



X線散乱を用いた皮膚真皮構造の評価

足立浩章¹, 奥野凌輔¹, 田中浩¹

¹ 日本メナード化粧品株式会社総合研究所

キーワード：コラーゲン線維，ヒト皮膚，X線小角散乱，周期構造

1. 測定実施日

2018年7月12日 BL8S3 (2シフト)
2018年8月23日 BL8S3 (2シフト)
2018年9月26日 BL8S3 (2シフト)
2018年10月31日 BL8S3 (2シフト)

2. 概要

ヒト皮膚組織に含まれるコラーゲン線維を対象としてX線散乱測定を行った。その結果、皮膚組織の乾燥および湿潤状態の違いによって、コラーゲンの散乱プロファイルに変化が見られた。具体的には、皮膚組織を乾燥させると、皮膚真皮に含まれるコラーゲン線維の周期が収縮し、得られるピークの強度が変化することが確認された。また、一部の皮膚真皮構造に由来する回折ピークは、乾燥させることによって消失することが分かった。これらの結果、皮膚真皮構造に由来するX線回折を評価する際には、湿潤状態のサンプルを測定して議論することが好ましいと考えられた。

3. 背景と研究目的

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測できる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。

4. 実験内容

本試験では測定サンプルとしてヒトの皮膚組織(36歳、Caucasian、Biopredic International社)を使用した。ヒト皮膚組織はマイクロトームを用いて厚さ100 μmに薄切し、そのままの湿潤状態のものと乾燥させたものをそれぞれ準備した。これらをキャピラリーに封入し、測定用サンプルとした。また、比較対照として、ニワトリ腱由来のコラーゲン線維を用いた。小角X線散乱測定は、BL8S3にて実施した。測定は、波長1.5 Å、カメラ長約4m、にて行い、検出器としてイメージングプレートR-Axisを用いた。ヒト皮膚は180秒、ニワトリ腱由来コラーゲン線維は10秒露光した。

5. 結果および考察

ヒト皮膚組織およびニワトリ腱由来のコラーゲン線維について、小角X線散乱像を円環平均して得られた一次元プロファイルを図1に示した。ニワトリ腱由来のコラーゲン線維に見られる65 nmの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1、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64.5 nm、乾燥サンプルでは

63.8 nm となった。サンプルの乾燥によりコラーゲン線維の周期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¹⁾。また、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

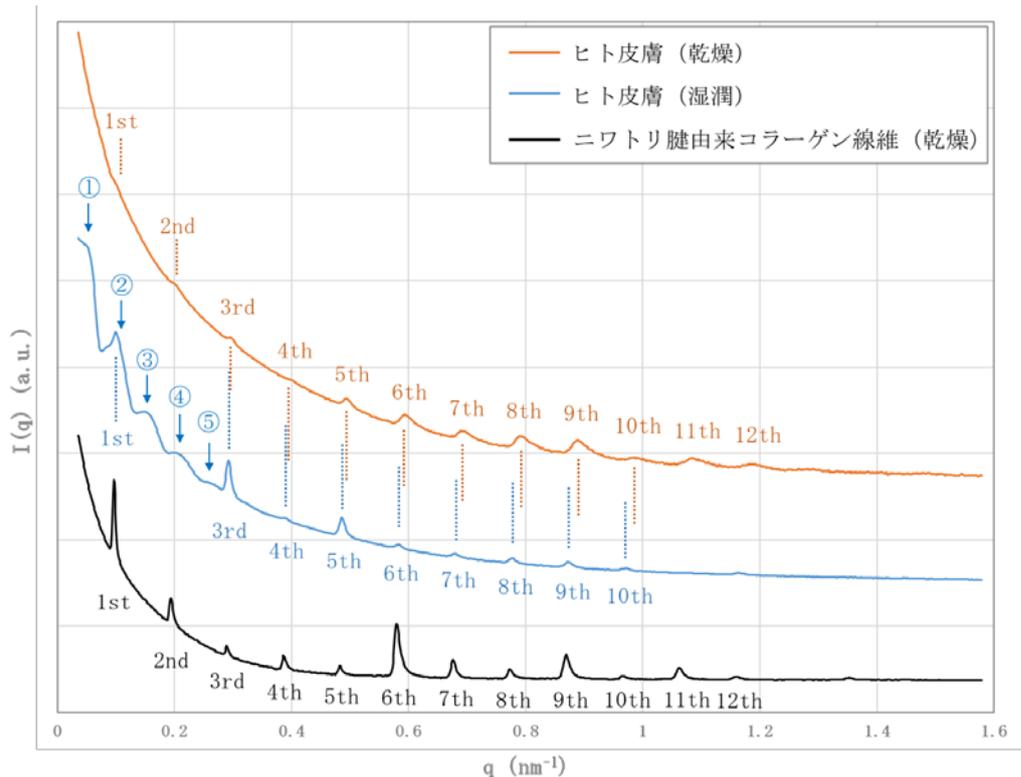


図1 ヒト皮膚組織およびニワトリ腱由来コラーゲン線維の小角X線散乱像を円環平均して得られた一次元プロファイル

に観察された。これと同様に、乾燥したニワトリ腱由来コラーゲン線維も5次以降、特に6、9、11次回折ピークが顕著である。一方、ピークの幅を比較すると、乾燥サンプルにおいて、湿潤サンプルより広がっていた。これは、皮膚サンプル内での乾燥過程が一樣ではなく、周期の大きさの不均一性が増した結果であると考えられる。したがって、幅の狭い回折ピークを観測するためには、サンプル作製過程で均一に乾燥させることが重要であると考えられた。これらに加えて、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。以上の結果から、皮膚コラーゲン線維の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、より生理的な組織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、非常に重要であると考えられる。

6. 今後の課題

今回の測定の結果、ヒト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、どのように変化していくかが明らかとなってきた。今回得られた結果に基づき、今後、皮膚組織におけるコラーゲン線維の評価系を構築していく。また、細胞や三次元培養皮膚等、培養系の広範な材料において同様な評価が可能かどうかについても、引き続き検討していく。

5. 参考文献

1. 奥山健二, 川口辰也, 高分子論文集, 10(4), 229-247, 2010