

未利用資源であるユズさのうエキスはヒト角層の剥離促進に関わる

○大港 実柚¹⁾, 出川 朋美²⁾, 多田 明弘²⁾, 松井 毅¹⁾

¹⁾東京工科大応用生物, ²⁾株式会社ポーラ POLA イノベーションセンター

Effect of Citrus Junos Fruit Extracts to the desquamation of human stratum corneum

○Miyu Ominato¹⁾, Tomomi Degawa²⁾, Akihiro Tada²⁾, Takeshi Matsui¹⁾

¹⁾Tokyo Univ of Technol, ²⁾POLA Inc.

1. 緒言

美容皮膚において健やかな皮膚を保つことは重要であるが、特に最外層に存在する角層はバリアとして重要な役割を果たしている。本研究では、表皮角層を切片染色した際に観察される、角層間の接着が緩んだ構造（通称、バスケットウィーブ角層）の形成に着目し、この構造形成に影響がでる物質を解析することを試みた。デスマグレイン（DSG）は、表皮角化細胞同士を接着させるデスマソームに存在する接着分子である。死細胞からなる角層においては、コルネオデスマソームに局在し角質細胞同士の接着に関わっている。角層表面のデスマグレイン 1(DSG1) 量が減少している際には、バスケットウィーブ角層の形成が促進され、バリア機能が高く、角層柔軟性が高い肌になることを当研究グループは以前に報告している (Goto et al. 2020)。

日本の冬至にはユズ湯に入る風習がある。ユズさのうエキスは、ユズの未利用資源である。これの角層への効果が認められるならば、ボディソープと配合することで、入浴時にスキンケアができる有用性がある。そこで、本研究では、ユズさのうエキスに角層表面におけるデスマグレイン 1(DSG1)量を減少させる作用があるかを検討した。

2. 方法

[材料]

ユズさのうエキス：ユズさのうを 50%エタノール水溶液に室温で浸漬後、ろ過してユズさのうエキスを調製した。

[方法]

2-1. ヒト前腕外側を用いたユズさのうエキス評価

0%（コントロール）もしくは 0.5%のユズさのうエキスに漬けた濾紙を、肌に浸して 10 分間放置した。セロテープで濾紙で浸した前腕外側の角層をテープストリッピング法で 3 回採取した。テープをスライドガラスに貼り付けてキシレンで一晩浸漬して角層細胞をスライドガラスに転写後、キシレンで 2 回洗浄し、風乾した。PBS リンス後、4%パラホルムアルデヒド・リン酸緩衝液により室温で 15 分固定した。PBS でリンス後、0.5%TritonX/PBS にて、室温で 5 分放置後、PBS でリンスし、20%ブロッカーにて室温 1 時間ブロッキングした。Anti-Desmoglein 1, Mouse-Mono(Dsg-1-P23)（抗 DSG1 抗体）を加えて室温 2 時間反応後、Alexa Fluor 488 anti-Mouse IgG を加え、更に室温 2 時間反応させ封入し、蛍光顕微鏡(IX83)を用いて写真撮影を行い、ImageJ を用いて画像解析を行った。

2-2. 採取したヒト角層細胞を用いたユズさのうエキス評価

ヒト前腕外側からテープストリッピング法の 3 回目で採取した角層細胞をスライドガラスに転写後、0%（コントロール）もしくは 0.5%のユズさのうエキスに室温で 24 時間浸漬後、抗 DSG1 抗体を用いて免疫蛍光染色を行った。

2-3. 三次元表皮モデルを用いたユズさのうエキス評価

ヒト三次元表皮モデル (Labcyte EPI-MODEL 24, J-TEC) の角層表面に、0%（コントロール）もしくは 0.5%のユズさのうエキスを投与して 37℃, 5% CO₂ 下で 24 時間インキュベート後、固定、包埋、薄切を行った後、HE 染色と電子顕微鏡解析を行った。

3. 図

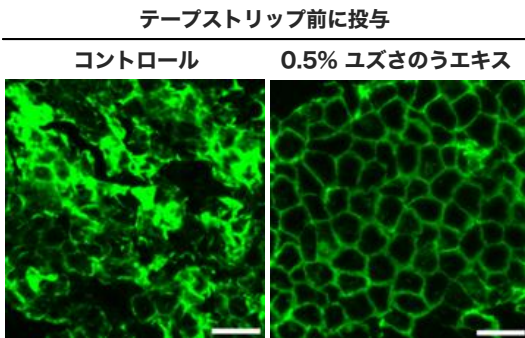


Fig.1 エキス塗布後、テープストリップを1回行って採取した角層におけるデスモグレイン1染色画像 (スケールバー:50μm)

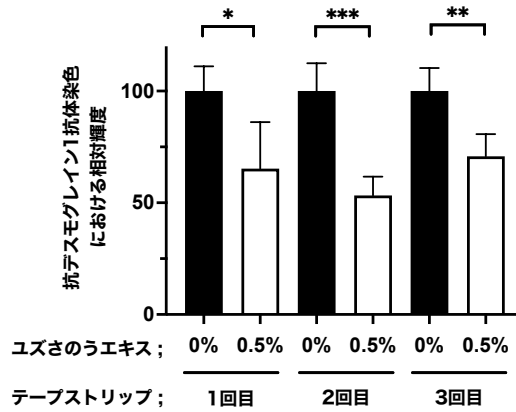


Fig.2 エキス塗布後、テープストリップ (1-3回) を行って採取した角層におけるデスモグレイン1染色性の減少
平均±標準偏差 (n=4)、対応のないt-検定、
*:p<0.05, **:p<0.01, ***:p<0.001

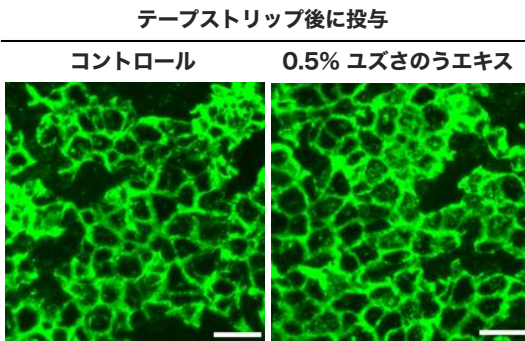


Fig. 3 テープストリップを行って採取した角層 (3回目) に対して、エキスを添加後のデスモグレイン1染色画像 (スケールバー:50μm)

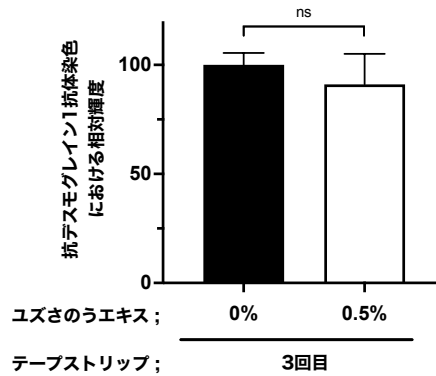


Fig.4 テープストリップを行って採取した角層 (3回目) に対して、エキスを添加後のデスモグレイン1染色性の減少
平均±標準偏差 (n=4)、対応のないt-検定

4. 結果

ヒト皮膚に0.5%ユズさのうエキスを作用させ、テープストリッピング1~3回により採取した角層に対して、抗DSG1抗体を用いて染色した所、0.5%ユズさのうエキスを作用させた場合において、有意な抗DSG1抗体染色性の減少作用が認められた(Fig.1-2)。次に、テープストリップして採取した角層に対して、ユズさのうエキスを作用させ、同様の現象が認められるかを解析したが有意な差は認められなかった(Fig.3-4)。そこで、三次元皮膚モデルの角層表面に対して、同様にユズさのうエキスを24時間作用させ、そのHE染色像や電子顕微鏡像を観察した所、バスケットウィーブ角層の形成促進効果が確認された。このように促進効果が確認されたユズさのうエキス試料を用いて、作用機序を検討している。

5. 考察

ユズさのうエキスには、ヒト皮膚に塗布することで、細胞接着因子であるDSG1の染色性が有意に減少していた。このことから、ユズさのうエキスには、角層のコルネオデスモソームに存在するDSG1量を減少させる効果があると考えられ、予想される作用機序についても報告する。ユズさのうエキスにより、バスケットウィーブ角層の形成が促進され、バリア機能が高く、角層柔軟性が高い肌にすることが期待される。

6. 引用文献

Goto H, Tada A, Ibe A, Kitajima Y. Br. J. Dermatol. 2020;182(2):364-72.