

九州シンクロトロン光研究センター 県有ビームライン利用報告書

課題番号：2207071R

BL番号：BL11

(様式第5号)

エミューオイル適用時における皮膚角層構造変化の解析
Analysis of structural changes in stratum corneum during application of emu oil.

本間 希^{1,2)}、徳留 嘉寛²⁾
Nozomi Honma, Yoshihiro Tokudome

佐賀県産業イノベーションセンター、佐賀大学
Saga Prefecture Industrial Innovation Center, Saga University

- ※1 先端創生利用（長期タイプ）課題は、実施課題名の末尾に期を表す（Ⅰ）、（Ⅱ）、（Ⅲ）を追記してください。
- ※2 利用情報の公開が必要な課題は、本利用報告書とは別に利用年度終了後2年以内に研究成果公開〔論文（査読付）の発表又は研究センターの研究成果公報で公表〕が必要です（トライアル利用を除く）。
- ※3 実験に参加された機関を全てご記載ください。
- ※4 共著者には実験参加者をご記載ください（各実験参加機関より1人以上）。

1. 概要（注：結論を含めて下さい）

エミューオイル適用時の角層構造変化を高輝度 X 線で行うことを目的とした。入手経路の異なる 2 種類の全層皮膚から角層を採取し、BL11 で X 線回折プロファイルを得た。さらに、角層に、エミューオイル、油剤 A、油剤 B を適用させ、X 線回折プロファイルを得た。角層に特有のピークが検出されたが、角層の採取方法によっては小さな多数のピークが検出された。また、油剤適用で、未適用角層と比較してピークがシフトしている可能性があるデータが得られた。エミューオイルは角層のラメラ構造や炭化水素鎖充填構造に影響している可能性があり、今後引き続き検討を行う。

(English)

The purpose of this study was to perform high intensity X-rays of stratum corneum structural changes during emu oil application. The stratum corneum was collected from two different whole skin layers with different access routes, and X-ray diffraction profiles were obtained at BL11. In addition, emu oil, oil A, and oil B were applied to the stratum corneum, and X-ray diffraction profiles were obtained. Peaks specific to the stratum corneum were detected, but a large number of small peaks were detected depending on the method of stratum corneum sampling. Data were also obtained for oil application, which may have shifted the peaks compared to the oil-unapplied stratum corneum. Emu oil may affect the lamellar structure and hydrocarbon chain packing structure of the stratum corneum and will continue to be investigated.

2. 背景と目的

皮膚の最外層には角層と呼ばれる組織が存在する。体内からの水分蒸散を防ぎ、体外からの遺物侵入を防ぐなどのバリア機能を有する。角層は角質細胞と角層細胞間脂質から構成され、特に角層細胞間脂質のラメラ構造や炭化水素鎖の充填構造が、バリア機能や水分保持能を左右することが知られている。このバリア機能や水分保持能に重要な角層構造の配列は、高輝度 X 線で解析できうることが多くの研究者から報告されている。

エミュー (*Dromaius novaehollandiae*) は、ダチョウに次いで二番目に大きいオーストラリア原産の走鳥類である。佐賀県基山町では、耕作放棄地を活用してエミューの飼育・加工・製造販売を行っており、地域の振興を図っている。食肉や羽など様々な産業分野での応用性が高いエミューであるが、中でも皮下脂肪からとれる天然の「エミューオイル」は抗炎症や抗酸化作用を有することが

報告されており、化粧品や医薬部外品に活用できる。オーストラリアでは医薬品（抗炎症薬）として既に認可され、国内でもエミューオイルを配合した化粧品が販売されている。しかしながら、皮膚への機能性に関する報告は十分でなく、特に皮膚バリア機能や水分保持能に重要な角層に対する影響の報告は十分ではない。

申請者らは、佐賀県産エミューオイルが水溶性または脂溶性モデル化合物の皮膚浸透性を促進することを明らかとしてきた（日本薬学会第143年会）。その皮膚浸透促進機構に関してはFTIRなどで検討をしているものの、十分ではない。そこで、本課題ではより詳細にそのメカニズムを明らかにするためにエミューオイル適用後の角層ラメラ構造や炭化水素鎖充填構造の変化を解析し、汎用化粧品原料である流動パラフィン（油剤A）またはスクワラン（油剤B）を適用した角層構造と比較することで、皮膚に対するエミューオイルの有用性について検討することを目的とした。

3. 実験内容（試料、実験方法、解析方法の説明）

試料：皮膚はヒト凍結皮膚（Biopredic（BPI）社、Science Care（SC）社）を用いた。Trypsin処理により皮膚から角層を剥離し自然乾燥させた。その後、湿度コントロールされた（95%RH/室温）密閉容器内に保存し、水分量を調整した角層を試料サンプルとした。試料サンプルは、直径2.0 mmのソーダガラスキャピラリーに封入し測定に供した。また、オイル適用については、角層にエミューオイル、油剤AまたはBをそれぞれ一定時間適用し、余分な油分を除去した後キャピラリーに封入した。

実験方法：ベヘン酸銀の粉末試料を用いてキャリブレーションを行い、カメラ角度・カメラ距離・ビームセンターを算出した。以前までの検討で得られた最適条件より、露光時間は360秒に設定した。カメラ長は約330 mmとした。照射強度は8または12 keVとした。キャピラリーに封入した角層試料サンプルを測定治具で固定し、BL11にて測定した。別途、バックグラウンド（BG）補正に使用するため、空のキャピラリーとオイル単体が封入されたキャピラリーも同様に測定した。

解析方法：得られた二次元散乱像をFit2d（ESRF提供）により一次元化し、オイル未適用（角層のみ）についてはサンプルの値より空のキャピラリーの値を、オイル適用（角層+オイル）についてはオイル単体が封入されたキャピラリーの値を差し引いた後、Microsoft Excelでグラフ化した。

4. 実験結果と考察

角層を化粧品汎用素材の油剤Aや油剤B、エミューオイルに浸漬させた角層の小角または広角のX線回折検討を行った。今回は、X線強度、露光時間を最適化することで、小角・広角同時測定を行うこととした。

本研究課題では各種油剤適用後のヒト角層の小角・広角同時測定を行うことを目的とした。最初の検討で8keVまたは12keVで360秒照射して検討を始めた。BPI社またはSC社から入手した全層皮膚から角層のX線回折プロファイルを確認した（図1）。BPI社の角層は我々が今までに得てきたものと同様のX線回折プロファイルが得られた（図1左）。一方、SC社から入手した皮膚（角層）では微小ではあるものの多数のピークが観察された（図1右）。図1の角層は入手した全層皮膚から皮下脂肪を自ら除去してから得たものである。図1左で使用した皮膚はトリプシン処理によって角層を通常通りに得ることができたが、図1左の皮膚は皮膚が皮下組織を多く含んでいたため、トリプシン溶液への浸漬時間が比較的長かったこと、微量な皮下脂肪が溶液中に溶け出し、溶け出した脂質が角層表面に付着している可能性を考えた。その結果として、微小な多数のピークを認めた可能性もある。今後はできるだけ皮下脂肪組織が少ない皮膚から角層を採取することで不明な微小なピークが検出されないように検討できると考えている。

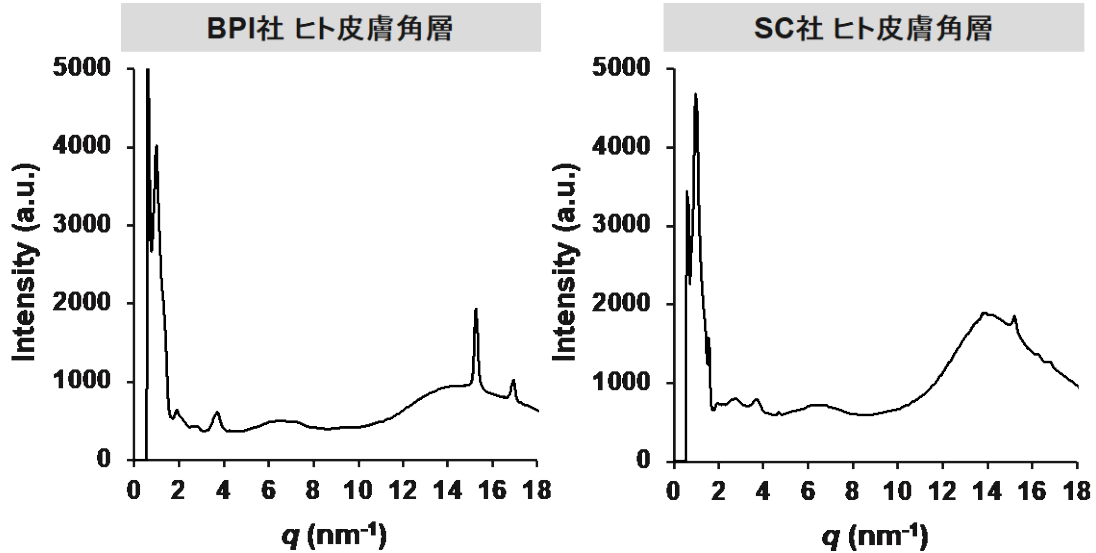


Fig. 1 入手経路の異なる皮膚から得た角層のX線回折プロファイル

次に X 線照射強度を 12 keV に固定し、露光時間を 60, 180 または 360 秒に変化させて検討した (図 2)。X 線照射時間を長くすることでピーク強度は増加し S/N 比は良好になった。ピーク検出などを考えると 360 秒照射が最適であると判断し、今後の検討を行った。

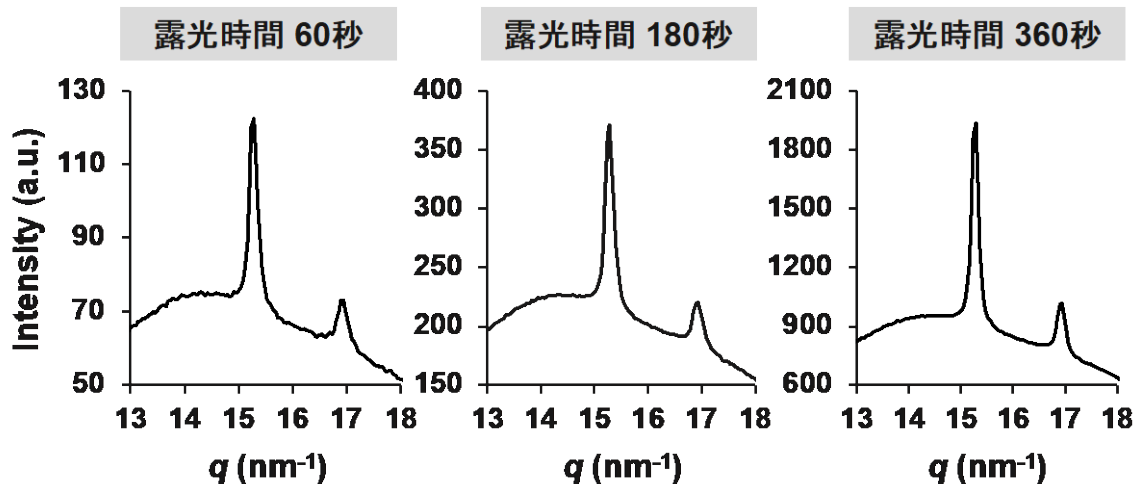


Fig. 2 露光時間を変化させた際のX線回折プロファイル

図 2 には図 1 左の結果で示す皮膚を用いて検討結果を示した。

図 3 には、皮膚単体、3 種の油剤 (エミューオイル、油剤 A、油剤 B) を添加した後の X 線回折プロファイルを示した。皮膚に特有なラメラ構造由来のピーク ($q=1 \text{ nm}^{-1}$ 付近) や炭化水素差の充填構造 ($q=15$ または 17 nm^{-1} 付近) のピークがしっかり検出されているので、今後、油剤適用によってラメラ構造、角層細胞脂質充填構造などへの影響を明らかにするため様々な角度でデータ解析を行う予定である。

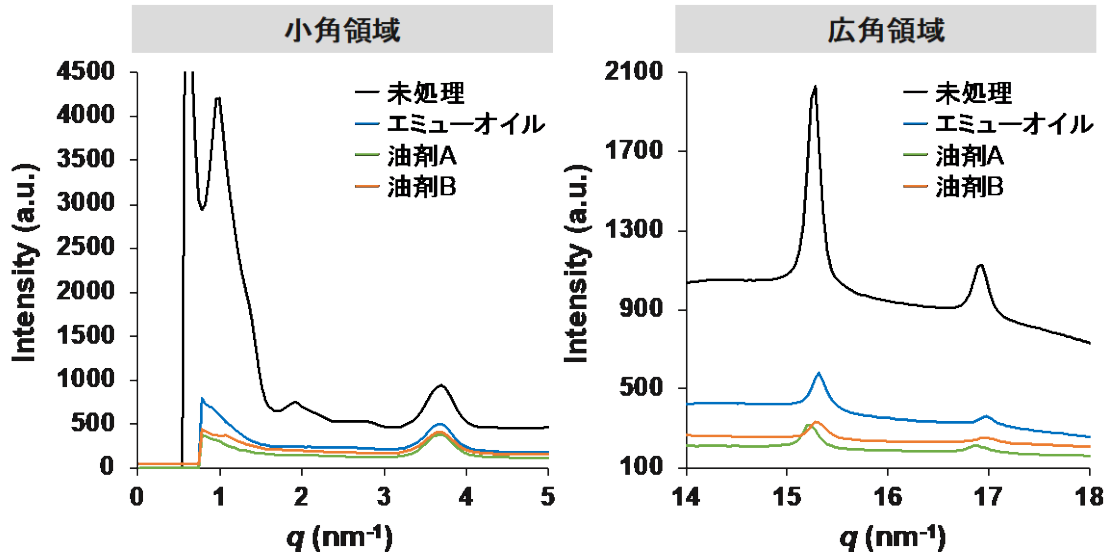


Fig. 3 油剤適用角層のX線回折プロファイル

5. 今後の課題

採取した皮膚の入手先や前処理によっては得た角層の X 線回折プロファイルに影響することがわかったので、入手する角層の処理方法に関しては十分に注意が必要である。条件に関しては目処がたったので今後は経時的にサンプル計測することなどで、サンプル塗布後の構造変化（時間的構造変化）を明らかになるようにしたい。

6. 参考文献

なし。

7. 論文発表・特許（注：本課題に関連するこれまでの代表的な成果）

なし。

8. キーワード（注：試料及び実験方法を特定する用語を 2～3）

角層細胞間脂質、皮膚、オイル

9. 研究成果公開について（注：※2に記載した研究成果の公開について①と②のうち該当しない方を消してください。また、論文（査読付）発表と研究センターへの報告、または研究成果公報への原稿提出時期を記入してください。提出期限は利用年度終了後 2 年以内です。例えば 2018 年度実施課題であれば、2020 年度末（2021 年 3 月 31 日）となります。）

長期タイプ課題は、ご利用の最終期の利用報告書にご記入ください。

- | | | | |
|----------------|--------|---|----|
| ① 論文（査読付）発表の報告 | （報告時期： | 年 | 月） |
| ② 研究成果公報の原稿提出 | （提出時期： | 年 | 月） |