局所光熱変性した角層の顕微ラマン計測

Microscopic Raman study of photothermal pore in corneocyte

徳島大理工 [1], pLED[2] ○宮武 幸芽 [1], 河合 勇輝 [1], 南 康夫 [1,2], 柳谷 伸一郎 [1,2]

Inst. Science and Technology[1] and post-LED photonics[2], Tokushima Univ. , ◦Kouga Miyatake[1], Yuki Kawai[1], Yasuo Minami, and Shin-ichiro Yanagiya[1,2]

E-mail: syanagiya@tokushima-u.ac.jp

[序論] 近年、レーザーを使った生体細胞への孔開け（Photoporation）技術が生細胞への薬剤導入法として注目を集めている。この微細な孔をの形成を制御するためには、孔及び孔周辺の直接観察が重要となるが、光の回折限界に近いスケールでの観察が難しいのが現状である。我々のグループではこれまでに点集光させた連続発振(CW)レーザーによってダメージを受けた表皮角層細胞の光学顕微鏡や原子間力顕微鏡を用いた研究について報告[1]してきた。前回[2]は点集光による損傷部位を顕微ラマン分光法で測定し、CW レーザーによって角層にあいた孔を顕微ラマン観察した。本研究では、さらに、熱変性によって現れたスペクトルの詳細な解析と、熱分析による研究を行った。

[実験] 角層細胞はテープストリッピング法もしくは、培養角層サンプル(EPI-MODEL, J-TEC)を使用した。スライドガラスに採取した角層細胞はラマン顕微鏡（Raman11, ナノフォトン）で角層の場所を観察しながらラマンスペクトルを測定した。CW レーザーの波長は 532nm で、レーザー強度：10-50 mW、レーザー照射時間は 10-30 秒で測定を行った。点集光した場所の角層細胞はさらにライン集光による二次元測定をすることで、角層がレーザーによって変性した領域の空間分布について検討を行った。又、培養角層サンプルは熱重量分析（TG）および示差走査熱量測定（DSC）を行い、角層の熱変性温度について考察を行った。

[結果及び考察] レーザー照射後に現れた 1500-1700 cm^{-1}のラマンスペクトルを図 1 に示す。マルチピークフィット解析により、レーザー照射前がケラチンタンパク質の α 構造に由来するピークが支配的なのに対して、レーザー照射後では β 構造に由来するピークが支配的であることが分かった。これは先行研究[3]での、熱変性した角層の ATR-IR 法による解析の結果と良く一致した。従って、表皮角層細胞の CW レーザーによって、数百 nm の範囲だけ局所的熱変性が起こったと考えられる。

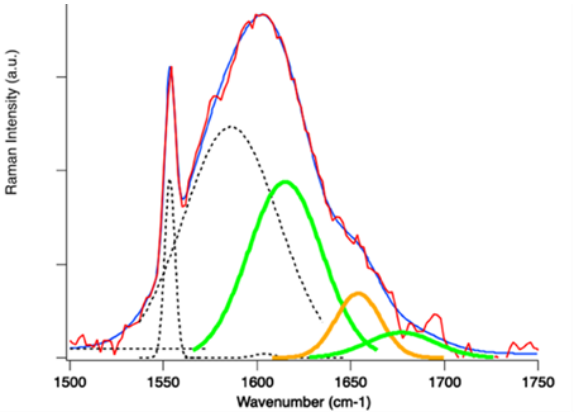

図 1　角層細胞のラマンスペクトル。点集光レーザー条件：50 mW, 30 sec。緑線：ケラチンタンパク質の β 構造に由来するピーク、黄線：α 構造に由来するピーク。

参考文献

[1]応用物理学会学術講演会, 第 64 回春季 16p-F206-7, 第 67 回春季 14a-PB2-14.
[2]第 81 回春季 10p-Z28-12.
[3] S. Olsztyńska-Janus, et al., Spectrochimica Acta Part A, 2018, 188, 37-49.