A112 ヘアレスラットより摘出した皮膚組織の生体力学的特性評価

Biomechanical characteristics of dermal tissues obtained from hairless rats

○学 藪 定彦 (近畿大院) 宮崎 祐次 (近畿大) 竹森 久美子 (近畿大)

伊藤 浩行 (近畿大) 正 山本 衛 (近畿大)

Sadahiko YABU, Kinki University, Kinokawa, Wakayama 649-6493.

Yuji MIYAZAKI, Kinki University.

Kumiko TAKEMORI, Kinki University.

Hiroyuki ITO, Kinki University.

Ei YAMAMOTO, Kinki University.

Key Words : Biomechanics, Skin, Tensile property, Collagen, Collagenase.

1. 緒言

皮膚は、衝撃、温度、紫外線、化学物質などの外部刺激から生体内部を保護する役割を担っている臓器である。その構造は、表層から深層にかけて、表皮、真皮、皮下組織の3つに区別することができる。この中でも真皮は、表皮層の下で組織の水分保持などの機能を発揮しており、皮膚の力学的特性と深く関係している。真皮を構成する成分としては、線維性組織と、その産生細胞に大別される。主成分である線維性組織の大部分がコラーゲン線維から構成されており、その他に弾性線維、基質などの要素が含まれている。

これまでに、皮膚の機能や構造を解明するための基礎研究分野だけでなく、皮膚疾患の治療や予防手技を開発する皮膚科領域でも、乏毛状態を示すヘアレス動物が用いられてきた。特に、ヘアレスマウスは、各種皮膚疾患の病理学的研究や皮膚の炎症を抑制するための薬品やスキンケア製品の有効性評価など、皮膚を対象とした科学的調査や検証に幅広く使用されている。一方で大量の試料を採取できるという利点からヘアレスラットを使用して、皮膚障害に関する研究も実施されている。しかしながら、皮膚の力学的特性に着目した研究では、ヘアレスマウスを利用している場合がほとんどであり、ヘアレスラットの皮膚の力学的特性について、参照できるデータは、これまでに提供されていないのが現状である。

そこで本研究では、成長期および成熟期にあるヘアレスラットより皮膚組織を摘出し、それらの力学的特性を調べた。また、コラゲナーゼで酵素処理した皮膚試料の力学的特性を求めることで、組織の特性に対するコラーゲン成分の力学的寄与に関する知見を得ることを試みた。本実験で求められるヘアレスラットの皮膚の力学的特性に関する基礎データは、皮膚の損傷治癒過程でのメカニズムの解明や治癒促進薬の開発に結びつくものと推察される。

2. 実験方法

2-1 実験試料

実験には6週齢、34週齢のヘアレスラット(雄)の背部皮膚を用いた。これらよりJISダンベル状7号形の試料を作製し、力学的評価を実施した。

2-2 酵素処理

それぞれの試料を37℃に保ったコラゲナーゼ溶液に浸漬させた。コラゲナーゼ溶液への浸漬は、試料の形状が維持される範囲内として3時間で実施した。各試料のコラゲナーゼ処理を施した群を、Collagenase 群とした。また、何の処置も施さなかった試料を Non-treatment 群とした。

2-3 断面積測定

自作の生体軟組織用断面積測定装置を使用して、試験片の断面積を測定した (Fig.1)。この装置には、レーザー変位計が組み込まれており、非接触で生体軟組織の断面積を測定することが可能である。レーザーを試料の表面へ照射することで試料の厚みを求め、この測定を0.1mm 間隔で試料の幅全体に対して実施した。この後、得られた測定値をもとに試料の断面形状を多角形近似することで、断面積を算出した。断面積は、試料の中央及びその上下2mmの位置の合計3カ所で測定し、それらの平均値を試験片の断面積とした。

2-4 引張試験

ひずみ計測用のマーカーとして、長軸方向に離れた2本の線を試料表面にニグロシンで印した。引張試験には、万能材料試験機 (EZ Test/CE, 島津製作所) を使用した (Fig.2)。ひずみの計測には、試料実質部以外で生じる変形の影響を除去するために Video dimension analyzer (C3160, 浜松ホトニクス) を使用した非接触計測を行なった。まず、プリロードとして0.01N を作用させ、ゼロ点設定した後、引張速度20mm/min で試料が破断するまで負荷試験を行なった。

Fig.1 Apparatus for the measurement of cross-sectional area.

Fig.2 Schematic diagram of a tensile tester.

3. 実験結果および考察

6 週齢ならびに 34 週齢の個体より摘出した背部皮膚の応力-ひずみ曲線を、それぞれ Fig.3 と Fig.4 に示す。両週齢ともに、Non-treatment 群の応力-ひずみ線図では、低ひずみ領域における下に凸の非線形部分が認められ、その後徐々に線形的な形状へと変化する傾向がみられた。各実験群の引張強度と破断ひずみを、それぞれ Fig.5 と Fig.6 に示す。6 週齢の Non-treatment 群の引張強度は 1.3MPa、破断ひずみは 28.9%であった。これに対して、34 週齢の Non-treatment 群の引張強度は 8.7MPa、破断ひずみは 37.1%であった。破断ひずみでは、週齢による有意な差は認められなかったが、34 週齢の引張強度は、6 週齢に比べて 6.6 倍となっており、有意な強度増加が認められた。これまでの皮膚組織の生体力学的特性に関する研究では、ヘアレスマウスを対象とした実験が行なわれている場合がほとんどである [1]。今回計測した成長期と成熟期の皮膚組織に関する力学的特性は、ヘアレスラットを用いた皮膚科領域の研究を推進していく上で必要不可欠な基礎データを提供するものと考えられる。

6 週齢の Collagenase 群の引張強度と破断ひずみは、それぞれ 0.8MPa, 19%であった。これらの値は、Non-treatment 群の引張強度と破断ひずみより低下する傾向がみられている。特に引張強度の低下は著しく、Collagenase 群の値は Non-treatment 群の 58%であった。一方、34 週齢での Collagenase 群と Non-treatment 群の力学的特性の相違は 6 週齢の場合と比較して顕著ではなかった。例えば Collagenase 群の破断応力は Non-treatment 群の 80%であった。皮膚組織は成長と共にコラーゲンおよびエラスチンを含むネットワーク構造を変化させることが知られている [2]。成長過程にあるコラーゲン線維の配向や分布は、成熟した組織のものとは異なっていると考えられる。よって、コラゲナーゼ処理に対する反応は、組織の成熟度に依存しており、今回の実験結果のように未成熟組織ではコラゲナーゼ処理による強度低下が顕著になるものと推察される。

参考文献

- [1]Matsumoto, T., et al., 2010, Skin Research and Technology, Vol. 16, pp. 179-189.
- [2] Elizabeth, C., et al., 2011, Matuitas, Vol. 69, pp. 249-256.

Fig.3 Stress-strain relations (6 weeks)

Fig.4 Stress-strain relations (34 weeks)

Fig.5 Tensile strength

Fig.6 Failure strain