

九州シンクロトン光研究センター 県有ビームライン利用報告書

課題番号：36-2406034I

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

¹ 佐賀県産業イノベーションセンター、² 佐賀大学 化粧品科学講座

¹ Saga Prefecture Industrial Innovation Center

² Laboratory of Cosmetic Sciences, Saga University

- ※ 1 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）。
- ※ 2 実験に参加された機関を全てご記載ください。
- ※ 3 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）

エミューオイルは、皮膚への浸透性が高いとされている。我々は、佐賀県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にしてきた。本課題では、エミューオイル適用時の角層構造変化を検討するため、シンクロトン光の BL11 で小角・広角同時測定を行った。佐賀県エミューオイルを含む 7 種類のオイルで浸漬処理した角層の X 線回折プロファイルを得た。その結果、無処理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、今後はより詳細な解析を行う。

(English)

Emu oil is considered to have high skin permeability. We have shown that Saga prefecture emu oil promotes skin penetration of hydrophilic or hydrophobic model compounds. In this study, small- and wide-angle simultaneous measurements were performed by synchrotron radiation BL11 to investigate the structural changes in the stratum corneum during emu oil application. X-ray diffraction profiles were obtained for stratum corneum treated by immersion in seven different oils, including Saga prefecture emu oil. Results, data were obtained that showed a possible peak shift compared to the non-treated stratum corneum. Emu oil may affect the lamellar structure and the structure of the hydrocarbon chain packing of the stratum corneum, and more detailed analysis will be performed in the future.

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、体外からの異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 線で解析でき得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多くない。

我々は、佐賀県の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）。また、産地（生息地）の異なるエミューオイル間で皮膚浸透促進効果に差異があり、含まれる脂肪酸の配合比・量も異なることが明らかとなった（日本油化学会 第 61 回年会）。しかし、その皮膚浸透促進機構に関して、FTIR など で検証しているもののそれだけでは未だ不十分である。以上のことから、角層細胞間脂質のラメラ構造や炭化水素鎖充填構造に着目し、エミューオイルの角層構造に対する作用メカニズムを検討することとした。

2023 年 1 月に実施した課題 No. 2207071R（探索先導利用 R タイプ）では、測定条件（X 線照射強度、露光時間等）を最適化することで小角・広角同時測定を可能とした。また、2 社（Biopredic (BPI) 社、Science Care (SC) 社）のヒト凍結皮膚からそれぞれ角層を採取し測定したところ、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。一方、SC 社の角層は、全層皮膚から角層を採取する前処理工程に要因があったためか多数の微小なピークが観察された。よって、以降の実験には BPI 社の皮膚から採取した角層を用いることとした。別実験において佐賀県のエミューオイル・流動パラフィン・スクワランで処理した角層は、無処理のもの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。

そこで本課題では、前回（課題 No. 2207071R）の検討で得た最適な測定条件を用いて小角・広角同時測定を行い、佐賀県エミューオイル・流動パラフィン・スクワランが角層の構造変化に及ぼす影響をより詳細に解析することを目的とした。さらに、新たな比較対照として産地（生息地）の異なる種々エミューオイルや他動物由来オイルの馬油を条件に追加して評価した。

3. 実験内容（試料、実験方法、解析方法の説明）

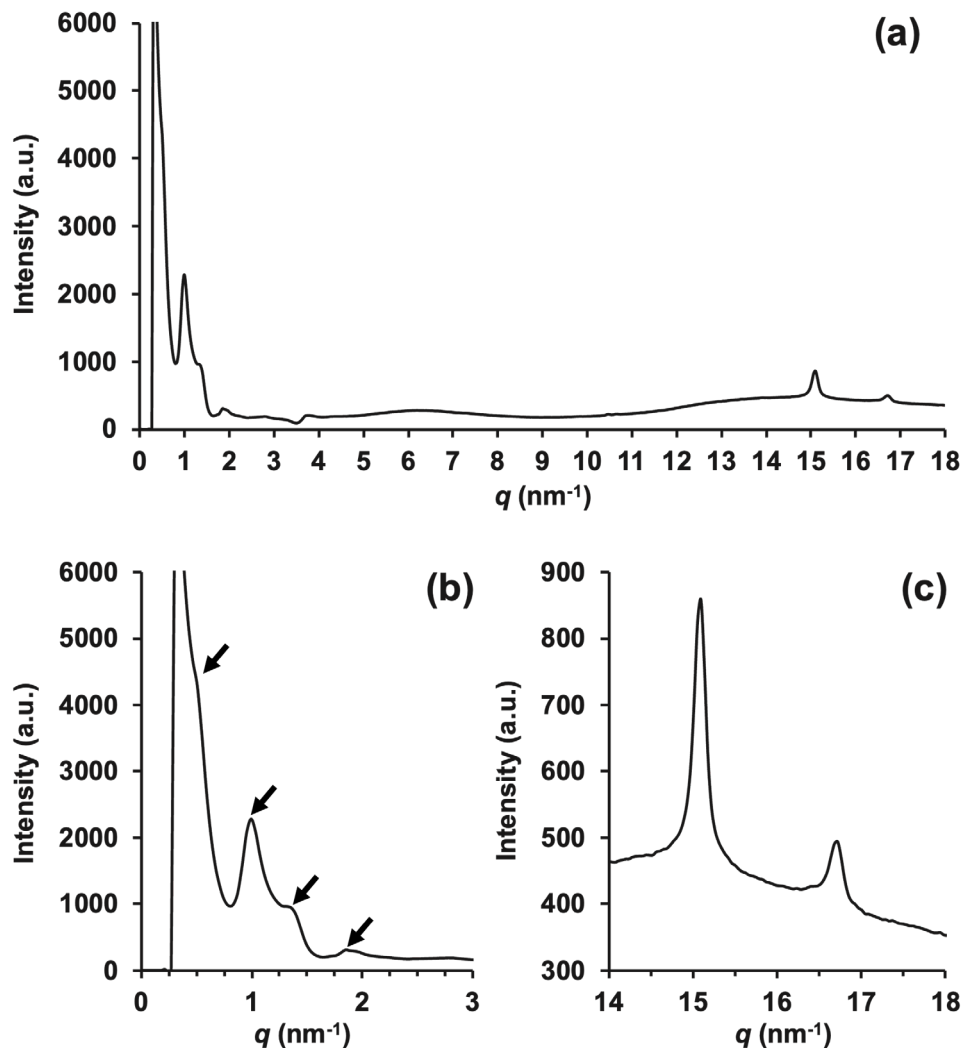
試料：皮膚は、前回の測定結果をもとにBPI社のヒト凍結皮膚を用いた。Trypsin処理により皮膚から角層を剥離し自然乾燥させた。その後、湿度コントロールされた（95%RH / 室温）密閉容器内に保存し、水分量を調整した角層シートを無処理時の試料サンプルとした。オイル処理については、水分調整後の角層シートを産地（生息地）の異なるエミューオイル4種のほか、馬油・流動パラフィン・スクワランそれぞれに浸漬した。32°C条件下で24時間浸漬後、角層シートを回収し余分な油分を除去した。これら試料サンプルを直径2.0 mmのソーダガラスキャピラリーに封入し、九州シンクロトロン光研究センターのBL11での測定に供した。

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。真空パスを用いて照射強度は12 keVとし、小角・広角同時測定を行った。キャピラリーに封入した角層試料サンプルを試料ホルダーのアルミプレートに固定し、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、空のキャピラリーも同様に測定した。

解析方法：測定で得られた二次元散乱像は、解析ソフトFit2d（ESRF提供）を用いて一次元プロファイルに変換処理した。一次元化した強度データを入射X線強度で補正し、バックグラウンド補正として空のキャピラリーの値を差し引いた。補正後の強度データは、Microsoft Excelでグラフ化した。また、グラフ処理ソフトIgor Pro（WaveMetrics社）を用いてガウス関数によるフィッティングを行い、ピーク強度を算出した。

4. 実験結果と考察

BPI 社のヒト皮膚から剥離した角層を用いて、はじめにオイルサンプルを適用しない（無処理）角層の小角・広角同時測定を行った（図 1a）。結果、小角領域では黒矢印で示した通り、長周期ラメラ構造の 1 次反射に由来するピーク（ $q = 0.45 \text{ nm}^{-1}$ 付近）、長周期ラメラ構造の 2 次反射と短周期ラメラ構造の 1 次反射に由来するピーク（ $q = 1 \text{ nm}^{-1}$ 付近）、長周期ラメラ構造の 3 次反射に由来するピーク（ $q = 1.4 \text{ nm}^{-1}$ 付近）、長周期ラメラ構造の 4 次反射に由来する回折ピーク（ $q = 1.9 \text{ nm}^{-1}$ 付近）が検出された（図 1b）。また、広角領域では、 $q = 15, 17 \text{ nm}^{-1}$ 付近に細胞間脂質の炭化水素鎖充填構造である六方晶（面間隔 0.42 nm ）と直方晶（面間隔 $0.37, 0.42 \text{ nm}$ ）に由来する回折ピークが検出され（図 1c）、



いずれも角層細胞間脂質に固有のピークが確認された。

図 1. 無処理角層の X 線回折ピークプロファイル

- (a) ピークプロファイルの全形 : $q = 0-18 \text{ nm}^{-1}$ (b) 小角領域（ラメラ構造） : $q = 0-3 \text{ nm}^{-1}$
(c) 広角領域（炭化水素鎖充填構造） : $q = 14-18 \text{ nm}^{-1}$

続いて、各オイルサンプルに 24 時間浸漬処理した角層を測定し、小角と広角領域に分けてグラフを作成した（図 2）。オイルサンプルにおいては、佐賀県エミューオイル処理群 [青色] のほか生息地の異なる（北海道・アメリカ・オーストラリア）各エミューオイル処理群 [水色]、その他（馬油・流動パラフィン・スクワラン）各オイル処理群 [灰色] と図 1 の無処理群 [黒色] の計 8 群で比較した（〔 〕 内は、各サンプル群のピークプロファイルに用いた色を示している。）。小角領域では、生息地の異なる各エミューオイル処理群 [水色] において、 $q = 1.4 \text{ nm}^{-1}$ 付近のピークが広角側（右）へシフトしたかあるいは新たなピークが検出された（図 2a）。しかし、オイル単体で測定したピークプロファイルを確認したところ、オイル由来のピークであることが判明した（データ省略）。このことか

ら、角層の構造変化による新規のピークではなく、角層に付着したオイル由来のピークであると考えられる。 $q = 1.9 \text{ nm}^{-1}$ 付近のピークは、無処理群と比較してオイル処理群いずれもピークが消失する傾向が示されたが、サンプル群によってはピーク強度が全体的に低くそれに付随してピークが消失したようにみられた。また、ピーク位置の変化は認められなかった。広角領域では、無処理群と比較して佐賀県エミューオイル処理群以外のオイル処理群において、 $q = 15, 17 \text{ nm}^{-1}$ 付近のピーク位置がシフトする傾向が確認された。

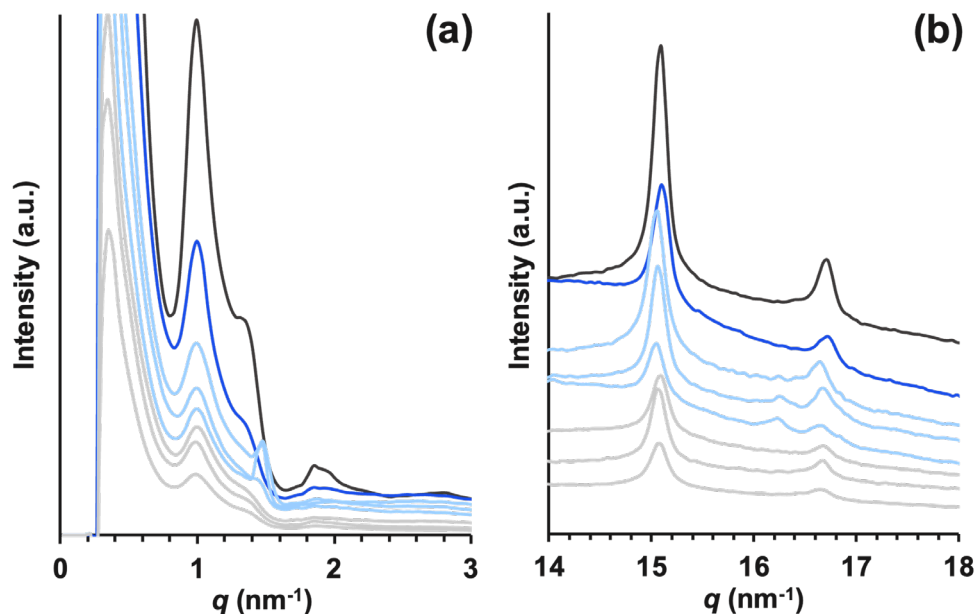


図 2. 無処理角層と各オイル処理角層の X 線回折ピークプロファイル

(a) 小角領域（ラメラ構造）： $q = 0-3 \text{ nm}^{-1}$ (b) 広角領域（炭化水素鎖充填構造）： $q = 14-18 \text{ nm}^{-1}$

— 無処理角層 — 佐賀県エミューオイル処理角層

— 生息地の異なる（北海道・アメリカ・オーストラリア）各エミューオイル処理角層

— その他（馬油・流動パラフィン・スクワラン）各オイル処理角層

5. 今後の課題

前回（課題 No. 2207071R）測定した結果をもとに、BPI 社のヒト皮膚（角層）を用いて評価した。佐賀県エミューオイルを含む 7 種類の各オイル処理群と無処理群の角層構造を比較した結果、広角領域において、 $q = 15, 17 \text{ nm}^{-1}$ 付近の角層細胞間脂質の炭化水素鎖充填構造に由来するピーク位置がシフトする傾向が認められ、構造変化している可能性が示唆された。しかし、角層の構造変化の有無を明確にするためには、総合的に解析する必要がある。今後は、ガウスフィッティングによりピーク強度やピーク位置を算出し、より詳細な解析を行う予定である。加えて、生体試料の部位差や個体差を考慮し例数を増やして測定したため、それらデータを統計学的に分析・評価できるよう検討したい。

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）

皮膚、角層細胞間脂質、炭化水素鎖充填構造、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） |