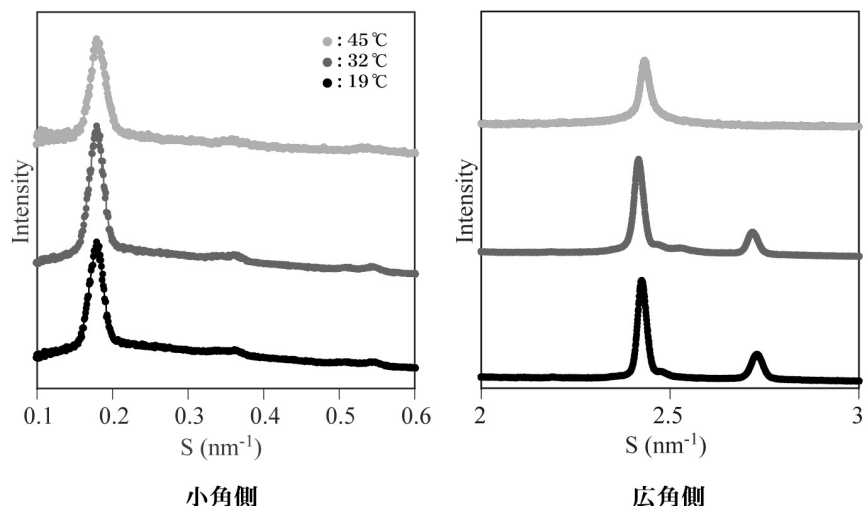


図5 1-Octadecanol/1-Docosanol 45/55 の X 線回折像

しかし、脂質の場合、不純物があるからこそ、あるいは複雑な組成であっても単純な構造をもつ分子集合体として自然界に存在するのである。その代表例として、次節に皮膚角質層にある細胞間脂質の構造について触れる。

3. 皮膚角質層の構造

冒頭でもふれたように、角質層中のモルタル部分は細胞間脂質であり、細胞間脂質は脂質分子集合体である。皮膚角質層を剥ぎ取り、角質層の X 線回折実験を行なうといわゆるラメラ構造を反映した回折像が観測される。この場合、脂質の炭化水素鎖は乱れた状態ではなく、オールトランスの状態（真っ直ぐに伸びた状態）にある。脂質分子集合体（細胞間脂質）は、表皮細胞のターンオーバーの結果、最終的に角質層において自己組織化したラメラ構造となる。したがって、角質層はいわば死んだ角化細胞が積み重なり、それを取り巻いている細胞間脂質が高度に秩序化してラメラ構造を形成することによってバリア機能を持つことができる。

この脂質分子集合体を構成する脂質は、セラミド、コレステロール、脂肪酸などである。セラミド分子は、セラミド1から6（最近では1から7までである⁴⁾ともいわれている）と名づけられた長短の分子からなっている。したがって、リン脂質からなるラメラ構造及び物性と比べて、セラミド等からなる角質層のラメラ構造及び物性は異なっていると考えることができる。例えば、リン脂質の場合と異なり、セラミドの頭部は疎水性が強いので水分子を引きつけないと考えられる。図6に、ヘアレスマウス角質層の X 線小角散乱の測定結果を示す⁵⁾。

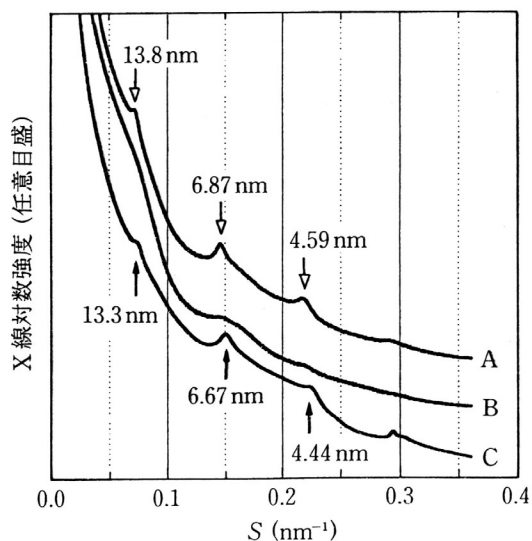


図6 ヘアレスマウス角質層中の小角 X 線回折像
A: 正常な角質層, B: 傷んだ角質層,
C: 修復された角質層

正常な角質層に対する図 6 中の A の結果を見ると、ラメラ構造の 1 次反射、2 次反射及び 3 次反射がそれぞれ 13.8nm、6.87nm 及び 4.59nm に現われており、約 13nm の周期をもつラメラ構造が存在する。これはリン脂質におけるラメラ周期と比べて極めて長い（例えば、20°Cでの DPPC の場合 6.40nm⁶⁾である)。角質層ラメラ構造の特徴の一つは、角質層中の水分量を変えて観測すると水分量 20wt%付近で X 線回折像が鋭くなるが周期はほとんど変わらないことである⁷⁾。したがって、約 13nm 周期のラメラ構造は水を含んで膨潤しない。また、X 線回折像は、角質層を 120°Cまで加熱することにより、鋭くなることが知られている⁸⁾。図 6 では鋭い約 13nm 周期のラメラ反射に隠れておりはっきりと見えないが、この他に約 6nm 周期のラメラ構造が存在することが知られている^{7),8)}。図 7 に角質層の水分量を 0~80wt%の領域で実験を行なった結果を示す⁹⁾。約 13nm の周期はほとんど変化しないが、約 6nm の周期は水分の増加とともに膨潤を示すことがわかった⁹⁾。次に、回折線の半値幅と水分量との関係を図 8 に示す。回折線の半値幅は約 20wt%で両周期ともに狭くなり、それより水分量が多くても少なくとも両反射で広がっていることもわかった⁹⁾。したがって、約 6nm の周期は角質層の水分の調節機能を担っていると考えられる。しかし、現在のところラメラ構造の詳しい物性についてはわかっていない。約 13nm 周期のラメラ構造は水に対する膨潤の実験を行なうことができないの

で、X 線回折の位相に関する情報を得ることができなく、位相を用いて電子密度分布を解析することはできない。

しかし、試行錯誤により脂質分子の詰まり方のモデルが提案されている。図 9 は Bouwstra ら¹⁰⁾によって X 線回折実験結果に基づいて提案されたモデルである。長い炭化水素鎖部をもつセラミド 1 の分子が約 13nm 周期のラメラ構造を形成する上で重要な役割を果たしている。また、図 10 は電子顕微鏡観察に基づいて Kuempel ら¹¹⁾が提唱したモデルである。約 13nm 周期のラメラ構造形成においてセラミド 1 の分子が重要な役割を果たしている点は前のモデルと同じである。図 9 及び 10 において、約 13nm のラメラ構造は「広い幅—狭い幅—広い幅」のバンドからなっている。

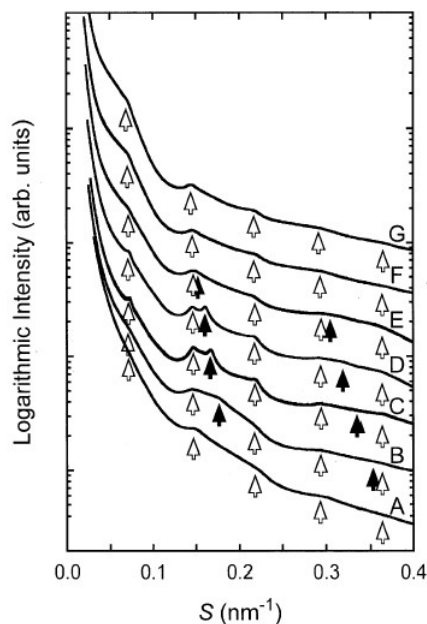


図 7 ヘアレスマウス角質層の水分量を変化させた時の X 線回折像
A:0%, B:12%, C:21%, D:35%, E:50%, F:70%, G:80%
白抜矢印：長周期，黒塗矢印：短周期

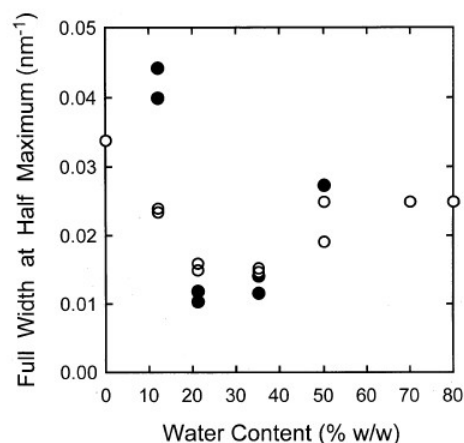


図 8 X 線回折ピークの半値幅
○：長周期の 2 次の回折ピーク
●：短周期の 1 次の回折ピーク

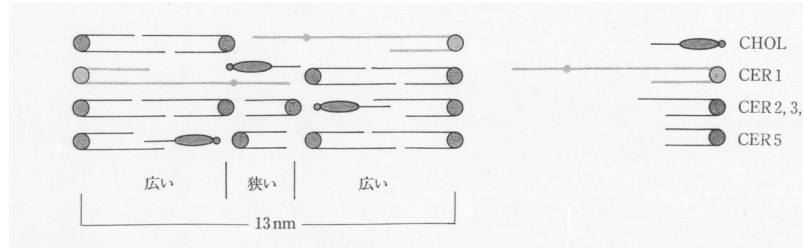


図9 X線回折実験により提案された脂質分子集合体のラメラ構造のモデル¹⁰⁾
繰り返し周期の1周期分を示す。CER1~6はセラミド1~6, CHOLはコレステロール

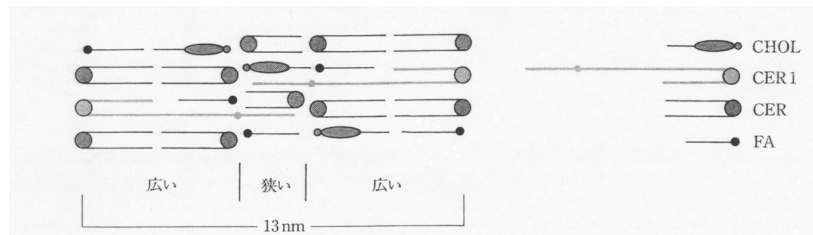


図10 電子顕微鏡像により提案された脂質分子集合体のラメラ構造のモデル¹¹⁾
繰り返し周期の1周期分を示す。CER1はセラミド1, CERは他のセラミド,
CHOLはコレステロール

現在のところはここまで分かっているが、さらに各種条件下のラメラ構造を分子レベルで解明することは、水分保持能あるいは経皮吸収などをマイクロな構造に基づいて考える上で重要である。

4. 荒れた皮膚とその修復

人工的に荒れた皮膚を作成する方法として、有機溶媒（アセトン/エーテル）などを使い角質層中の脂質を抽出する方法がある。また、界面活性剤であるドデシル硫酸ナトリウム(SDS)水溶液をクローズドパッチし、表皮に刺激を与えターンオーバーを促進させ、未分化な角化細胞の残る角質層を作る方法がある。この状態は一般的に「肌荒れ」のモデルとして知られている。後者においてX線回折実験を行ったところ乱れたラメラ構造が出現していることがわかった⁵⁾。図6のBはそのような方法で作った角質層のプロファイルである。乱れたラメラ構造を反映して、ラメラ反射がブロードになっている。しかし、このブロードになるなり方は角質層に依っている。すなわち、SDS処理によってもたらされた「肌荒れ」のモデルは必ずしもいつも同じように乱れたラメラ構造になるわけではない。乱れたラメラ構造をもたらすもう一つのパラメーターがあるようである。現在のところ、それについてはわかっていない。

有機溶媒（アセトン/エーテル）などを作用させることにより得られる荒れた皮膚では、図11で示すように高周波電気伝導度すなわち皮膚の水分保持能は数日では回復しない¹²⁾。このような皮膚にセラミド、コレステロール及び脂肪酸からなる外用剤を塗布すると、経皮水分蒸散量が回復することが知られている¹³⁾。この場合、セラミド1ではなくセラミド3と4を用いているが、経皮水分蒸散量が回復しており、傷んだ角質層が修復している。そこで、SDS処理を行った「肌荒れ」モデルの角質層についても同じような方法で行った。SDS処理を行った角質層を皮膚から剥がし、セラミド3、コレステロール及び脂肪酸の分散液に浸し、X線回折実験を試みたところ、図6中のCに示すように正常な角質層に対するX線回折プロファイルであるAの構造が再現していることがわかった。

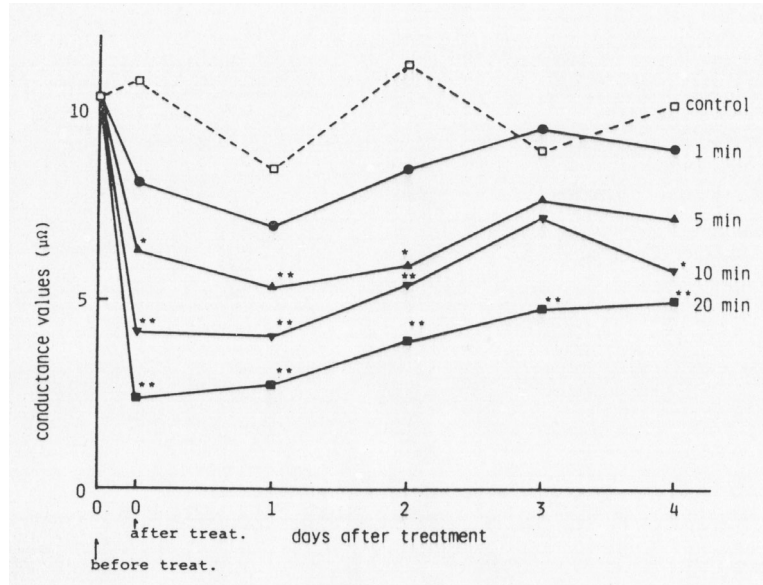


図9 アセトン/エーテル(1:1)で処理した皮膚での高周波電気伝導度による角質層回復経過測定¹²⁾
 (□) : コントロール, (●) : 1分間処理, (▲) : 5分間処理,
 (▼) : 10分間処理, (■) : 20分間処理

これは乱れたラメラ構造が外用剤により自己組織化し、正常な構造の角質層が形成されていると考えることができる。上記の2つの実験では、約13nm周期のラメラ構造形成において重要な役割を果たすと考えたセラミド1を用いていないにもかかわらず、角質層の機能及び構造が修復した。このようなことがなぜ起こるのかについては現在のところわかっていない。

5. おわりに

角質層の構造解析は、現在のところまだ不明確な点が多い。一つにはX線回折実験がこれまでにあまり行われてこなかったことによる。しかし、X線回折実験は、TEWL測定やインピーダンスメーターによる測定など、これまで物性面から検討されていた皮膚あるいは角質層の研究において、分子レベルでの検討に役立つ手段であると考えられる。

それゆえ、外用剤を適用された時の角質層の修復過程あるいは経皮吸収経路の解明など、X線回折実験は化粧品はもとより医薬品分野での製剤開発において有力な手段になり得るといえる。また、細胞間脂質は脂質分子が自己組織化したものであり、自己組織体として細胞間脂質をとらえてみると、角質層に関する新たな知見が得られるのではないかと思う。

参考文献

- 1) 山川民夫, 脂質1, 共立出版 (1970)
- 2) S.H. White, D. Mirejovsky and G.I. King, *Biochemistry*, **27**, 3725(1988)
- 3) 佐藤清隆, 小林雅通, 脂質の構造とダイナミクス, 共立出版 (1992)
- 4) D.T. Downing, et al., *J Lipid Res.*, **35**, 2060(1994)
- 5) I. Hatta, N. Ohta, S. Ban, H. Tanaka and S. Nakata, *Biophys. Chem.*, **89**, 239(2001)
- 6) D. Marsh, *CRC Handbook of Lipid Bilayer*, CRC press, pp165(1990)
- 7) J.A. Bouwstra, G.S. Goories, J.A. van der Spek, S. Lavrijsen and W. Bras, *Biochem. Biophys.*

Acta, **1212**, 183(1994)

- 8) J.A. Bouwstra, G.S. Goories, J.A. van der Spek and W. Bras, *J. Invest. Dermatol.*, **97**, 1005(1991)
- 9) N. Ohta, S. Ban, H. Tanaka and S. Nakata, I. Hatta, *Chem. Phys. Lipids*, **123**, 1(2003)
- 10) J.A. Bouwstra, F.E.R. Dubbelaar, G.S. Goories and M. Ponc, *Acta Dem. Venereol. Suppl.*, **208**, 23(2000)
- 11) D.Kuempel, D.C. Swartzendruber, C.A. Squier and P.W. Wertz, *Biochem. Biophys. Acta*, **1372**, 135(1998)
- 12) G. Imokawa and M. Hattori, *J. Invest. Dermatol.*, **84**, 282(1985)
- 13) M. Mao-Qiang, K.R. Feingold, C.R. Thornfeldt and P.M. Elias, *J. Invest. Dermatol.*, **106**, 1096(1996)

N-ビニルアミドならびにアクリルアミド型架橋高分子の オイル吸収能挙動

阪大院工 杉原文香・木田敏之・明石 満

< 緒言 > 最近、化粧品、薬品、食品をはじめとする様々な分野で高性能オイルゲル化剤の開発に注目が集められている。特に、低分子オイルゲル化剤の開発研究が活発に展開されているが、それらによるゲル形成は一般にゾル - ゲル転移に基づいており、ゲル化の為には系全体を一旦加熱する必要がある為、応用範囲はかなり限られてしまう。それに対し、常温で添加するだけでオイル（有機溶媒）をゲル化（吸収）できる自己膨潤型の高分子オイルゲル化剤は、より広範な領域で応用が可能と考えられる。それ故、高いオイル吸収能、保持能、吸収速度を有する高性能高分子オイルゲル化剤の開発及び、そのオイル吸収メカニズムの解明が各分野から強く求められている。我々は、側鎖に種々の親油性基を導入した N-ビニルアミドならびにアクリルアミド型架橋高分子を合成し、そのオイル吸収能について詳細に検討を行っている。本発表では、N-ビニルアミドならびにアクリルアミド型架橋高分子のオイル吸収能挙動について報告する。

< 実験 > 15 分間アルゴンバブリングすることにより脱気した各種溶媒 1.5 mL に、N-ビニルアミドあるいはアクリルアミドモノマー（3 mmol）と架橋剤、開始剤として AIBN（1 mol%）を溶解させ、封管中 60 °C で 24 時間フリーラジカル重合を行った。得られたゲルを直径 15 mm × 厚さ 2.5 mm のディスク状にカットし、溶媒で洗浄した後、凍結乾燥を行った。得られた架橋高分子を種々の有機溶媒あるいはオイル中に 24 時間浸し、その膨潤率（吸収倍率）を算出した。ここで、吸収倍率は架橋高分子の重量に対する吸収したオイルの重量比として評価した。

< 結果 > モノマーと架橋剤の仕込み比が 100 : 1 の時に得られた架橋高分子のシリコン油、ベンゼン、メタノールに対する吸収能を Figure 1 に示す。N-ビニルアミド型架橋高分子の側鎖の炭素数を増加、あるいは枝分かれ構造にすることによりシリコン油やベンゼンに対する吸収能が増加し、その一方でメタノールに対する吸収能が低下した。この傾向はアミド結合が逆のアクリルアミド型架橋高分子でも見られた。また、浸漬温度がオイル吸収能に与える影響についても検討したので発表する。

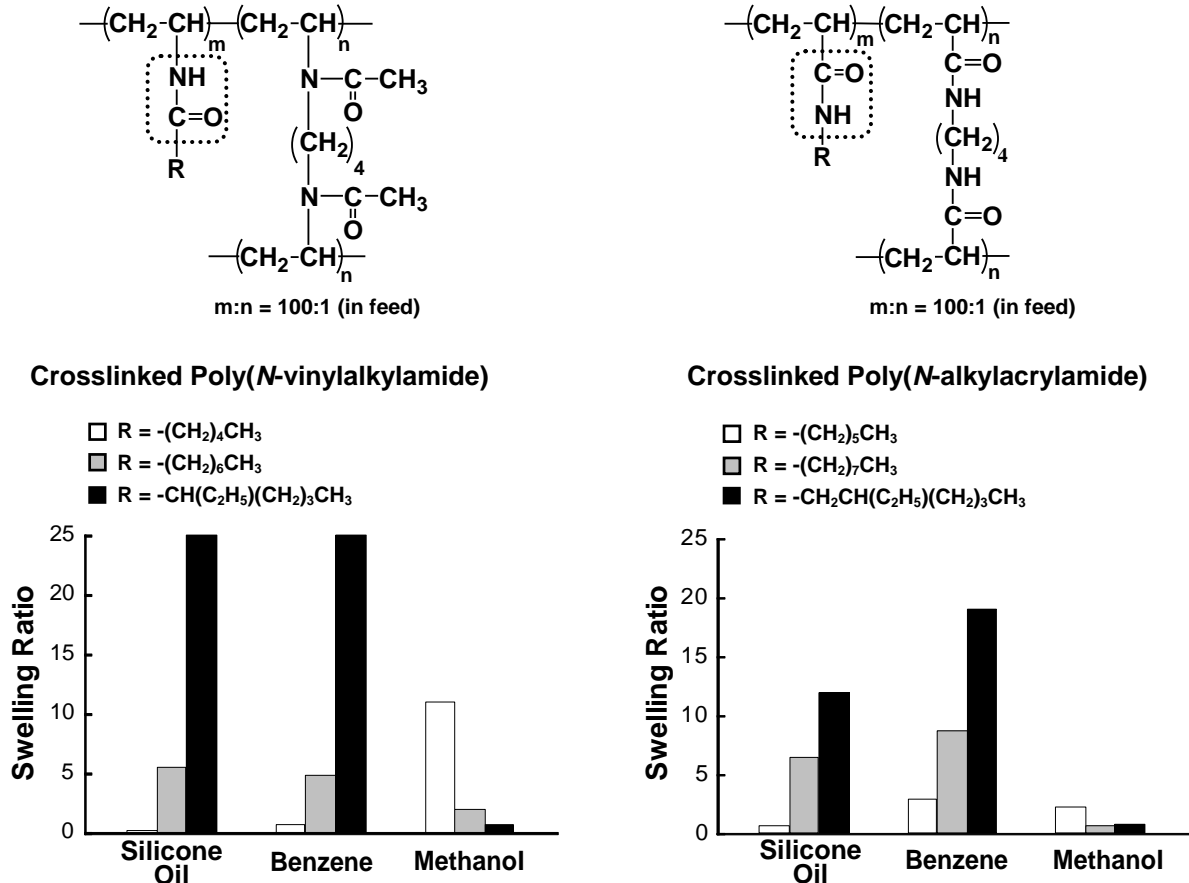


Figure 1. Swelling ratios of the crosslinked polymers in various oils and solvents.

蛍光プローブによるフッ素系界面活性剤会合状態の解明

(金大院自然研) ○小澤匡弘、浅川毅、太田明雄、宮岸重好

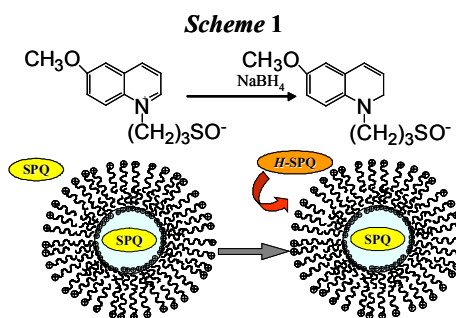
金沢大学工学部物質化学工学科は、2004年9月に角間キャンパスに移転し、理学部と薬学部と共に自然科学研究科に所属することとなり、新校舎での新たな研究教育体制がスタートしています。現在研究室は、宮岸重好教授、浅川毅助教授、太田明雄助手の3名をスタッフとし、博士後期課程5名(社会人2名)、前期課程6名、学部4年生7名の合計21名で構成されております。

これまで当研究室は、アミノ酸系界面活性剤とフッ素系界面活性剤を主に用いて、これらの会合、界面吸着挙動について実験的検証と物理化学的観点からの解明に取り組み、特に界面活性剤混合系における分子集合体ミセル形成、そのミセル内部の微視的状态および混和性、分子分布状態について実験的・理論的解明を行ってきました。

私は、現在博士後期課程一年に在籍し、主にカチオン性フッ素系界面活性剤の研究に従事してきました。炭化フッ素鎖は、剛直で高い疎水性を有し、フッ素系界面活性剤は炭化水素系界面活性剤に比べて臨界ミセル濃度(CMC)が低く、優れた界面活性を呈します。私達はこれまでにピリジニウム塩型のフッ素系界面活性剤を合成し、その水溶液物性について検討しています。これは、低濃度側では比較的小さなミセルを形成するのに対し、高濃度側では棒状や紐状のミセルに成長します。また、ジエチルアミンによるエポキシドの開環反応で合成したアンモニウム塩型フッ素系界面活性剤(FC₈DAC)については、添加塩に伴うベシクル形成をAlmgren博士ら(Uppsala大学)とCryo-TEM観察によって見出してきました。

これらの系に、ハロゲン化物イオンにより選択的に消光する6-methoxy-N-(3-sulfopropyl)quinolinium (SPQ)を適用し、ミセルの対イオンの解離状態に関する知見を得て、対イオン解離度が劇的に変化する点がCryo-TEM観察による結果と合わせて、会合体の形状変化点として評価出来ることを見出してきました。また、水溶液中で界面活性剤の会合体形成する主な駆動力は疎水性相互作用ですが、分子内に水酸基を有するFC₈DAC活性剤のベシクル形成には水素結合も重要であり、重水中でのCMCが低くなることを蛍光挙動から確認しました。さらに、モデル図で示している様に、SPQのNaBH₄還元による蛍光強度変化を利用して、ベシクル内水相の存在に関する知見を得てきました。

ハロゲン化物イオン選択性蛍光プローブの蛍光消光挙動を利用すると、カチオン性フッ素系界面活性剤のCMCと対イオン解離度が簡便に決定でき、比較的少量のサンプルでも他の実験手法では得られない定量的知見が得られることが分かりました。また、ベシクル内水相中で濃度消光したカルボキシフルオレセインの漏出に伴う蛍光強度増加を観察する実験が良く行われているが、SPQの還元に伴う蛍光スペクトル変化を利用すれば、ゲルろ過などでベシクル外水相中の蛍光プローブを除去しなくてもベシクルの存在を示すことが可能と考えております。



発表題目：

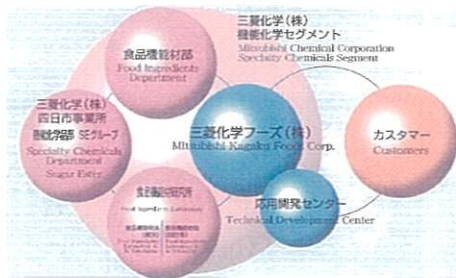
三菱化学フーズ株式会社とは

～シュガーエステル・ポリグリエステルなどの乳化剤を使ったトピックスのご紹介～

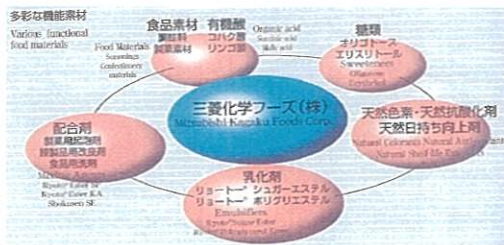
所属：三菱化学フーズ株式会社 市場開発部
廣瀬 友和

三菱化学フーズ企業理念

「私たちは、食文化・生活文化の未来と夢の創造に貢献し、社会と共に発展することを目指します」



研究開発は、基礎研究・製造技術の開発を担当する三菱化学(株)食品機能材研究所と当社の技術サービス専門の部署・応用開発センターが一体運営されており、基礎から応用までの一貫した研究開発体制によってカスタマー・オリエンテッドに徹したサービス体制となっております。



乳化剤、糖類、配合剤からスタートし、天然色素や天然抗酸化剤など製品領域を拡大し、食品機能剤のニーズをトータルにカバーしております。

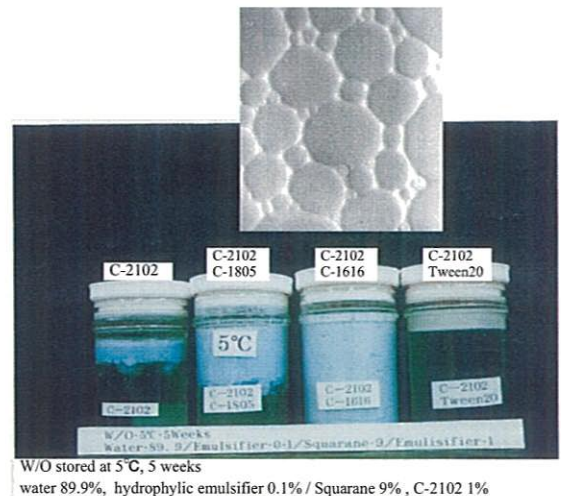
トピックス：

高内相 W/O エマルジョン (HIPE)

ポリグリエステルとシュガーエステルを使用することで、内相比率を 74%以上まで高めることが可能。瑞々しくさっぱりした感触のクリームとなり、内相（水相）に色々な剤を溶し込めます。

- 水 89.9%
- スクアラン 9%
- 高HLB乳化剤 0.1%
- 低HLB乳化剤 1%

| 乳化剤 | | 安定性 | | | | | |
|---------------|---------------|-----|----|------|-----|----|------|
| | | 2週間 | | | 3週間 | | |
| 低HLB乳化剤 | 高HLB乳化剤 | 5°C | 室温 | 40°C | 5°C | 室温 | 40°C |
| C-2102 | None | △ | △ | × | △ | △ | × |
| C-2102 | C-1616 | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | △ |
| C-2102 | C-1811 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | △ |
| C-1701 | C-1816 | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | △ |
| ER-60D | C-1616 | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ |
| ER-60D | S-10D | ◎ | ◎ | ◎ | ◎ | ○ | △ |
| C-2102 | Tween20 | × | × | × | × | × | × |
| C-1802 | C-1616 | × | △ | △ | × | × | × |



W/O stored at 5°C, 5 weeks
water 89.9%, hydrophilic emulsifier 0.1% / Squarane 9%, C-2102 1%