

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年6月17日現在

機関番号：15201

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22510029

研究課題名（和文） 南極地域におけるオゾンホール発生時の紫外線がヒト皮膚細胞に与える影響

研究課題名（英文） The effect of ultraviolet ray on the skin cells under the Antarctic ozone hole

研究代表者

高橋 哲也（Tetsuya Takahashi）

島根大学・教育学部・教授

研究者番号：90325035

研究成果の概要（和文）：

オゾンホール発生時の南極にて、ヒト皮膚を模したコラーゲンシートを用いて紫外線カットフィルムの皮膚への防御効果について調べた。その結果、オゾンホール発生時である春季曝露の場合は、秋季曝露の場合に比べて2.8倍程度も多かった。しかし、酸化亜鉛を0.40v%添加したフィルムで覆った場合には、春季曝露であっても総アミノ酸量は無添加フィルムの場合に比べて1/4程度にまで低下した。つまり、オゾンホール発生時の春季50日間の曝露であっても、酸化亜鉛の添加はコラーゲンの紫外線劣化の抑制に非常に有効であることが確かめられた。

研究成果の概要（英文）：

Collagen sheets that simulate human skin were employed to study the protection effects of ultraviolet-cut (UV-cut) films on the skin when the Antarctic ozone hole appeared. The results show that nearly 2.8 times as much total amino acids were produced in collagen sheets exposed in spring, when the ozone hole appeared, as those produced in collagen sheets exposed in autumn. However, total amino acids in a collagen sheet covered by a film with a zinc oxide content of 0.40 v% decreased to nearly one-fourth the amount in a collagen sheet covered with a zinc-free film, even during spring exposure. In other words, the addition of zinc oxide is confirmed to suppress collagen deterioration by UV light very effectively, even if exposure lasts 50 d in spring, when the ozone hole appears.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：繊維材料、生化学

科研費の分科・細目：環境学・環境影響評価

キーワード：紫外線，オゾンホール，南極，UVカット，人工皮膚，コラーゲン，酸化チタン，レーヨン

1. 研究開始当初の背景

環境破壊ともなっていて、南極上空ではオゾンホールが発生し、短波長紫外線が地上に降り注ぐようになっている。そのため、皮膚や眼の生体ポリマーに対する影響が非常に懸念されている。短波長紫外線は皮膚の細胞外マトリックスであるコラーゲンに作用し、しわ、たるみ、しみといった皮膚障害を生じさせる。オゾンホール発生時の短波長紫外線が生体ポリマーであるコラーゲンの架橋や分解に及ぼす影響を調べることは重要であるものの、安全に且つ定量的にそれを評価することは困難である。

2. 研究の目的

紫外線より肌を守るため、日焼け止めクリーム、フェイスマスクといったUVカット製品も多く開発されている。しかし、オゾンホール発生時に降り注ぐ短波長紫外線に対するそれらの防御効果を調べることも非常に困難である。そこで、本研究では豚の真皮をよりコラーゲンシートを作製し、オゾンホール発生時の南極にてUVカットフィルムでコラーゲンシートを覆って曝露実験を行った。ポリマーであるコラーゲンに及ぼす短波長紫外線による分解などの影響を調べるとともに、UVカットフィルムによるコラーゲンの安定性についても調べることにした。

3. 研究の方法

3.1 コラーゲンシートの作製

豚皮由来のコラーゲン線維を蒸留水に分散し、クエン酸にてpH 3.5に調整した。ワリーングブレンダーを用いて均一に破碎した後、脱泡を行い、終濃度2.0wt%のコラーゲン分散液を調製した。FTS社製凍結乾燥機DURA-DRYを用いてコラーゲン分散液を凍結乾燥し、得られたスポンジ状物を厚さ1.5mmにスライスした。目付29 g/m²のコラーゲンシートを得た。このコラーゲンシートの厚みは、測定圧0 gf/cm²では1,500 μm、50 gf/cm²では1,402 μm、240 gf/cm²では1,193 μmである。なお、豚の皮膚は比較的人間に近いとされるため、豚皮由来のコラーゲン線維を本実験で用いた。以下、このスポンジ状のコラーゲンシートを“コラーゲンシート”と記す。

3.2 紫外線カットフィルムの作製

ポリプロピレン（分子量Mw：3.0×10⁵）に対して紫外線散乱剤である粒径25nmの酸化亜鉛（分子量Mw：81.39）を添加し、Tダイフィルム成形機を用いて厚み50±2 μmのフィルムを作製した。この紫外線散乱剤は無機固体であり、紫外線を物理的に反射・散乱して

紫外線を防御する。得られたフィルムの吸光度スペクトルを調べたところ、酸化亜鉛の添加によって、370nm以下の短波長紫外線を有効に防御していることがわかった。なお、添加量は全て体積分率（v%）で表記した。

3.3 南極での屋外曝露の方法

第48次日本南極地域観測隊によって、南極リュツオ・ホルム湾沿岸部に位置する東オングル島・昭和基地内に曝露用架台を設置した。コラーゲンシートを紫外線カットフィルムで覆って、曝露用架台に貼り付けて屋外曝露を行った。曝露地点は、南緯69度00分、東経39度35分に位置する。曝露サンプルは、高さ1.5mの曝露用架台に垂直方向（頭上）と水平方向（真北）に向けて設置した。その際、方位は磁方位ではなく、真方位とした。曝露用のサンプル（10×12cm）が重ならないように、間隔を空けて曝露用架台に取り付けた。

3.4 曝露期間

オゾンホールは、南極での春季である9月～10月頃に発現することが知られている。そこで、曝露期間としては、オゾンホールの発生時期として知られる春季の2007年9月11日～10月5日の25日間と9月11日～10月30日の50日間に設定した。比較として、秋季の2007年3月9日～4月2日の25日間と2月12日～4月2日の50日間にも曝露を行った。この曝露時期を設定した根拠については、3.1項に後述する。2007年のミッドウィンターは6月22日である。つまり、本実験における春季と秋季の曝露は、太陽高度が全く同じになるように期間を設定した。

前述のように、春季はオゾンホールが出現して短波長紫外線が地表に到達する時期であり、秋季はオゾンホールが全く出現しない時期である。つまり、春季と秋季の曝露結果を比較することにより、オゾンホールの有無による高エネルギー紫外線の影響を定量的に調べることができる。なお、紫外線の影響について評価すべく、比較としてアルミ箔で遮光したコラーゲンシートも同じ期間に曝露架台に設置した。

4. 研究成果

4.1 昭和基地上空の総オゾン量と紫外線量の関係

冬から夏までの6カ月間、気温の上昇に伴って上空の温度も高くなる。そこで、曝露期間中である2007年6月から12月までの昭和基地上空の成層圏の温度を調べ、成層圏の総オゾン量や地上に到達する紫外線量の関係について調べた。昭和基地上空100hPaの位置における温度と総オゾン量、地上に到達す

る波長ごとの紫外線量の関係を各々図 1(a)、図 1(b)に示す。この上空 100hPa の位置とは、高度 14.5~16.0km 付近の下部成層圏にあたる。

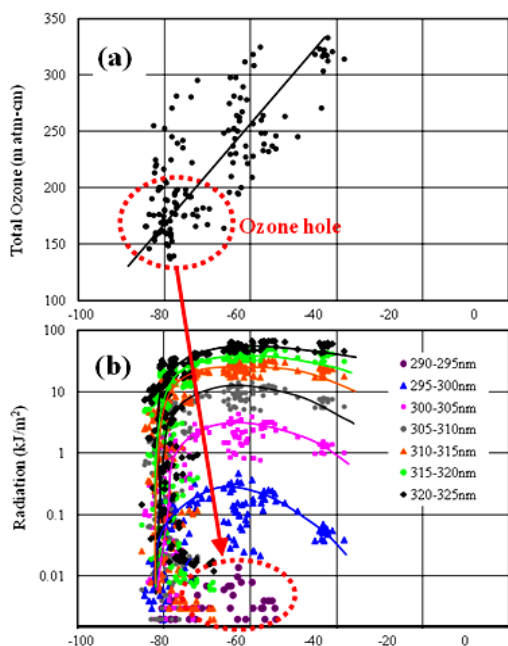


図 1 昭和基地上空のオゾン濃度と地上に到達する紫外線量; (a) オゾン濃度, (b) 紫外線量

図 1(a)に示すように、昭和基地上空の総オゾン量はオゾンホールの定義である 220 m atm-cm を下回る期間が存在していたことがわかる。つまり、2007 年においてもオゾンホールは発生していた。また、図 1(a)に示すように、総オゾン量のデータにバラツキがあるものの、 -60°C よりも高い温度になると総オゾン量は 230~340 m atm-cm 程度にまで増し、オゾン層が大きく回復していることがわかる。なお、日本付近では、250~450m atm-cm 程度が通常値である。

一方、地上に届く紫外線量は、いずれの波長においても成層圏温度が -65°C ~ -60°C 付近に極大値を持つ上に凸な曲線で示されている(図 1(b))。つまり、成層圏の温度が -65°C ~ -60°C 程度の時期に、地上に届く紫外線量が最も多くなっていることがわかる。ここで注目されることは、成層圏温度が -75°C ~ -55°C の時期に 290~295nm の短波長紫外線が測定されていることである。図 1(a)で示すように、 -60°C よりも高い温度の時期になるとオゾンホールは消失している。つまり、 -60°C ~ -55°C の成層圏温度ではオゾンホールは消失しているにもかかわらず、290~295nm の短波長紫外線は地上に到達している。一方、 -75°C よりも低い成層圏温度の時期では、オゾンホールが発生しているにもかかわらず(図 1(a))、短波長紫外線は地表に到達して

いない(図 1(b))。むしろ、短波長紫外線は、上空の総オゾン量がすでに増加し始めている -65°C ~ -56°C の時期の方が地上に最も多く降り注いでしていることがわかった(図 1(b))。

オゾンホール生成に必要な不可欠な原因物質の一つはフロンである。オゾンはフロンの光解離によって生成された塩素原子によって破壊される。冬季における南極の成層圏では、極低温になるために極成層圏雲が発生する。この極成層圏雲の表面では化学反応が生じやすく、塩化水素と硝酸塩素から安定な塩素分子が生成される。春季になって太陽光が照射されるようになると、塩素分子は反応性の高い塩素原子に変わり、大規模なオゾン破壊が南極上空で生ずる。これが、一般的に知られているオゾンホールが春季のみに発生する理由である。

一般的に、オゾンホール発生時には成層圏の総オゾン量が少ないために太陽からの短波長紫外線が地上に届きやすくなると考えられている。しかし、成層圏温度が -75°C よりも低い時期は、太陽高度が低いために太陽から降り注がれる紫外線の照射量が少ない。つまり、成層圏温度が -75°C よりも低い時期では、太陽から降り注がれる紫外線量が少ないために、地上に届く短波長紫外線(290~295nm)は比較的少ないと云える。それに比べて、成層圏温度 -75°C ~ -55°C の時期になると、太陽高度が高くなっているために紫外線照射量が多くなる。成層圏温度 -75°C ~ -55°C の時期では、南極上空の成層圏の総オゾン量自体は -75°C よりも低い時期に比べて多いものの、太陽からの日射が増すために地表に届く短波長紫外線(290~295nm)が多くなったものと考えられる。

以上のように、短波長紫外線(290~295nm)が実際に地上に届く時期は、オゾンホールの発生が開始する時期よりも、成層圏温度が 10 ~ 15°C 程度高くなった頃であることがわかった。これは、オゾンホールの発生が開始する時期に比べて、1~2カ月遅い時期にあたる。以上の結果を考慮して、春季の曝露期間を2007年9月11日~10月5日の25日間と9月11日~10月30日の50日間に設定することにした。

4.2 紫外線カットフィルムによる短波長紫外線に対する防御効果

垂直方向(頭上)において50日間曝露したコラーゲンシートから抽出液を採取し、抽出液のアミノ酸分析を行った。表1に、検出されたアミノ酸の総量とヒドロキシプロリン量を示す。その結果、アミノ酸の総量、ヒドロキシプロリン量とも、酸化亜鉛添加量の多いフィルムで覆ったものほど、その値が小さいことがわかった。また、オゾンホール発

表1 酸化チタン添加したUVカットフィルムに覆って曝露したコラーゲン人工皮膚のアミノ酸分析

	Amounts of Amino Acids (μg/100μl)	Zinc-free	0.04%	0.12%	0.40%	Light shielding
Autumn exposure	Total	139.7	123.5	61.8	38.2	11.1
	Hydroxyproline	17.13	15.25	7.60	4.37	1.15
Spring exposure	Total	384.3	287.1	325.6	91.5	10.4
	Hydroxyproline	44.55	34.27	38.56	11.10	1.01

生時期である春季の曝露の方が、秋季の曝露に比べてその値が2.8倍程度にも大きいこともわかった。つまり、オゾンホール発生時の高エネルギー紫外線によってコラーゲン分子鎖が切断されやすくなっていた。しかし、酸化亜鉛を0.40v%添加したフィルムで覆った場合には、総アミノ酸量が無添加のフィルムの場合に比べて1/4程度にまで抑制されていた。

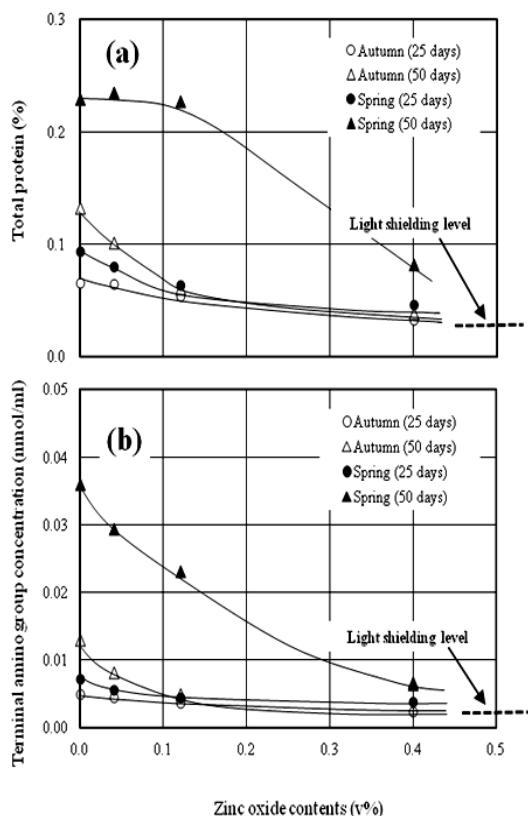


図2 酸化チタン添加したUVカットフィルムに覆って頭上方向で曝露したコラーゲン人工皮膚の分析結果; (a) タンパク質濃度, (b) 末端アミノ基濃度

次に、垂直方向（頭上）での25日間と50日間曝露後のコラーゲンシートから得た抽出液中の総タンパク質量と末端アミノ基濃

度も調べた（図2）。その結果、全ての曝露の場合とも、フィルム中の酸化亜鉛添加量の増加に伴って、総タンパク質量、末端アミノ基濃度とも低下している。酸化亜鉛添加量を0.40v%にすると、春季の50日間曝露の場合を除いてアルミ箔で覆って遮光したコラーゲンシートのレベルにまで低下している。つまり、酸化亜鉛粒子は、南極でのオゾンホール発生時期の曝露においても有効な紫外線防御効果を示した。但し、春季の50日間の曝露の場合は、春季の25日間曝露や秋季の25日間や50日間曝露の場合に比べて大幅に劣化していることがわかった。春季での50日間の曝露において、より充分な紫外線防御効果を得るためには、フィルム中の酸化亜鉛添加量を0.40v%よりも多くする必要がある。

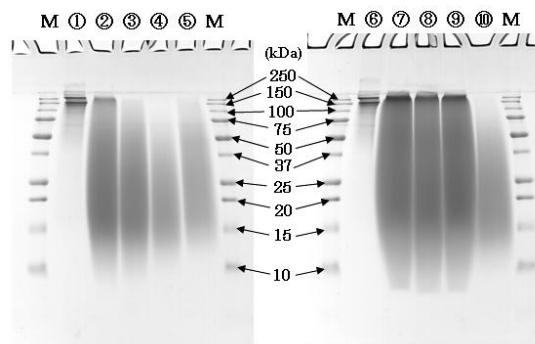


図3 酸化チタン添加したUVカットフィルムに覆って頭上方向で曝露したコラーゲン人工皮膚の電気泳動分析 (SDS-PAGE)

さらに、電気泳動でも垂直方向（頭上）で50日間曝露したコラーゲン抽出液の分析を行った。図3の左側のゲルは秋季での曝露結果、右側のゲルは春季での曝露結果を示す。その結果、紫外線を遮光したもの(①②)に比べて、曝露したものはコラーゲンの分解物が多く見られる。春季曝露の方が、秋季曝露に比べて分解物が多く見られる。春季曝露に限定して言えば、酸化亜鉛含有量が0.40v%のフィルムで覆ったものは、その他のフィルムの場合に比べて分解物が少ない。つまり、酸

化亜鉛含有量が0.40v%のフィルムのUVに対する防御効果は高い。以上のような電気泳動の結果からも、オゾンホール発生時の南極においてもフィルム中の酸化亜鉛粒子が短波長紫外線によるコラーゲン分子鎖の切断に対して有効に防御することが示された。

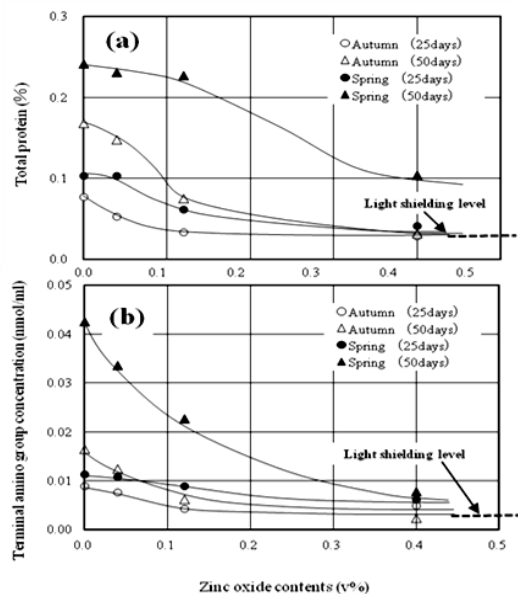


図4 酸化チタン添加したUVカットフィルムに覆って水平方向(真北)で曝露したコラーゲン人工皮膚の分析結果; (a) タンパク質濃度, (b) 末端アミノ基濃度

4.3 曝露方向による相違

南極の春季、秋季の太陽高度は、正午でも 8° ~ 25° 程度と非常に低い。また、直立した人間の顔面には、低角度からの日射を受ける。そこで、垂直方向(頭上)での曝露だけではなく、水平方向(真北)での曝露の場合についても評価を行った。図4に水平方向(真北)にて曝露した場合の総タンパク質量と末端アミノ基濃度を示す。その結果、水平方向(真北)の曝露においても、図2に示した垂直方向(頭上)での曝露結果とほぼ同様の傾向を示した。つまり、全ての曝露の場合とも、フィルム中の酸化亜鉛添加量の増加に伴って、総タンパク質量、末端アミノ基濃度とも有効に低下している。酸化亜鉛添加量を0.40v%にすると、春季の50日間曝露の場合を除いてアルミ箔で覆って遮光したコラーゲンシートのレベルにまで低下している。

また、既に報告した夏季の曝露では、末端アミノ基濃度が垂直方向(頭上)の曝露の方が水平方向(真北)の曝露よりも3倍程度も大きかった。しかし、本研究での春季や秋季の曝露の場合、曝露方向による値の差はあまり大きくはなかった。つまり、春季や秋季の曝露の場合では、夏季の曝露に比べて垂直方向(頭上)の影響が水平方向(真北)に比べて相対的に小さいことがわかった。この理由

としては、春季や秋季では夏季に比べて太陽高度が低いため、垂直方向(頭上)での曝露の影響が相対的に小さく現れたものと考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計6件)

- ① Tetsuya Takahashi, Tamotsu Hoshino, Tetsuo Kondo, Satoshi Imura, Sakae Kudoh, and Katsumi Yoshino: Biosynthesis of Microbial Cellulose from the Antarctic Microorganisms, *Journal of the Society of Electrical Materials Engineering*, Vol. 21, No. 1, pp. 5-10 (2012) (査読有り)
- ② Tetsuya Takahashi, Mariko Oowaki, Yukio Onohara and Yasuo Yanagi: Deodorant performance of titanium dioxide-added acrylic/cellulose diacetate blended- fibers, *Textile Research Journal* (2012) in press (査読有り)
- ③ Tatsuyuki Yamamoto, Hideo Akiyoshi, Keisuke Yoshikiyo, Tetsuya Takahashi, Yukiko Tanabe, Sakae Kudoh, Satoshi Imura, and Naoyuki Yamamoto: A spectroscopic study on the effect of ultra-violet solar radiation at Antarctica on the human skin fibroblast cells, *Geoscience Frontiers* (2012) in press (査読有り)
- ④ Tetsuya Takahashi, Yoshikazu Kimura: Improved Soiling resistance of polypropylene fiber with addition of synthetic compounds, *Textile Research Journal*, Vol. 82, No. 8, pp. 789-800 (2012) (査読有り)
- ⑤ Tetsuya Takahashi, Tetsuo Kondo, Keisuke Tanaka, Shunji Hattori, Shinkichi Irie, Sakae Kudoh, Satoshi Imura, and Hiroshi Kanda: Measurement of solar UV radiation in Antarctica with collagen sheets, *Photochemical & Photobiological Sciences* (The Royal Society of Chemistry 英国化学会), Vol. 11, pp. 1193-1200 (2012) (査読有り)
- ⑥ Tetsuya Takahashi, Tetsuo Kondo, Keisuke Tanaka, Shunji Hattori, Shinkichi Irie, Sakae Kudoh, Satoshi Imura, and Hiroshi Kanda: Using collagen artificial skin to estimate the protection effects of UV-cut materials against sunlight under the Antarctic ozone hole, *Polymer Degradation and Stability* (Elsevier) Vol. 97, Issue 6,

pp. 1002-1009 (2012) (査読有り)

[学会発表] (計4件)

- ①高橋哲也, 山下稚香子, 星野保, 小倉孝之, 田中啓友, 服部俊治, 伊村智, 工藤栄, 神田啓史, 吉野勝美: オゾンホール発生時の南極における短波長紫外線のコラーゲンへの影響, 第34回極域汽水圏・生物圏合同シンポジウム2012, 2012年11月27日, 国立極地研究所(東京)
- ②山下稚香子, 高橋哲也, 小倉孝之, 田中啓友, 服部俊治, 伊村智, 工藤栄, 神田啓史: オゾンホール発生時の南極におけるコラーゲン人工皮膚を利用したUVカット素材の防衛性能評価, 日本家政学会第64回大会(日本家政学会), 2012年5月11日~13日, 大阪市立大学(大阪)
- ③高橋哲也, 麻生祐司, 近藤哲男, 田中啓友, 服部俊治, 入江伸吉, 伊村智, 工藤栄, 神田啓史: Isolation culture of the cold-adapted microorganisms for polysaccharide producing (多糖類を産生する低温微生物の培養), 第33回極域汽水圏・生物圏合同シンポジウム2011, 2011年11月30日, 国立極地研究所(東京)
- ④高橋哲也, 近藤哲男, 田中啓友, 服部俊治, 入江伸吉, 工藤栄, 伊村智, 神田啓史: オゾンホール発生時の南極における短波長紫外線の皮膚に及ぼす影響, 平成23年度繊維学会年次大会(繊維学会), 2011年6月8日~10日, タワーホール船堀(東京)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計2件)

名称: 機能性レーヨン繊維及びその製造方法
発明者: 高橋哲也, 吉野勝美
権利者: 島根県産業技術センター
種類: 特許
番号: 特願 2012-127826
出願年月日: 2012年6月
国内外の別: 国内

名称: コラーゲン線維からなるコラーゲン人工皮膚およびそれを用いた紫外線ダメージの評価方法
発明者: 高橋哲也, 服部俊治, 田中啓友, 小倉孝之, 吉野勝美
権利者: 島根県産業技術センター, ニッピコラーゲン
種類: 特許
番号: 特願 2012-177607
出願年月日: 2012年8月
国内外の別: 国内

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 哲也 (Tetsuya Takahashi)

島根大学・教育学部・教授

研究者番号: 90325035

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: