

1型コラーゲン産生促進物質探索法の検討

応用生物科学専攻 食資源科学講座 食品機能化学 須賀 久世

1. 目的

シワは幅広い世代において美容上の悩みとされている。シワが生じた皮膚では1型コラーゲンの産生能低下や、1型コラーゲン量または密度の減少が報告されている。そのため1型コラーゲンの産生を促進することでシワの改善や予防が期待できる。本研究では食品素材から1型コラーゲン産生促進物質を探索することを目指し、手軽かつ安価な1型コラーゲン産生促進物質の探索法について検討した。

2. 方法および結果

2-1. 定量法の検討

試験にはヒト皮膚線維芽細胞株 NB1RGB を用い、産生された1型コラーゲンを定量する方法を検討した。

まずヒドロキシプロリン量を指標とした定量法を検討したが、NB1RGB細胞のコラーゲンの産生量に対して感度が低く利用できないと判断した。次に、スロットブロット法による定量を検討した。ウェスタンブロッティング法で1型コラーゲンを検出する条件を設定し、この条件を適用してスロットブロット法を行うことで、培養上清中の1型コラーゲンを定量することができた。

2-2. 活性試験方法の検討

文献を参考に試験条件を設定し、108種の健康茶素材抽出液に対して1型コラーゲン産生促進活性に関するスクリーニングを行った。しかしながら、抽出液の添加による細胞生存率の低下が顕著で、有意に1型コラーゲンの産生を促進する素材が見つからなかった。

細胞生存率の低下が著しいのは、素材抽出液による細胞への害が大きいためと考えられた。そこで、この問題を改善するべく、培地へ細胞保護作用の知られているBSAを添加し、さらに抽出液とのインキュベーション期間を短縮する等の試験条件の修正を行った。修正した条件で再度スクリーニングを行った結果、細胞生存率の問題は解決したが、試験結果の再現性が乏しいという問題が明らかとなった。

再現性の問題について検討した結果、培地中の成分が試験の再現性に影響していることが判明した。そこで培地組成の検討を行ったところ、アスコルビン酸非含有培地を試験に用いることで再現性の良い試験結果を得られるようになった。

以上のようにして構築した試験条件により活性試験を行うことで、1型コラーゲン産生促進活性を示す素材としてレモングラス (*Cymbopogon citratus*) とネトル (*Urtica dioica*) を見出した。