

化粧品機能性を評価するための 生体外皮膚モデルの構築および高機能素材の探索（第2報）

岩元彬 柘植圭介

令和2年度

背景および目的

近年の化粧品市場では、紫外線などの外的要因や加齢などの内的要因で起こる皮膚ダメージやトラブルの改善・解消効果を訴求した高機能化粧品が急成長している。このような化粧品の開発では、動物実験を行わない代替法活用の取り組みが世界中で強く求められているが、その使用は安全性の評価に留まり、機能評価への応用は十分ではない。そのため、高機能化粧品の開発にはヒト皮膚の反応を忠実に再現した生体外評価系の構築が望まれている。

当センターでは、これまでに皮膚老化における最大の環境要因である紫外線(UVB)を3次元培養皮膚モデルに照射することにより、バリア機能が低下した状態の生体外皮膚モデルを構築してきた。

本研究では、この生体外皮膚モデルに代表的な美容成分として知られるビタミンC誘導体(Ascorbyl glucoside; AG)を添加することにより、バリア機能が改善するか検討し、本試験系の適正性を評価した。

研究内容

3次元培養皮膚はヒト表皮角化細胞を用いて作製されたLabCyte EPI-MODEL24を使用した。前培養した3次元培養皮膚を培養培地もしくはAscorbyl glucoside (AG)を含む培養培地に移し、培養した。6時間培養後、UVB 125 mJ/cm²を照射し、新しい培養培地もしくはAGを含む培養培地に3次元培養皮膚を移し、培養した。48時間培養後、経皮水分蒸散量(Transepidermal water loss; TEWL)を測定し、皮膚バリア機能を測定した。また、培養後の3次元培養表皮から総RNAを抽出し、皮膚の保湿やバリア機能に深く関与しているセラミド合成関連遺伝子(ceramide synthase 3 (CerS3), -glucocerebrosidase (GBA), glucosylceramide synthase (GCS), sphingomyelin synthase 1 (SMS1), serine palmitoyltransferase 1 (SPT1))やタイトジャンクション形成関連遺伝子(Claudin1, Claudin4)の発現をRT-qPCR法により検出した。得られたTEWLと遺伝子発現量の相関性をPearsonの相関係数を用いて解析を行うことにより、モデル系の適正性を評価した。

研究成果

TEWLとセラミド合成及びタイトジャンクション形成関連遺伝子の相関性を解析したところ、TEWLとセラミド合成に關与するSPT1及びCerS3、SMS1、タイトジャンクション形成に關与するClaudin1との相関性が特に高く、それぞれの係数は-0.87、-0.97、-0.87、-0.71であった(図1)。したがって、本試験系は生体因子の変動がTEWLに反映されており、実際のヒト皮膚における反応を再現した試験モデルである可能性が示された。

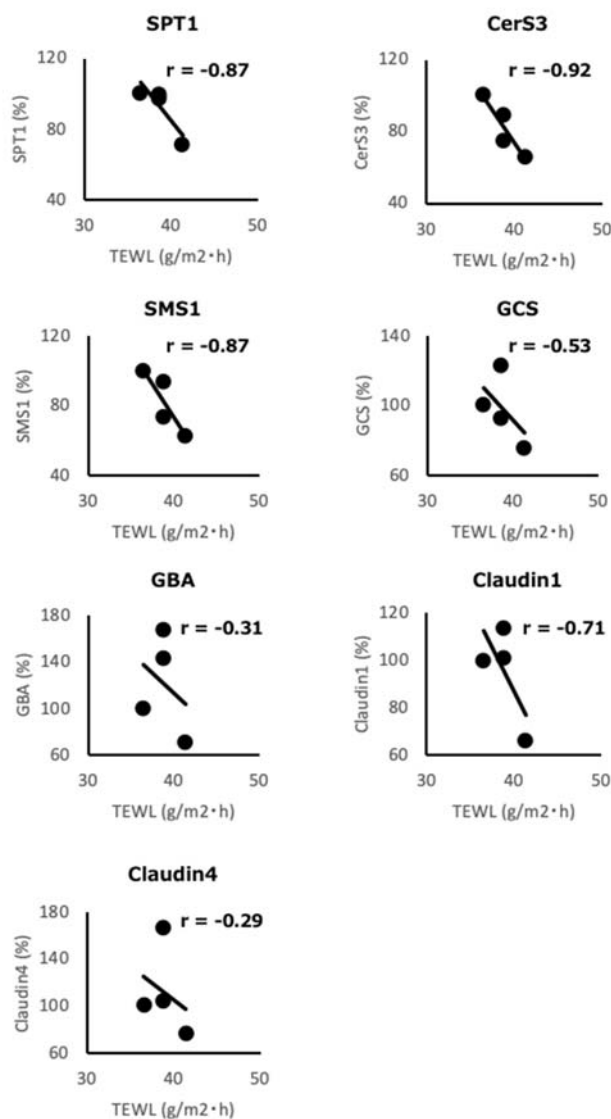


図1 TEWLと遺伝子発現の相関関係
相関性解析はPearsonの相関係数の検定を用いた。