

技術情報

しわ発生の新たなメカニズム～紫外線と血管新生～

資生堂ライフサイエンス研究センター 矢野喜一郎

1. はじめに

皮膚老化を誘導する環境因子として、紫外線、乾燥および酸化が知られており、現在までの研究から、特に紫外線は顕著なしわ発生の主要因子であることがわかっている。これまでに、多くの研究者によって、しわ発生は長期紫外線暴露による皮膚組織の構造的変化が原因であることが報告されている。実際に、しわが発生した箇所の皮膚を観察した場合、しわのない部分と比較して、コラーゲン線維が薄細化および断片化を起こしており、真皮ダメージが蓄積した組織像が観察されている。しかしながら、それら長期紫外線暴露による組織的な変化がどのようなメカニズムで起こるかについては、未だに多くの謎が残されていた。

そこで、それらメカニズムを明らかにするために、皮膚血管系に注目し、皮膚光老化との関連について研究を進めてきた。その結果、紫外線による皮膚血管系の変化が、皮膚老化プロセスに深く関わっていることを発見した。本稿では、紫外線による皮膚血管系の変化およびその生化学的役割、さらに皮膚血管系の分子制御について報告する。

2. 実験材料および方法

紫外線照射と皮膚生検体取得と組織学的解析
神奈川県在住のボランティア5名（26歳～46歳）それぞれの最小紅斑量（MED）を決定後、個々人の2MEDに相当する紫外線Bを臀部皮膚に照射して、48時間後に皮膚生検体を取得した。取得した皮膚サンプルは組織学的解析用に、凍結サンプル、ホルマリン固定サンプルおよびAMeX固定サンプルに供した。それらサンプルを用いて、組織学的検討を行った。

3. 結果

紫外線B照射による表皮肥厚、炎症性細胞の浸潤およびエラスチン線維の破壊（図1）

紫外線B照射による皮膚組織学的変化を検討した結果、正常皮膚(a)と比較して、紫外線照射後48時間の皮膚では、顕著な表皮肥厚が認められた(b)。また、エラスチンの免疫染色によって、正常皮膚では真皮乳頭層部から表皮に垂直に走行するエラスチン線維(c)が認められるのに対し、紫外線照射皮膚ではそれら線維の

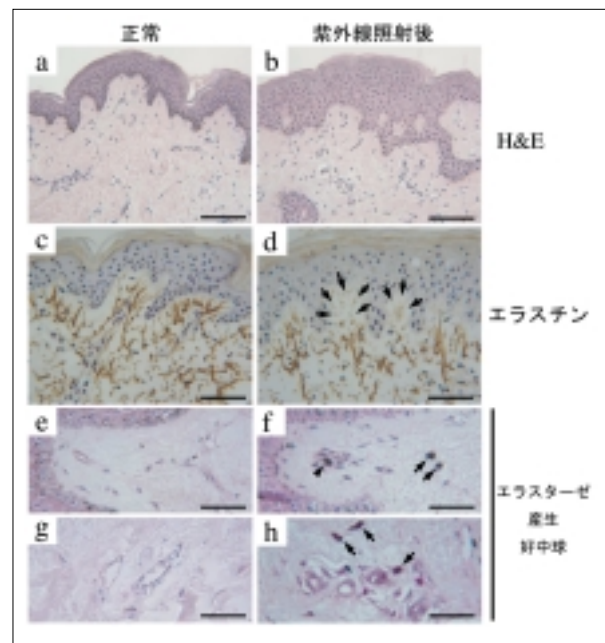


図1

消失が認められた(d)。さらに、ギムザ染色(好中球)および好中球エラスターゼの免疫染色の二重染色によって、エラスチンを分解する酵素エラスターゼを産生する好中球を検出したところ、正常皮膚では好中球などの炎症性細胞は全く検出されないのに対し(e,g)、紫外線照射皮膚では

血管と思われる箇所および皮膚真皮組織中に多数のエラスターゼ産生好中球細胞の浸潤が認められた(f, h)。

紫外線B照射による血管新生 (図2)

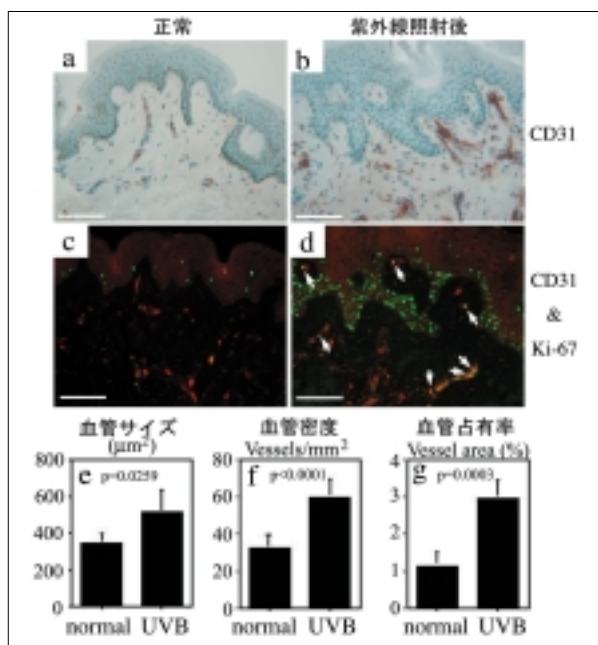


図2

上記の炎症性細胞は血管を介して皮膚組織内に浸潤することから、次に、紫外線の皮膚血管に与える影響について検討を行った。血管内皮細胞接合分子であるCD31に対する抗体を用いて、免疫染色を行った結果、正常皮膚では小さな血管が僅かに認められた(a)のに対し、紫外線皮膚では各々の血管が拡張および伸張し、さらに、その数も増加していることが確認された(b)。実際に、CD31で免疫染色した皮膚切片を用いた画像解析により血管を定量化すると、正常皮膚と比較して紫外線皮膚では、血管サイズ(e)、血管密度(f)および血管占有率(g)が有意に増加していた。

紫外線B照射による表皮中でのTSP-1発現低下およびVEGF発現亢進 (図3)

次に、紫外線による血管新生がどのようなメカニズムで発生しているかを検討するために、皮膚血管系を制御している2つの因子に注目した。

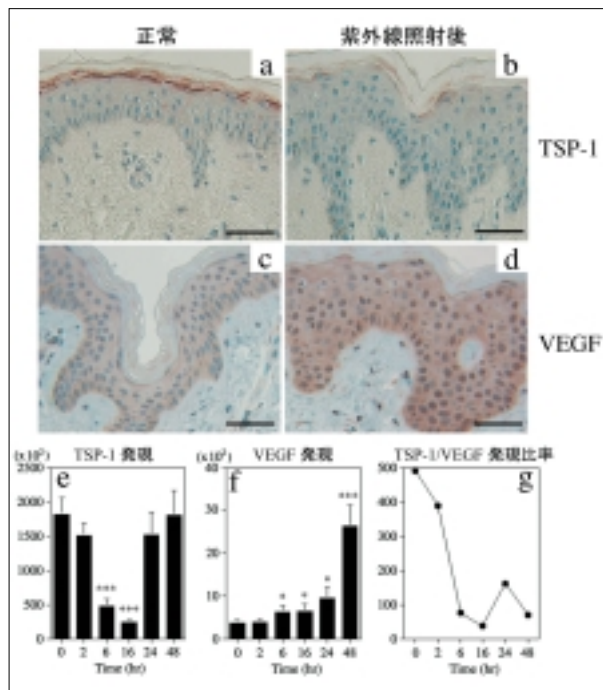


図3

一つは血管内皮増殖因子(VEGF)で、主に上皮系から産生されており、血管内皮細胞に局在する受容体(VEGFR-1, -2, neuropilin-1)に作用し、血管新生を誘導する因子である。もう一つは、内在性血管新生阻害因子トロンボスポンジン-1(TSP-1)で、上皮系および間葉系細胞で産生されている。その主な機能は、内皮細胞表面に存在する受容体CD36と相互作用することで、内皮細胞でアポトーシスを誘導し、血管新生を阻害する¹⁾。そこで、抗ヒトTSP-1抗体および抗ヒトVEGF抗体を用いて、免疫染色を行い、両因子の発現検討を行った。その結果、正常皮膚ではTSP-1は表皮中で恒常的に発現しており(a)、一方VEGFの発現はほとんど認められない(c)。紫外線照射によって、表皮中のTSP-1発現は低下し(b)、一方VEGFの発現は亢進していた(d)。

さらに、培養HaCaTケラチノサイト(上皮系細胞)に紫外線を照射(30mJ/cm²)して、VEGFおよびTSP-1のmRNA発現をRT-PCRにより検討した。それらの結果も免疫染色による検討と同様に、紫外線による血管新生は、阻害因子TSP-1の低下および促進因子VEGFの亢進が起こることにより血管新生が起こりやすい状態にシフト

(e,f,g) したことによって起こっている可能性が示唆された。

4. 考察

正常皮膚では、恒常的な血管新生阻害因子 TSP-1 遺伝子発現によって皮膚血管系は、落ち着いた状態にあるが、紫外線B単回照射によって TSP-1 遺伝子の発現低下と VEGF 遺伝子の発現亢進により、顕著な真皮血管新生が誘導されていた。さらに、それら新生血管からエラストラーゼを産生する好中球が皮膚組織へと浸潤し、エラスチン線維のダメージを引き起こしていた。これらの結果は、紫外線による皮膚ダメージにおいて、血管新生が重要な役割を担っていることを示唆していた。また、紫外線B単回照射によって起こる血管を介した皮膚ダメージが、長期紫外線照射によって蓄積し、紫外線による皮膚構造変化をもたらす、しわ形成の一因となっていることも示唆していた。

皮膚血管系は、皮膚組織細胞に酸素・栄養輸送ならびに代謝老廃物排出といった機能を持ち、毛成長²といった皮膚生理機能の恒常性を維持する重要な役割を担っている。また、紫外線によって誘導された血管は、炎症性細胞を浸潤させ、

それらが産生するマトリクス分解酵素によって、紫外線でダメージを受けた真皮マトリクス成分を分解・除去する修復メカニズムであると考えられる。しかし、これら紫外線によって誘導された新生血管は、正常なマトリクス成分まで分解し、修復よりもむしろダメージの側面を有している可能性が示唆された。実際に、TSP-1 高発現皮膚組織中では、血管新生抑制に連動して、浸潤した炎症性細胞の数が少なく、かつ皮膚マトリクス成分のダメージも抑えられていた³。

これらの結果は、紫外線によって誘導された血管新生は、本来血管が持ち合わせている有益な機能よりも皮膚組織にとってマイナスとなる作用を強く有していることを示唆していた。

以上すべての検討から我々は、紫外線B照射によって表皮中の TSP-1 および VEGF の発現バランスが破綻し、その結果血管新生が誘導され、それが皮膚光老化の引き金を引いていたことを発見した。さらにそれらの結果は、内在性血管新生阻害因子(TSP-1)を表皮中で恒常的に発現させ、紫外線による血管新生を抑制することが、皮膚老化を予防する新たな方法になる可能性を示唆していた。

参考文献

- 1) Jimenez B et al. : Nature Medicine 6, 41-48, 2000
- 2) Yano K et al. : Journal of Clinical Investigation 107, 409-417, 2001
- 3) Yano K et al. : Journal of Investigative Dermatology 118, 800-805, 2002