

氏 名（本籍）                    熊                    坂                    久 美 子

学 位 の 種 類                    博                    士                    （ 医                    学 ）

学 位 記 番 号                    医                    第                    2 5 6 8                    号

学 位 授 与 年 月 日                    平 成                    5 年                    9 月                    8 日

学 位 授 与 の 条 件                    学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴                    昭 和 58 年 3 月 19 日  
岩手医科大学医学部卒業

学 位 論 文 題 目                    In vitro comparison of water-holding capacity  
of the superficial and deeper layers of the  
stratum corneum.

（生体角層シミュレーションモデルを使った表層  
側と生体側での角層機能の比較）

（主 査）

論 文 審 査 委 員                    教 授 田 上 八 朗                    教 授 半 田 康 延

教 授 名 倉                    宏

# 論文内容要旨

## I. 目的

角層は、表皮細胞の分化した角層細胞が15-20層積み重なってできた薄い膜であり、その厚さはわずかに20  $\mu$ 程度にすぎない。しかし、外界からの有害物質の侵入を防いだり、生体に必要な物質が外部に失われていくのを防ぐという、生体と外界を隔てるバリアとして重要な役割を果たしている。また、その水分含有状態は皮膚の滑らかさや、しなやかさを左右する大きな要因となっている。そして、その角層の水分保持機能に角層細胞間脂質や自然保湿因子の一つであるアミノ酸が大きく係わりあっていることが最近明かにされてきた。

生体の角層を粘着テープで次々とストリッピングしていくと、その角層水分量が徐々に増加していくという事実から角層は深層になるほど機能が優れているのではないかと推察されてきた。ここでは生体角層シミュレーションモデルを用いて、表層側と生体側の角層機能を比較検討した。

## II. 材料と方法

手術的に切断された17才女性の大腿伸側の正常皮膚を用い、Kligmanらの方法に従い角層シートを作った。スライドガラスの上にPBS (phosphate-buffered saline) を含んだ濾紙を5枚重ね、その上に角層シートを重ねその周囲を粘着テープで固定すると生体角層シミュレーションモデルが出来る。このモデルが生体角層と同様の水分動態を示すことは、教室の小幡が報告している。このモデルを用いることによって実際には生体にできないような負荷実験を行うことが可能になった。今回は角層シートを重ねる際に、表層側を上にしたモデルと生体側を上にしたモデルを作製した。

まず、各相対湿度における角層機能の変化を測定した。33%、69%、75%、90%、97%の相対湿度環境のデシケーター内に角層シミュレーションモデルを24時間静置し、その後、角層水分含有量、水負荷試験、経表皮性水分喪失量 (TEWL : transepidermal water loss) を測定した。また、相対湿度75%で、17才から70才までの角層シート6枚を用いて角層水分含有量とTEWLの測定も追加した。次に脱脂による変化を調べた。脱脂はアセトン/エーテル(1:1)で5分間行った。脱脂前後で角層水分含有量とTEWLを測定した。最後に角層の水溶性アミノ酸量を測定した。角層シートを粘着テープでストリッピングし、得られた角層を5グループに分けてアミノ酸を測定した。角層水分含有量は高周波伝導度測定装置で、経表皮性水分喪失はEvaporimeterで、アミノ酸はAminoacid analyzerを用いて測定した。

### Ⅲ. 結 果

相対湿度30%から90%までは有意の差をもって表層側の角層水分量が高い値を示した。他の角層の場合も年齢に関係なく同じ傾向を示した。TEWLは表層側、生体側のどちらから測定しても、その値に有意の差はなかった。角層水負荷試験による角層機能の解析では、角層表層側は相対湿度33%で水分吸収能が高く、相対湿度69%、75%、90%では水分放出定数が低かった。

脱脂では負荷後角層水分含有量はいずれの側でも減少するが、表層側で有意の差を持って減少した。TEWLはどちら側も脱脂前後で有意の差を持って上昇した。

角層シートの最下層に達するには13回のストリッピングを要した。これを①1-3、②4-6、③7-9、④10-12、⑤13の5グループに分けた。角層の中間と思われるグループ③にアミノ酸のピークが見られ、最下層の⑤は最も低い値を取った。

### Ⅳ. 考 察

相対湿度30%—90%まで表層側の角層水分含有量は生体側より高かったこと、角層水負荷試験で表層側の水分保持能が相対湿度69%、75%、90%で有意の差をもって良く、相対湿度33%で表層側の水分吸収能が高いことは、普通の環境下では表層側の角層が水分保持にすぐれていることを示唆している。一方、TEWLはどちら側から測定してもほぼ同じ値だった。このことは角層という角層細胞の集まりが一枚のシートになってバリア機能を営んでいることを意味する。

最近、わずか20 $\mu$ の厚さの角層の中でも、角層の水分動態に大きく関与している脂質、アミノ酸の成分、分布が各層で異なることが明らかになってきた。脱脂により角層水分含有量は減少し、TEWLは著明に上昇する。このことは、脂質が水分保持およびバリア機能に関係していることを示している。

以上の結果より、出来たばかりの深層の角層は機能的には表層の角層に比べて未熟であること、アミノ酸量からみると、中間角層が吸水能には優れているのではないかということが推察された。

## 審査結果の要旨

角層は、表皮細胞の分化した角層細胞が15~20層積み重なってできた薄い膜であり、その厚さはわずかに20 $\mu$ 程度にすぎない。しかし、外界からの有害物質の侵入を防いだり、生体に必要な物質が外部に失われていくのを防ぐという、生体と外界を隔てるバリアとして重要な役割を果たしている。また、その水分含有状態は皮膚の滑らかさや、しなやかさを左右する大きな要因となっている。そして、その角層の水分保持機能に角層細胞間脂質や自然保湿因子の一つであるアミノ酸が大きく係わりあっていることが最近明らかにされてきた。

生体の角層を粘着テープで次々とストリッピングしていくと、その角層水分量が徐々に増加していくという事実から角層は深層になるほど機能が優れているのではないかと推察されてきた。ここでは生体角層シミュレーションモデルを用いて、表層側と生体側の角層機能を比較検討した。生体角層シミュレーションモデルは、単離角層シートを用いたもので、このモデルが生体角層と同様の水分動態を示すことは、教室の小幡が報告している。

表層側モデルと生体側モデルを作製し、各相対湿度（33%~97%）、アセトン/エーテル（1：1）による脱脂を行い、角層水分含有量、水負荷試験、経表皮性水分喪失量（TEWL）を測定した。また、角層シートを粘着テープでストリッピングし、得られた角層を5グループに分けて水溶性アミノ酸量を測定した。

その結果、相対湿度30%から90%までは有意の差をもって表層側の角層水分量が高い値を示した。様々な年齢層のモデルでも年齢に関係なく同じ傾向を示した。TEWLはどちらから測定しても差はなかった。角層水負荷試験による角層機能の解析では、角層表層側は相対湿度33%で水分吸収能が高く、相対湿度69%、75%、90%では水分放出定数が低かった。脱脂では負荷後角層水分含有量はいずれの側でも減少するが、表層側で有意の差を持って減少した。TEWLはどちら側も脱脂前後で有意の差を持って上昇した。アミノ酸量測定では、角層の中間層にピークが見られ最下層は最も低い値を示した。

相対湿度30%~90%まで表層側の角層水分含有量は生体側より高かったこと、角層水負荷試験で表層側の水分保持能が相対湿度69%、75%、90%で良く、相対湿度33%で表層側の水分吸収能が高いことは、普通の環境下では表層側の角層が水分保持にすぐれていることを示唆している。一方、TEWLはどちら側から測定してもほぼ同じ値だった。このことは角層は一枚のシートになってバリア機能を営んでいることを意味する。以上の結果より、出来たばかりの深層の角層は機能的には表層の角層に比べて未熟であり、アミノ酸量からみると、中間角層が吸水能には優れているのではないかということが推察された。

以上より本論文は今まで行われていない角層機能を解析しており、博士論文として評価に値する。