



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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 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

氏名	中村敏明
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 of UVB Radiation on Cutaneous Immunity by a Mechanism That Does <i>Not</i> 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 濱岡 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/m^2 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シド、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 $25 \mu\text{l}$ を塗布して感作させ、5 日後片方の耳に 0.05% DNFB $20 \mu\text{l}$ 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 はスーパーオキシドや過酸化水素、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 照射部位に前持って塗布すると、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。