

研究

環境因子と皮膚 —紫外線と喫煙による皮膚の老化—

森田 明理*

1. 皮膚の老化

皮膚の老化には、内因性老化（自然老化）といわれる非露光部にみられるものと露光部にみられる光老化がある。最近では、内因性老化（intrinsic aging）以外として、日光暴露を含めた環境因子から生じる外因性老化（extrinsic aging）があり、その中に光老化が含まれるようになった。疫学的な調査の結果、喫煙と皮膚老化の関係が見出されたためである。

2. 光老化

顔面・頸部・手背などの露光部位で、長期間繰り返し日光暴露をうけた皮膚に生じる。皮膚は、黄色調となり、種々色素斑が増え、微細なしわや深いしわが増え、皮膚の光沢がなくなり、粗造、乾燥してくる（図1）。このような皮膚の変化を光老化とよぶ。光老化は加齢による内因性老化とは質的に異なるものであるが、内因性老化の上に形成され、日光暴露の時間、スキンタイプの違い、生活習慣（戸外の仕事やアウトドアスポーツを好むかなど）、緯度などによる影響を受ける。光老化した皮膚の特徴は、深いしわと脱色素斑を含むしみ（age spots）である。日本人では、白人に比べしみができやすく、しわが少ないということが小規模の調査であるが明らかとなっている。

光老化は19世紀にpremature agingと言われたのに始まる。1983年にFitzpatrickが皮膚（derma）と太陽の神（Helios）からdermatoheliosisという言葉



図1 光老化と内因性皮膚老化の違い
Vネック部分に光老化がみられる。

を造った。1986年にはKligmanがphotoagingと定義し、以後photoaging（光老化）という言葉が一般的になっている¹⁾。

3. 光老化皮膚の臨床症状と病理組織学的特徴

臨床的には、長年の日光暴露の結果、前述の様な皮膚の変化がみられる。図1に示すように、露光部であるVネックには、光老化がみられ、それ以外の内因性老化とは容易に区別することができる。これらの変化に加え、脂漏性角化症を始めとする種々の良性腫瘍、日光角化症などの前癌病変、有棘細胞癌、基底細胞癌、悪性黒色腫などの皮膚癌を合併する。

日光に含まれる紫外線は、皮膚の表面の角層で部分的に反射・散乱し、残りの光が表皮・真皮へと到達する。中波長紫外線（UVB）のほとんどは表皮で吸収され、真皮には10%程度のみ深達するのみである。波長としては、長波長紫外線（UVA）が真皮に届くのであるが、UVAに比べ

*名古屋市立大学大学院医学研究科 加齢・環境皮膚科学
（もりた あきみち）

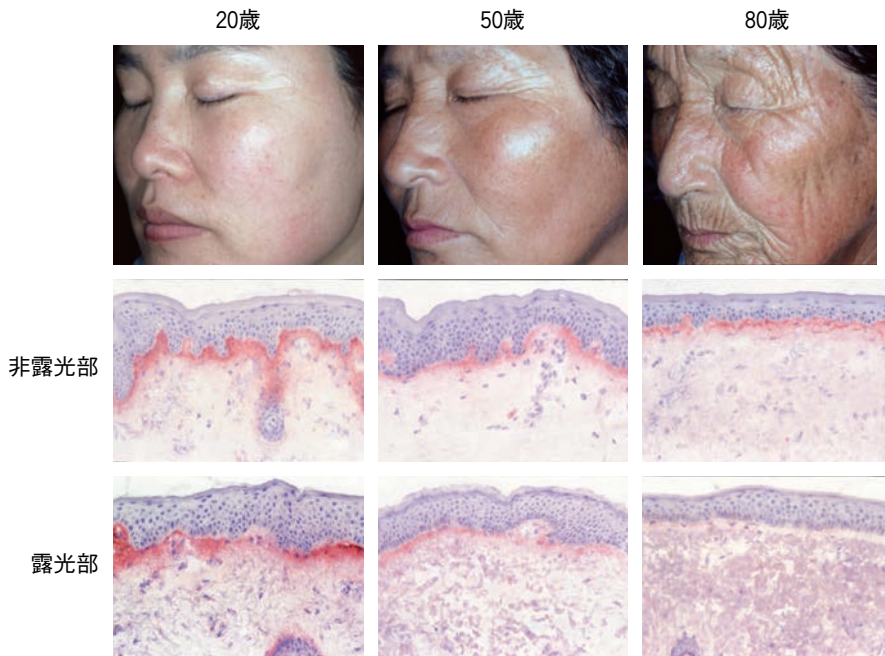


図2 露光部と非露光部におけるタイプIプロコラーゲン発現の年齢による差異 (by courtesy of Dr. Jin Ho Chung)

UVBではエネルギー量が大きく、たとえわずかなUVBが届いても作用があるとされる。300nmと320nmの1光子のエネルギーの差は、約1000倍とされるほどUVBとUVA領域には違いがある。光老化には、UVA、UVBとも関与していると考えられている。その他に、新たに赤外線や熱なども皮膚老化に関与することが明らかとなっている。

病理組織学的には真皮内に変性した弾性線維が増加し均一な染色性を示す。これをsolar (actinic) elastosisといい、この変化は光老化に特徴的とされている。Solar elastosisは、主にはエラスチン、フィブリリンを含む弾性線維からなるが、少量ではあるがtypeIとtypeIVのコラーゲンやtypeⅢのプロコラーゲン、プロテオグリカンであるパーシカンなども含まれる。エラスチンとフィブリリンのmRNAが強い増加を示していることから、エラスチン蛋白合成が促進していることが明らかとなっている。

光老化皮膚では真皮の膠原繊維や細胞外基質の変性や減少が認められる。またtype IとtypeⅢ

のプロコラーゲンの変性と減少も認められる(図2)²⁾。生化学的には真皮の間質成分であるプロテオグリカンやグリコサミノグリカンが増加している。ヒアルロン酸は減少している。

4. しわ・しみの解析方法

加齢に伴う皮膚の機能や形状の変化を定量化することが可能となった。経表皮水分喪失量(trans-epidermal water loss: TEWL)を測定することによる角質機能の測定、皮膚粘弾性測定、皮膚色測定、しわのレプリカ解析などがあるが、最近では皮膚画像解析カウンセリングシステムが用いられるようになった。インフォワード社のロボスキナアナライザーやCanfield Scientific社のVISIAがあり、しみ、しわ、毛穴、皮膚の色調、きめなどを比較的容易に測定することができる(図3)。これらの装置は、撮影ボックス内に頭部を固定し、内部に設置した高解像度カメラによって、顔全体の写真をデジタル化してコンピューター内へ取り込む。画像解析ソフトによって、必要なデータ



図3 皮膚画像解析装置(左)ロボスキンアナライザー(インフォワード)
(右)VISIA-CR (Canfield Scientific)

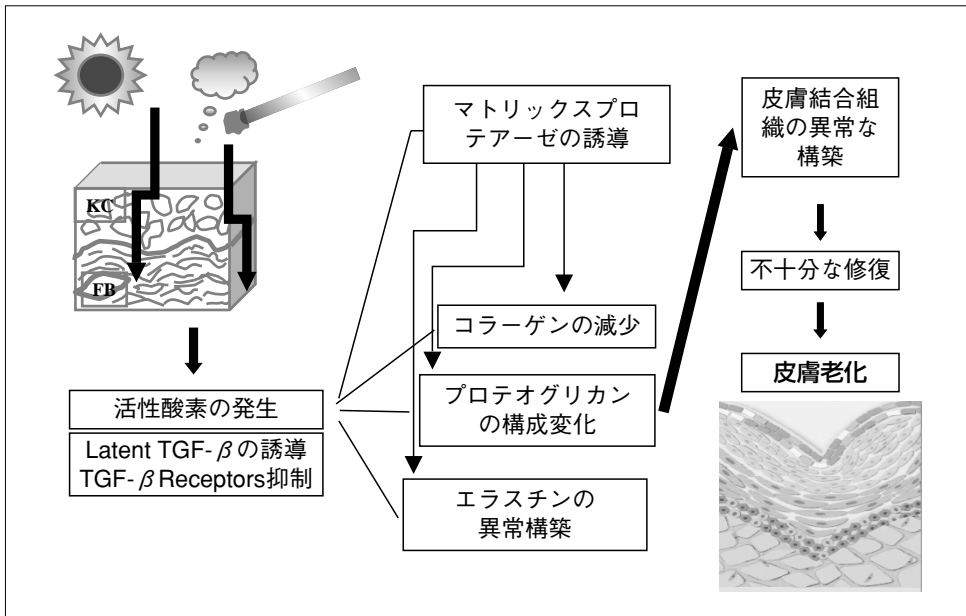


図4 環境因子による皮膚老化のメカニズム

を瞬時に得ることができる。

5. 光老化のメカニズム

紫外線の反復照射によって膠原線維や細胞基質の変成が繰り返され、修復が不完全なため引き起こされる皮膚の状態が、光老化である。この病態に対して、人の線維芽細胞や皮膚を用いた研究で機序の解明が進んでいる。基本的な光老化の病態は、炎症・酸化ストレスやTGF-βレセプターから

のシグナル抑制を介し、コラーゲン変性、コラーゲン産生抑制やその他の弾性線維の増加、プロテオグリカンの変動などで考えられている(図4)。

酸化ストレスは、紫外線照射によって発生する活性酸素ために生じる。光老化皮膚では、細胞内抗酸化システムの低下(カタラーゼ、SOD、グルタチオンの低下など)があり、通常では消去される(作用がなくなる)活性酸素量が低下する。そのため、紫外線の反復照射によって、次第に活

性酸素量が増加し、大きな酸化ストレスをもたらすようになる。活性酸素としては、過酸化水素、スーパーオキシドや一重項酸素などがあり、エラスチンのmRNAの発現や、コラゲナーゼ (MMP-1) などのマトリクスメタロプロテアーゼ (matrix metalloproteinase) のmRNAの発現が増加する。その他、ゼラチナーゼ (MMP-9)、ステロメライシン (MMP-3) などが、培養線維芽細胞や皮膚でmRNAやタンパクの上昇としてみられる。マトリクスメタロプロテアーゼの阻害酵素であるTIMP-1 (tissue inhibitor of metalloproteinase) - 1も上昇があってもコラゲナーゼの誘導に比べて少ないか、もしくは上昇がないため、全体としてはコラゲナーゼ優位となり膠原線維や細胞基質の破壊が進む結果となる。一方、細胞内では、mitogen-activated protein (MAP) kinaseが、マトリクスメタロプロテアーゼやプロコラーゲン発現に重要な働きをするが、MAP kinaseである3つのものがextracellular signal-regulated kinase (ERK)、c-Jun amino-terminal kinase (JNK)、p38MAP kinaseがその役割を担う。これらのMAP kinaseの下流には、c-Fos、c-Junなどの転写因子が存在し、c-Fosとc-Junはヘテロダイマーを形成しAP-1作られ、マトリクスメタロプロテアーゼやプロコラーゲン発現調節が行われる。光老化した皮膚では、JNK、p38の活性化とともにAP-1が活性化され、コラゲナーゼの誘導、プロコラーゲン発現低下がみられる³⁾。

その他、紫外線照射によって、人培養線維芽細胞において、TGF- β type IIレセプターの発現低下がみられ、TGF- β に反応しにくい状態になり、また線維芽細胞からはlatent type TGF- β が産生され、レセプターに結合できないTGF- β の産生もみられる⁴⁾。

6. 喫煙と皮膚老化-紫外線につぐ最大の環境因子

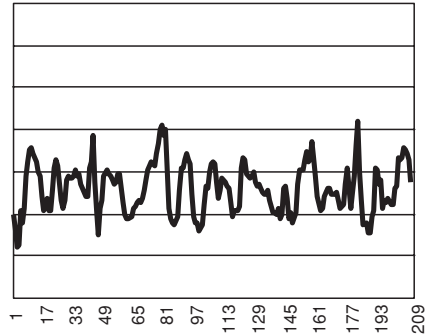
タバコの喫煙と皮膚の老化が関与することは、1971年にDaniellによる大規模の疫学的調査の結果報告された⁵⁾。最近のKadunceらの疫学的調査

では、喫煙が、年齢、性別、日光暴露時間などの他の因子とは別に皮膚の老化に関与する因子であることが示された⁶⁾。本邦においても、著者らが、83人 (男48人、女35人、23-95歳) に、年齢、喫煙、日光暴露、飲酒、日常生活などを質問して、クロスセクションを用いしわ形成との関与を検討した。しわは、目尻のしわを数えるDaniell scoreを用いて数値化した。段階的重回帰分析を行った結果、年齢、喫煙、日光暴露の各々が有意にしわ形成に関与することが明らかとなった。さらに、ロジスティック統計解析を用いオッズ比を算定した結果、喫煙 (35pack-year以上、なお1 pack-yearとは、毎日1箱1年間喫煙したことをいう) では、非喫煙者に比べ5.8倍の相対危険率があることが明らかとなった。この結果は、Daniellが検討した際に得られた50pack-year以上の喫煙者で4.7倍の相対危険率に近い値である。日光暴露 (紫外線) もしわ形成に関わる環境因子であるが、この場合1日あたり2時間以上日光暴露のある人ではそうではない人に比べ2.65倍の相対危険率であった。この喫煙と日光暴露の2つの環境因子があれば、喫煙 (35pack-year以上) と日光暴露 (毎日2時間以上) の場合、非喫煙で日光暴露 (毎日2時間未満) の人と比べると11.4倍の相対危険率が得られた。これらの検討からしわ形成の環境因子として、喫煙と日光暴露 (紫外線) が大きく関わる事が明らかとなった⁷⁾。また、これらの解析から以下の計算式を得ることができた。

$$\text{Daniell score} = -1,24 + 0.05x \text{ age} + 0.015x \text{ packyear} + 0.158x \text{ sun exposure}$$

この計算式から見れば、4 pack-yearにより非喫煙者における1年分のしわが形成されることになる。さらに、しわの定量化をするためにシリコンレプリカを用いて、しわのレプリカを採取し、コンピューター解析を行った。図5にその代表的なレプリカを示すが、44.5pack-yearというヘビースモーカーでは、レプリカでは明らかに深いしわが観察でき、コンピューター解析ではしわが

A : Packyear = 0, Age = 87



B : Packyear = 44.5, Age = 84

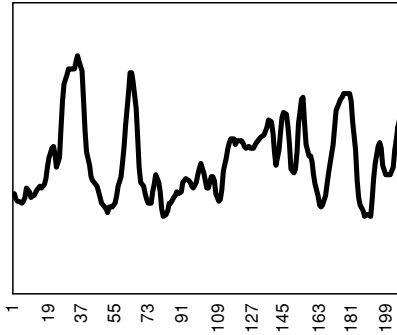


図5 A : 87歳、非喫煙者のしわのレプリカ。
B : 84歳、44.5pack-yearの喫煙者のレプリカ。
Bでは、大きく深いしわがみられる。

不均一でしかも深いことが明らかである。この現象は喫煙量が増えるほど有意に増強する。

7. 喫煙による皮膚老化のメカニズム

喫煙がどんなメカニズムで皮膚老化を引き起こすのかは明らかにされていなかったため、私たちの研究室では、正常人培養線維芽細胞を用いることで喫煙による皮膚老化の機序に関して解析を進めてきた。この機序の解析に関しては世界でも最も早くから研究を始め成果を発表した研究グループである。喫煙による皮膚老化の機序を明らかにすることを目的とし、タバコ煙を水溶化し正常人培養線維芽細胞に加え、Collagen、Metalloproteinase (MMP)、Tropoelastin、Proteoglycanなどのタンパク・mRNAの変化をin vitroで検討した。また一部の実験では紫外線の影響と比較するため

UVAの照射を行った。mRNAの発現には、RT-PCR法を用い、PCR産物をコンピューター解析で半定量化した。Collagen type I・III、Versican、Decorinの測定は単クローン抗体を用いてWestern blot法で行った。また培養上清では新生するCollagen自体の産生を3H-proline incorporation法で定量した。さらに、抗酸化剤を培養液に添加し、活性酸素との関連を検討した⁸⁾⁹⁾。

正常人線維芽細胞にタバコ煙抽出液を加えたところ、培養上清液ではCollagen type I・IIIの産生が抑制され、25 $\mu\text{l}/\text{ml}$ の濃度ではCollagen type I、IIIの量はそれぞれ対象群の9.2%、10.7%となった。同時に新生するCollagen自体も減少し、25mg/ ml の濃度では対象群に比べて40.1%減少した。また、タバコ煙抽出液によって、MMP-1・MMP-3のmRNAは、量依存的に発現が増強し、

25 $\mu\text{l}/\text{ml}$ の濃度で最大の発現を認めた。しかし、MMP-1・MMP-3を調節するTIMP-1・TIMP-3のmRNAレベルの変化はみられなかった。さらに、細胞培養液に分泌されたMMP-1・MMP-7タンパクの量が、タバコ煙抽出液により顕著に増加することをELISA法で明らかにした。タバコ煙抽出液およびUVAのいずれの処理によってもTropoelastin mRNA量は有意に増加したが、Versicanタンパク及びmRNAの量は有意に減少した。タバコ煙抽出液処理ではDecorinタンパク量は有意な増加が見られたが、UVA処理ではDecorinタンパク量は有意な変化がなかった。アジ化ナトリウム、アスコルビン酸、ビタミンEの各々の添加により、タバコ煙抽出液によるMMP-1の産生の抑制がみられた。培養系において、タバコ煙抽出液は、MMP/TIMPの不均衡により結合組織自体の分解の方向に働くこと、またCollagenタンパク量が減少し、同時にその産生も抑制されること、さらにTropoelastinの産生能増加やProteoglycan代謝の変化を引き起こすことなどが明らかとなった。以上のin vitroの結果は、Collagenの減少、Elastinの増加をもたらすとされるこれまでのin vivoにおける皮膚老化の変化と相関していることが示された。なおVersicanとDecorinの変化についてはこれまでのin vivoでの報告はない。またMMPの増強はタバコの直接作用あるいは活性酸素を介した間接作用により生じたと考えられるが、抗酸化剤添加によりMMP産生が抑制されたことより活性酸素の関与が明らかとなった。このことは抗酸化剤が皮膚老化を予防する可能性を示唆している。以上のように、この研究は、タバコ煙によって引き起こされる皮膚細胞外マトリックスの変化をin vitroで解析し、タバコが皮膚の老化に影響を与える環境因子の1つとなり得ることを明らかにした。図4に私たちの解析から明らかとなったことを示しまとめた¹⁰⁾。

8. タバコの研究-今後への展開

これらの結果は、人での検討と同じように、タバコが、皮膚の老化に直接関与する可能性を示唆

する。さらに現在、動物実験で、タバコによってしわが形成されるか検討を進めている。タバコ煙に含まれる多くの物質中の、特に水溶性成分で強く働くことが示唆されており、これはすなわち、間接喫煙も皮膚に大きな影響を及ぼすことを意味している。自分自身が喫煙しなくともタバコ煙の充満した部屋にいるだけで、皮膚の表面からタバコ煙の影響を受け、皮膚の老化が進んでしまうこと可能性が示唆される。喫煙による健康被害は大きな問題であり、本研究は急務を要するのではないと思われる。

〔文 献〕

- 1) 川田暁：光老化皮膚のメカニズムと予防、日皮会誌：114：1875-1880、2004。
- 2) Chung JH, Seo JY, Choi HR, Lee MK, Youn CS, Rhie G, Cho KH, Kim KH, Park, KC, Eun HC: Modulation of skin collagen metabolism in aged and photoaged human skin in vivo, J Invest Dermatol, 117: 1218-24, 2001.
- 3) Chung JH, Cho S, Kang S: Why dose the skin age?, In: Rigel DS, Weiss RA, Lim HW, Dover JS (eds) : Photoaging, Marcel Dekker, New York, 2004, 1-13.
- 4) Yin L, Morita A, Tsuji T: The crucial role of TGF-beta in the age-related alterations induced by ultraviolet A irradiation, J Invest Dermatol, 120, 703-705, 2003.
- 5) Daniell HW. Smoker's wrinkles. A study in the epidemiology of "crow's feet". Ann Intern Med. 75: 873-80, 1971.
- 6) Kadunce DP, Burr R, Gress R, Kanner R, Lyon JL, Zone JJ. Cigarette smoking: risk factor for premature facial wrinkling. Ann Intern Med. 114: 840-4, 1991
- 7) Yin L, Morita A, Tsuji T: Skin aging induced by Ultraviolet Exposure and Tobacco Smoking: Evidence from Epidemiological and Molecular Studies, Photoderm Photomed. 17: 178-183, 2001.
- 8) Yin L, Morita A, Tsuji T. Tobacco smoking: a role of premature skin aging. Nagoya Med J. 43, 165-172, 2000.
- 9) Yin L, Morita A, Tsuji T. Alterations of extracellular matrix induced by tobacco smoke extract. Arch Dermatol Res. 292: 188-194, 2000
- 10) Morita A: Tobacco smoke causes premature skin aging. Journal of Dermatological Science, 48: 169-175 2007.