

生物資源由来成分の育毛・抑毛効果を評価するための新規器官培養方法の開発

生物科学科 教授

松崎 貴

目 的

国内のヘアケア市場は 4300 億円規模と見込まれ、そのうち発毛・育毛市場は 650 億円を占め、抑毛の需要も小さく無いにも関わらず、新規の育毛剤/抑毛剤やデバイスの開発は、思いのほか進んでいない。その主たる理由は、高効率で再現性よく効果を検証できる機能アッセイ系が無いことである。現在最も多く使われているアッセイ法は、薬剤や物理的刺激をマウス個体の皮膚に与えて、その後の経過をみるものであるが、ハイスループットのスクリーニングには適さない。一方、皮膚や毛包の器官培養系には一度に多くの検体を試験できるなどのメリットがあるものの、手技が難しかったり長期間の維持が難しかったりといった短所がある。そこで、本研究ではマウス皮膚の新規器官培養系の確立を目指して、皮膚細切片の作成方法を工夫するとともに、最適な毛周期ステージや培養液の組成について検討した。

研究成果

マウス背部皮膚をワックス脱毛して毛周期の成長期を誘導し、5~14 日後に無菌的に皮膚を採取してシリコーンゴム板に針で固定した。滅菌した両刃剃刀と 0.3mm 厚のスペーサーを交互に 5 枚重ねて固定したスライサーで皮膚を細切した。得られた細長い皮膚片を適当な長さ (15mm または 40mm) に切断後、昆虫標本固定用の微針 (直径 0.15mm) でシリコーンゴム片に固定した。皮膚片を 24 穴プレートまたは Φ60mm シャーレに入れ、培養液を満たして、インキュベーター (5% CO₂/95% air, 37°C 内で培養し、実体顕微鏡下で毎日、写真撮影して毛の伸長等を調べた。その結果、成長期初期に当たるワックス脱毛後 5 日、6 日の皮膚片では毛の伸長がみられなかった。成長期終期に当たる 14 日の皮膚片では一部の毛包でのみ伸長がみられた。一方、成長期中期に当たる 8 日の皮膚片では 6 日間、10 日の皮膚片では 4 日間、毛の伸長が観察された。培地の組成や添加物を変えて毛の伸長を比較したところ、表皮細胞の培養に適した無血清培地 (KGM-Gold) を用いた場合に伸長速度が速まったが、毛乳頭細胞の培養に適した PCGM 培地では逆に毛の伸長が阻害されることが明らかとなった。マウス背部皮膚の毛周期は、頭部から尾部に向かって進むため、頭尾軸に沿った 40mm の細切片を用いた器官培養では、毛周期の各ステージ (初期~中期~終期) に対する作用や効果を一度に試験・評価できるのではないかと期待した。しかし、毛の伸長は成長期中期に相当する部位でしかみられなかった。成長期初期や終期に相当する部位で毛の伸長がみられなかった理由は不明だが、培養液の組成等をさらに検討することで改善したい。

社会への貢献

本研究により、ワックス脱毛後 8 日目に得た皮膚片と KGM-Gold 培地を用いることで、少なくとも 6 日間、毛の伸長に及ぼす剤や物理的刺激の効果検証が可能であることが分かった。今後、この器官培養系を用いて、地域特産の動植物に由来する抽出物やこれらから精製された生理活性物質などが育毛・抑毛効果を持つかどうかを、効率良く評価できるようになった。

次年度に向けた検討状況

成長期中期にある毛包に対する育毛・抑毛効果の検証が可能になったことから、学内外の研究者と共同して候補物質・因子のスクリーニングを開始する予定である。具体的には種々のポリフェノール類が想

定される。また、本研究で確立した器官培養系において、成長期初期にある毛包では毛の伸長がみられなかったが、培地に TGF- β ファミリーや FGF ファミリーの増殖因子、幹細胞特性の維持に関わる LIF 等を添加することで毛の伸長を誘導できるかを検討する。

学会発表等

本研究については、平成 26 年 12 月 20 日（土）に島根大学生物資源科学部で開催された「ミッション研究課題成果報告会」において口頭発表を行った。

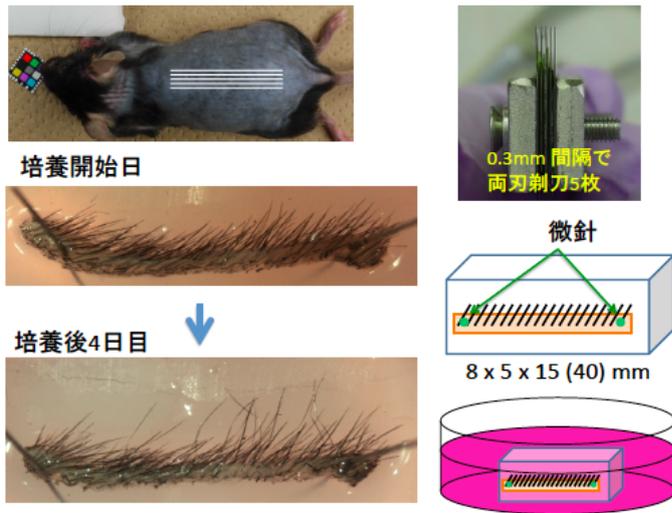


図1 皮膚細切片の作成法および培養法
マウスの背部皮膚を切り取って滅菌後、0.3mm のスペーサーを挟んで 5 枚両刃剃刀を重ねたスライサーで細切した。皮膚片を 15 (40) mm 長に切り、シリコン片に微針で固定し、24 穴プレートまたは $\Phi 60$ mm シャーレに入れ、Williams E (WE) 培地に Insulin (Ins) と Hydrocortisone (HC) を加えた基本培養液で満たした。皮膚片を CO₂ インキュベーターで培養し、毎日、写真撮影した。

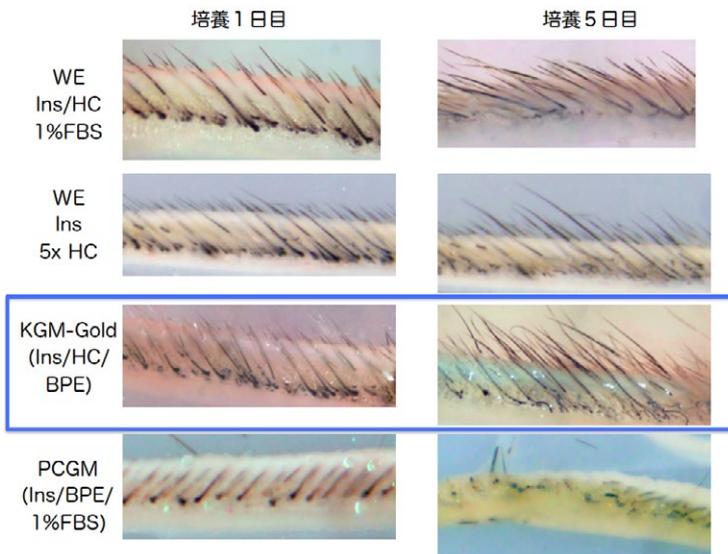


図2 培養液の検討

皮膚の器官培養に適した培養条件を検討した。上から順に、基本培養液にウシ胎児血清を 1% 添加，基本培養液の HC を 5 倍量添加，表皮細胞培養用の無血清培地 KGM- Gold，毛乳頭細胞培養用の PCGM 培地で培養した結果を示す。毛の伸長は KGM-Gold で培養した時が最良であった。一方，PCGM 培地中では毛の伸長は抑制され，毛包構造が崩壊してしまった。

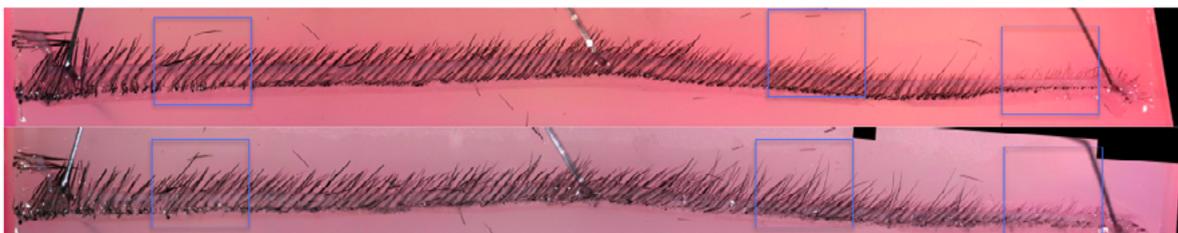


図3 器官培養系における毛伸長と毛周期ステージとの関係

マウスは頭部側（左）に比べて尾部側（右）の毛周期が遅れて進行する。長さ 40mm の皮膚片を用いて毛周期ステージごとに毛の伸長具合を調べたところ，成長期中期（中）の毛包で伸長がみられた。