

審査の結果の要旨

氏名 笠 明美

皮膚に作用する紫外線には、290-320nm の中波長紫外線 UVB と 320-400nm の長波長紫外線 UVA がある。UVB は、直接 DNA を傷害し発癌の原因となるほか、急性の日焼けによる紅斑形成や色素沈着に関わる。一方、UVA は太陽光紫外線に占める割合が 9 割以上であることや長波長であるため真皮の奥まで到達することから、慢性的な皮膚障害への関与、特に皮膚のしわやたるみなどの老化症状を引き起こす原因として注目されている。また、紫外線はその直接作用だけでなく活性酸素の発生源として重要である。紫外線により発生する活性酸素の中でも、一重項酸素は、化学的な反応性が高い上に光増感反応により容易に発生すると考えられるため、皮膚への作用が注目されてきたが、具体的な皮膚障害への関与はほとんど明らかにされていなかった。

本研究において笠は、一重項酸素による紫外線皮膚障害の発生機序を明らかにすることを目的とし、一重項酸素による脂質過酸化と皮膚障害について解析し、さらに、一重項酸素によるコラーゲンの構造変化と皮膚光老化への関与について解析した。

皮膚常在菌であるアクネ菌が菌体外に排出するコプロポルフィリンは、皮脂とともに皮膚表面に分泌される。笠は、紫外線ランプ照射下で顔面にポルフィリン由来の橙色の蛍光が観察されたことから、健康人の皮膚表面にコプロポルフィリンが存在することを示した。コプロポルフィリンは紫外線照射により一重項酸素を発生し、その一重項酸素発生能はヘマトポルフィリンなどのポルフィリン類と同等であり、リボフラビンやローズベンガルなどの光増感剤より高いことを示した。

次いで、笠は、一重項酸素により生成したスクワレン過酸化物の皮膚に対する作用を解析するため、モルモット皮膚にスクワレン過酸化物を塗布した結果、スクワレン過酸化物は皮膚の色素沈着を引き起こし、組織観察から表皮の肥厚やメラニンの増大することを見出した。

加齢により起こる“自然老化”に対して、紫外線により促進される“光老化”は全く異なる症状を示すが、紫外線を照射した光老化モデルにおいて抗酸化剤がしわの形成を抑制したことから、光老化の原因に活性酸素の関与が示唆されてきた。そこで笠は、UVA により発生する一重項酸素が、しわの原因となるコラーゲンの変性に関与する可能性について解析した。ヘマトポルフィリンに UVA 照射して発生させた一重項酸素をコラーゲン溶液に暴露した結果、コラーゲンが高分子量化することを見出した。これは、一重項酸素の消去剤であるアジ化ナトリウムで抑制されたことから、一重項酸素がコラーゲン分子内に架橋を形成し高分子量化することが示された。

一重項酸素が反応するアミノ酸はヒスチジン、メチオニン、トリプトファン、システイン、チロシンであることが知られているが、コラーゲンにはトリプトファンやシステインが含まれていないことや中性 pH 領域で反応が進行することから、ヒスチジンを攻撃する可能性が高

いと笠は考えた。ヒスチジンの一重項酸素付加体と反応しやすいセミカルバジドを共存させた場合に架橋形成が阻害されたことから、一重項酸素により酸化されたヒスチジンがコラーゲンの架橋形成に関わる可能性を示した。

次いで笠は、UVA 照射して作製した光老化モデルにおいて、顕著なしわの形成が観察し、さらに、総コラーゲン量および不溶性コラーゲンすなわち架橋したコラーゲン量の増大を認めた。また、真皮では好中球エステラーゼ陽性部位およびハロゲン化チロシン陽性部位が検出した。さらに、カフェイン、テオフィリン、テオブロミンなどのキサンチン誘導体を塗布すると、UVA による真皮内への好中球の浸潤が抑制され、コラーゲンの架橋形成およびしわ形成が抑制されることを見出した。

本研究の結果から、笠は、紫外線により皮膚で発生する一重項酸素の皮膚障害や老化への関わりについて、次のような機序を示唆した。

一重項酸素による脂質過酸化と皮膚障害において、日常紫外線に占める UVA が皮脂中のコプロポルフィリンに作用し、そこから発生する一重項酸素が皮脂成分の一つであるスクワレンを効率よく酸化させることを明らかにした。スクワレン過酸化物は皮膚の色素沈着を起こしたが、その機序は、スクワレン過酸化物がケラチノサイトからの PGE_2 分泌を亢進させ、それがメラノサイトに作用しメラニン産生を亢進させたと考えられた。また、スクワレン過酸化物は脂腺細胞の脂質産生を亢進させたことから、スクワレン過酸化物がにきびの原因となるばかりでなく過酸化物を増大させ皮膚障害を悪化させる可能性を示した。

次いで、一重項酸素によるコラーゲンの構造変化と皮膚光老化との関わりにおいて、一重項酸素がコラーゲン分子内に架橋を形成し高分子量化させることを明らかにした。また、UVA 照射した光老化モデルにおいて、しわの形成とともに不溶性コラーゲンの増大及び真皮への好中球の浸潤を認めた。このとき真皮に検出されたハロゲン化チロシンは、真皮内に浸潤した好中球ミエロペルオキシダーゼによる次亜塩素酸の産生を示すことから、好中球が産生する過酸化水素と次亜塩素酸が反応して一重項酸素が発生する可能性が考えられた。また、*in vitro* の実験において、スーパーオキシドや過酸化水素などの活性酸素種はコラーゲンの架橋形成を起こさなかったことから、紫外線照射により真皮に浸潤した好中球が産生する一重項酸素が、コラーゲンの架橋形成に関わっている可能性が示唆された。さらに、カフェイン、テオフィリン、テオブロミンなどのキサンチン誘導体が、UVA による真皮内への好中球の浸潤を抑制し、コラーゲンの架橋形成およびしわ形成を抑制したことから、真皮への好中球の浸潤がコラーゲンの架橋生成およびしわ形成に深く関わることを示された。

これまで、UVA は UVB に比べるとその皮膚への作用は重要視されてこなかったが、本研究により、UVA が一重項酸素を介して、にきび、色素沈着及びしわの形成に関与する可能性を示した意義は深く、博士（薬学）に充分値するものと判断した。