

(様式5)

学 位 論 文 要 旨

西暦 2020 年 7 月 20 日

学位申請者

(五味 貴優) 印

学位論文題目

赤唇部の加齢変化に関する組織学的研究

学位論文の要旨

口唇は、内部構造の中心に口輪筋、皮膚と酷似した外観の白唇、一般に唇と呼ばれる口裂部の赤唇、口腔内の口唇粘膜からなる。赤唇は、皮膚と粘膜の移行部とみなされているが、それぞれの組織が徐々に移行する合流点ではなく、周辺組織には存在する皮下脂肪を有さずに、角層、重層扁平上皮 (stratified squamous epithelium : SSE) と真皮のみからなる三層構造で、さらに付属器が少ないといった特徴の、周囲とは異なった組織である。また、赤唇は他の哺乳類ではほとんど目立たず、特にヒトにおいて顕著に発達した器官である。赤唇はその位置や色調、形状から視認されやすく、健康状態や美的魅力に関する他者からの印象形成に影響する。そのため、美容や心理、認知分野にて研究対象として着目され、赤唇の赤みと頬色との関係や、赤みと魅力度との関係、高さの魅力度との関係などの多くの報告がある。さらに、加齢変化に関しても多くの報告がなされており、印象形成に悪影響となる明るさや赤みの減少、高さや体積の低下、また、加齢に伴う柔軟性の増加などが報告されている。しかしながら、これらの加齢変化研究は、写真やコンピューターグラフィックを用いた研究やヒト生体の行動観察、または非侵襲的な計測研究がほとんどであり、加齢変化の原因となる内部の組織に関する報告は極めて少ない。そもそも赤唇については組織学的報告自体が少なく、角化状態の皮膚との比較や上皮組織でのケラチン発現パターンの白唇および口唇粘膜との比較が僅かに報告されている程度である。加齢変化の報告では、低侵襲で解析可能な角層の加齢変化、メラノサイト数の加齢変化、口唇全体ではあるが口輪筋の形状変化と、周辺組織である白唇部中央位置における口唇全体の厚さに対する真皮と脂肪層の厚さの年代比較が報告されているのみで、上皮、真皮、真皮内の付属器などに関する加齢変化の報告はない。

本申請論文では、このように、美容や心理・認知研究の対象として着目されている赤唇に関して、研究の基盤情報となる組織レベルの知見が乏しい現状は、赤唇の加齢変化の原因解明研究の実施や、赤唇の加齢変化に対するエビデンスに基づいた対抗手段の開発を行うにあたっての障害であると考え、赤唇の老化研究における研究基盤となる、加齢による赤唇組織の変化についての情報を取得することを主眼として、組織切片を用いた組織学的、免疫組織化学的研究を実施した。

第1章では、赤唇の赤色に影響する代表的な要素と推測された血管に着目して、抗CD31抗体を用いた血管の免疫組織化学的検出を主とした解析を実施した。その結果、真皮全層において、血管数が維持されたまま、血管の断面積が減少することを明らかとした。このことから、加齢により赤唇の真皮全体の血管が細くなることが示唆された。また、真皮の上層に領域を限定した解析から、赤唇の真皮上層部では、血管数と血管断面積の両方が減少することを明らかとした。このことから、加齢に伴い血管が退縮し、真皮の上層部まで到達する血管の数が減少することが示唆された。血管が細くなることや血管数が減少することは、血流の低下につながり、組織内の色成分の中で主要な赤色の要素である酸化型ヘモグロビンを含む赤血球を減少させると考えられる。特に、赤唇表面に近い真皮上層の血管数の減少は、外観から

視認される赤みの減少に影響を及ぼしやすいと考えられる。このことから、赤唇では、加齢に伴う真皮の血管の太さの減少と真皮上層の血管数の減少が、赤唇表面から観察される加齢に伴う赤みの低下に寄与していると推測された。次に、血管の色が外観に到達して視認されるまでの必須通路となるSSEに関して形態を解析し、SSEと真皮の境界であるdermo-epithelial junction (DEJ) の平坦化を明らかとした。さらに、DEJの長さや真皮上層部の血管数との正の相関を見出した。一方、DEJの長さを決定する上皮組織の真皮への伸展 (rete ridges) に影響すると示唆されている血管とは別の要素である、上皮細胞の分裂活性に対して、抗Ki67抗体を用いた免疫組織学的解析を実施した結果では、DEJの長さや分裂細胞数との間に相関を認めなかった。真皮上層の血管も上皮組織の真皮への伸展 (rete ridges) に影響すると示唆されていることから、真皮上層の血管の加齢に伴う減少が、加齢に伴うSSEの平坦化に寄与していると考えられた。さらに、表皮細胞での知見より、血管の加齢変化はこのDEJの平坦化を通じてSSEの状態に影響を及ぼす可能性も推測された。

第2章では、加齢に伴い赤唇が薄くなる原因として、赤唇の三層構造の中で最大の厚さである真皮の加齢変化の影響を仮定し、真皮の主要な成分である膠原線維、弾性線維、ヒアルロン酸に着目した組織学的解析および免疫組織学的解析を実施した。その結果、加齢に伴うヒアルロン酸の顕著な減少と膠原線維の減少、加齢による膠原線維の形態悪化を明らかとした。加えて、免疫組織学的解析にて、加齢によるヒアルロン酸合成酵素であるHAS1の減少と、ヒアルロン酸分解酵素であるCEMIPの増加が見出されたことから、赤唇真皮での年齢依存性のヒアルロン酸減少の原因として、HAS1によるヒアルロン酸合成の低下とCEMIPによるヒアルロン酸分解の双方からの影響が示唆された。また、加齢によるI型プロコラーゲンの減少も見出され、加齢に伴う膠原線維減少の一要因として、I型コラーゲン産生の低下が示唆された。ヒアルロン酸や膠原線維とは対照的に、弾性線維には年齢との相関関係は認められなかった。この第2章での研究にて取得された結果と、皮膚や歯肉での加齢変化との類似性、由来とする身体の部位(組織)毎の線維芽細胞のメカニカルストレスや刺激物質に対する反応性の違いを示す先行文献を総合的に考察した結果、赤唇の真皮で認められた膠原線維やヒアルロン酸の加齢に伴う減少には、光暴露や部位差が影響する可能性が考えられた。このようにヒアルロン酸や膠原線維に加齢変化が認められたのとは対照的に、真皮の厚さと年齢の間には相関関係が認められなかった。このことから、赤唇周辺で厚さに影響しうる組織である口輪筋に研究対象を上げた第3章の研究を行った。

第3章での研究対象となった口輪筋は、赤唇周辺の組織内において相当量の体積を占める。また、口輪筋は赤唇近くで体表側に向かってJ字形を形成し、唇全体を彎曲させて赤唇を目立たせている一因と考えられる。この彎曲に関しては、加齢によりJ字形から直線状へと変形する先行研究の報告があり、加齢にともない赤唇が薄くなる原因として寄与する可能性が推測されている。また同時に、高齢者の口輪筋内の筋線維では萎縮の所見も報告されており、筋線維萎縮が直線状への形態変化の一因と考察されている。このような背景から、口輪筋先端の赤唇に進入している部分の筋線維を組織学的に解析した結果、口輪筋の先端部において加齢に伴う筋線維の萎縮が確認された。さらなる検討として、筋線維を構成するミオシン重鎖種についての免疫組織学的解析を実施した結果、口輪筋の先端部の筋線維にMYH2、MYH4、MYH7が含まれることを明らかとするとともに、MYH4には顕著な加齢変化はないが、MYH2とMYH7が加齢に伴い減少することを明らかとした。本結果は、口輪筋が速筋線維と遅筋線維の両方の筋線維にて構成されているという先行研究での報告を、ミオシン重鎖のタンパク種レベルで裏付けるものであるとともに、加齢による口輪筋中の筋線維の萎縮が、MYH2とMYH7の減少に起因する可能性を示唆するものであった。また、MYH4には顕著な変化を認めずに、MYH2とMYH7の減少が認められたことから、口輪筋の加齢過程にて、酸化型から解糖型への質的な筋線維型のシフトが生じる可能性が推察された。

以上、本申請論文の研究により、赤唇組織の加齢変化として、真皮では血管が細く、上層部で少なくなり、膠原線維とヒアルロン酸が減少すること、口輪筋では筋線維が萎縮することが示された。さらに、分子レベルでの加齢変化として、真皮ではI型プロコラーゲンおよびHAS1の減少とCEMIPの増加が、口輪筋ではMYH2とMYH7の減少が、それぞれ示され、上記組織レベルの加齢変化の原因となる可能性が示唆された。これらの知見は、赤唇の加齢研究に対する基礎的なエビデンスを提供するものであり、今後の赤唇の加齢研究、および、赤唇の加齢変化に対する美容・医学的な処置法の根拠として有用となると考えられる。

(様式6)

S u m m a r y

Applicant for degree: July, 20th 2020

(Takamasa Gomi)

Title of thesis :

Histological investigation of changes in the vermilion with aging

The vermilion, red part of the lips, influences the perception of facial impressions, such as health conditions, age, and esthetic attractiveness. Although age-related changes in vermilion feature have been reported using non-invasive measurements, there have been few reports of tissue changes underlying those changes. The lack of the histological information concerning age-related alteration of the lip tissue is a disincentive for progression of lip aging research and development of effective remedies. Therefore, we aimed to provide the direct evidences of histological changes of the vermilion with aging. For this purpose, we investigated lip specimens from the intermediate position of right side of the upper lip of female Caucasian cadavers of various ages by histologically and immunohistologically.

As a result of the present study, following age-dependent changes in the vermilion were revealed: decrease of blood vessels, collagen fibers, and hyaluronan in dermis; decrease of the number of blood vessels reaching upper dermis; loss of rete-ridges and flattened dermo-epithelial junction; morphological deterioration in collagen fiber bundles in the mid dermis; and atrophy of muscle fiber in the rounded knob-like tip of orbicularis oris muscle. Furthermore, some molecular changes was also revealed in the present study: decrease type I procollagen which is a main constituent of collagen fibers, decrease HAS1 which synthesizing hyaluronan, increase CEMIP which degrading hyaluronan, decrease MYH2 and MYH7 which composed muscle fiber in the orbicularis oris muscle. These age-dependent changes revealed in the present study should be considered as causes for known age-dependent changes in lip color and loss of lip fullness, because of their own specific nature.

As described above, the present study provides histological evidences of age-related changes in vermilion regarding blood vessels, dermal extracellular matrix, and orbicularis oris muscle for the first time. These findings would be useful as a basis for a research on the lip aging and as a basis for cosmetic and medical treatment of lip aging.