

【アルマードx 東京農工大学 産学連携プロジェクト】

卵殻膜が創傷治癒プロセスに必須の皮膚真皮乳頭層にある Ⅲ型コラーゲン遺伝子発現を約 1.6 倍 促進させることを実証

皮膚科学における有用性とメカニズムの解明における論文が
米国専門科学ジャーナル「Cell & Tissue Research」に掲載決定

株式会社アルマードは、「卵殻膜の細胞・身体ダイナミクス効果に関する研究」を産学連携で行っており、このたび国立大学法人東京農工大学との最新の研究論文が、アメリカの細胞及び組織に関する科学専門ジャーナル「Cell & Tissue Research」(出版元: Springer Berlin Heidelberg)に認められ、2018年11月にオンライン版に掲載されることが決定いたしました。

(東京農工大学共同研究者: 東京農工大学大学院工学研究院応用化学専攻有機材料化学専修・材料健康科学寄付講座 跡見順子客員教授・清水美穂客員准教授・藤田恵理産学官連携研究員・同講座大学院生、同専修村上義彦准教授、農学部共同獣医学科村上智亮准教授)

【研究概要】

「卵殻膜」(鶏卵の殻の内側の薄皮)は、古く400年以上前の中国の薬学書「本草綱目」でも天然の絆創膏として紹介され、また日本でも傷の絶えない相撲界で力士に活用されてきたという事例もあります。創傷治癒においては初期段階にⅢ型コラーゲンが必須です。なぜ卵殻膜が創傷治癒に有効なのかは長らく不明でしたが、2011年の研究成果により、卵殻膜が細胞を刺激しⅢ型コラーゲン関連遺伝子を培養皿上で増加させることを実証しました。今回の研究では、卵殻膜塗布によるⅢ型コラーゲン関連遺伝子発現が非塗布群と比較すると約1.6倍増加する点、およびその増加箇所は皮膚の「真皮乳頭層」である点が、ヘアレスマウスの実験で明らかになりました。加えて、そのⅢ型コラーゲンの比率が20%のゲル環境下(皮膚環境が最も良いとされる胎児と同環境)では、他の比率時と比較するとⅢ型コラーゲン合成量が有意に増加し、またミトコンドリアを活性化することが実証されました。

細胞機能は加齢とともに低下していきますが、卵殻膜塗布が刺激となり細胞機能そのものが改善、正常化されることが本研究により実証されました。これは、卵殻膜が未病や健康寿命延伸にも期待が持てるスーパー素材であることを実証したことになります。



【研究成果ハイライト】

1. ヘアレスマウスへの卵殻膜塗布で、Ⅲ型コラーゲン、デコリン、MMP2 等の遺伝子発現量が約 1.6 倍に増加（卵殻膜非塗布と比較）。前回 2011 年の研究では、培養皿上での実験により当発見がなされたが、マウス上で同結果が再現された点の意義は大きい。
2. Ⅲ型コラーゲン関連遺伝子は、加齢で減少するとされる皮膚真皮乳頭層で有意に増加。
3. Ⅲ型コラーゲン 20%比率の環境ゲル（胎児の肌環境と同様）が肌の弾力性が最も高くなる（Ⅰ型コラーゲンのみの環境（ゲル）と比較）。
4. そのⅢ型コラーゲン 20%の環境下（ゲル）では、線維芽細胞におけるⅢ型コラーゲンタンパク質の合成量が有意に増加し、ミトコンドリア活性も高くなる。
5. 卵殻膜入り溶液塗布により、腕の皮膚弾力性が塗布前に比較して卵殻膜群のみで有意に増加、卵殻膜無し群と比較してシワが有意に改善（医薬部外品の試験と同じ二重盲検法での実施結果）。

【アルマード産学連携プロジェクトとは】

2001 年の東海大学との研究スタートを皮切りに、東京大学、東京農工大学と形を変えてプロジェクトを拡大。卵殻膜の可能性とメカニズム解明に向けて塗布と摂取の両側面から研究。最近の研究では創傷治癒のみならず、肝機能改善への有用性や、Ehlers-Danlos 症候群*で減少するコラーゲン線維増加にも有効であるとされ、また難病指定されている潰瘍性大腸炎の改善についての研究結果も米科学誌で発表掲載。

卵殻膜塗布に関しては東京農工大学大学院工学研究院応用化学専攻有機材料化学専修・材料健康科学寄付講座 跡見順子客員教授、摂取に関しては東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命科学専攻 健康栄養機能学社会連携講座 加藤久典特認教授が担当。今回研究発表を行う跡見教授はプロジェクト発足当初東京大学教授であったが、東京農工大への異動を経て 2013 年 4 月からは東京農工大学でも研究を継続。今回の研究成果に至る。

【今後の展望】

卵殻膜は世界中のどこでも入手可能で医療・食品・化粧品の各分野に適用できるバイオマテリアルです。本研究及び今後展開される研究成果により、対処療法ではなく、細胞のメカニズムに働きかけて根本的な構造改善を誘導・修復促進する素材として、この中国・日本などアジアで受け継がれてきた“生活の智慧”が科学的に検証された新たな健康戦略として活用されることが期待されます。

ヘアレスマウス上で、Ⅲ型コラーゲン遺伝子発現が有意に増加。(図1,2)。特にⅢ型コラーゲン、MMP2、デコリンは1.6倍有意に増加。(図3)

図1 ピクロシリウスレッド染色し偏光顕微鏡で観察。10%卵殻膜のほうがⅢ型コラーゲン比率が高かった。

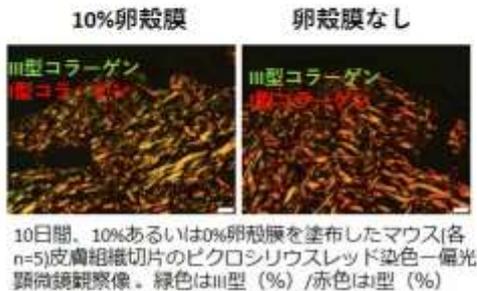


図2 コラーゲン面積比率を算出、比較したところ、10%卵殻膜でⅢ型が有意に高かった

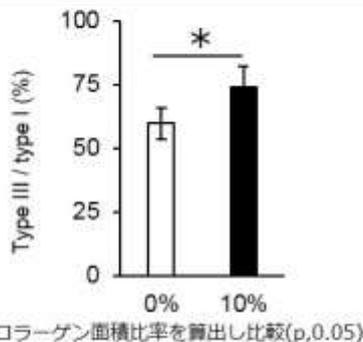
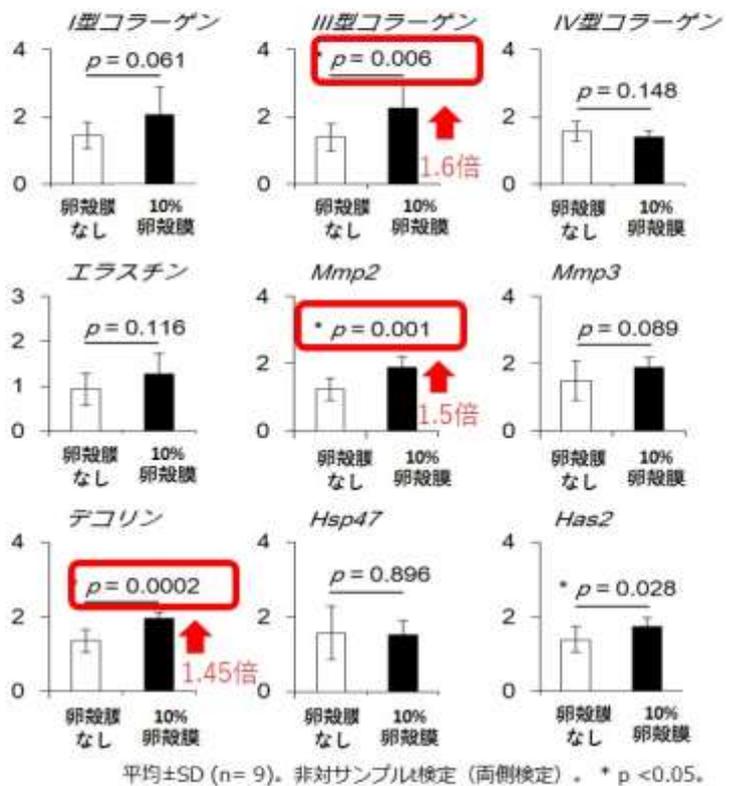


図3 ヘアレスマウスの背部皮膚に10日間塗布した後の皮膚では、Ⅲ型コラーゲン遺伝子が有意(約1.6倍)に増加



マウス真皮の「真皮乳頭層」においてⅢ型コラーゲン、MMP 2、デコリンの遺伝子発現が有意に増加。0%または10%の加水分解卵殻膜をヘアレスマウスの背部皮膚に10日間塗布した後の各層におけるⅢ型コラーゲン、Mmp 2、デコリンの遺伝子発現を示した(図4,5)

図4 ピプラトームによって分離された皮膚の構造および皮膚層の画像

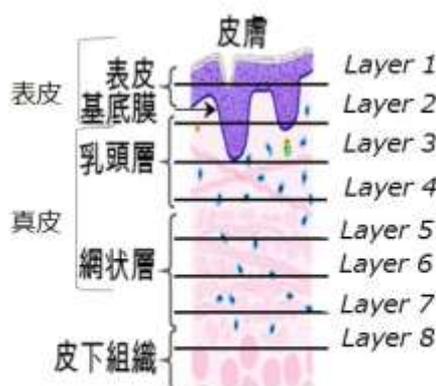
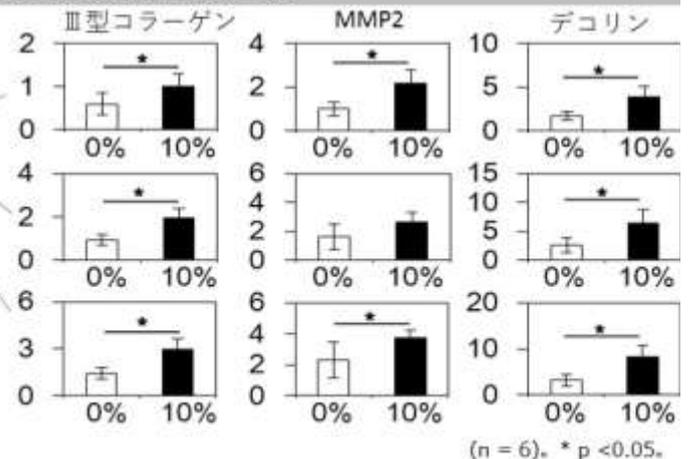


図5 真皮各層においてⅢ型コラーゲン、Mmp 2、デコリンの遺伝子発現が有意に増加



“理想の皮膚細胞環境”はⅢ型コラーゲン20%比率時の環境下。

I型コラーゲン：Ⅲ型コラーゲン=80：20比率は若い皮膚と同環境=細胞機能が高い状態（図6,7）

その環境下では、Ⅲ型コラーゲンの合成量が有意に増加し（図8,9）、線維芽細胞のミトコンドリア活性が最大。（図10,11）

図6 I型：Ⅲ型=80：20の時に皮膚弾力が最も高くなる

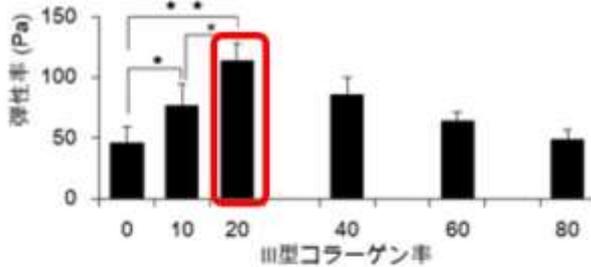


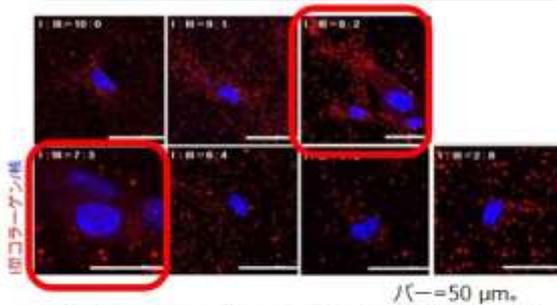
図7 胎児の皮膚はⅢ型コラーゲン比率は20%

	I型コラーゲン	Ⅲ型コラーゲン	V型コラーゲン
胎児皮膚 (%)	70-75	18-21	6-8
大人皮膚 (%)	80-90	8-11	8-11

Smith LT, Holbrook KA, Madri JA. Collagen types I, III, and V in human embryonic and fetal skin. Am J Anat. 1986 Apr;175(4):507-21. 元元に表を作成

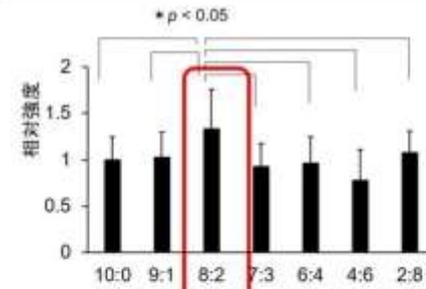
Ⅲ型コラーゲン比0,10,20,40,60,80%ゲルを作り、その弾性率を見た

図8 I型：Ⅲ型=80：20の時に染色が有意に確認されている。



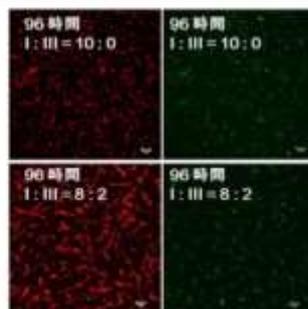
種々のI型:Ⅲ型コラーゲン比率のゲル状で培養したヒト真皮線維芽細胞の免疫染色画像。

図9 I型：Ⅲ型=80：20時にⅢ型の合成量が有意に増加



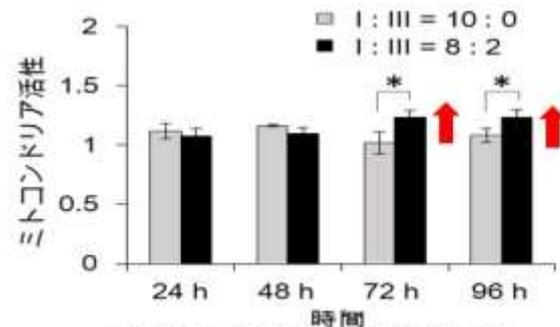
I型コラーゲン：Ⅲ型コラーゲン
Ⅲ型コラーゲンタンパク質発現を測定。

図10 I型：Ⅲ型=80：20にミトコンドリア活性がみられる



ヒト皮膚線維芽細胞をゲル状で作製し、96時間培養。JC-1添付1時間後、共焦点レーザー顕微鏡で傾向を観察した。

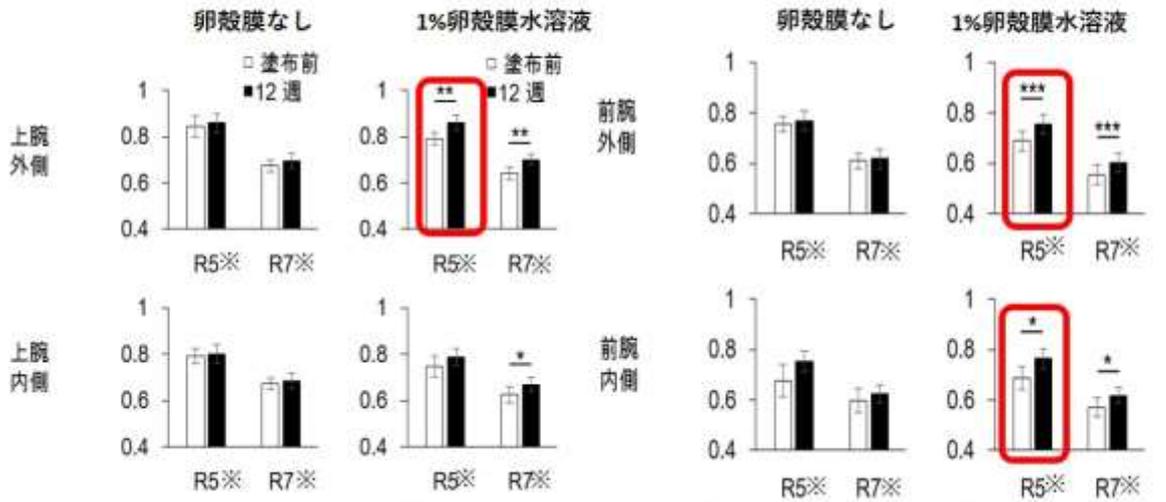
図11 72時間以降もミトコンドリア活性が継続。卵殻膜なしと比較しても活性が有意に高い。



JC-1凝集体 (赤色)/JC-1脱分極 (緑色) の比をミトコンドリア活性としてグラフ化。

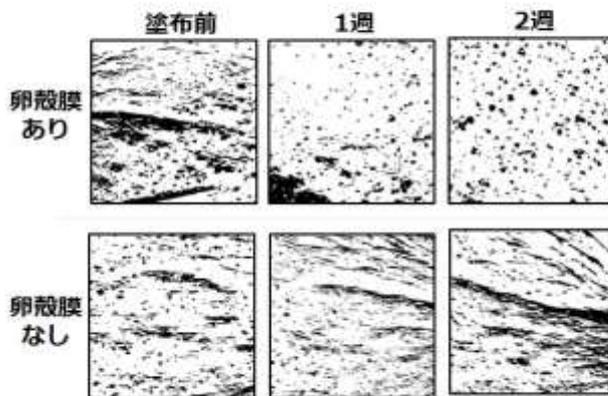
加水分解卵殻膜溶液によるⅢ型コラーゲン増加で人での皮膚弾力性向上。(図12) また目の外側角のしわは1週間で大幅に低減される(図13,14)

図12 卵殻膜ありでは影が改善。(=シワが改善)



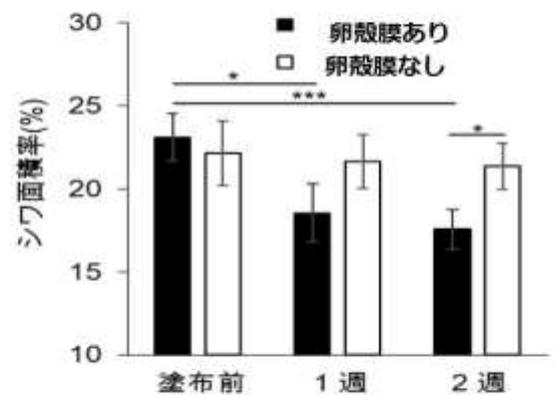
0%または1%の加水分解卵殻膜溶液を女性の腕の皮膚に12週間塗布し、塗布前後の弾力性を比較した。平均±SE、各群N = 7、対サンプル検定(両側検定)。* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$ 、*** $p < 0.001$ 。

図13 卵殻膜ありでは影が改善(=シワが改善)



眼の外側角のレプリカを収集。特定の方向からの光を眼の外側角のレプリカに照射することによって撮影された画像。

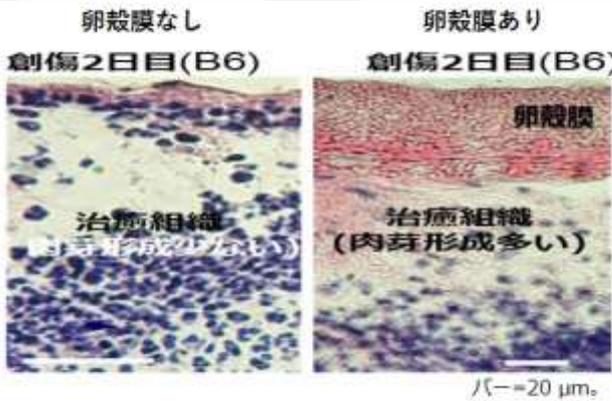
図14 卵殻膜ありではシワ面積率が減少



レプリカから分析したシワ面積率を示した。平均±SE (n = 21)。対サンプル検定(両側検定)。* $p < 0.05$ 、*** $p < 0.001$ 。

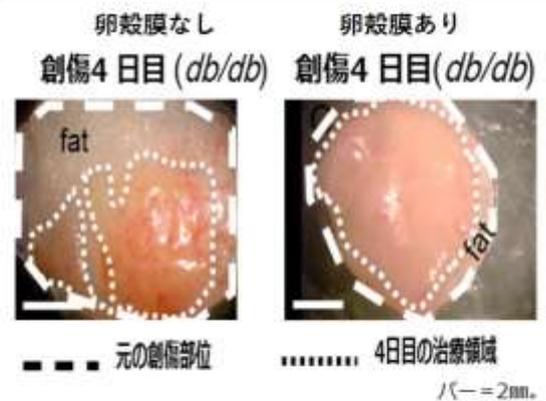
よく水ですすいで乾燥後、ガンマ線で滅菌消毒した卵殻膜をマウス皮膚の傷に直接貼る実験を2通り実施した。①B6マウス皮膚に傷をつくり、卵殻膜なし（補足図1左）と卵殻膜を貼った傷（補足図1右）の治癒状況を2日目に組織切片を作って観察した。②創傷治癒モデルとしてスタンダードに使われる糖尿病発症マウスの傷の4日目の治癒状況を、卵殻膜なし（補足図2左）と卵殻膜あり（補足図2右）で比較した。

補足図1
卵殻膜ありでは治癒組織が2日目に見られた



傷に貼った卵殻膜は皮膚に似た線維構造をとっていて（右図）、治癒細胞（青）が卵殻膜にも入り込んでいいることから組織適合性が高く、治癒組織（肉芽）形成も早い。

補足図2
卵殻膜ありでは4日後創傷がキレイに治癒



治癒が遅いdb/db糖尿病マウスの背部皮膚に全層創傷（4mm丸）を作製し、シリコンゼパレータで縫合した。卵殻膜ありを一方の創傷（この図の右側）に置き、他方の創傷を未処置のままにした。テガダームは全体の創傷に巻きつけられた。その4日後。

【創傷治癒プロセス】

創傷治癒プロセス初期にはⅢ型コラーゲンが必須。卵殻膜はⅢ型コラーゲン分泌を促進させ、創傷治癒に寄与。Ⅲ型がない治癒プロセスでは傷が盛り上がってしまう。



参考文献：Stronczek and Reichert (2008) によるbook chapter (CRC Press)の図を改変。

用語解説

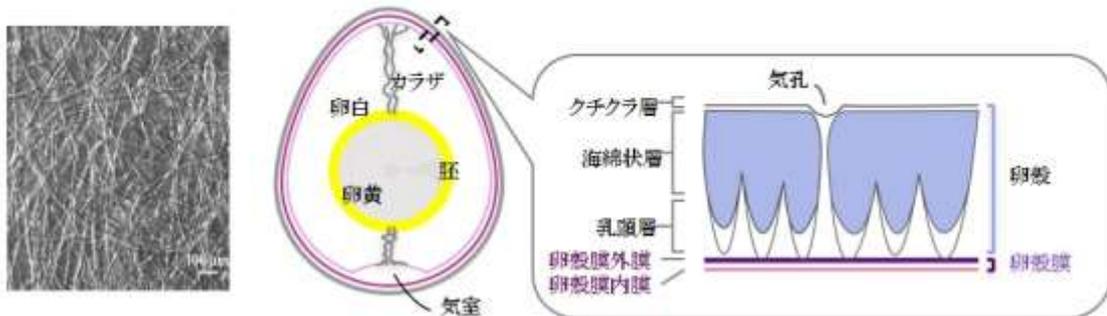
【卵殻膜（らんかくまく）とは】

鶏卵の殻の内側にある薄い膜。主成分はたんぱく質やヒアルロン酸、約20種類のアミノ酸で構成され、バクテリアなどの外敵から卵の中のひなを保護するためのバリアとして機能する他、卵が落下した場合などの物理的なダメージにも耐えられるよう、強固な線維状のメッシュ構造をしている。また、酸素を透過させ水分を保有する力を有しており、別名「命を育むプラント」とも呼ばれ、雛の孵化プロセスにおいても細胞の増殖、分化、生命維持に関与し、誕生に導く力があるといわれている。

人体においても中国や日本で古くから創傷治癒素材として活用されてきたが、天然素材であるがゆえその効果の検出とメカニズムの解明が難しいとされてきた。

最近の研究では創傷治癒のみならず、肝機能の改善への有用性も認められている。Ehlers-Danlos症候群*で減少するコラーゲン線維増加にも有効であるとされ、難病指定されている潰瘍性大腸炎の改善についての研究結果も世界的な科学誌で発表されている。

卵殻膜は皮膚細胞において、真皮にある線維芽細胞を刺激してⅢ型コラーゲン遺伝子発現を有意に増加させることが今回の研究で解明された。



リシルオキシターゼ酵素によってコラーゲンやケラチン様のタンパク質などの分子を結合してできた繊細なメッシュ構造

平均分子量：13 kDa、
アミノ酸が約100個つ
ながったくらいの大き
さ

アルカリ条件で分解
し低分子量化

顕微鏡で拡大

100

※化粧品原料
などに使用

微粉碎

※サプリメント
などに使用

卵殻膜は線維構造を持ち、
水に不溶でそのままでは
消化吸収されにくい

卵殻膜はもともと水にも油にも不溶。加水分解加工技術により、研究が可能になった。

* Ehlers-Danlos症候群；エーラス・ダンロス症候群とは、コラーゲン線維形成機構の異常を原因とする症候群。皮膚無力症、皮膚脆弱症、過剰弾力性皮膚とも呼ばれる。

【Ⅲ型コラーゲン】

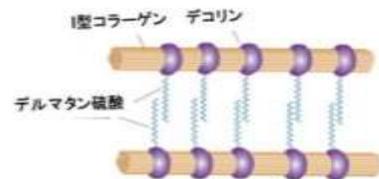
皮膚の真皮、血管、肺など弾力に関わる部分に存在。細胞によるターンオーバー（タンパク質の合成と分解）の鍵を握る。修復能力のあるコラーゲンとも呼ばれる。年齢とともに減少する。



タイプ	主な分布	主な働き
I型コラーゲン	骨、皮膚、腱、靭帯、角膜、内部器官	線維形成。I型をなくすと重度の骨変形、骨折
II型コラーゲン	軟骨、椎間板、脊索、目のガラス体液	線維形成。II型をなくすと軟骨欠乏、小人症
III型コラーゲン	皮膚、血管、内部器官	やわらかい組織に存在する。III型をなくすと皮膚が脆弱に、血管がゆるくなる。
IV型コラーゲン	基底膜	網目状の線維を形成し、他の細胞外マトリックス成分の支持構造となる。IV型をなくすと腎臓病（糸球体腎炎）
V型コラーゲン	骨、皮膚、腱、靭帯、角膜、内部器官	V型をなくすと皮膚が脆弱に、血管がゆるくなる。

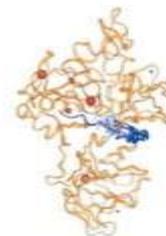
【デコリン】

糖タンパク質の仲間で、若い皮膚を維持する要の分子。I型コラーゲンが単独で硬い繊維を生成することを防止し、コラーゲン繊維を正しく造らせたり配向させたりする役目がある。



【MMP2】

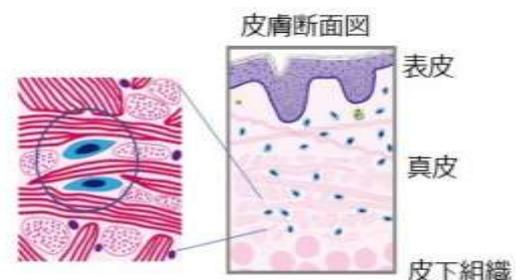
ターンオーバー＝コラーゲンタンパク質の作り替えを助ける酵素。I型コラーゲン等多くのコラーゲンや他の細胞外基質分子を分解する。分解により新しく元気なタンパク質がまた作られる。Ⅲ型コラーゲンは分解しない。



(Journal of Computer-Aided Molecular Design, 2013)

【線維芽細胞】

皮膚細胞の真皮に存在し、コラーゲンを自ら生み出し細胞の環境を整えている。（右図の青いものが線維芽細胞）



■掲載論文について

-掲載論文タイトル:

Solubilized eggshell membrane supplies a type III collagen-rich elastic dermal papilla
(日本語訳:加水分解卵殻膜はIII型コラーゲンに富む弾性のある真皮乳頭層を与える)

-著者:

大戸一藤田恵理 1、清水美穂 1*、佐野将英 1、栗本大嗣 1、山澤開 1、跡見友章 2、桜井隆史 3,4、村上義彦 5、高見拓 5、村上智亮 6、吉村浩太郎 7、長谷部由紀夫 8、跡見順子 1*#

(1 東京農工大学工学部材料健康科学、2 杏林大学保健学部理学療法学科 3 東京大学大学院総合文化研究科生命環境科学系、4 現所属:アステラス再生医療研究所、5 農工大・工学部・有機材料化学科、6 東京農工大学農学研究院 動物生命科学部門 獣医毒性学研究室、7 自治医科大学形成外科、8 株式会社アルマード)

-掲載媒体概要:

<媒体名> Cell & Tissue Research(オンライン版及び紙面版)

<出版元> Springer Berlin Heidelberg

<媒体概要>

分子・細胞生物学および組織に関する研究領域をカバー。遺伝子産物の統合的な挙動およびそれが組織構造形成と機能に与えるインパクトに関する解析データを示して討論する場を提供する。細胞と細胞外マトリクスとの関係について、発生様々な病態におけるダイナミックな細胞動態に着目したフォーラム的要素の濃い特集号を最近組んだばかり。

「卵殻膜」のような基礎化粧品にも応用されている素材が掲載されることは稀であり、素材自体の注目度が高かったことが伺える。

主要エディトリアル・メンバーは、数々の雑誌のエディターを務め、神経の発生に関連した成長因子研究のエキスパートである K. Unsicker を長とする。過去には R.M. ZINKERNAGEL (1996 年・ノーベル医学生理学賞受賞者) も名を連ねた。ECM 分野の責任エディターはコラーゲンの専門家である T. Pihlajaniemi。皮膚科医もメンバーに名を連ね、掲載に関して論文の信憑性が厳しく問われる科学誌として有名。インパクトファクター調査対象誌

■研究プロジェクト概要

【アルマード産学連携プロジェクトチームリーダー・長谷部 由紀夫】

(株)アルマード 会長 兼 特定非営利活動法人日本卵殻膜推進協会 副理事長

著書:「卵のチカラで体の中からキレイになる!」(発行 日経 BP 社)

「卵殻膜 美容術」(発行 (株)幻冬舎メディアコンサルティング)



【共同研究者・跡見 順子】

東京農工大学客員教授・東京大学名誉教授 1967 年 お茶の水女子大学卒業。

1980 年 東京大学大学院教育学研究科博士課程修了

「『細胞力』を高める-『身心一体科学』から健康寿命を延ばす」・等著書多数。

研究内容:分子、細胞、組織、個体、ヒト、人間の各階層での研究とそれらをつないで生み出されるトータルとしての人間がより良く生きるための健康寿命延伸科学創成を目指している。



【産学連携企業・株式会社アルマード 会社概要】

- 商号 株式会社アルマード
- 本店 東京都中央区京橋 3-6-18 東京建物京橋ビル 8F
- 代表者 代表取締役社長 荒西 俊和
- 設立 2000 年 10 月 18 日
- 資本金 60 百万円
- 事業内容 卵殻膜を主要素材とした化粧品、サプリメント等の企画・開発・販売

【本件に関するお問い合わせ先】

<本資料に関する報道機関からのお問合せ先>
株式会社 アルマード 広報担当 坂澤真子
Tel: 03-4334-1122 / sakazawa@almado.co.jp