

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：34104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461667

研究課題名(和文)紫外線の長期眼照射により誘導される光老化のメカニズムの解析

研究課題名(英文)The analysis of the mechanism of photoaging induced by the long-term UVA eye irradiation

研究代表者

平本 恵一 (HIRAMOTO, KEIICHI)

鈴鹿医療科学大学・薬学部・助教

研究者番号：90251793

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は紫外線A (UVA)の長期眼照射が皮膚の光老化と記憶・学習能力低下を誘導する脳内メカニズムを明らかにすることを目的として行った。UVA長期眼照射(週3回、12ヶ月：1回あたり110 kJ/m<sup>2</sup>)は脳内でgp91phoxから活性酸素を産生する。活性酸素はウロコルチン 2を増加させ、皮膚のヒスタミンの遊離を増やし光老化を誘導することが示された。また、同条件で記憶・学習能力の低下が起こり、アルツハイマー病と同様の脳内変化が見られた。加えて、光老化と記憶・学習能力低下にはCRH/POMC系を介し密接な関係があることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Photoaging was induced using long-term ultraviolet (UV)A eye irradiation for 12 months. UVA eye irradiation increases the production of reactive oxygen species (ROS) from gp91phox in the brain, and this gp91phox-induced ROS stimulates urocortin 2. Moreover, urocortin 2 increases the degranulation of tryptase and histamine from mast cells of the skin, thereby leading to photoaging. On the other hand, our data suggested that long-term UVA eye irradiation results in depression of the memory and learning ability. The alteration similar to Alzheimer's disease occurs to the protein in the brain, and the introduction of glucose into the brain is additionally decreased. In addition, it was suggested that there is a close relation to photo aging, and memory and learning ability depression through a CRH/POMC system.

研究分野：光生物学

キーワード：紫外線 光老化 記憶・学習

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 我々は紫外線(UV)が眼から侵入したときの生体反応を報告してきた。短期 UVB 眼照射では、全身の皮膚や消化管粘膜におけるメラニン形成の増加が見られた。また UV 眼照射により光免疫抑制が誘導された。これらの作用は UV により誘起された眼組織のシグナルが三叉神経や眼神経を介して脳へ入り、視床下部下垂体 POMC (プロオピオメラノコルチン)系を活性化し、全身のメラニン細胞刺激ホルモン ( $\alpha$ MSH) および副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) を増加させることにより起こることが判明した。

(2) さらに、UVA 長期眼照射では表皮の肥厚、炎症性細胞の浸潤コラーゲンの分解、および皮膚の乾燥が見られ、UVA 長期皮膚照射と同様に光老化の症状が見られた。同時に長期眼照射では記憶・学習能力の低下も見られた。脳の切片図を観察した結果、海馬における C2 領域の変性が認められ、アルツハイマー病とよく似ていた。

### 2. 研究の目的

(1) UV が皮膚に暴露されると皮膚ガン、光免疫抑制、光老化など多くの害作用が起こることはよく知られている。ヒトは加齢と共に老化するが、生理的な老化に加え、UV による光老化が重要な因子となっている。我々はマウスにおいて UV は皮膚だけではなく眼に照射されても同様の光老化を誘導し、表皮の肥厚、皮膚の乾燥、シミ・シワの過剰生産が起こることを見出した。本試験では、UV の眼照射により誘導される光老化のメカニズムを明らかにすることを目的とした。

(2) 我々は UV の長期眼照射は記憶・学習能力の低下を起こすことを見出した。この作用はアルツハイマー病の症状と似ており、脳内における作用メカニズムを明らかにし、アルツハイマー病の新しい成因の解明を目的とした。

### 3. 研究の方法

UVA の長期照射に応答する脳内分子機構の解明

(1) 先ず、本研究の UVA 照射条件を示す。UVA (FL20SBLB-A lamp (320-400 nm)) を 1 日 1 回 110 kJ/m<sup>2</sup> (照射時間 30 分) で週 3 回、一年間眼に照射した。対照群は可視光を同条件で眼に照射した。

(1) UVA の長期眼照射が脳における視床下部下垂体 POMC 系を介していること(1,2)、および脳内の  $\alpha$ MSH および ACTH が重要な役割を示していること(3)が判明している。また眼からの刺激により活性酸素種(ROS)が産生し(1,2)、この ROS が脳内の  $\alpha$ MSH および ACTH の発現に関与していることが解っている。これらのことより、UVA 長期眼照射による脳内 ROS の POMC 系ホルモンの発現に対する役割を

検討すると共に皮膚の老化との関係を検討する。また我々は、皮膚において UVA 長期眼照射では肥満細胞(MC)が光老化に関与していることを見出している(4)。そこで脳からの情報がどのように MC に働くか検討する。

(2) 我々は UVA の長期眼照射がアルツハイマー様症状を示していることを報告している(5)。現在、アルツハイマー疾患の原因とされている海馬での  $\beta$ -アミロイドおよびタウ蛋白質の蓄積について検討する。一方、アルツハイマー病態においては脳内免疫系との関係も報告されている(6)。免疫系は  $\alpha$ MSH、ACTH などのホルモンと密接に関係している。このことから、UVA 長期眼照射による記憶・学習能力の低下は脳内の POMC 系ホルモンが関与している可能性が考えられ、その詳細なメカニズムを解明する。さらに光老化と記憶・学習能力の低下は共に POMC 系のホルモンが関与しているため、相互関係についても検討する。

### 4. 研究成果

(1) UVA 長期照射における眼への影響

UVA を長期眼照射行くと光老化を誘導する。UVA 長期眼照射が眼自体に与える影響について検討した。C57BL/6j 雄性マウスに 1 日 1 回、週 3 回で 12 ヶ月間 UVA 照射を行った。最終照射後 24 時間でマウスの網膜を採取した。UVA 眼照射により網膜中で iNOS、マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)-2、MMP-9、血管内皮増殖因子(VEGF)、 $\beta$ -アミロイドおよびマクロファージの発現が増加していた。MMP-2、MMP-9 および VEGF の増加は加齢黄斑変性を誘導することが知られている。同様に、UVA による光酸化ストレスがマクロファージを誘導し、誘導されたマクロファージは  $\beta$ -アミロイドの取り込みを行い、炎症性サイトカインを放出させ加齢黄斑変性を導いている可能性がある。このように、長期眼照射により網膜にも  $\beta$ -アミロイドの蓄積が見られ脳と密接に関与していると考えられた。(Biomed. Hub に投稿・掲載)

(2) UVA 長期眼照射による光老化誘導メカニズムの解析

UVA の長期眼照射により脳内の gp91phox の発現が増加し、それに伴い gp91phox 由来の活性酸素(ROS)の発生が増加する。産生された ROS は脳中の副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン(CRH)およびウロコルチン 2 の分泌を増加させる。CRH およびウロコルチンの受容体には CRHR type 1 と type 2 が存在し、UVA 長期眼照射では脳中の CRHR type 2 の発現が著しく増加していた。この CRHR type 2 は皮膚においては肥満細胞からのヒスタミンの遊離を誘導している。このヒスタミンがコラーゲンの分解や炎症を導き、皮膚の光老化を誘導していることが示唆された(図 1)。(Photochem. Photobiol. に投稿・掲載)

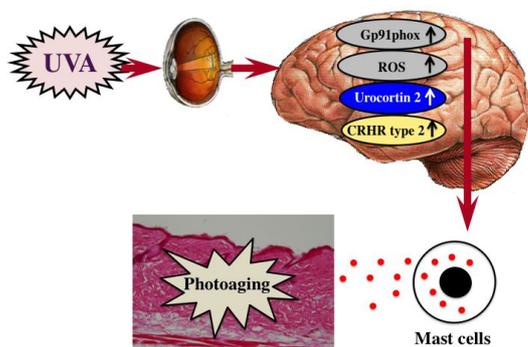


図 1. UVA 長期眼照射による光老化誘導メカニズム

(3) UVA 長期眼照射による記憶・学習能力低下のメカニズムの解析

UVA 長期眼照射は記憶・学習能力の低下をもたらした。またこの時、脳中のアセチルコリン量の低下、海馬領域におけるβ-アミロイドおよびγ-セクレターゼの発現の増加、そして最終糖化産物 (AGEs)の発現の増加が見られた。さらに、Positron Emission Tomography (PET)を用いたグルコースの取り込みの測定により、UVA 長期眼照射では脳中へのグルコースの取り込みが減少した。これらのことはUVA 長期眼照射による記憶・学習能力の低下の直接的な原因と断言はできないが、何らかの関係性を示していると考えられた。(Photodermatol. Photoimmunol. Photomed. に投稿・掲載)

(4) UVA 長期眼照射による光老化と記憶・学習能力低下の相互関係

UVA 長期眼照射は皮膚老化と記憶・学習能力の低下を引き起こした。この現象は共に脳によって引き起こされ、POMC系のホルモン特にCRHの作用が重要な役割を果たすことが解ってきた。(現在、投稿準備中)

以上の結果より、今後、皮膚の光老化と記憶・学習能力の低下を防御するため、眼から侵入するUVについても考える必要がある。また、本現象のメカニズムの解析よりUV暴露に対する新しい予防・治療法を確立することができると考えられた。

<引用文献>

Hiramoto K., Yanagihara N., Sato E.F., Inoue M., Ultraviolet B irradiation of the eye activates a nitric oxide-dependent hypothalamopituitary proopiomelanocortin pathway and modulates functions of α-melanocyte-stimulating hormone-responsive cells, *J. Invest. Dermatol.*, 120, 2003, 123-127  
 Hiramoto K., Ultraviolet A irradiation of the eye activates a nitric

oxide-dependent hypothalamo-pituitary pro-opiomelanocortin pathway and modulates the functions of Langerhans cells, *J. Dermatol.*, 36, 2009, 335-345  
 Hiramoto K., The α-melanocyte-stimulating hormone-melanocortin receptor system influences the effects of ultraviolet A on skin and intestine immunity in mice, *Clin. Exp. Dermatol.*, 36, 2011, 665-667  
 Hiramoto K., Yamate Y., Kobayashi H., Ishii M., Long-term ultraviolet A irradiation of the eye induces photoaging of the skin in mice, *Arch. Dermatol. Res.*, 304, 2012, 39-45  
 Hiramoto K., Okada T., Ito M., Abnormalities in behavior, learning ability, and the cholinergic system induced by long-term ultraviolet A irradiation of mice, *Neuropsychobiol.*, 33, 1996, 182-185  
 Gimenez-Llort L., Mate I., Manassra R., Vida C., De la Fuente M., Peripheral immune system and neuroimmune communication impairment in a mouse model of Alzheimer's disease, *Ann. NY. Acad. Sci.*, 1262, 2012, 74-84

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)

Hiramoto K., Yokoyama S., Yamate Y., Ultraviolet A eye irradiation ameliorates colon carcinoma induced by azoxymethane and dextran sodium sulfate through β-endorphin and methionine-enkephalin, *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* 査読有, 33, 2017, 84-91  
 DOI: 10.1111/phpp.12290  
Hiramoto K., Yamate Y., Sato E.F., Long-term ultraviolet A eye irradiation causes retina denaturation in mice, *Biomed. Hub*, 査読有, 2, 2017, 1-10  
 DOI: 10.1159/000453542  
Hiramoto K., Yamate Y., Sato E.F., The effects of ultraviolet ray eye irradiation on dextran sodium sulfate-induced ulcerative colitis in mice, *Photochem. Photobiol.*, 査読有, 92, 2016, 728-734  
 DOI: 10.1111/php.12620  
Hiramoto K., Yamate Y., Sugiyama D., Takahashi Y., Mafune E., The gender differences in the inhibitory action of UVB-induced melanocyte activation by the administration of tranexamic acid, *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.*, 査読有, 32, 2016, 136-145  
 DOI: 10.1111/phpp.12231

Hiramoto K., Kasahara E., Long-term UVA eye irradiation causes decreased learning ability in mice, Photodermatol. Photoimmunol. Photomed., 査読有, 32, 2016, 129-135

DOI: 10.1111/phpp.12229

Hiramoto K., Yamate Y., GP91phox-derived reactive oxygen species/urocortin 2/corticotropin-releasing hormone receptor type 2 play an important role in long-term ultraviolet A eye irradiation-induced photoaging, Photochem. Photobiol., 査読有, 92, 2016, 180-186

DOI: 10.1111/php.12553

〔学会発表〕(計4件)

Hiramoto K., Sugiyama D., Takahashi Y., Mafune E., The effect of tranexamic acid in wrinkles induced by skin dryness, 10<sup>th</sup> Asian Dermatological Congress Mumbai, India, 2016年10月

Hiramoto K., Yamate Y., Gp91phox-derived reactive oxygen species/urocortin 2/corticotropin-releasing hormone receptor type 2 play an important role in long-term ultraviolet A eye irradiation induced photoaging, 第17回日本光老化研究会、2016年7月

山手百合香、平本恵一、佐藤英介、眼からの紫外線照射がDSS(デキストラン硫酸ナトリウム)誘導性潰瘍性大腸炎モデルマウスに及ぼす影響、第38回日本光医学・光生物学会、2016年7月

Hiramoto K., Yamate Y., Sugiyama D., Takahashi Y., Mafune E., Tranexamic acid suppresses ultraviolet B eye irradiation-induced melanocyte activation, 23th World Congress of Dermatology (Bancuver) 2015年6月

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

平本 恵一 (HIRAMOTO, Keiichi)  
鈴鹿医療科学大学・薬学部・助教  
研究者番号：90251793

### (2) 研究分担者

( )  
研究者番号：

### (3) 連携研究者

笠原 恵美子 (KASAHARA, Emiko)  
大阪大学・大学院薬学研究科・特任助教  
研究者番号：30468269