# 糖化による湿潤コラーゲンフィルム中の縦波音速変化

## Changes of longitudinal wave velocity in wet collagen film due to glycation

○矢能 啓太 [a]，安井 寛和，松川 真美 [b]（同志社大）
○Keita Yano, Hirokazu Yasui, Mami Matsukawa (Doshisha Univ.)
E-mail: a)keita1022mnjn@gmail.com, b) mmatsuka@mail.doshisha.ac.jp

### 1 はじめに

糖尿病患者は，健常者に比べ骨折のリスクが高いことが明らかにされており，骨強度の評価が重要となる[1]．WHO はこの骨強度に骨密度(カルシウム量)と骨質が寄与することを示した[2]．骨質は，骨の弾性，石灰化，多孔化，マイクロクラックなど多くの要因の総称である．ただし，現在は X 線法による骨密度のみの診断が主流であり，糖尿病のように骨密度ではなく骨質に起因する疫病の評価が出来ない．実際，斎藤らは，糖尿病や老化による骨中コラーゲンの架橋異常を指摘しており[3]，この架橋異常は骨の弾性的性質にも影響を与えると考えられる．つまり X 線法では不可能な骨質(例えば骨の弾性)評価が重要となる．

そこで本報告では，顕微 Brillouin 散乱法を用いて，糖尿病を模擬した湿潤コラーゲンフィルム中の縦波音速を評価した．

### 2 試料及び実験方法

試料はブタの単層一軸配向性コラーゲンシート(10 mm×10 mm×30 μm，アトリー)を用いた．糖化用試料は，生理食塩水(PBS):4mL，D-(-)Ribose:0.12g，Protease Inhibitor Cocktail Set III:4μL，Penicillin-Streptomycin:40μL の割合で調整した溶液に浸した．また，健常な参照用試料として PBS:4mL, Penicillin-Streptomycin:40μL の割合で調整した溶液に試料を浸した．これらの試料を 37.0℃に設定したインキュベータ中で 10 日間培養した．

測定点を Figure 1 に示す．光学ミラー上に作製したプールに溶液(糖化用,参照用)をため，試料を半分浸し，76 分間放置した．その後水面から約 100 μm 上側を測定基準点として 9 点測定した．なお，光散乱測定の音波伝搬方向はコラーゲン配向方向とした．

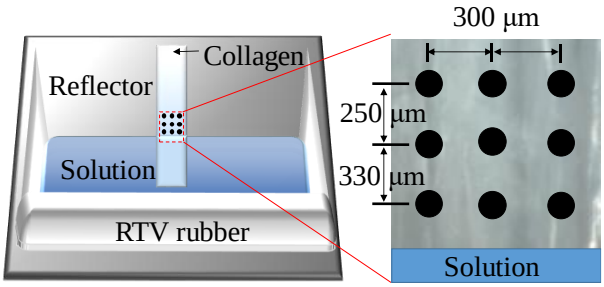


Fig. 1 Measurement sites.

Brillouin 散乱法とは，透明な媒質に入射した光の散乱光の波長を観測することで音速を測定する手法である．レーザ光を集束するため測定領域径は約 10 μm である．今回の測定的では，RIΘA 散乱配置を用いた．この散乱配置は，試料の背面に光学的なミラーを設置することで試料面内方向に伝搬する縦波音速を観測することができる．そして散乱光スペクトルからシフト周波数を求め，音速を算出した．

### 3 実験結果及び検討

Figure 2 に培養(糖化)日数に伴う湿潤コラーゲンフィルム中の縦波音速平均値の変化を示す．参照用試料では 1 日目に音速値が低下したが，10 日目の音速値と有意差はなかった．1 日目の低下の原因として参照用，糖化用共に 0 日目 (浸漬 1 時間) の試料の湿潤が不十分であったためと考えられる．糖化用試料では，培養 3 日目から音速値が低下する傾向が確認された．培養 10 日で，糖化用試料の縦波音速平均値は参照用試料に比べ約 5.7 %低下し，有意差があった ($p<0.01$)．この結果から糖化により，コラーゲンフィルムの弾性が低下することが示唆された．井本らは乾燥状態の骨を測定し糖化による音速低下を報告している[4]．今回の結果から，骨の糖化による音速低下はコラーゲンの音速低下による可能性が考えられる．

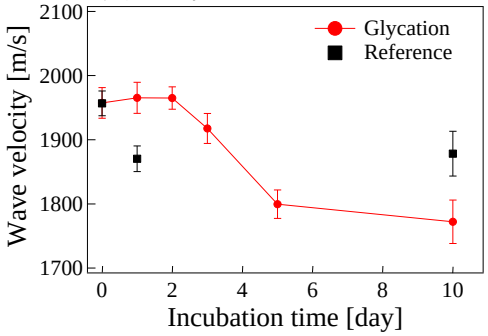


Fig. 2 Wave velocity changes in wet collagen films due to incubation.

参考文献

[1] M. Inada, et al., Metabolism, Vol. 17, pp.1514-1523, 1999.
[2] WHO, JAMA. Vol. 285, No. 6, pp.785-795, 2001
[3] M.Saito, et al., Osteoporosis Int., Vol. 17, pp. 1514-1523, 2006.
[4] Y. Imoto, et al., Glycative Stress Research, Vol. 2, pp.101-107, 2015.