

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第3604530号  
(P3604530)

(45) 発行日 平成16年12月22日(2004.12.22)

(24) 登録日 平成16年10月8日(2004.10.8)

(51) Int.C1.<sup>7</sup>

F 1

A 61 B 5/00

A 61 B 5/00

M

A 61 B 5/107

A 61 B 5/10

300Q

請求項の数 4 (全 6 頁)

(21) 出願番号 特願平9-74363

(22) 出願日 平成9年3月11日(1997.3.11)

(65) 公開番号 特開平10-248813

(43) 公開日 平成10年9月22日(1998.9.22)

審査請求日 平成13年9月25日(2001.9.25)

(73) 特許権者 000113470

ポーラ化成工業株式会社

静岡県静岡市弥生町6番48号

(74) 代理人 100102842

弁理士 葛和 清司

(72) 発明者 西森 康友

神奈川県横浜市戸塚区柏尾町560 ポー

ラ化成工業株式会社 戸塚研究所内

(72) 発明者 松本 克夫

神奈川県横浜市戸塚区柏尾町560 ポー

ラ化成工業株式会社 戸塚研究所内

(72) 発明者 見城 由紀子

神奈川県横浜市戸塚区柏尾町560 ポー

ラ化成工業株式会社 戸塚研究所内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】皮膚の状態の鑑別方法

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

真皮コラーゲン線維束の顕微鏡による拡大像を観察及び/又は画像解析して得られる真皮コラーゲン線維束1本1本の構造の変化を指標とする、皮膚状態の鑑別方法(但し、医療行為を除く)。

## 【請求項2】

皮膚状態がしわである、請求項1に記載の鑑別方法。

## 【請求項3】

顕微鏡が電子顕微鏡である、請求項1又は2記載の鑑別方法。

## 【請求項4】

真皮コラーゲン線維束の顕微鏡による拡大像を観察及び/又は画像解析して得られる真皮コラーゲン線維束1本1本の構造の変化を指標とする、薬剤によるしわの消失を鑑別する方法(但し、医療行為を除く)。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

## 【発明の属する技術分野】

本発明は、しわ等の皮膚の変化を鑑別するのに好適な皮膚状態の鑑別方法に関する。

## 【0002】

## 【従来の技術】

美しいきれいな皮膚は誰しも求めて止まないものであり、又、皮膚の状態は種々の要因に 20

よって変化する。例えば、しわの形成は、年齢に従って或いは手入れや光などの損傷によって変化する。しかしながら「しわとは何か」「何故しわが出来るのか」と言った基本的な問題についてさえ、定説が無く、「エラスチンの構造変化がしわの原因である」とか、「コラーゲンの量の減少がしわの原因である」とか諸説が提出されているが、これらの説と反する現象が観察されたりしており、しわに代表される皮膚の状態の変化を完全に矛盾無く説明するに至っていない。従って、この様な皮膚の変化を抑制・改善する手だけではなく、美しい皮膚も老化と光などのダメージによって損なわれることに対して為すすべがない。これらは全て皮膚の状態の変化を正しく鑑別すること、特に定量的に鑑別することは、この様な老化などの抑制手段を探索する上で非常に重要であるが、まだこの様な手段は得られていながら現状である。又、皮膚表面形態と真皮の形態についての関係について、これらが相関性良く互いに影響しあっていることはまだ知られていない。取り分け、皮膚表面のしわと同様に真皮にもしわに対応する溝が形成されていることはまだ知られていない。  
10

#### 【0003】

##### 【発明が解決しようとする課題】

本発明はこの様な状況下行われたものであり、しわ等の皮膚の状態の変化を適切に鑑別する手段を提供することを課題とする。

#### 【0004】

##### 【課題を解決するための手段】

本発明者等は、この様な状況に鑑み、しわ等の皮膚の状態の変化を適切に鑑別する手段を求め、実際のしわの形成過程の克明な組織観察を行い、鋭意研究を重ねた結果、真皮コラーゲン線維束構造の秩序度合い、より具体的には、真皮コラーゲン線維束1本1本の構造の変化を指標とすることにより、しわの形成・しわの改善等皮膚の状態及びその変化が鑑別しうることを見いだし、発明を完成させるに至った。

すなわち、本発明は真皮コラーゲン線維束の顕微鏡による拡大像を観察及び／又は画像解析して得られる真皮コラーゲン線維束1本1本の構造の変化を指標とする、皮膚状態の鑑別方法(但し、医療行為を除く)に関する。

また本発明は、皮膚状態がしわである、前記の鑑別方法に関する。

さらに本発明は、顕微鏡が電子顕微鏡である、前記の鑑別方法に関する。

また本発明は、真皮コラーゲン線維束の顕微鏡による拡大像を観察及び／又は画像解析して得られる真皮コラーゲン線維束1本1本の構造の変化を指標とする、薬剤によるしわの消失を鑑別する方法(但し、医療行為を除く)に関する。  
30

以下、本発明について実施の形態を中心に詳細に説明する。

#### 【0005】

##### 【発明の実施の形態】

本発明の鑑別方法は、真皮コラーゲン線維束構造の秩序度合いを指標とすることを特徴とする。真皮コラーゲン線維束構造の秩序度合いが、皮膚状態の指標となりうることは、後記実施例に示すように、光老化のモデルである、ヘアレスマウスの紫外線Bの長期照射モデルに於いて、皮膚状態の変化と真皮コラーゲン線維束構造の秩序度合いとの間に良好な相関関係が得られたこと、及び光老化の回復実験でのデキサメタゾンの投与における、皮膚状態の変化と真皮コラーゲン線維束構造の秩序度合いの回復率の間に良好な相関関係が認められたことより明確である。ここで、本発明の鑑別方法が適用しうる皮膚状態の変化としては、上記に挙げた光による老化はもとより、通常の老化過程等が鑑別できる。又、皮膚としては実験動物の皮膚のみならず人間の皮膚もバイオプシー等を行えば鑑別材料として用いることが出来る。鑑別材料の皮膚はNaOH法などの常法に従って、真皮を取り出し電子顕微鏡などで観察すれば線維束構造を観察することが出来る。倍率としては100～10000倍程度が適當である。線維束構造の秩序度合いは、例えば、この電子顕微鏡像を画像解析したり、肉眼観察によるスコアをつけて評価したりすればよい。これら何れもが本発明の線維束構造の秩序度合いとして用いることが出来る。これらは何れも数値とし表されるので、本発明の鑑別方法によれば、皮膚状態を定量的に表現することが出  
40

来る。

### 【0006】

#### 【実施例】

##### <実施例1>

###### 光老化モデルでの皮膚状態の変化の検討

ヘアレスマウス (S k h : H R - 1、雌性、8週齢) に紫外線B (東芝S Eランプ、 $60 \text{ mJ/cm}^2$ ) を連日照射し、照射開始後2、5、10週間に皮膚及び皮膚表面形態レプリカを採取した。採取皮膚はNaOH法によりコラーゲン線維束構造を走査電子顕微鏡により観察した。図1に倍率50倍での皮膚表面形態 (A : 非照射コントロール、B : 照射2週間、C : 照射5週間、D : 照射10週間)、図2に倍率50倍での真皮表面形態 (E : 非照射コントロール、F : 照射2週間、G : 照射5週間、H : 照射10週間)、図3に倍率500倍での真皮コラーゲンの線維束の構造 (I : 非照射コントロール、J : 照射2週間、K : 照射5週間、L : 照射10週間)、図4に倍率2500倍での真皮コラーゲンの線維束の構造 (M : 非照射コントロール、N : 照射2週間、O : 照射5週間、P : 照射10週間) を示す。これらの図より、しわが形成される際、それに対応するように真皮表面にも溝が形成されており、皮膚表面の形態の変化は真皮表面の形態の変化に対応していること、更に真皮表面の変化は真皮に於けるコラーゲン線維束構造の変化、即ち、線維束構造が明確でなくなる等の線維束構造の秩序低下を反映していることが判る。ここで、図4の顕微鏡像を次の判定基準でスコアーを付した。即ち、スコアー0 : 観察領域全域で線維束構造が認められない、スコアー1 : 過半領域で線維束構造の崩壊又は異常構造への変性が認められる、スコアー2 : 一部に線維束構造の崩壊又は変性が認められるが、全体的にはほぼ正常な構造が認められる、スコアー3 : 全面に亘り正常な線維束構造が認められ、崩壊・変性はほぼ認められないの基準である。この結果を図5に示す。又、皮膚表面の構造について、レプリカへの入射角20度でのキセノンランプによる光照射を行い出来たシワの陰影を画像解析により定量し、シワの生成量とした。この測定結果を図6に示す。このシワ量とスコアー値の平均との相関係数を算出したところ、0.91であり、シワ量がスコアー値で定量出来ることが判明した。即ち、真皮のコラーゲン線維束構造の秩序度合いを指標にすることによりシワを鑑別しうることが判る。

### 【0007】

##### <実施例2>

実施例1と同様に光老化モデルを用い、光照射により生じたシワ等の皮膚の状態の変化を、この様な症状改善に効果があることが本発明者等によって見いだされている、デキサメタゾンを投与し、その改善過程を本発明の鑑別法によって鑑別しうるか否かを試してみた。即ち、実施例1と同様にヘアレスマウス (S k h : H R - 1、雌性、8週齢) に紫外線B (東芝S Eランプ、 $60 \text{ mJ/cm}^2$ ) を連日10日照射し、光老化動物を作成した。この動物に1群は0.05%デキサメタゾンエタノール溶液を、もう一群にはエタノールのみをそれぞれ0.05mlづつ8週間連日投与した。この動物の皮膚を実施例1と同様に処理し、皮膚表面形態、真皮表面形態、コラーゲン線維束構造をそれぞれ観察した。図7に倍率50倍の皮膚表面形態を、図8に倍率50倍の真皮表面形態を、図9に倍率500倍のコラーゲン線維束構造を、図10に倍率2500倍のコラーゲン線維束構造を示す。実施例1と同様に求めたシワの陰影部はエタノール投与群が15.3%であり、デキサメタゾン投与群が3.8%であった。スコアー値についてはエタノール投与群が0.78であり、デキサメタゾンが1.71であった。これより、シワの消失過程を本発明の鑑別方法で鑑別できることが判る。

### 【0008】

#### 【発明の効果】

本発明によれば、しわ等の皮膚の状態の変化を適切に鑑別する手段が提供できる。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】光老化モデルでの皮膚表面形態の変化を表す図である。

【図2】光老化モデルでの真皮表面形態の変化を表す図である。

10

20

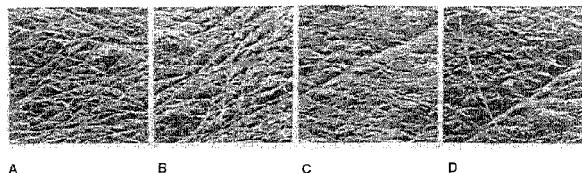
30

40

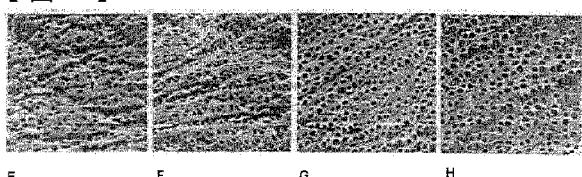
50

- 【図3】光老化モデルでのコラーゲン線維束構造を示す図である。(500倍)  
 【図4】光老化モデルでのコラーゲン線維束構造を示す図である。(2500倍)  
【図5】光照射による線維束構造スコアを示す図である。  
【図6】光照射によるシワ量を表す図である。  
 【図7】シワの治癒過程の皮膚表面形態の変化を表す図である。  
 【図8】シワの治癒過程の真皮表面形態の変化を表す図である。  
 【図9】シワの治癒過程のコラーゲン線維束の構造変化を表す図である。(500倍)  
 【図10】シワの治癒過程のコラーゲン線維束の構造変化を表す図である。(2500倍)

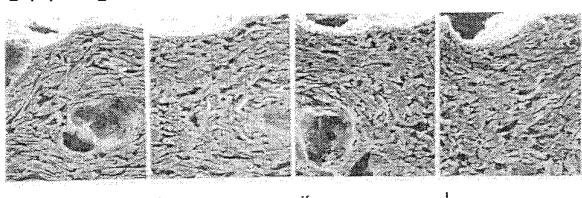
【図1】



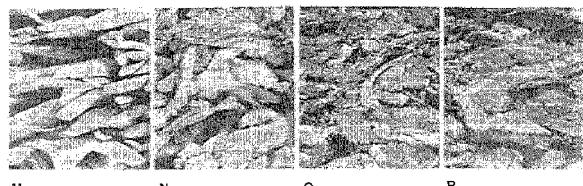
【図2】



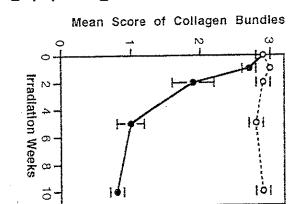
【図3】



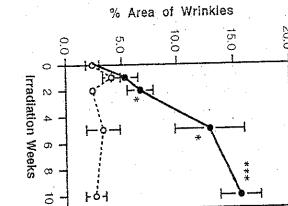
【図4】



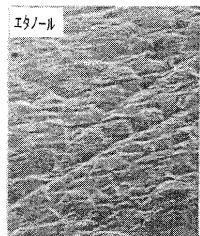
【図5】



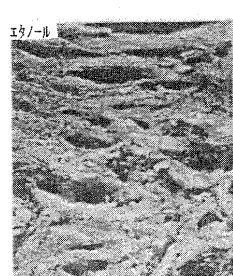
【図6】



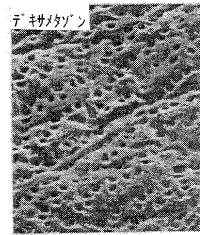
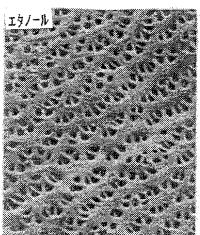
【図7】



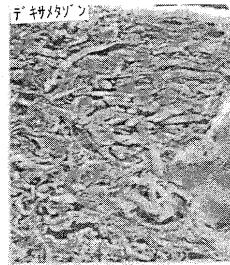
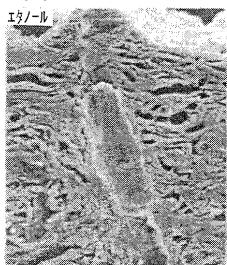
【図10】



【図8】



【図9】



---

フロントページの続き

審査官 伊藤 幸仙

(56)参考文献 特開平07-213509(JP,A)

武馬吉則,芋川玄爾,光老化 - 紫外線の皮膚弾力性および弹性繊維微細構造への障害性 - ,日本皮膚科学会雑誌,日本,1996年,Vol.106,No.13,p1565-p1567

今山修平,「しわの発現と紫外線による増悪の形態学的理解」,日本香粧品科学会誌,日本,1992年,Vol.16,No.3,p156-p161

(58)調査した分野(Int.Cl.<sup>7</sup>, DB名)

A61B 5/00

A61B 5/107

JICSTファイル(JOIS)