

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 24 年 4 月 23 日現在

機関番号：15201
 研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2009～2011
 課題番号：21510032
 研究課題名（和文）南極オゾンホール経由の紫外線が動物の眼に及ぼす影響に関する分光学的研究
 研究課題名（英文）A spectroscopic study on the effect of ultraviolet radiation through the ozone-hole at the Antarctica
 研究代表者
 山本 達之（YAMAMOTO TATSUYUKI）
 島根大学・生物資源科学部・教授
 研究者番号：60230570

研究成果の概要（和文）：南極上空に南半球の春先に発生するオゾンホールの影響で、地上への紫外線照射量が増加したための生態系への影響を、動物の眼の組織に注目して、FT-IR やラマン散乱スペクトルなどの分光学的手法によって調べた。その結果、牛眼の角膜のコラーゲン分子が、紫外線によって断片化していることが明らかになった。また、牛眼の水晶体のクリスタリンが、紫外線照射によって黄変し、トリプトファン残基だけが特異的に破壊されていることが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：The effect of ultra-violet radiation on the eye tissue through the ozone-hole at the Antarctica, which occurs at every Spring of southern hemisphere, was evaluated by some spectroscopic techniques as FT-IR and Raman spectroscopy. The collagen molecule of eye cornea was broken into some fragments by the ultra-violet radiation. The crystallin molecule of lens was broken specifically at tryptophan residues of the protein by the ultra-violet radiation.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・環境評価影響（環境政策）

キーワード：生態系影響評価、オゾンホール

1. 研究開始当初の背景

- (1) 南極のオゾンホール発生時の紫外線が生物に及ぼす影響に関する緊急の調査が必要とされていた。
- (2) 南極昭和基地に運んだ、牛眼の角膜、水晶体に南極の紫外線曝露する実験を行ないつつあった。
- (3) オゾンホールが発生する南極の春先に増大する紫外線がアデリーペンギンに与える影響を調査する必要がある。

2. 研究の目的

- (1) 南極の紫外線が生物、特に眼のタンパク質の構造変化に注目して、FT-IR、ラマン散乱分光法などの分光学的手法により明らかにする。
- (2) アデリーペンギンの眼に生じた変化を評価するために、死亡個体を採取して解剖学的に精査する。
- (3) 南極の紫外線強度の季節変動を、昭和基

地の環境科学棟に設置した小型分光器によって詳細に検討する。

3. 研究の方法

(1) 南極の紫外線曝露が牛眼のタンパク質に引き起こす構造変化に関する実験

① 紫外線曝露試料方法と設置場所
南極昭和基地の架台に牛試料を設置した。

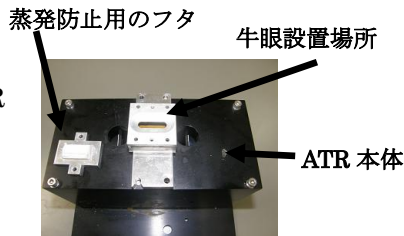
② 紫外線曝露実験の時期
a. オゾンホールが発生している南極の春
b. 紫外線強度が最大となる南極の夏
c. オゾンホールが発生していない南極の秋

③ 曝露試料の内訳
同一牛個体の左右の眼を 10 組ずつ

④ 試料の分析
日本に持ち帰った試料を、FT-IR, ラマン散乱スペクトル測定によって解析

FT-IR 測定

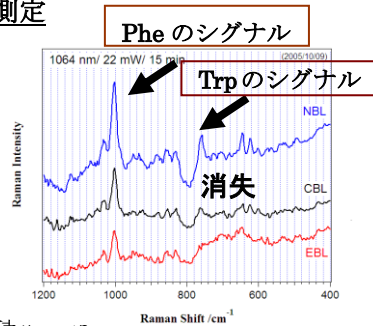
本研究用に新規に開発した ATR アタッチメントを用いて行った。試料の乾燥を防ぐための特別の工夫を施した。



本申請課題の研究を目的として新規に開発した ATR アタッチメント

ラマン散乱測定

特に芳香族アミノ酸残基のラマンシグナルに着目してその強度変化から、紫外線の影響を見積もった。



(2) アデリーペンギンの眼に及ぼす紫外線の影響の解剖学的評価

① 試料採取
成体の死亡個体（紫外線の影響が蓄積）を採取して直ちにパルホルムアルデヒド溶液で固定した。

② アデリーペンギンの眼の角膜内皮細胞の観察

スペキュラーマイクロスコープにより実施

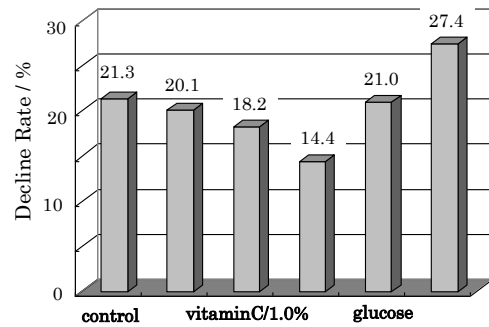
③ アデリーペンギンの眼の解剖学的調査
解剖学的な影響を調べた。

4. 研究成果

(1) 南極の紫外線曝露が牛眼のタンパク質に引き起こした構造変化

① 牛眼の角膜に生じた変化

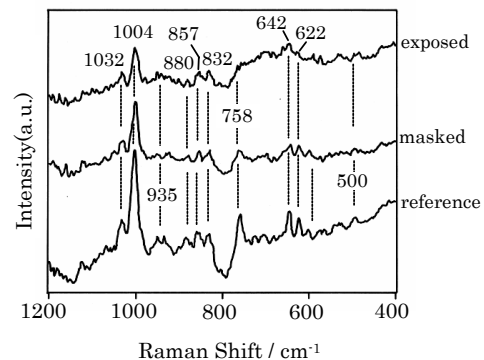
ATR-FT-IR 法による測定の結果、アミド II / アミド I バンドの強度比が、紫外線照射時間に比例して小さくなっていることが明らかになった。これは、角膜のコラーゲン分子が紫外線により断片化した結果であると考えられた。人工紫外線光源を用いた対照実験との比較により、南極で 4 週間紫外線に曝露した効果は、人工照明に同じ時間照射したのと同程度の効果があることが明らかになった。また、コラーゲン分子の断片化は、糖の添加により促進され、アスコルビン酸の添加により抑制されることも明らかになった。



糖添加によりコラーゲンの分解が促進され、アスコルビン酸（ビタミン C）添加により抑制される (T. Yamamoto et al., *J. Mol. Struct.*, Vol. 963, 2010, 183-189.)

② 牛眼の水晶体に生じた変化

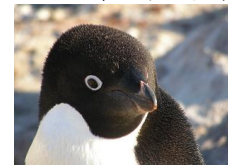
眼の水晶体のタンパク質クリスタリンが紫外線により変性する際に起こる主な変化は、トリプトファン残基の分解によることが明らかになった。



トリプトファン残基由来のラマンシグナルだけが特異的に減少した (T. Yamamoto et al., *J. Mol. Struct.*, Vol. 968, 2010, 115-119)

③ アデリーペンギンの眼の解剖学的変化

今回採取した試料からは、有為な変化を見出すことは出来な



った。また、アデリーペンギンの眼の写真撮影による観察からも、水晶体の発症などの変化を見出すことはできなかった。今後、ポータブルラマン測定装置を用いて、南極現地での観察を計画している。

④南極紫外線強度の季節変動

小型分光器によって、1年間の紫外線強度変化のデータを得ることができた。結果は、現在解析中である。

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9件)

1. Tatsuyuki Yamamoto and Keisuke Yoshikiyo, The effects of cyclodextrins on the conformation of proteins, *Current Organic Chemistry*, 査読有り, Vol. 15, 2011, 831-838

2. Tatsuyuki Yamamoto, Keisuke Yoshikiyo, Young-Kun Min, Hiro-o Hamaguchi, Satoshi Imura, Sakae Kudoh, Tetsuya Takahashi, and Naoyuki Yamamoto, A near infrared Raman spectroscopic study on the bovine lens applied to the solar radiation in Antarctica., *J. Mol. Struct.*, 査読有り, Vol. 968, 2010, 115-119

3. Tatsuyuki Yamamoto, Naoki Murakami, Keisuke Yoshikiyo, Tetsuya Takahashi and Naoyuki Yamamoto, A Raman Scattering and FT-IR Spectroscopic Study on the Effect of the Solar Radiation in Antarctica on Bovine Cornea., *J. Mol. Struct.*, 査読有り, Vol. 963, 2010, 183-189.

4. 高橋哲也, 山本達之, 笠井稚子, 近藤哲夫, 田中啓友, 服部俊治, 入江信吉, 工藤栄, 伊村智, 神田啓史, 南極における紫外線カット素材のコラーゲン人工皮膚への防御効果, 繊維学会誌, 査読有り, 65巻, 12号, 2009, 351-358.

[学会発表] (計30件)

1. Keisuke, Yoshikiyo, Akihiro Matsumoto, Hideki Hashimoto, Hiroki Ohtani, Tatsuyuki Yamamoto and Yasuhisa Fujita, Preparation of antibody conjugated silica-coated Zinc Oxide nanoparticles, 5th International Symposium on Nanomedicine (ISNM2011), 2012年3月15日, 名古屋大学 (名古屋)

2. Tatsuyuki Yamamoto, Ken Uejima, Hideo Akiyoshi, Hideki Hashimoto and Yasuhisa Fujita, The effect of Zinc Oxide nanoparticles on human skin fibroblast

cells, 5th International Symposium on Nanomedicine (ISNM2011), 2012年3月15日, 名古屋大学 (名古屋)

3. Tatsuro Nishida, Tatsuyuki Yamamoto, Hideo Akiyoshi, Tomohiro Kaino, Makoto Kawamukai, Daisuke Nakata, Keiji Terao, Hiro-o Hamaguchi, Shinsuke Shigeto, and Yasuhisa Fujita, The utilization of cyclodextrin as a molecular capsule to carry Coenzyme Q10 in the cell of fission yeasts, 5th International Symposium on Nanomedicine (ISNM2011), 2012年3月15日, 名古屋大学 (名古屋)

4. 山本達之, 秋吉英雄, 山本直之, 伊村智, 田邊優貴子, 工藤栄, 安藤正浩, 濱口宏夫, ポータブルラマン分光器を用いた南極域動物の眼のリアルタイム分光分析, 第33回極域生物シンポジウム, 2011年11月17日, 国立極地研究所 (立川)

5. 上島健, 篠原沙織, 服部俊治, 秋吉英雄, 山本達之, ヒト皮膚線維芽細胞への紫外線照射の影響評価への分光学的応用の試み, 第9回医用分光学研究会, 2011年11月13日, 島根大学 (松江)

6. 山本達之, 秋吉英雄, 山本直之, 伊村智, 田邊優貴子, 工藤栄, 南極の紫外線が動物の角膜, 水晶体に及ぼす影響に関する振動分光学的研究, 第32回極域生物シンポジウム, 2010年11月30日, 国立極地研究所 (立川)

7. Tatsuyuki Yamamoto, Satoshi Imura and Naoyuki Yamamoto, Evaluation of the effects of the ultra-violet radiation of Antarctica on bovine corneas and lenses by Raman spectroscopy, Tenth International Conference on Raman Spectroscopy, 2010年8月12日, ボストンパークプラザホテル&タワーズ (ボストン)

8. 山本達之, 伊村智, 南極の紫外線が牛角膜および水晶体に与える影響の振動分光法による評価, 第90回日本化学会春季年会, 2010年3月26日, 近畿大学 (東大阪)

9. 山本達之, 南極の紫外線が牛眼水晶体等に与える影響のラマン分光法による評価, 第7回医用分光学研究会, 2009年11月7日, 東邦大学医療センター (東京)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 達之 (YAMAMOTO TATSUYUKI)
島根大学・生物資源科学部・教授
研究者番号: 60230570

(2) 研究分担者

高橋 哲也 (TAKAHASHI TETSUYA)
島根大学・教育学部・教授
研究者番号: 90325035

(H22 まで)

山本 直之 (YAMAMOTO NAOYUKI)
名古屋大学・生命農学研究科・教授
研究者番号：80256974

(3)連携研究者

神田 啓史 (KANDA HIROSHI)
国立極地研究所・教授
研究者番号：70099935

(H21 のみ)

伊村 智 (IMURA SATOSHI)
国立極地研究所・教授
研究者番号：90221788

工藤 栄 (KUDO SAKAE)
国立極地研究所・准教授
研究者番号：40221931

(H22～23)

田邊 優貴子 (TANABE YUKIKO)
東京大学大学院・特別研究員
研究者番号：40550752

(H22～23)