


(※本報告書は英語で記述してください。ただし、産業利用課題として採択されている方は日本語で記述していただいても結構です。)

	承認日 Date of Approval 2015/1/4 承認者 Approver Jun-ichi Suzuki 提出日 Date of Report 2014/9/16
課題番号 Project No. 2014A0123 実験課題名 Title of experiment Study on the structural change of human stratum corneum induced by the treatment of surfactant solutions using small- and wide-angle neutron scattering. Part 3 界面活性剤処理によるヒト皮膚角層の構造変化の中性子小角・広角散乱法を用いた解析(3) 実験責任者名 Name of principal investigator 久米卓志 (Takuji Kume) 所属 Affiliation 花王株式会社 解析科学研究所 (Kao Corp.)	装置責任者 Name of responsible person 鈴木淳市 (Jun-ichi Suzuki) 装置名 Name of Instrument/(BL No.) 大強度型中性子小中角散乱装置 (大観)/(BL-15) 実施日 Date of Experiment 2014/6/12 10:00~2014/6/15 10:00

試料、実験方法、利用の結果得られた主なデータ、考察、結論等を、記述して下さい。(適宜、図表添付のこと)  
 Please report your samples, experimental method and results, discussion and conclusions. Please add figures and tables for better explanation.

1. 試料 Name of sample(s) and chemical formula, or compositions including physical form. ・ヒト踵角層; 固体(粉末); (花王社内のポランディアの健常者の踵より取得した試料) ・ヒト皮膚角層シート(シート状、Biopredic 社より購入) ・界面活性剤(以下活性剤と表記): 重水素化ドデシル硫酸ナトリウム(d-SDS (SDS-d25)); $C_{12}D_{25}SO_4Na$ ・重水 $D_2O$ 重水素化ドデシル硫酸ナトリウムを重水に溶解して 3%および 0.3%溶液を作製した。重水素化ドデシル硫酸ナトリウム溶液および重水は pH(pD)を 7 に調整し、角層試料に浸漬させるための測定用試料(溶液)とした。
--

2. 実験方法及び結果 (実験がうまくいかなかった場合、その理由を記述してください。) Experimental method and results. If you failed to conduct experiment as planned, please describe reasons. <b>【実験方法】</b> BL-15(大観)にて、角層(SC)+重水( $D_2O$ )、角層+活性剤溶液(d-SDS/ $D_2O$ )、重水および活性剤溶液の中性子散乱測定を実施した。活性剤溶液としては、d-SDS/ $D_2O$ (3%, 0.3%)を用いた。活性剤溶液および重水は pH 7 に調整した。 角層試料への重水および活性剤溶液の浸漬には、試料セルに厚み(光路長)2mm のタイコセルを用い、オートサンプルチェンジャーを利用して 30°Cおよび 50°Cで測定を実施した。これまでの SPring-8・J-PARC での実験に基づき角層の変化が十分に平衡に達すると考えられる 1 時間以上の時間(実際には浸漬後 4 時間以上)経過後に測定を実施した。活性剤溶液および重水のみ測定には厚み 2mm の液体用セルを用いた。 角層粉末を用いた実験では、角層試料と浸漬溶液の比率(浴比=溶液重量/角層試料重量)の依存性を検証するため、浴比 2, 15 で測定を実施し、前回(2013A0062)での浴比 5 での実験と合わせて比較を行った。角層シートを用いた実験では、2×6mm に切り出した角層シートを 200 枚/6mm 厚で積層してセル内にセットして 5mmφカドミウムマスクを用いて角層試料部分にビームが当たるように調整した。
--

## 2. 実験方法及び結果(つづき) Experimental method and results (continued)

測定時間は、ビーム(マスク)径を考慮して、角層粉末を用いた場合は1サンプルあたり 2.5 時間相当 (kicker = 225000 counts)、角層シートを用いた場合は1サンプルあたり 5 時間相当 (kicker = 450000 counts)、活性剤溶液および重水のみではサンプルのコントラストに合わせて1~2 時間相当 (kicker = 90000~180000 counts) とした。実際の測定では小角・中角・高角・背面バンクの検出器を用いているが、解析では目標としている角層のケラチン線維のマイクロフィブリル等の情報が含まれる小角バンク領域のデータのみ解析処理を実施した。(中角以上の領域では角層のH由来の非干渉性散乱により有益な構造情報を得ることが困難である。)

角層粉末を用いた測定・活性剤溶液および重水のみでの測定では、散乱が等方的であるため、円環平均により 1 次元化した散乱プロファイルを得た。積層角層シートを用いた測定では、シートの積層方向に対して垂直と水平の $\pm 10^\circ$  の範囲で扇形平均により 1 次元化した散乱プロファイルを得た。

### 【実験結果および考察】

今回測定した小角中性子散乱測定の結果を以下に示す。Fig. 1 は活性剤溶液および重水のみでの散乱プロファイルである。これまで(2013A 期)に実施した実験と同じく、重水素化活性剤と重水のコントラストマッチングにより、活性剤ミセル由来の散乱は現れず、活性剤溶液および重水の散乱プロファイルはほぼ一致した。従って、この後に示す角層試料への浸漬実験での散乱プロファイルにおいて、活性剤ミセル由来の散乱が角層構造由来の散乱に影響を与えていないことが確認された。

Fig. 2 は角層粉末を用いた測定の浴比依存性の結果である。ここで  $0.3 \sim 3 \text{ nm}^{-1}$  付近に現れている複数のピークはこれまでの検討により角層内のケラチンのマイクロフィブリル由来と推定している。重水の浸漬では浴比 2, 5, 15 でほぼ散乱プロファイル(ピーク)が変化しないのに対し、 $d\text{-SDS}/D_2O$  (3%) 溶液の浸漬では浴比の増加に伴いピークがブロードになった。浴比 2 では重水浸漬と活性剤溶液浸漬で散乱プロファイルが同等であったのに対し、浴比が増加すると活性剤溶液浸漬でピーク位置が低  $q$  側に移動していた。すなわち、低浴比(浴比 2)ではマイクロフィブリル構造の膨潤状態は両者で同等であるのに対し、高浴比になるほど活性剤溶液での浸漬のほうでマイクロフィブリル構造がより膨潤し、かつより乱れていたと考えられた。

Fig. 3 は角層粉末を用いた測定の濃度依存性の結果である。活性剤( $d\text{-SDS}$ )濃度が、0 と 0.3% では似た散乱プロファイルであるのに対し、3% ではピークが小角側に移動し、ブロードになっており、濃度が高くなるとマイクロフィブリル構造が膨潤し、乱れるものと考えられた。

Fig. 4 は積層角層シートを用いた実験の測定結果である。角層内のケラチン線維のマイクロフィブリル構造および細胞間脂質の層状(ラメラ)構造は積層した際に主に水平方向に沿っていると考えられるので、これらに由来する散乱は垂直方向に強く現れると予想される。今回得られた Fig. 4 の結果において、予想の通り垂直方向の散乱プロファイルの散乱強度が強く、かつ複数のピークが水平方向よりも顕著に表れていた。 $0.3 \sim 3 \text{ nm}^{-1}$  付近に現れている複数のピークは、細胞間脂質ラメラ由来のピークおよび角層粉末実験で観測されたマイクロフィブリル由来の複数ピークと考えられた。積層角層シートを用いた実験では浴比が 80 と大きく、角層粉末を用いた高浴比の実験と同様に活性剤( $d\text{-SDS}/D_2O$  (3%)) 溶液の浸漬(30°C)で、ピークがブロードになっていた。一方で、50°Cでの測定では、活性剤溶液浸漬で  $q = 0.6 \text{ nm}^{-1}$  と  $1.3 \text{ nm}^{-1}$  付近にピークが出現した。現状ではこのピークの由来は明確ではないが、今後角層粉末を用いた高温実験の実施や SPring-8 での実験との比較により明らかにしていきたい。

## 2. 実験方法及び結果(つづき) Experimental method and results (continued)

今回の、角層粉末を用いた浸漬実験では、活性剤溶液の浴比依存性・濃度依存性が明らかになった。また、積層角層シートを用いた浸漬実験では垂直方向の散乱強度が強く、角層構造由来と推定されるピークが顕著に現れた。角層粉末での実験と同様に、活性剤溶液を浸漬させたときにはケラチン線維のマイクロフィブリル構造が膨潤し乱れていることが考えられた。積層角層シート実験でのピーク(角層構造)の変化の詳細については、今回の J-PARC での実験と相補的に利用している SPring-8 での実験(2014A 期に実施済および 2014B 期以降に実施予定の同様の積層角層シートでの放射光X線散乱実験)との詳細な結果の比較を行い、由来や機構を明らかにしていきたい。

また、今後は時間の不足で実施できなかった角層粉末での高温実験や浴比を変えた積層角層シートでの中性子散乱実験などを通してさらに詳細な解析を検討したい。

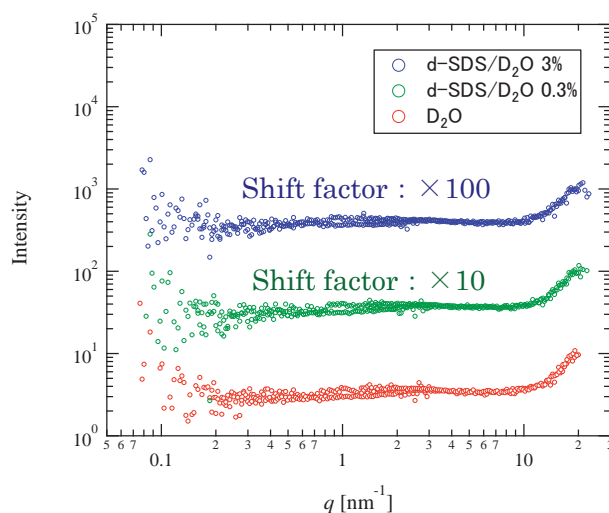


Fig. 1 SANS profiles of heavy water ( $\text{D}_2\text{O}$ ; pH 7) and surfactant solutions (d-SDS/ $\text{D}_2\text{O}$  0.3 and 3 %; pH 7) at  $30^\circ\text{C}$ . The intensities of d-SDS/ $\text{D}_2\text{O}$  0.3 and 3 % are shifted 10 and 100 times, respectively.

## 2. 実験方法及び結果(つづき) Experimental method and results (continued)

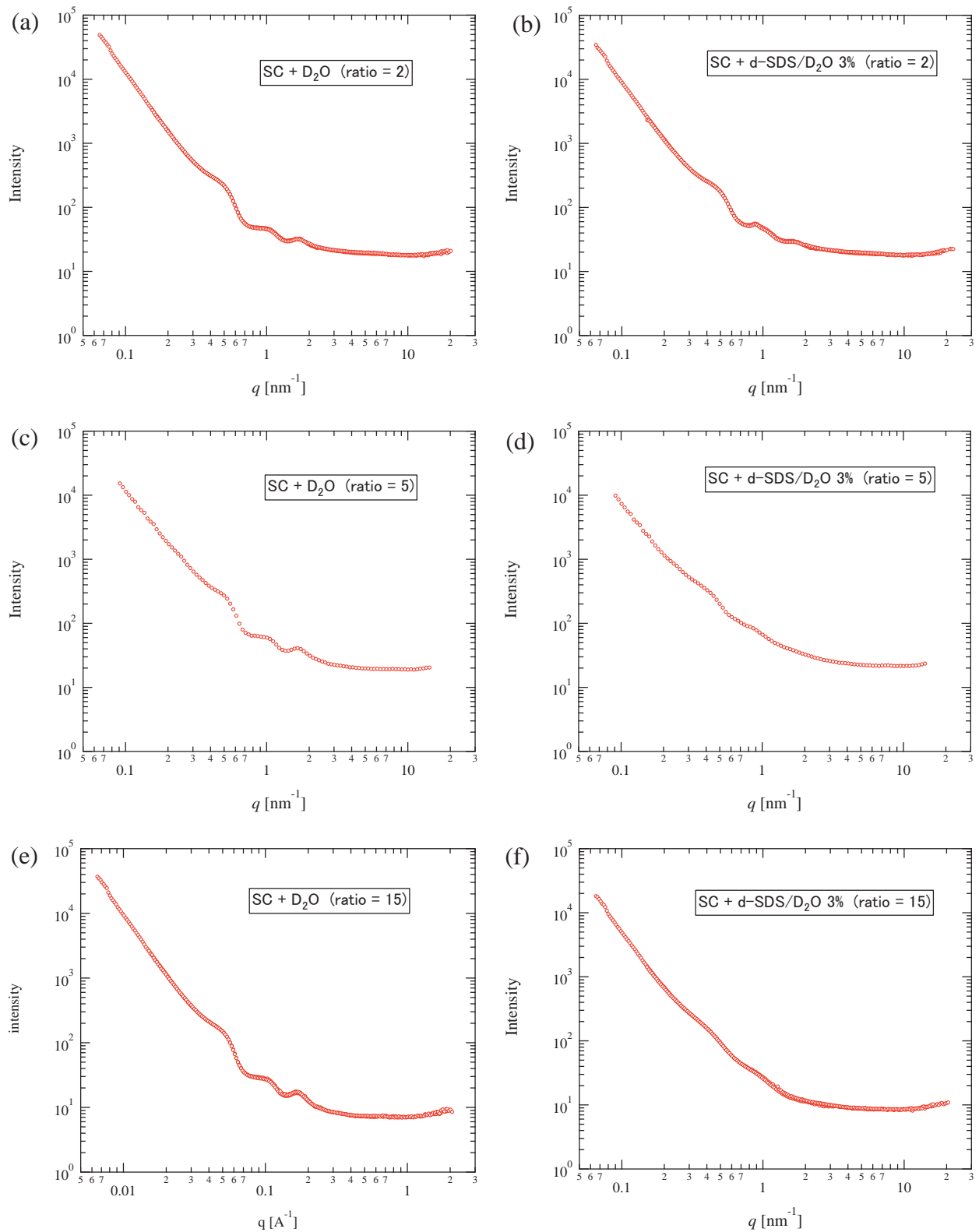


Fig. 2 SANS profiles of stratum corneum (powder) soaked with (a, c, e) heavy water (SC + D<sub>2</sub>O;  $r = 2, 5, 15$ , respectively), and (b, d, f) surfactant solutions (SC + d-SDS/D<sub>2</sub>O;  $r = 2, 5, 15$ , respectively) at pH 7, 30°C, where the ratio,  $r$ , is given by  $r = (\text{weight of solution} / \text{weight of SC})$ .

## 2. 実験方法及び結果(つづき) Experimental method and results (continued)

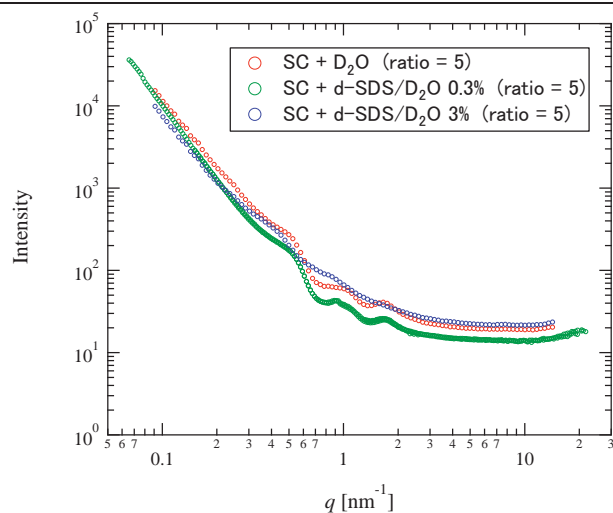


Fig. 3 SANS profiles of stratum corneum (powder) soaked with heavy water (D<sub>2</sub>O; pH 7), and surfactant solutions (d-SDS/D<sub>2</sub>O 0.3 and 3 %; pH 7) at 30°C. The ratios of solution to SC are all five.

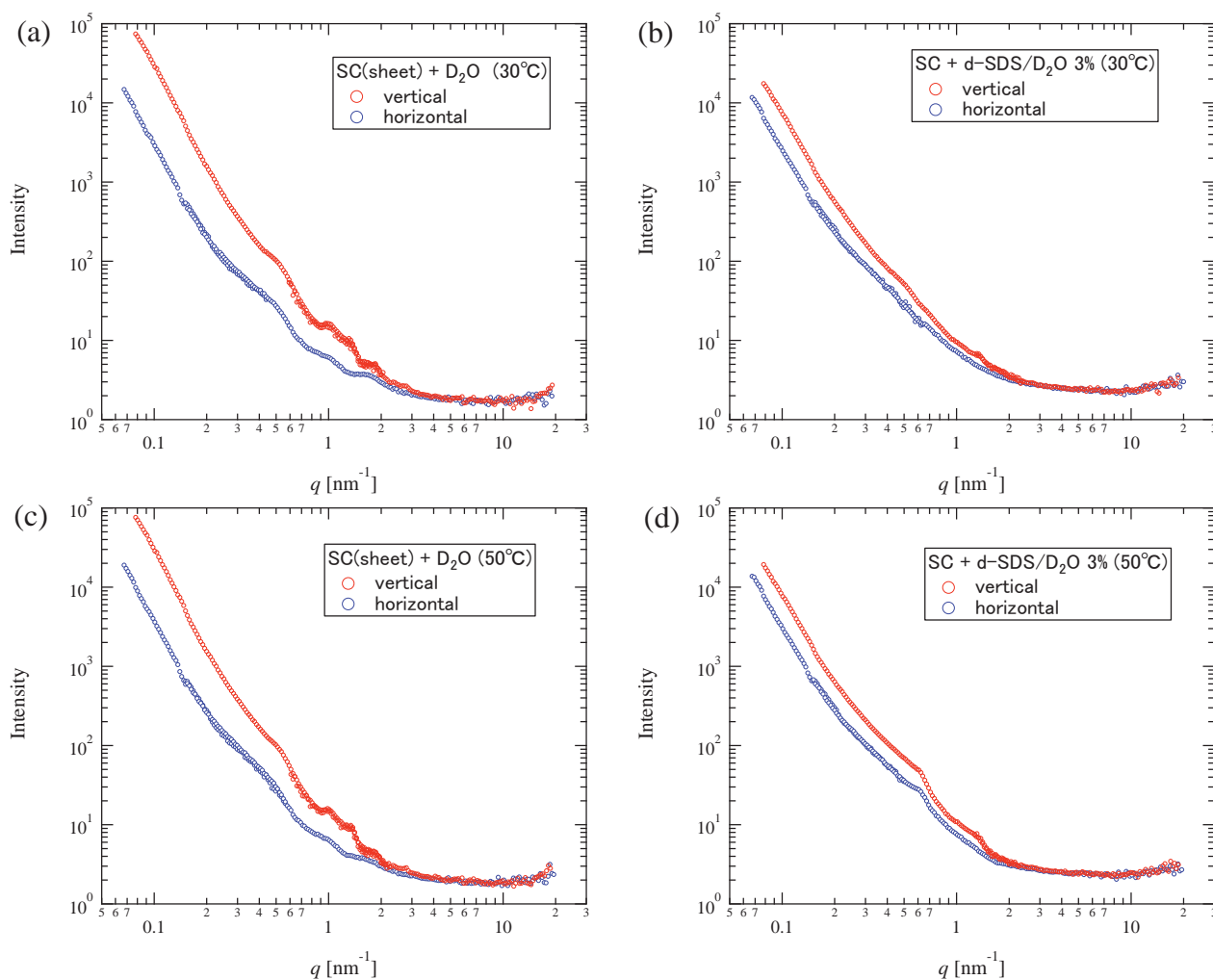


Fig. 4 SANS profiles of stratum corneum (stacked sheet) soaked with (a, c) heavy water (D<sub>2</sub>O; pH 7), and (b, d) surfactant solutions (d-SDS/D<sub>2</sub>O 3 %; pH 7). (a) and (b) were performed at 30°C. (c) and (d) were performed at 50°C. The ratios of solution to SC are 80.