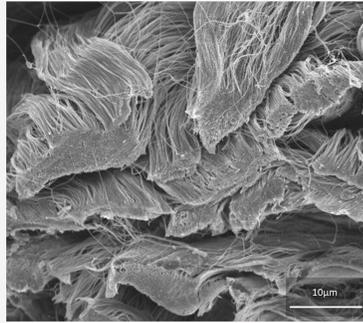


# X線散乱を用いた皮膚真皮構造の評価

○足立 浩章、奥野 凌輔、田中 浩、長谷川 靖司、中田 悟  
日本メナード化粧品株式会社 総合研究所

## 背景・方法

美容産業において、「コラーゲン」は大きな市場となり、現在では化粧品や健康食品に配合されるようになった。これまで、コラーゲン線維の量や生体組織での局在は、生化学および分子生物学的手法を利用して多岐にわたり評価されているが、一方で、その構造の評価法は少なく、まだまだ不十分なのが現状である。特に、皮膚組織や培養細胞、コラーゲングル等の生物実験材料に含まれるコラーゲン線維の構造については議論が少なく、電子顕微鏡観察に依存していることが多い。そこで、本研究では、生体組織、培養細胞およびコラーゲングルに含まれるコラーゲン線維構造について、試料の前処理無しで観察できるX線散乱測定を用いた新たな評価系を構築することを目的とした。特に本試験では、X線散乱測定を利用した際に皮膚組織においてどのようなコラーゲン線維構造が観察できるか、またどのような違いが評価できるかを見極めることを目標とした。



真皮のコラーゲン線維(SEM像)

### 今回の実験方法

測定サンプル：ヒト皮膚組織 (36歳、Caucasian、Biopredic International社)  
 ↓  
 ミクロトームを用いて厚さ100 μmに薄切  
 ↓  
 デシケータ内に乾燥 → キャピラリーに封入  
 ↓  
 そのまま(湿潤状態)

比較対照：ニワトリ脚腱由来コラーゲン線維(乾燥)

小角X線散乱測定 波長：1.5 Å  
 「あいちSR BL8S3」 カメラ長：約4 m  
 検出器：イメージングプレートR-Axis  
 露光時間：ヒト皮膚 180秒  
 ニワトリ脚腱由来コラーゲン線維：10秒

## 結果・考察

ヒト皮膚組織(乾燥・湿潤)およびニワトリ脚腱由来コラーゲン線維の小角X線散乱像(図1a)を円環平均して、一次元プロファイルを得た(図1b)。ニワトリ脚腱由来コラーゲン線維に見られる65 nm周期と同様の回折ピークが、ヒト皮膚組織においても観察された(図1b、1st~12th)。各ピークの位置からヒト皮膚組織におけるコラーゲン線維の周期を計算すると、湿潤サンプルでは64.6 nm、乾燥サンプルでは63.2 nmとなった(図2)。サンプルの乾燥によりコラーゲン線維が収縮することは以前から観察されており、今回のヒト皮膚組織を用いた測定でも同様の結果が得られた。ピーク強度を比較すると、湿潤サンプルにおいては特に1、3、5次回折ピークが顕著であるのに対して、乾燥サンプルにおいては、6、9、11次回折ピークを中心に5次以降の回折ピークがより顕著に観察された(図1b、図2)。これはコラーゲン線維構造の変化を反映しているものと考えられる。湿潤サンプルにおいては、乾燥サンプルには見られない回折ピークが観察された(図1、①~⑤)。この回折は、コラーゲン分解酵素処理によって消失することから、皮膚コラーゲン線維に関連した構造に由来する新たな回折ピークであると考えられた。

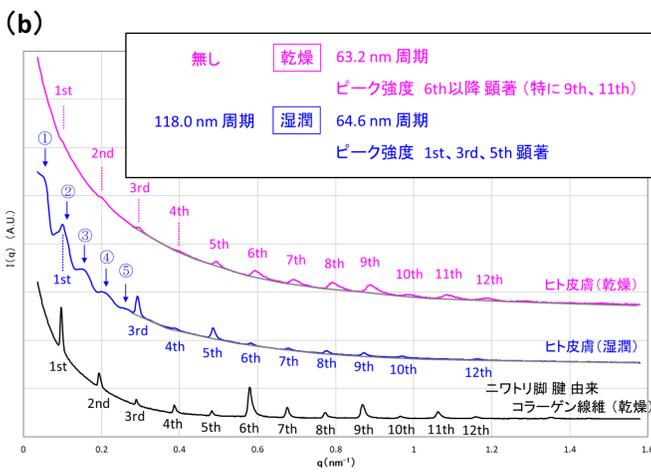
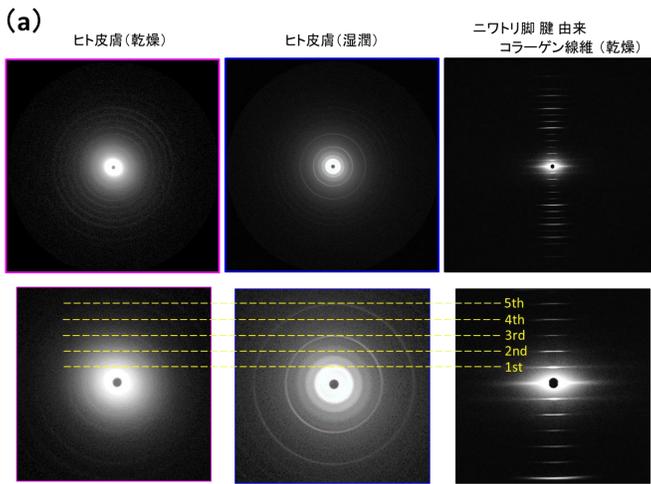
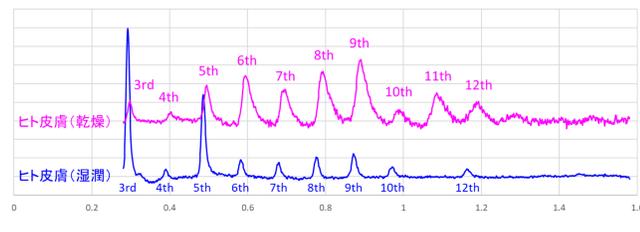


図1. ヒト皮膚(乾燥・湿潤)およびニワトリ脚腱由来コラーゲン線維の小角X線散乱像(a)とこれらを円環平均して得られた一次元プロファイル(b)



乾燥により広角側へシフト

ピーク位置 (q, nm <sup>-1</sup> )	乾燥	湿潤	推定
3	0.299	0.292	0.099
4	0.404	0.390	0.099
5	0.496	0.486	0.099
6	0.595	0.582	0.099
7	0.697	0.680	0.099
8	0.794	0.779	0.099
9	0.891	0.872	0.099
10	0.986	0.971	0.099
11	1.085	-	0.099
12	1.193	-	0.099

図2. ヒト皮膚(乾燥・湿潤)におけるコラーゲン線維の周期

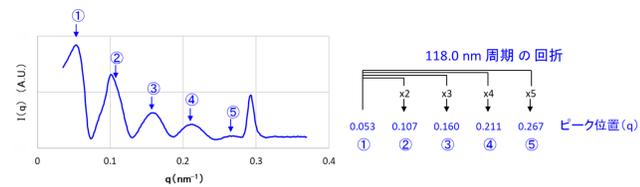


図3. ヒト皮膚(湿潤)における118 nm周期の回折ピーク

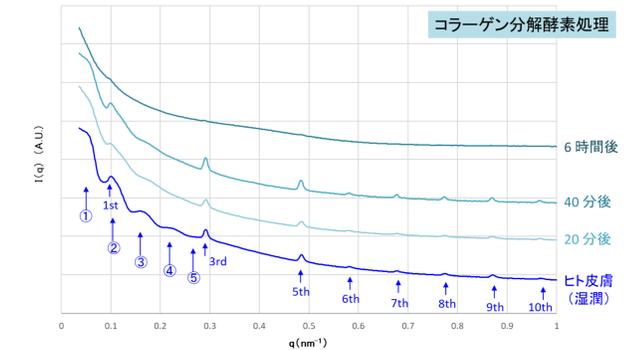


図4. コラーゲン分解酵素処理によるヒト皮膚(湿潤)の一次元プロファイルに及ぼす影響

## 期待される効果

今回の結果より、ヒト皮膚組織におけるコラーゲン線維のX線散乱プロファイルは、乾燥状態と湿潤状態で大きく異なることが分かった。生体内において、コラーゲン線維は湿潤環境で機能している。すなわち、より生理的な状態に近い湿潤状態でコラーゲン線維の構造を観察評価することは、生体内における真の構造を評価・議論するうえで、非常に重要であると考えられる。この点において、試料の前処理無しで観察できるX線散乱測定は理想的な手法であり、新たな評価系になりうると期待している。今後、細胞や三次元培養皮膚等、培養系の広範な材料においても検討を進め、より生体に近い条件においてコラーゲン線維構造の新たな評価系の構築を目指す。