

学位論文題名

Age-related changes in the epidermal architecture  
around facial pores

(頬部毛穴周囲に存在する皮膚表皮構造の加齢変化)

学位論文内容の要旨

【背景と目的】

顔面(特に頬部や鼻部)に存在する視覚的に目立つ毛穴は、多くの女性にとって美容上の大きな悩みとなっており、近年、その対策化粧品が注目されている。ここで問題となっている“目立つ毛穴”とは、脂腺性毛包開口部の毛孔及び大きく広がった周辺の表皮のくぼみ形状を含めた皮膚形状を示している。しかしながら、周囲の皮膚形状の変化を含めた毛穴目立ちのメカニズムには不明な点が多く、根本的な対策がなされていないのが現状である。

これまでに、目立つ毛穴の特徴として、くぼみ形状が年齢に伴い増大すること、くぼみ形状に一致して皮膚色に変化すること、加齢に伴い楕円化していく(帯状毛穴)ことが報告された。また、その原因のひとつとして皮脂分泌量や不飽和脂肪酸量の関与が報告されているが、形状の変化を説明できるものではなかった。

一方、掌や指紋の観察から、その溝の形状と表皮-真皮境界部の形状が対応していることが報告されていることから、我々は皮膚内部の形状に着目して観察を行ってきた。これまでに生体共焦点レーザー顕微鏡を用いた観察から、頬部の目立つ毛穴周囲には表皮肥厚と真皮乳頭の延長を伴う特徴的な構造(我々はその構造が鍾乳石に似ていることから SL (stalagmite-like) 構造と名づけた)が存在すること、その形状範囲と毛穴のくぼみ形状、皮膚色の変化領域が一致することから、毛穴目立ちとの関連性を示してきた。しかし、小規模な観察結果であり、そのメカニズムには不明な点が多い。

そこで、本研究では、SL 構造と毛穴形状の関連を統計的に検討し、その意義を検討するため、広い年齢層の多数の被験者に対し観察を行った。

【方法と材料】

10~70代の健常日本人女性138名を被験者とした。頬部皮膚表面毛穴形状の測定は肌用のシリコン印象剤を使用し、約1×1cm範囲のレプリカを採取し、任意の5×5mm範囲に存在する0.02mm<sup>2</sup>以上の楕円形状のものを画像解析により目立つ毛穴として抽出し、総毛穴面積、平均毛穴面積、毛穴数を求めた。表皮-真皮境界部の形状観察は生体共焦点レーザー顕微鏡(CLSM: Vivascope1500)を用い、非侵襲的に4×4mm範囲の皮膚水平断面の画像を取得した。表面形状の画像として、角層-顆粒層境界部から8μm、表皮-真皮境界部の画像として75μmの画像を取得した。

表皮-真皮境界部で観察されるSL構造は5段階のフォトスケールを作成し、評価した。各スコアは以下の通りである。

- 0 SL構造が観察されない
- 1 毛穴(ダクト)の周囲に真皮乳頭構造がほぼ1周存在する
- 2 毛穴(ダクト)の周囲に真皮乳頭構造が1~2周存在する
- 3 毛穴(ダクト)の周囲に真皮乳頭構造が2~4周、スコア2より広範囲に存在する
- 4 毛穴(ダクト)の周囲に真皮乳頭構造が著しく発達し、数、範囲が観察中で最大

本スコアの評価者間信頼度の高さは Kappa 値 (0.2 以上が信頼できる) を求めて評価し、0.303～0.811 (平均 0.500) であったことから、妥当なフォトスケールであると判断した。

表面形状と SL 構造の楕円形状の比較は、CLSM で取得した各画像に任意の基準線を引き、その線に対するそれぞれの楕円長軸の角度を比較した。

統計解析は t-test 又は Spearman test を用いて行い、 $P < 0.05$  を有意とした。

### 【結果】

総毛穴面積、平均毛穴面積、毛穴数は加齢に伴い増加し、50代をピークとしてその後減少した。毛穴周囲の特徴的な表皮構造 (SL 構造) の発達程度は毛穴の大きさ ( $P < 0.05$ )、年齢 ( $P < 0.05$ ) と有意な正の相関を示した。さらに、SL 構造の各スコアが各年代で占める割合は、40代をピークとして加齢に伴い増加した。この変化は毛穴の大きさの変化と類似していた。

さらに、これまでの検討から、皮膚表面の毛穴形状 (周囲の表皮のくぼみを含む) は加齢に伴い楕円化することがわかっていることから、SL 構造の形状も表面形状と同様に変化するかを検討するため、それぞれの楕円長短軸比およびその形状の傾きを比較した。その結果、今回の検討においても皮膚表面の毛穴形状は加齢に伴い楕円化し ( $P < 0.01$ )、SL 構造の形状も加齢に伴い楕円化した ( $P < 0.05$ )。さらに表面形状と SL 構造の長軸と任意の直線に対する傾きの差は 2 サンプルを除く全てのサンプルが  $30^\circ$  以内であり、表面形状と SL 構造の形状変化が類似していた。

### 【考察】

本研究結果から、頬部の目立つ毛穴において、周囲の特徴的な表皮構造 (SL 構造) の変化は皮膚表面の毛穴形状と非常に類似しており、これらは加齢に伴い変化していることが明らかとなった。

毛穴の表面形状や SL 構造の発達程度は 40-50 代までは加齢に伴い増悪し、その後減少する傾向にある。加齢に伴う毛穴表面形状の変化は、皮脂が毛穴目立ちの原因であるとする飯田らの報告とも一致していた。皮脂分泌量は 10-20 代をピークとして、その後加齢に伴い減少することから、皮脂分泌量の変化は SL 構造の発達や毛穴形状の増悪の一因である可能性はあるが、毛穴形状や SL 構造の増悪には 50 代以降も増加するその他の因子 (例えば皮膚の粘弾性の減少や表皮厚の減少など) が関与している可能性が考えられた。

今回の検討結果から、60-70 代の女性ではより発達した SL 構造を有する被験者が多く存在する一方、SL 構造を有する被験者の割合が 50 代以降低下するという傾向が認められた。このことは、50 代以降増加する未知の因子が SL 構造を軽減させる機能を果たす可能性が考えられ、このような軽減させる因子と増悪させる因子のバランスによって SL 構造の形成が決定されることが示唆された。

毛穴周囲の表皮構造の変化がどのように表面形状の変化に影響しているかは未だに不明な点が多い。表皮肥厚を伴う形状変化は隆起した表面を形成することが多いが、毛穴周囲の場合は表皮肥厚を伴い、くぼんだ表面を形成している。この形状変化は Kligman により報告されているニキビ痕の場合と類似している。近年、ニキビ痕の形成にはサイトカイン分泌による数種の matrix metalloproteinase (MMPs) の活性化が関与していることが報告されており、同様の減少が SL 構造の形成や表面のくぼみ形成に関与している可能性が考えられる。

### 【結論】

以上の結果から、毛穴目立ちにおける皮膚表面形状の変化には毛穴周囲の表皮-真皮形状の変化が関与していることが示唆された。しかしそのメカニズムには不明な点が多く、さらなる検討が必要である。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 清 水 宏  
副 査 教 授 守 内 哲 也  
副 査 教 授 渡 辺 雅 彦

学 位 論 文 題 名

## Age-related changes in the epidermal architecture around facial pores

(頬部毛穴周囲に存在する皮膚表皮構造の加齢変化)

本審査では、毛包に関する基礎的研究内容として、毛包発生および毛周期における RNA 結合蛋白質 Musashi の発現の検討、遺伝子治療のための毛包幹細胞への遺伝子導入、毛包再構築システムの構築、さらに、ヒトへの臨床応用としては、頬部毛穴周囲に存在する皮膚表皮構造の加齢変化について発表した。

毛包発生および毛周期における RNA 結合蛋白質 Musashi の発現を、我々は検討し、神経等の上皮系幹細胞の非対称性分裂に働く因子である RNA 結合蛋白質 Musashi が毛包において発現し、毛包幹細胞、前駆細胞の非対称性分裂および内毛根鞘細胞の細胞系譜の決定に関与している可能性を示した。

遺伝子治療のための毛包幹細胞への遺伝子導入、毛包再構築システムの構築については、我々は、ラットヒゲ毛包毛隆起部から細胞を培養し、毛包幹細胞を多数含む細胞集団を得た。また、これら細胞を免疫不全マウスの背部に移植することで、毛包の発生を認めた。さらに、毛包隆起部由来細胞に  $\beta$ -galactosidase をレトロウイルスを用いて導入した後、毛包表皮を再構成し、導入した遺伝子の発現は毛包上皮だけでなく、皮脂腺、表皮にも認められ、発現は少なくとも 6 ヶ月間維持されることを示した。これらの結果から毛包上皮幹細胞を標的とした遺伝子導入、毛包表皮再構成システムは、毛包と毛包間表皮において長期持続的に導入遺伝子の発現を得られるシステムであり、遺伝子治療への利用価値の高いものであることを示した。

頬部毛孔周囲に存在する皮膚表皮構造の加齢変化については、実際のヒト皮膚の観察から、顔面頬部の開大した毛孔（目立つ毛穴）周囲に存在する表皮肥厚と真皮乳頭の延長を伴う特徴的な構造 (stalagmite-like (SL) 構造) と毛孔形状の関連を統計的に検討し、その意義を検討した。その結果、SL 構造と表面形状は類似した形状変化を示すことから、頬部の開大した毛孔（目立つ毛穴）における皮膚表面形状の変化には毛孔周囲の表皮-真皮形状の変化が関与していることを示した。

副査の守内哲也教授からは、Musashi のヒトでの発現時期、Musashi と幹細胞との関係、毛包幹細胞への遺伝子導入による遺伝子治療の実際の臨床応用の可能性、加齢による毛孔変化の治療法についての質問、副査の渡辺 雅彦教授からは、皮膚における Musashi の機能、Musashi 陽性細胞の分化の方向性、再構築毛包の完成度、頬部毛孔周囲の変化に対するホルモンの影響についての質問、主査の清水宏教授からは、今回の毛包に関する研究を進展させ、今後、実際の臨床応用を目指すべきであるとの助言があり、申請者は大概適切な回答をした。

この論文は、毛包上皮細胞についての基礎的な研究成果を実際のヒト頬部毛孔変化のメカニズムの解明に応用した点が高く評価され、今後の加齢変化の改善法を含めた臨床応用が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。