

Bull. Fac. Life Env. Sci. Shimane Univ., 6 : 17 - 22, December 20 2001

新規発毛剤スペラゲン 707 のマウス休止期毛包に対する発毛促進効果

松崎 貴

Effects of a novel hair restorer Spelagen 707 on hair growth initiation to telogen pelage follicles in mice.

Takashi Matsuzaki

Abstract The effects of a newly developed hair restorer Spelagen 707 on hair growth induction were compared with those of several commercially available ones. Hair regrowth in hair-clipped back skin of C3H/HeJ mice with telogen (resting phase) hair follicles was stimulated by daily topical application of the hair restorers. In the mice treated with Spelagen 707 initiation of hair growth was strikingly accelerated and more expanded area of the hair-clipped skin was covered with hair to the extent that was comparable to the effects of 3% Minoxidil solution. Hair production was also observed in the mice received with four other hair restorers during the experimental period of 5 weeks, but their effects were less than Spelagen 707 and 3% Minoxidil. No sign of new hair growth was seen in the mice treated with additional three restorers as well as negative control ones which were received with 30% ethanol. Although the skin of mice smeared with Spelagen 707 showed the sign of inflammation starting around 5 days from the first application, it was settled down in subsequent 2 weeks and showed a rapid induction of hair regrowth. These results suggest that inflammation-associated immune responses or certain chemokines could be involved in hair growth initiation induced by Spelagen 707.

Keywords: Hair growth, Telogen-Anagen transition, Minoxidil, Spelagen 707

はじめに

男性型脱毛は、遺伝的素因のある男性において男性ホルモン依存的に頭頂部および前頭部の毛包が萎縮する現象である。毛周期の進行にともない、毛包が段階的にミニチュア化するため、毛包から伸長する毛髪が徐々に細く短くなる。女性でもほぼ同様の機序によって頭頂部が薄毛化することがあり、女性型脱毛と呼ばれてきたが、両者を合わせて壮年性脱毛と呼ばれるようになってきた。一方、円形脱毛症は、典型的にはコイン大の円形の脱毛が頭部をはじめ全身の有毛部に生じるものである。主に自己免疫疾患によって生ずると考えられており、ときには脱毛部が不定形に広範囲に広がったり、全く毛がなくなってしまうこともある。このほかにも、抗癌剤等の服用にともなう薬剤性脱毛や靴擦れ性脱毛、癬痕性脱毛など様々な脱毛性毛髪疾患が知られている。一般に、壮年性脱毛は個人の身体的特性の一部と考えられており、病気とはみなされていないが、その他の脱毛症も含め、命に関わらない疾患であるためか、これまで治療法の開発は

さほど進んでいなかった。近年、高血圧の治療薬から転用されたミノキシジル (Minoxidil) と、前立腺治療薬として開発されたフィナステライド (Finasteride) が、発毛剤として米国食品医薬品局から承認された。壮年性脱毛の男性に適用した場合、2% または 3% ミノキシジルの塗布では1年後に約8割の被験者で何らかの効果が見られ¹⁾、1mg/ml フィナステライドの服用では2年後に毛髪数が増加したか現状維持した被験者の割合が83%であった²⁾。両者の発毛効果は明らかなものの、薬剤の使用を停止すると再び薄毛化することや³⁾、重篤な円形脱毛症には効果がなかったり⁴⁾、副作用が見られたりすること²⁾から、新しい発毛剤の開発が待たれる。スペラゲン 707 は、漢方薬のエタノール抽出液を主体として大韓民国の韓独化粧品 (Handock cosmetics Co., Ltd.) が開発した新規発毛剤 (HEM - 13/HDC5) の処方を変更したもので、カンゾウ、センキュウ、チョウセンニンジン、ゴマ、トウキ、セージの6種類の植物成分を含んでいる。本研究では、スペラゲン 707 の休止期毛包に対する発毛促進効果を調べ、市販の発毛剤/育毛剤との比較を行った。発毛剤/育毛剤の効果を調べる第一段階の方法としてマウステスト

が広く行われている⁵⁻⁷⁾。これはマウスの毛周期が同調して進行するいわゆるウェーブ型であることを利用するもので、休止期毛包を成長期に移行させる効果の強弱を指標に発毛能を調べるものである。C3H系統のマウスの場合、生後6~8週で2回目の休止期に入り、これが8~10週間持続する。C3H系統は茶褐色の体毛を持つため、成長期に入って毛が伸長し始めてメラニン合成が再開されるに従い、皮膚がピンク色から灰色、黒色へと変化する。この体色変化を指標に、休止期から成長期の移行時期を知ることができる。

方 法

毛周期が休止期にある8週齢のC3H系統雌マウスの後背部被毛を、動物用電気バリカンを用いて、皮膚に傷をつけないよう注意深く刈り取った4日以上経過したのちに、刈毛した後背部皮膚に薬剤を0.1 ml塗布し、ゴム手袋をした指で薄く塗り広げてから、30回ほど軽くたたくようにして浸透させた。実験は2回に分けて行い、実験1ではスペラゲン707(処方1;以下SG1と略称)、薬用紫電改(カネボウコスメット株式会社;SH)、薬用不老林LIVE X-Gold(資生堂コスメニティー株式会社;FL)、リアップ(大正製薬株式会社;RU)を、実験2ではスペラゲン707(処方2;SG2)、NFカロヤンアポジカα(第一製薬株式会社;AP)、スピラーレEXベータ(株式会社バイオテック;SB)、Minoxyl(3%ミノキシジル,Hyundai Pharm. Ind. Co., Ltd.;MX)、Success薬用毛髪活性g(花王株式会社;KS)、薬用直攻毛髪力(ライオン株式会社;MR)、および薬用不老林LIVE X-Gold(FL)、リアップ(RU)を用いた。両実験とも陰性対照として30%エタノールを使用した。

実験には薬剤ごとに別々のケージに入れた各5匹のマウスを使用し、耳パンチ法で個体識別した。毎日午後5~9時の間に1回、薬剤を塗布するとともに、1匹ずつ発毛およびその前兆である皮膚の黒化範囲を調べ、スケッチにより記録した。実験は5週間行い、1週間ごとに写真撮影した。薬剤塗布時にはエーテル吸入により、写真撮影時にはネプタールの腹腔内投与により麻酔をかけ、マウスの動きをとめた。スケッチと写真を元に後背部皮膚の発毛領域を図式化し、スキャナーで取り込んだのち、NIH image 1.62により発毛部の面積比を計算した。全個体の発毛部の面積比を毎日計測し、各薬剤ごとに平均して比較を行った。

結 果

実験1,2ともに、5週間にわたる実験期間中、陰性対象群の30%エタノールを塗り続けたマウスには全く発毛の徴候はみられなかった(図5I)。その後も陰性対象群では2,3週間は発毛がみられないことから、薬剤塗布したマウスに実験期間に発毛がみられれば休止期を短縮する効果があると考えられる。

実験1においては、SHを塗布したマウスでは実験期間中全く変化はみられなかった(図2)。最も早く変化がみられたのはSG1を塗布した場合で、3日目に皮膚が赤くなり始め、4日目には毛穴周囲が膨れて皮膚全体がやや腫脹して赤味が増してきた5日目には皮膚の荒れがさらにひどくなり表皮が剥がれ始め、6日目から8日目にかけて皮膚が炎症を起こしてただれた様子であった(図1A)。表皮が剥がれた部分にはツルツルとした皮膚が現れた9日目には皮膚の荒れがひきはじめて赤味が薄くなり、表皮の大部分は剥がれて、再生したつるりとした表皮に置き換わっていた。11日目に5匹中2匹で皮膚の黒化が始まり、翌日には全ての個体で黒化がみられた(図1B,2)。15日目には4匹の皮膚表面に実際に発毛が確認され(以後、発毛と表現)、18日目には全個体で発毛がみられた(図1C)。これに対し、FLやRUで皮膚黒化が始まるのは15日目とやや遅く、全ての個体に黒化がみられるのはFLで29日目、RUでは34日目とSG1に比べて2週間以上遅れた(図2)。実験期間においてSG1では、全個体で刈毛部全体に発毛がみられたが、FL、RUともに全面に発毛し

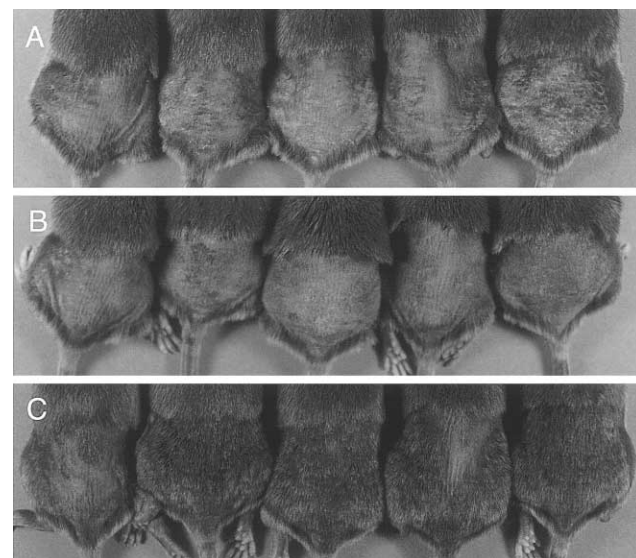


図1 SG1を塗布し続けたマウス皮膚の経時変化
A;1週間後,B;2週間後,C;3週間後。各個体は同順に並べてある。

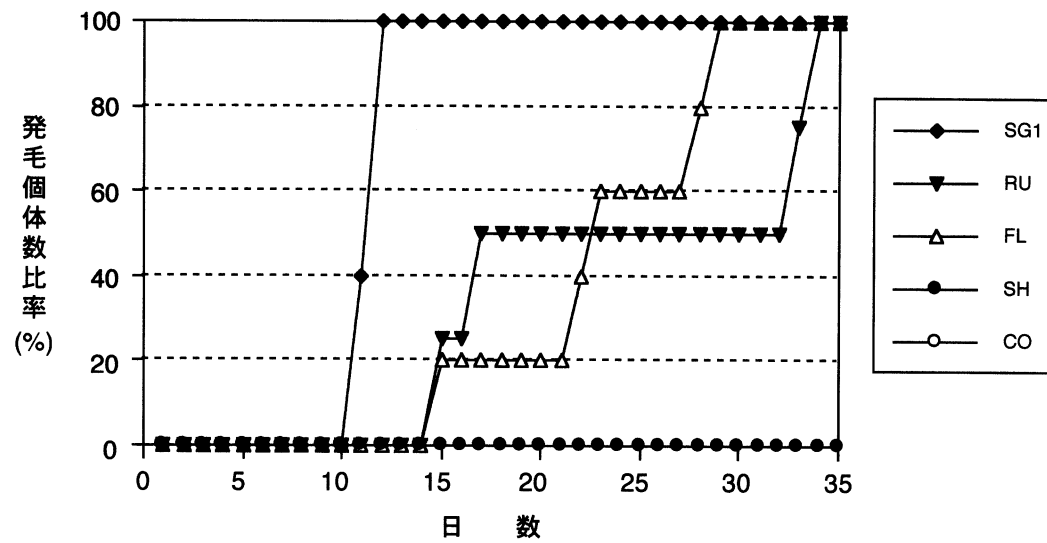


図2 実験1における発毛個体数の推移

各実験群5匹中の発毛個体の数(比率)を示す。皮膚の黒化を発毛の開始とした。RU塗布マウスでは15日目にネブタール麻酔によって、FL塗布マウスでは30日目に腸閉塞様の症状で、それぞれ1匹が死亡したため、全数が4匹になっている。SHには発毛は見られなかった。

た個体はなかった(図3,4)。それに対しSG1では、18日後には平均発毛面積が9割に達し、28日目には全ての個体において刈毛部全面に発毛が見られた(図4)。RUでは15日目にネブタール麻酔によって1匹が死亡、FLでは30日目に腸閉塞様の症状で1匹の死亡があった。

実験2では、KSおよびAPでは発毛も皮膚の黒化もみられなかった(図5G,H)。ただし、APを塗布したマウスはネブタール麻酔に対する感受性が高くなるようで、15日目と29日目に麻酔によりそれぞれ1匹ずつ死亡したため、5週間観察できたのは3匹のみであった。最も早く皮

膚黒化がみられたのはRUで、10日目に2匹で確認され、12日目には発毛も始まった(図6)。しかし、全ての個体に黒化がみられたのは32日目で、35日目でも刈毛部全体に発毛がみられた個体は1匹もいなかった(図5D)。実験1の結果と比べ、黒化や発毛の開始が早かったが、全ての個体に黒化がみられたのが32~34日目であること、刈毛部の全面ではなく、前半部のみ発毛することは共通している(図3C,5D)。RUは主成分としてミノキシジルを1%含有するが、その3%溶液(MX)では13日目に黒化が始まり、21日目には全個体でみられた(図6)30日目には全個体のほぼ全面で発毛がみられ、RUより始まりは遅れたものの、より高い効果が示された(図7)。

FLは23日目に黒化が始まった(図6)。実験1より遅いものの、全ての個体で黒化がみられたのは、同じ29日目であった(図2,6)33日目には全個体で発毛がみられたが、35日目でも刈毛部全体に発毛がみられた個体は1匹もなく、前半部を中心に発毛しただけであった(図3B,5C)。しかし、FLを塗布した個体では、実験12ともに塗布を止めた後も発毛域が広がり続け、6週目以降には全面に発毛がみられた。MRは29日目以降に皮膚黒化が始まり(図6)、グラフには示していないものの37日目には5匹中4匹にみられるようになったが、発毛域は小さかった(図5E)。

SBとSG2では塗布後6日目に変化があらわれた。ともに皮膚が赤くなり始め、SG2ではかさついた感じであった。7日目には皮膚の赤味が増し、炎症の様相を呈してい

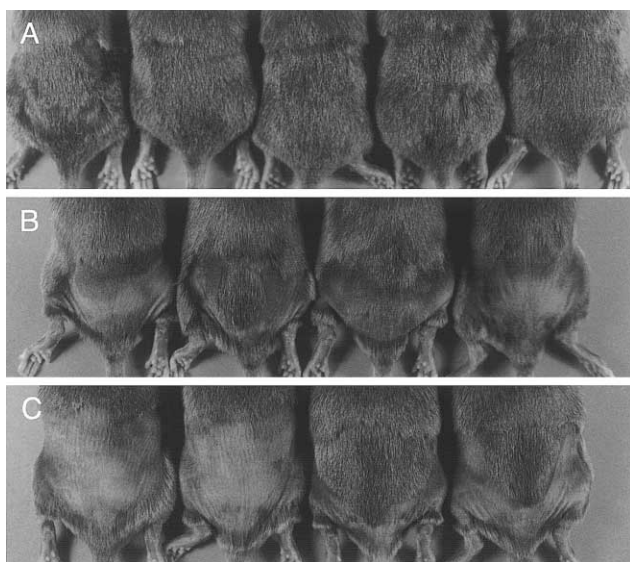


図3 薬剤を連続5週間塗布したのちの発毛の様子(実験1) A:SG1 B:FL C:RUを塗布。FL塗布マウスでは30日目に、RU塗布マウスでは15日目にそれぞれ1匹が死亡。

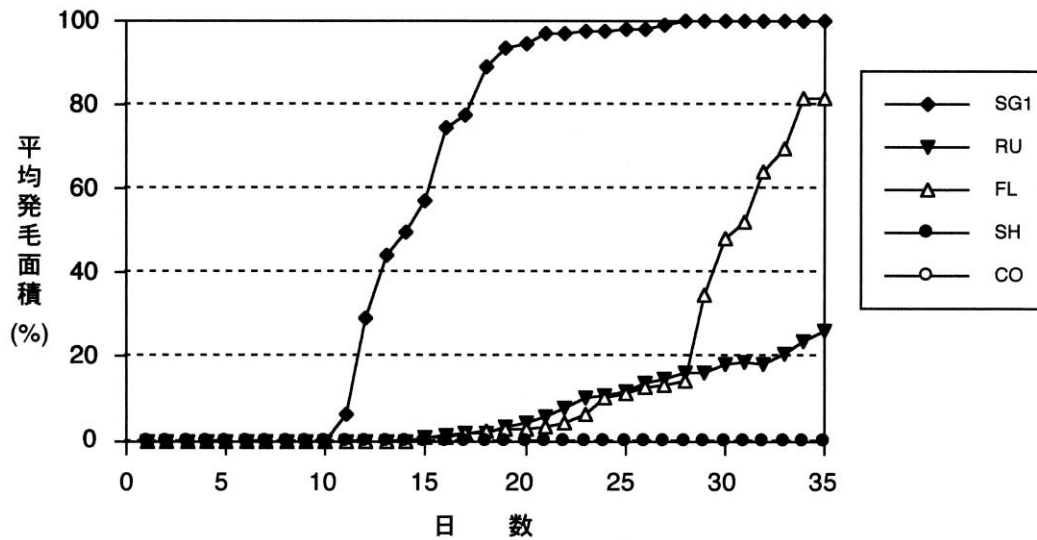


図4 実験1における平均発毛面積の推移

各実験群5匹の発毛面積比率の平均値を示す。皮膚の黒化を発毛の開始とした。RU塗布マウスでは15日目に、FL塗布マウスでは30日目にそれぞれ1匹が死亡。

た8日目から11日目にかけて皮膚荒れが続き、とくにSBの3個体とSG2の1個体でやや重度の炎症がみられた。その後、SBの全個体とSG2の1個体では、表皮が剥がれてツルツルした皮膚が再生してきた。SG2の他の個体では、皮膚がかさつき粉っぽくなったものの、表皮が大きく剥けることはなかった。SG2では15日目に黒化が始まり、23日目には全個体で黒化がみられた(図6)29日目

には5個体中3個体で、ほぼ全面に発毛した。残る2個体でも発毛域が広がる様子が見られたが、35日目でも刈毛部面積の約半分にはまだ発毛がみられなかった(図5A)。実験1のSG1と比べると、SG2はやや発毛効果が弱いものの炎症の程度はより軽い傾向にあった。発毛域はRUやFLよりも広く、MXよりやや狭かった(図7)。一方、SBでは、18日目に1個体で黒化が始まったものの、2週目にやや重い炎症がみられた3個体では、少し遅れて30~33日目に発毛し始めた(図6)。これらのケースで発毛域は小さく限局的であり、炎症の見られた領域全体に発毛したわけではなかった(図7)。

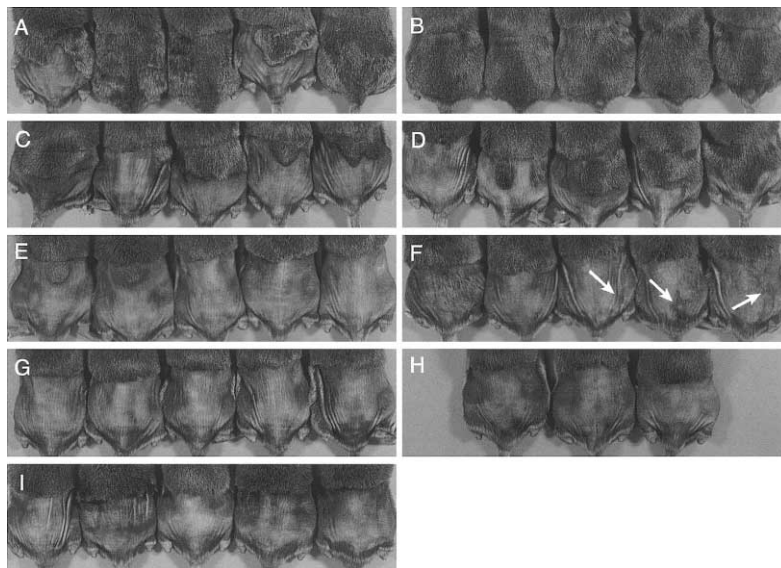


図5 薬剤を連続5週間塗布したのちの発毛の様子(実験2)

A;SG2 B;MX C;FL D;RU E;MR F;SB G;KS H;AP I;CO (30% エタノール)を塗布。AP塗布マウスでは、15日目と29日目にネプタール麻酔によりそれぞれ1匹ずつ死亡したため、全数が3匹になっている。Fの白矢印は発毛部を示す。G, H, Iには発毛は見られなかった。

考 察

皮膚の黒化後、1~5日で発毛が確認され、多くの場合2日後から発毛したことから、皮膚黒化を発毛の始まりとすることは妥当と考えられる。黒化を指標とするとSG1は最も早く発毛し始め、その後刈毛部全域に及んだのに対し、RUでは刈毛部全域に発毛することはなかった。RUの発毛開始時期、すなわち皮膚黒化がみられた日は、実験1,2を通して個体間のばらつきが多かったが、全個体に発毛するまでにかかる日数は32~34日とほぼ同じであった。同様に、FLでも発毛開始時期にややばらつきが見られたが、

全個体が発毛し始めたのは29日目で一致していた。このことは、薬剤に対する感受性には個体差があるものの、感受性の低い、つまり最も効果のでにくい個体に対する作用はほぼ一定しており、この時期を目安にすると別々に行われた実験間の比較が容易であると言える。これまでに行われてきたマウステストでも、発毛開始時期には今回と同程度の個体差が見られることから、今回の実験

結果は妥当なものと考えられる。

平均発毛面積の増加率は、各薬剤ごとに勾配が異なるものの、それぞれの薬剤では一定しており(図4,7),安定して発毛面積が増加していることを示している。また、2回の実験において共通する薬剤であるFLとRUの平均発毛面積の増加率がほぼ等しいことは、実験結果の再現性の高さを裏付けるものと考えられる。各実験群ごとに平

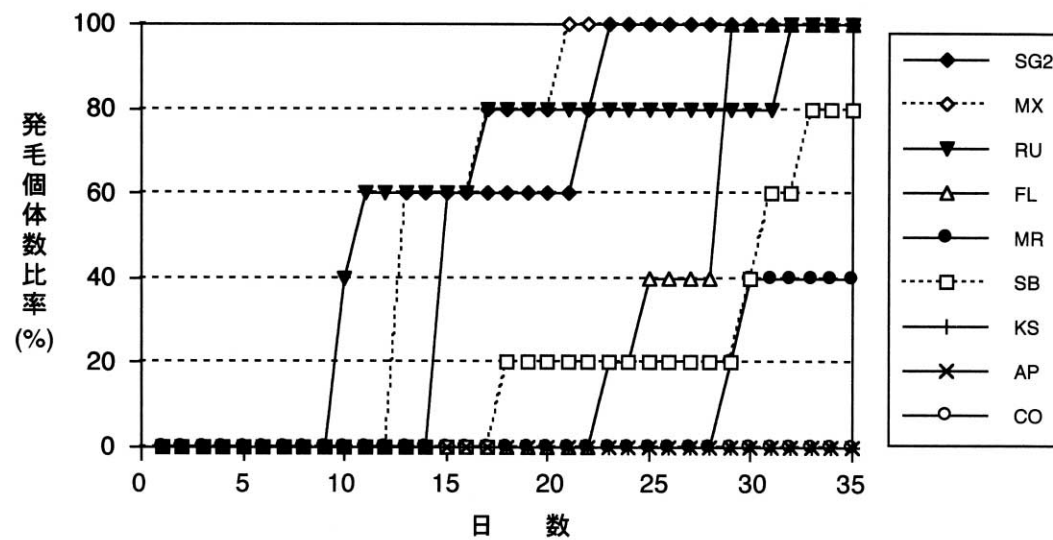


図6 実験2における発毛個体数の推移

各実験群5匹中の発毛個体の数(比率)を示す。皮膚の黒化を発毛の開始とした。AP塗布マウスでは、15日目と29日目にそれぞれ1匹ずつ死亡したため、全数が3匹になっている。

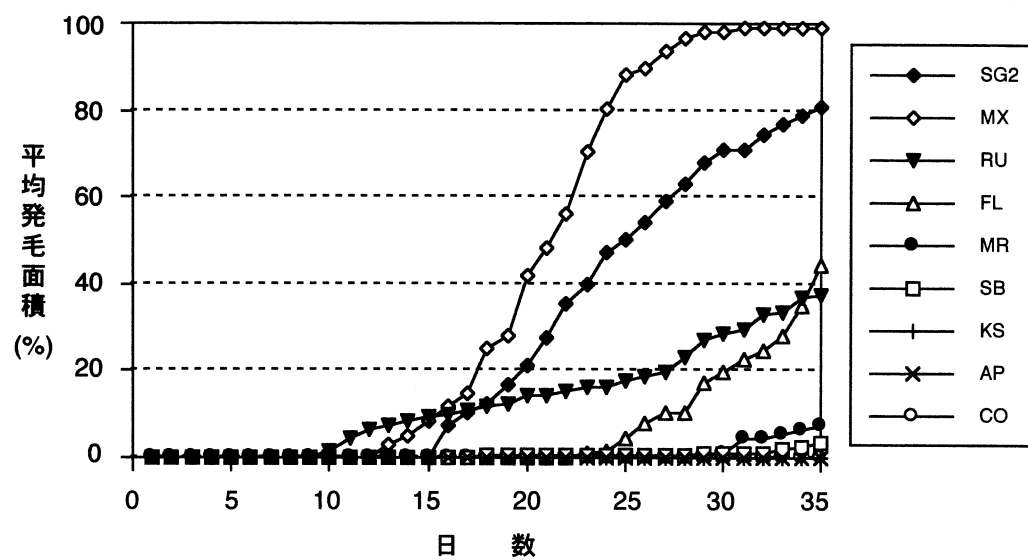


図7 実験2における平均発毛面積の推移

各実験群5匹の発毛面積比率の平均値を示す。皮膚の黒化を発毛の開始とした。AP塗布マウスでは、15日目と29日目にそれぞれ1匹ずつ死亡。KS, AP, COでは35日目までに発毛は見られなかった。

均発毛面積を計測するのは大変であるが、発毛個体数の推移と平均発毛面積との間には相関がみられる。すなわち、実験開始後 35 日目における平均発毛面積の多い順は、全個体に発毛するまでにかかる日数の少ない順とほとんど一致する (図 2 4 6, 7)。したがって、発毛効果を推定するための簡便法として、各個体の発毛開始日を記録する方法を用いることは妥当であると考えられる。

SG1 で高い発毛効果が見られた理由として、皮膚に強い炎症が起こったことが原因ではないかとの疑いがある。実際、SG1 より皮膚炎の程度が低かった SG2 では発毛の開始が遅れ、35 日目でも全域に発毛したのは 5 個体中 3 個体であった。SG1 では、発毛効果が早く現れたばかりでなく、効果が刈毛部全面に現れかつ個体間のばらつきが少なかった。これが薬剤そのものの効果であるのか、それとも薬剤により皮膚に炎症が起こったことによる副次的な結果であるのかは今回の実験だけでは分からない。しかし、同様に 2 週目に皮膚にやや重度の炎症が見られた SB の 3 個体では、皮膚黒化がみられたのは 30 日目以降であり、発毛面積もかなり限局的であった。しかも、SB で最も早く 18 日目に黒化が始まった個体は、外見的に判断する限り炎症は比較的弱かった。強い炎症がみられた SB 塗布個体で必ずしも発毛が早く起こったわけではないことから、SG1/SG2 の発毛効果が炎症の副次的作用のみによると考えることは難しい。これまでに皮膚の炎症が発毛を促すとの報告はあるが、SG1/SG2 の効果は炎症惹起による発毛促進作用だけでは説明がつかず、薬剤の効果によるものと考えることが妥当であろう。

本実験から分かるのは、あくまでも休止期にあるマウス背部皮膚毛包を成長期に移行させる能力の多寡であり、成長期をどれだけ持続させられるか、またヒトの頭髪などに対して同様の作用があるのかどうかは分からない。しかし、毛包の基本構造や毛髪成長の基本メカニズムは、種を越えてよく類似していると考えられているので、SG1/SG2 に休止期を短縮する作用が見られたことは、ヒトに対してもなんらかの効果をもたらすことを十分予見させる。

結 論

1. SG1/SG2 は、マウス背部体毛の毛周期の休止期を短縮し、発毛を促進する作用がある。
2. SG1/SG2 とともに皮膚に軽度からやや重度の一過性の炎症を生じ、その後すみやかに発毛が見られることから、成長期への移行に免疫系の関与が示唆される。

3. 各実験群 5 匹の平均からみた効果の順は、SG1 > MX > SG2 > RU FL > MR > SH = KS = AP = 30% エタノールと考えられる。

参 考 文 献

- 1) Kreindler, T. G.: Topical minoxidil in early androgenetic alopecia. *J. Am. Acad. Dermatol.* (1987) 16 : 718 - 24 .
- 2) McClellan, K. J. and A. Markham: Finasteride: a review of its use in male pattern hair loss. *Drugs* (1999) 57 : 111 - 26 .
- 3) Price, V. H.: Treatment of hair loss. *New Engl. J. Med.* (1999) 341 : 964 - 73 .
- 4) Fransway, A. F. and S. A. Muller: 3 percent topical minoxidil compared with placebo for the treatment of chronic severe alopecia areata. *Cutis* (1988) 41 : 431 - 5 .
- 5) Iwabuchi, T. et al.: Effects of immunosuppressive peptidyl - prolylcis - trans isomerase (PPIase) inhibitors, cyclosporin A, FK506, tacrolimus and rapamycin, on hair growth initiation in mouse: immunosuppression is not required for new hair growth. *J. Dermatol. Sci.* (1995) 9 : 64 - 9 .
- 6) Maurer, M., B. Handjiski and R. Paus: Hair growth modulation by topical immunophilin ligands. *Am. J. Pathol.* (1997) 150 : 1433 - 41 .
- 7) 木村文彦: 水溶性高分子の育毛効果と育毛剤の開発. *Fragrance J.* (2000) 28 (2) : 38 - 44 .