

## 【目的】

近赤外線 (infrared radiation A, IRA) は光老化皮膚に対する治療の一つとして広く使用されている。しかし、近年 IRA がストレスシグナルを活性化し、光老化を促進する可能性を示唆する報告がみられる。そのため IRA の長期反復照射の安全性、特に光老化皮膚における紫外線発癌への関与について明らかにする必要がある。メラニンが IRA のクロモフォアの一つであることから、我々は表皮にメラノサイトを保持するマウスを作成し、紫外線による光老化皮膚への IRA の長期反復照射の効果について検討をおこなった。

## 【方法】

表皮にユーメラニン、フェオメラニン産生メラノサイトを保持したマウス (BHSCF, YHSCF) およびメラニン産生のないマウス (WHSCF) を K14-SCF/C57BL6 Tg, recessive yellow, albino hairless マウスとの交配により作成し、UVB を  $5.0\text{J}/\text{cm}^2$  (BHSCF) ,  $0.5\text{J}/\text{cm}^2$  (YHSCF),  $0.3\text{J}/\text{cm}^2$  (WHSCF), 週 3 回 14 週照射し、その後 IRA を  $360\text{J}/\text{cm}^2$  および  $135\text{J}/\text{cm}^2$ 、週 3 回 18 週照射し、腫瘍発生率を検討した。同様に IRA 単独照射を週 3 回 40 週行い、合わせて検討した。

またメラニン含有皮膚に対する IRA の作用の分子生物学的機序を検討するために、IRA と UVB の単回照射を行った。IRA は UVB 照射の 3 時間前に  $135, 360, 720\text{J}/\text{cm}^2$  で照射し、UVB 照射 15 分、3、24、72 時間後に皮膚切片を採取し、CPD 染色により DNA 損傷を、TUNEL 染色によりアポトーシスを観察した。同様に UVB 照射直後に IRA を照射し、UVB 照射 3、24、72 時間後に皮膚切片を採取し、同様に染色して観察した。さらに RNA を抽出し、リアルタイム PCR にて FLIP<sub>L</sub>、BCL-X<sub>L</sub>、BAX の発現量を解析した。同様に IRA 単独照射の実験も行い、検討した。

## 【結果】

- ・いずれのマウスにおいても IRA は UVB による腫瘍形成を促進しなかった。
- ・IRA 前照射では、DNA 損傷を示す CPD 陽性細胞の除去が促進され、ユーメラニンを有する BHSCF マウスにおいては YHSCF, WHSCF に較べてより除去が促進された。
- ・TUNEL 染色によるアポトーシス細胞の観察では、IRA 前照射によりいずれのマウスにおいてもアポトーシスが增強した。
- ・IRA 後照射では CPD 陽性細胞の除去率、アポトーシスに影響はなかった。
- ・UVB 照射のない IRA 単独照射では、CPD 陽性細胞、アポトーシス細胞は観察されなかった。
- ・リアルタイム PCR による抗アポトーシス分子、FLIP<sub>L</sub> および BCL-X<sub>L</sub> の解析では、IRA 単独照射においていずれのマウスでも高い発現がみられた。UVB 照射では発現が減少したが、IRA 前照射により減少は阻害傾向を示した。
- ・リアルタイム PCR によるアポトーシス分子、BAX の解析では、IRA 単独照射において発現

は影響をうけなかった。UVB 照射では発現が増加し、IRA 前照射により抑制された。

#### 【考察】

表皮のメラニンが光発癌において重要な役割を担っている。またメラニンは 250nm から 1200nm に吸収されるため、IRA とメラニンの中で光生物学的反応が生じる。そこで表皮にメラニンを有するマウスを作製し、IRA の影響を検証した。IRA 照射は慢性に紫外線曝露した結果生じる光老化皮膚の治療に用いられるため、我々は UVB を 14 週間照射して光老化を誘導した後、IRA を繰り返し 18 週間照射した。結果、IRA の繰り返し照射は UVB による発癌を増強せず、むしろ抑制する方向に働くことがわかった。

UVB による発癌は DNA 損傷と免疫学的機構により生じると考えられており、DNA 損傷への IRA 照射の影響を知るために CPD 染色を行った。UVB の前に IRA を照射することにより、BHSCF では明らかに UVB による CPD の除去が促進された。WHSCF と YHSCF でも同様の傾向であったが、BHSCF に比べてわずかであった。またアポトーシス細胞を観察するために行った TUNEL 染色では BHSCF、YHSCF、WHSCF の順により多くアポトーシスが観察され、IRA 前照射はケラチノサイトにおけるアポトーシスを増強し、その影響は WHSCF に比べて BHSCF、YHSCF により顕著にみられた。これらの結果から IRA とメラニン（特にユーメラニン）の間に光生物学的な反応が生じていることが示唆された。IRA の後照射では CPD の除去やアポトーシスへの影響はみられなかった。これは IRA の作用が UVB の強い生物学的作用にマスクされてしまったことが原因と考えられる。

IRA 前照射によるアポトーシスへの影響のメカニズムを知るために、リアルタイム PCR にて抗アポトーシス分子 FLIP<sub>L</sub>、BCL-X<sub>L</sub> とアポトーシス分子 BAX の解析を行った。IRA 前照射は UVB による FLIP<sub>L</sub>、BCL-X<sub>L</sub> の mRNA 発現を抑制し、BAX の発現を誘導した。この結果は、我々の TUNEL 染色の観察における、IRA 前照射が UVB によるアポトーシス細胞の数を増加させることと矛盾したが、リアルタイム PCR に用いた皮膚切片には多くの炎症細胞も含まれていたことから、この炎症細胞の mRNA 発現がリアルタイム PCR の結果に影響した可能性が考えられる。

IRA の繰り返し照射が UVB による発癌を増強しないことが判明した。そのメカニズムについてより明確にすることは重要であり、IRA とメラニンの間の反応経路について、さらなる研究が必要である。