

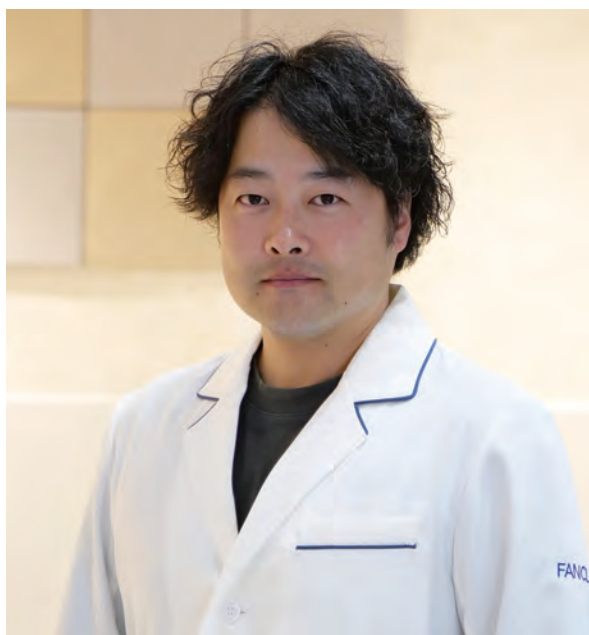


紫外線によるコラーゲン線維の 形状変化を観察し新たな評価法を開発



シワやタルミなど肌の質感の変化は、コラーゲン線維やエラスチンなどの構造や形状、量などが関与するとされる。ファンケルは金沢大学ナノ生命科学研究所との産学連携から、原子間力顕微鏡を用いたコラーゲン線維の新たな評価法を開発した。研究の経緯や出会い、今後の展望などについて、研究者に聞いた。

(編集部)



総合研究所基盤技術研究センター 皮膚科学第三グループの近藤 慎也氏

紫外線曝露によるコラーゲン線維の変化

——ファンケルは2024年2月、ヒトの皮膚の線維芽細胞に対して紫外線を照射すると、コラーゲン線維の柔軟性が低下するとの研究成果を発表し

ました。2023年12月に開催された第1回日本化粧品技術者会 学術大会で報告されたこの研究の概要についてお話ください。

近藤 今回、発表した研究では、ヒトの真皮の線維芽細胞を培養して、コラーゲン線維を生成

させ、そこに紫外線 (UVA) を照射してコラーゲン線維の形状を観察しました。その結果、紫外線を照射した場合、細いコラーゲン線維が消失して、太く湾曲した線維が見られるようになることがわかりました (図1)。

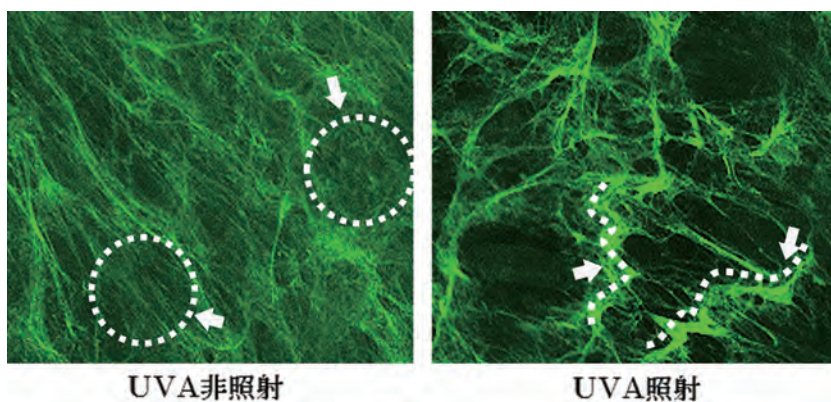
また、皮膚細胞がつくり出したコラーゲン線維の柔軟性を評価する方法を検討し、原子間力顕微鏡 (Atomic Force Microscope、以下AFM) を用いることで、世界で初めて、ヒト皮膚線維芽細胞由来のコラーゲン線維の表面形状の観察と、柔軟性の指標となるヤング率を計測できま

した (図2)。

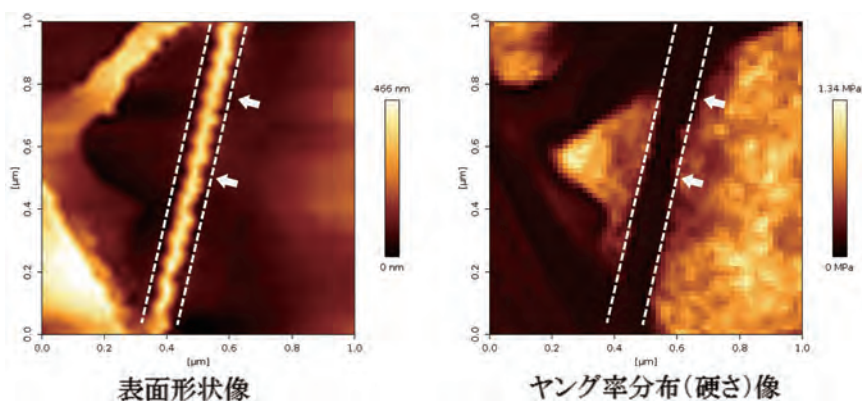
その結果、紫外線を照射した場合のコラーゲン線維のヤング率は、照射していない場合に比べ、4倍以上の統計学的に有意な増加が認められ、紫外線照射によってヤング率が増加し、柔軟性が失われることが確かめられました (図3)。

——コラーゲン線維の質的な評価法を開発されたということですね。

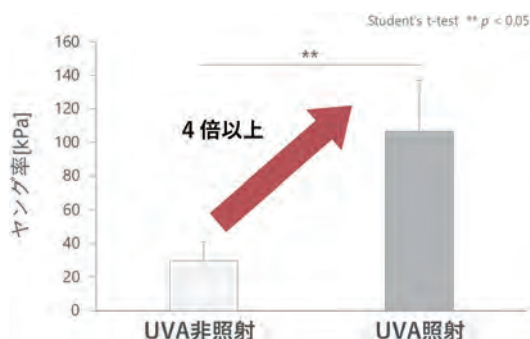
近藤 一般に関心をもたれてきたのは、加齢や紫外線曝露によるコラーゲンやエラスチンの量の減少ですが、これらは構造体をつくっている



■図1 紫外線 (UVA) 照射によるコラーゲン線維 (緑色) の形状変化 紫外線非照射では細かい線維 (左) が認められるが、UVA照射後 (右) には細かい線維が消失し、太く湾曲した線維が見られる



■図2 AFMによる表面形状像 (左) とヤング率分布 (右) AFMにより、白い点線内のコラーゲン線維を観察できる。右は同じ位置のヤング率分布像。ヤング率は明るい部分は低く、暗い部分は高い。これらの画像からコラーゲン線維の柔軟性を評価できる



■図3 UVA非照射と照射のヤング率 紫外線を照射することでヤング率が4倍以上に増加している

ので、その形や特性の変化が、老化によるシワやタルミの発生に関わっているのではないかと考えました。そこで、コラーゲンの質を評価する手法を探した結果、AFMによる測定にたどり着きました。

産学連携に踏み出したきっかけ

——AFMではどのような測定が可能なのでしょうか。

近藤 AFMは、「カンチレバー」と呼ばれる柔らかいバネ板に、先端が原子の直径の数十倍（10-20nm）程度と、極めて微細な針（探針）を備えた装置です。探針を試料に近づけ、探針の位置とカンチレバーのたわみなどを検知することで、試料の微細な形状や弾性、粘性などの機械的特性を測定することができます。

当社のグループ会社でAFMを所有していましたので、私たちが培養したコラーゲン線維を観察してみたところ、測定はけっこう難しく、プローブの選択などのノウハウが重要であることがわかってきました。そこで、AFMを使った共同研究が可能な機関を探した結果、金沢大学ナノ生命科学研究所との提携に至りました。

——研究分担はどのようなものですか。

近藤 観察対象となる標本を当社が作成し、ナノ生命科学研究所には、AFMによる測定を中心とした知見やノウハウのご相談と、観察条件の

指導・提示をお願いしました。私たちの方で測定をしながら、懸案などが生じたときにどのように解決すればよいかを都度、相談していきました。

ナノ生命科学研究所にも我々が取り扱ったものと同じAFMが導入されていたので、設定を合わせた上で、大部分は自分たちの手で測定を行いました。大学側で設定を提示していただくことで、必要な測定が可能になりました。

——ナノ生命科学研究所との共同研究が実現した経緯について教えてください。

近藤 共同研究の提携先を探していたのは2021年当時で、インターネットでAFMを用いた研究成果を探索していました。ナノ生命科学研究所が、コロナウイルスのスパイクタンパク質の分子動態を高速AFMで観察し得たという報道発表を目にして、この手法を用いれば細胞に紐づくコラーゲンの評価も可能ではないかと考えました。また同研究所が産学連携など、様々な取り組みを行っていることも提携をお願いする動機になりました。

金沢大学と関連研究機関には、ワンストップの相談窓口があり、共同研究について相談すると、該当する研究領域の中で最も適切な研究者との面談をセッティングしていただける仕組みがあります。こうした体制が充実しており、しかも手続きなどがわかりやすかったことから、同研究所との共同研究を検討することになりました。

——いわば飛び込みのような形で接触されたんですね。

近藤 そのとおりです。ナノ生命科学研究所の窓口で相談したところ、准教授の中山隆宏先生を紹介していただきました。中山先生はラットから抽出したコラーゲンをAFMで測定した実績がありました（出典1）。そこで機密保持契約を結んだ上で、私たちが取り扱っているヒト皮膚の線維芽細胞から産生されるコラーゲン線維の測定が可能かどうかを含め、共同研究の実現可能性について事前検討をお願いしました。

共同研究の可能性を打診したのが、2021年末から22年3～4月にかけてのこと。契約を締結したのが2022年6月です。現在まで共同研究を継続しています。

紫外線ダメージの回復メカニズムは今後の検討課題

——今回の共同研究では紫外線によるコラーゲン線維の構造変化について言及しています。現実の環境ではどの程度紫外線を浴びるとこうした変化が起きますか。

近藤 本研究では培養細胞に対して直接紫外線を照射しているため、生活環境で皮膚に浴びる紫外線に比べるとはるかに弱い光量に設定しています。一方、生体の皮膚では蓄積効果もありますので、単純な換算は難しいと考えています。

——紫外線でいったん変成したコラーゲンが回復することはありますか。

近藤 2024年9月に開催された日本バイオイメーキング学会で私たちが報告した研究成果では、紫外線照射後に加水分解（低分子）コラーゲンとビタミンC誘導体を投与したところ、非照射の場合と同程度まで柔軟性が回復することが示されました。ただし、なぜ回復するのかというメカニズムまでは説明しきれいていません。今後、検討を進めていく段階です。

——そもそも、コラーゲン線維の柔軟性が失われた場合、どの程度肌の弾力の低下やシワに影響を及ぼすのでしょうか。

近藤 コラーゲン線維の柔軟性の変化が実際の肌の柔らかさにどの程度影響するかについては、まだよくわかっていません。他の研究成果からも、コラーゲン線維の弾力が皮膚の弾力に密接に関わっていることは間違いなさそうですが、肌の弾力にはエラスチンなどコラーゲン以外の要素も関与するので、影響度を把握するのは難しそうです。

エラスチンの構造など研究課題は多い

——過去に実施した研究を含め、大学との共同研究にはどのようなメリットを感じていますか。

近藤 1つは新たな知見の獲得です。ナノ生命科学研究所との共同研究では、AFMの専門家の知識やノウハウを教えていただき、研究のスピードアップや発展的な展開が実現しました。

もう1つは異なる視点を得られることです。研究を進める際、企業の視点とアカデミアの視点は異なります。企業目線だけでは研究が発展しない場合、学術的な面白さを重視するアカデミアの視点を取り入れることは、産学連携で得られる大きな果実だと思っています。

——ナノ生命科学研究所との共同研究で新たに得られたものはありますか。

近藤 これまでに実施した共同研究では、アトピー性皮膚炎の研究など、皮膚に限定した連携が中心でしたが、今回は物理寄りの研究者の方々と組ませていただいたことで、機械の操作などを含め、これまで持ち合わせていなかった視点や知見を得ることができました。これにより、私たちが目指した研究をスピード感をもって実現できたことは大きな成果と言えます。

——今後の共同研究のテーマについてお聞かせください。

近藤 ナノ生命科学研究所との共同研究の期限は2025年3月ですが、協議の上で継続について検討したいと思います。

今後のテーマとして検討している課題のひとつは高速AFMによる撮像です。今回紹介した研究成果で用いた従来型AFMでは、試料のタンパク質を固定した上で観察する必要があります。しかし、固定するとコラーゲン線維に架橋が入ってしまうため、柔軟性なども変化している可能性があります。また、AFM像は各ピクセル間に時間差があるので、撮影中に試料が動くと、従来走査速度のAFMでは1枚の像の中で構造が歪んだり、撮影できなくなったりします。そ

の点、高速AFMを用いると、捉えた像の各ピクセル間の時間差が小さく、固定することなく生きた細胞上でも構造を撮影することができ、構造変化も収録することができますので、より生体に近い観察が実現すると考えられます。

また、ファンケルではかねてからエラスチンの研究に力を入れてきましたので、将来的にはコラーゲンとエラスチンの両者について、肌の弾力との関係を追求していきたいと考えています。

今回コラーゲン線維に着目したのは、コラーゲンの構造上、AFMによる観察で特定しやすいからです。残念ながらエラスチンにはそうした線維自体の特徴がありません。しかし、高速AFMは、抗原と抗体の結合過程を撮影することができます（出典2、3、4）。エラスチンの抗体を作製しておき、抗体投与時に高速AFMで観察すると、エラスチン抗体が付着するものをエラスチンとして識別できます。同様の原理でコラーゲン以外の線維や細胞外マトリクスの構造評価も可能になると考えられます。将来、こうした研究を手掛けたいと思っています。

——ありがとうございました。

[出典]

1. 中山ら *Scientific Reports* (2016) <https://doi.org/10.1038/srep28975>
2. Preiner、古寺、安藤ら *Nature Communications* (2014) <https://doi.org/10.1038/ncomms5394>
3. Zhang、安藤ら *Nature Communications* (2020) <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16949-4>
4. 中山ら *Nano Letters* (2023) <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.3c00187>

PROFILE

近藤 慎也（こんどう しんや）

2009年北里大学理学部卒。2011年北里大学大学院医療系研究科修了。学生時代の皮膚再生医療や人工皮膚の研究を経て、2011年株式会社ファンケルに入社後、化粧品の安全性評価やシワ・たるみの基礎研究に従事。2020年より皮膚科学第三グループの課長に就任し、コラーゲンやエラスチン線維の加齢変化に着目した研究を中心に、肌の土台から効果が期待できる化粧品開発へとつながる基礎研究をしている。