

【学園研 A】

1. 研究課題名

紫外線による眼球傷害における酸化ストレスの意義に関する研究

2. 研究代表者名

所属学部： 生活科学部 職名 教授 氏名 内藤通孝

3. 研究分担者

所属： 生活科学部 職名 准教授 氏名 松谷康子

4. 研究成果の概要

目的

紫外線への眼球の曝露により、短期的傷害として角膜炎、長期的傷害では白内障が生ずる。これらの原因は、紫外線の曝露による酸化ストレスと考えられる。そこで、本研究では、申請者らが新たに開発した酸化ストレス・マーカーである *dityrosine* (DT) を用いて、眼球に対する紫外線曝露の影響を明らかにし、女子学生が、皮膚とともに眼球の健康にも心掛けるように指導する基礎的資料を提供するため、短期と長期傷害について検討を行った。

研究 1 女子学生に対する紫外線に関する意識調査

【方法】

本学管理栄養学科 2 年生 (122 名) を対象に、紫外線に対する意識についてのアンケート調査を自己記入方式によって行った。

【結果・考察】

紫外線が気になると答えた学生は 98% であり、そのうちの 83% は皮膚に対して日焼け止めクリームを塗るなど、何らかの対策を行っていた。また、マスメディアによる紫外線情報の認知度は 83% であり、紫外線に対する意識は高いと考えられた。しかし、眼球に対してサングラスをかけるといった対策をする者はわずか 11% であった。さらに、紫外線による皮膚がん誘発に関する認知度は 98% であったのに対し、眼球に対する影響は、角膜炎・白内障という正しい回答をする者はわずか 6% であった。以上の結果より、皮膚への紫外線に関する意識は、美容と密接にかかわるため高いと考えられるが、眼球への影響に対する意識は低いと考えられた。

研究 2. 短期間の紫外線照射による眼球傷害

【方法】

HR-1 ヘアレスマウスを用いて、1・2・3・5・10 回照射ごとに、対照 (Control) 群と紫外線照射 (UV) 群に群分けを行い (各 $n=6$)、各回数 of 紫外線照射を行った。なお、紫外線は波長 302 nm の UV-B とし、各照射は 180 mJ/cm^2 の強度で行った。解剖後、眼球切片を作成し、hematoxylin eosin (HE) 染色、proliferating cell nuclear antigen (PCNA)、8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG)、4-hydroxy-2-nonenal (HNE)、および DT の免疫組織化学染色を行った。PCNA については、角膜上皮の基底層部分を 5 か所抽出し、400 倍で 1 視野の範囲を計数した。

【結果・考察】

HE 染色の結果、1 回照射後の UV 群の角膜には大きな変化は認められなかったが、2 回照射後から角膜上皮に肥厚が認められ、3 回照射後では角膜上皮と実質の間に炎症細胞の浸潤が見られた。5 回照射後になると炎症は軽減したが、10 回照射後には角膜の顕著な肥厚が確認された。これらの結果より、2・3 回照射後の UV 群では、角膜炎を誘発していた可能性が考えられ

る。PCNA と 8-OHdG の免疫組織化学染色の結果、UV 群の角膜において強い陽性染色が認められた。また、PCNA 染色核数は、3 回照射後が最も多く、Control 群と比べて有意に高値を示した。このことから、紫外線への曝露により、角膜の DNA が損傷を受けた結果、DNA 修復が活発化し、角膜が肥厚したと考えられる。また、DT においても、角膜上皮に強い陽性染色が認められた。しかし、紫外線による HNE の陽性染色は認められなかったことから、角膜では、アルデヒドの細胞毒性は生じなかったと考えられる。

研究 3. 長期間の紫外線照射による眼球傷害

【方法】

HR-1 ヘアレスマウスを用いて、Control 群と UV 群に群分けを行い (各 n=6)、10 週間、30 回の紫外線照射を行った。なお、紫外線の波長は研究 2 と同様の 302 nm とし、照射強度は 30 mJ/cm² (第 1 週)、60 mJ/cm² (第 2 週)、90 mJ/cm² (第 3 週)、120 mJ/cm² (第 4・5 週)、150 mJ/cm² (第 6・7 週)、180 mJ/cm² (第 8・9・10 週) と漸増した。解剖後、眼球の切片を作成し、研究 2 と同様の実験を行った。

【結果・考察】

HE 染色の結果、10 週間の紫外線照射により、UV 群の角膜に肥厚が認められた。PCNA と 8-OHdG の免疫組織化学染色の結果、UV 群の角膜では強い陽性染色が確認された。また、PCNA 染色核数は、UV 群が Control 群と比べて有意に高値を示した。さらに、UV 群の角膜における酸化ストレス・マーカー HNE も同様に、Control 群と比べて強い陽性染色が確認された。これらの結果より、慢性的な紫外線照射においても、角膜・水晶体において DNA の損傷と酸化ストレスが蓄積することが示された。DT の免疫組織化学染色の結果、UV 群の水晶体は Control 群と比べて強い陽性染色の傾向が見られた。また、高齢者の水晶体において DT が蓄積するという報告がある。白内障は、水晶体における酸化ストレスの蓄積により生じることから、DT の陽性染色は、白内障の誘発に関与する可能性が示唆された。

まとめ

強い紫外線の曝露により、眼球に炎症や DNA 損傷が引き起こされ、また、申請者らが開発した酸化ストレス・マーカーの DT がこれらの評価に有用であることが示された。しかし、アンケート調査の結果、女子学生の紫外線の防御に関する眼球の意識は、皮膚に対する意識と比べて低いことが示された。これらのことから、今後、女子学生が皮膚とともに、眼球の健康にも心掛けるように指導・教育する必要性が考えられた。

研究成果の公表

研究 1 については、「女子大生の紫外線対策に対する実態調査」として、椋山女学園大学研究論集 (自然科学篇) (2009; 40:157-162) に公表した。

研究 2 と 3 の一部については、「ワサビ葉成分イソサポナリンが紫外線による皮膚傷害に及ぼす効果」の中で、第 61 回日本酸化ストレス学会において発表した。研究 2 と 3 については、現在、英文原著として投稿準備中である。

研究協力者

生活科学研究科 M2 三浦陽子

生活科学部助手 林佐奈衣

兵庫県立大学環境人間学部 加藤陽二 准教授