The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Vitamin C Abrogates the Deleterious Effects of UVB Radiation on Cutaneous Immunity by a Mechanism That Does Not Depend on TNF-α
Author(s)	中村, 敏明
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44491
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【140】

氏　　名	中村敏明（なかむら　としあき）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　17975　号
学位授与年月日	平成15年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学　位　論　文　名	Vitamin C Abrogates the Deleterious Effects or UVB Radiation on Cutaneous Immunity by a Mechanism That Does *Not* Depend on TNF-α （ビタミンCはTNF-α非依存性の機構により皮膚免疫系におけるUVBの有害効果を廃棄する）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　吉川　邦彦 （副査） 教　授　野村　大成　　教　授　濵岡　利之

論　文　内　容　の　要　旨

〔目　的〕

接触過敏反応のモデルとして、マウス腹部皮膚に dinitrofluorobenzene（DNFB）を塗布し（感作）、その5日後にDNFBを耳介皮膚に塗布し（惹起）、24時間後、48時間後の耳介の腫脹を計測する系が用いられている。この系において、感作前に400 J/m² のUVBを4日間連続で照射後、感作し、惹起反応を誘導すると、一部のマウスでは耳介腫脹の減弱が認められる（UVB-susceptible、UVB-S）が、他の系統のマウスでは耳介腫脹の減弱が認められない（UVB-resistant、UVB-R）。またハプテン特異的な免疫学的寛容も観察される。UVBのこれらの効果の一部はTNF-α、cis-ウロカニン酸やα-melanocyte-stimulating hormone（α-MSH）により媒介される。一方紫外線が皮膚に照射されるとスーパーオキサイド、過酸化水素、水酸化ラジカル、一重項酸素などの活性酸素が生成され、ビタミンCを含む抗酸化物質の減少が認められること、またビタミンCを皮膚に塗布する事により、紫外線による紅斑や、サンバーン細胞の減少が認められることより、活性酸素が紫外線による皮膚傷害に関わっていると考えられている。そこで今回我々は抗酸化剤の一つであるビタミンCを経皮塗布することにより、UVBやTNF-αによる皮膚免疫系に対する有害効果を阻止できるかどうかを検討した。

〔方　法〕

8～12週のC3H/HeN（UVB-S）マウス腹部皮膚を剃毛後、0.5% DNFB 25 μlを塗布して感作させ、5日後片方の耳に0.05% DNFB 20 μlを塗布して接触過敏反応を惹起した。その24時間後と48時間後の耳介の腫脹をマイクロメーターで測定し、接触過敏反応の強さとした。UVBによる皮膚免疫系の抑制の実験系では、感作前に4日間連続で剃毛後の腹部皮膚をUVB照射した。また、免疫学的寛容の実験系では、4日間連続で剃毛後の腹部皮膚をUVB照射して感作した後、14日後にUVBを照射していない背部皮膚に再度感作させ、その5日後に接触過敏反応を惹起した。TNF-αによる接触過敏反応の抑制の実験系では、感作直前に2000 unitsのTNF-αを真皮内に注入した。ビタミンC溶液またはビタミンCの入っていない溶液は感作前の4日間連続で経皮塗布した。

〔成　績〕

ビタミンC溶液またはビタミンCの入っていない溶液を経皮塗布した後に感作をしても、陽性コントロールと同等の耳介の腫脹が認められた。ビタミンCの入っていない溶液を経皮塗布した後にUVBを照射したマウスでは、何も

経皮塗布せずにUVBを照射したマウスと同様に耳介腫脹の減弱が認められた。ビタミンCの入っていない溶液を経皮塗布した後にUVBを照射したマウスでは、耳介腫脹の減弱が認められたが、ビタミンC溶液を経皮塗布した後にUVBを照射したマウスでは、耳介腫脹の減弱が認められなかった。ビタミンCの入っていない溶液を経皮塗布した後にTNF-αを真皮内に注入したマウスでは、耳介腫脹の減弱が認められた。同様にビタミンC溶液を経皮塗布した後にTNF-αを真皮内に注入したマウスでも、耳介腫脹の減弱が認められた。ビタミンCの入っていない溶液を経皮塗布した後にUVBを照射して感作し、14日後に背部皮膚で再び感作したマウスでは、耳介腫脹の減弱が認められたが、ビタミンC溶液を経皮塗布した後にUVB.を照射して感作し、14日後に背部皮膚で再び感作したマウスでは、耳介腫脹の減弱が認められなかった。ビタミンCの入っていない溶液を経皮塗布した後にTNF-αを真皮内に注入して感作し、14日後に背部皮膚で再び感作したマウスでは、耳介腫脹の減弱が認められた。同様にビタミンC溶液を経皮塗布した後にTNF-αを真皮内に注入して感作し、14日後に背部皮膚で再び感作したマウスでも、耳介腫脹の減弱が認められた。

〔総　括〕

皮膚免疫系に対する紫外線の効果はサイトカインにより媒介されると考えられてきたが、紫外線照射された皮膚では、(1)TNF-αをはじめとする様々なサイトカインの産生のみならず、(2)活性酸素の産生と(3)内因性の抗酸化物質が減少することが知られている。このことは皮膚免疫系に対する紫外線の効果がサイトカインのみならず、活性酸素により媒介される可能性があることを示唆している。そこで今回我々は紫外線による皮膚免疫系の有害効果に活性酸素がどのように関わっているかを調べるために実験を行った。今回の実験では抗酸化剤の一つであるビタミンCを用いた。ビタミンCはスーパーオキサイドや過酸化水素、一重項酸素、水酸化ラジカルと素早く反応し、またビタミンEと協調して抗酸化作用を発揮するなど、多様な抗酸化作用のあることが知られている。また紫外線照射された皮膚では角化細胞がアポトーシスに陥りサンバーン細胞が出現するが、ビタミンCの前塗布によりサンバーン細胞の減少が認められている。我々の実験系においても紫外線照射前の皮膚にビタミンCを塗布することにより、紫外線による皮膚免疫系への有害効果を阻止できた。次に、TNF-αは紫外線による皮膚免疫系の有害効果を媒介するサイトカインの一つであるので、TNF-αを真皮内に注入する前にビタミンCを塗布したが、ビタミンCはTNF-αによる皮膚免疫系の有害効果を阻止できなかった。このことは、活性酸素がTNF-αの下流に位置して紫外線の皮膚免疫系に対する有害効果を媒介しているのではないことを示唆している。今回の我々の結果は、紫外線による皮膚免疫系の有害効果を媒介するものとして、TNF-αなどのサイトカインのみならず、活性酸素も重要な役割を果たしていることを示唆している。

論文審査の結果の要旨

dinitrofluorobenzene（DNFB）を用いたマウスの接触過敏反応モデルにおいて、紫外線（UVB）による皮膚免疫系への有害効果はTNF-α、cis-ウロカニン酸やIL-10により媒介されることが多数報告されている。またビタミンC溶液を皮膚に塗布する事により、紫外線による紅斑や、表皮角化細胞のアポトーシスの結果であるサンバーン細胞の減少が報告されている。UVBによるサンバーン細胞の出現もTNF-αにより媒介されることから、本研究ではUVB、TNF-αの皮膚免疫系に対する有害効果をビタミンCが阻止できるかどうかにつき検討を加えた。まずビタミンC溶液やvehicleの接触過敏反応への影響やサンスクリーン効果のないことを確認した。次にUVB照射後にDNFBで経皮感作させると接触過敏反応の減弱と免疫学的寛容が誘導されたが、ビタミンC溶液をUVB照射部位に前似って塗布すると、接触過敏反応の減弱を認めず、また免疫学的寛容の誘導も認められなかった。TNF-αを皮内注射しても接触過敏反応の減弱と免疫学的寛容が誘導されるが、ビタミンC溶液の前処置はTNF-αによるこれらの効果を阻止できなかった。以上よりビタミンCの経皮投与がUVBの皮膚免疫系への有害効果を阻止することを明らかとした。紫外線による皮膚癌の誘発には、DNA障害とともにUVB照射による皮膚免疫系の変調が重要因子と考えられている。オゾン層の破壊により地上に届く紫外線の増加による皮膚癌の増加が懸念されている。本研究はビタミンCがUVBから皮膚免疫系を保護し得る可能性を示唆したものとして大変意義があり、学位論文に値すると考えられる。