

ベルガモット油惹起性sunburn cellの定量的研究

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード: sunburn cell, bergamot oil, bergapten, ultraviolet light 作成者: 安井, 裕子 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/7777

ベルガモット油惹起性 sunburn cell の定量的研究

金沢大学医学部皮膚科学教室 (主任: 広根 孝衛教授)

安 井 裕 子

(昭和60年2月6日受付)

本研究はベルガモット油 およびベルガプテンの Sunburn cell (SBC) 形成に対する光毒性作用を検討するために行った。一定量のベルガモット油またはベルガプテンを塗布後モノクロメーターで種々の波長の紫外線を照射されたモルモット表皮における単位長さ当りの SBC 数を統計的に解析して SBC 形成のための作用波長を求めた。ベルガモット油により惹起される SBC 形成のための作用波長は 325-365 nm の波長域であった。SBC 数は照射量依存的に増加し、335-345 nm の波長が最大作用を示した。ベルガプテンにより惹起される SBC 形成のための作用波長は 325-350 nm の波長域にあり、最大作用を示す波長は 335-350 nm であった。ベルガプテンによる光感作のための最大作用波長が *in vitro* におけるベルガプテンと DNA の光反応にもっとも効果的な作用波長にほぼ一致することは SBC 形成過程の初期段階においてベルガプテンと表皮細胞の核 DNA の光反応が起こりうることを示唆するものである。

Key words sunburn cell, bergamot oil, bergapten, ultraviolet light

Freund¹⁾は、オーデコロン塗布後の露光部位にペンダント形の一過性紅斑と数ヶ月間持続する色素沈着を生じた患者を初めて記載し、この反応の起因物質としてオーデコロン中の香料であるベルガモット油を疑った。Rosenthal²⁾はこのような病変をベルロック皮膚炎と称し、この名称は今日でも用いられている。ベルガモット油を用いてベルロック皮膚炎を実験的に再現したのは Harber ら³⁾である。彼らは、ベルガモット油を塗布したモルモット皮膚に波長 320-450 nm の長波長紫外線 (long ultraviolet light, UVA) を照射することにより紅斑が発現することを確認し、この光線過敏性反応はベルガモット油による光毒性反応であろうと推測した。その後、Marzulli ら⁴⁾はベルガモット油に含まれる主要な光感作性物質がフロクマリンの一種であるベルガプテン、すなわち 5-methoxypsoralen (5-MOP) であることを実証し、またベルガプテンの皮膚浸透度が高ければ高いほどそれによる光毒性反応はより強くなることを指摘した。なお、紅斑を生じる最低濃度の比較により、ベルガプテンは光毒性の強さの点で psoralen および 8-methoxypsoralen (8-MOP) と全く同様であると述べている。ベルガモット油を含む光感作性物質を塗布した部位に生じる光毒性反応は臨床

的には露光後数分ないし数時間経過して生じる紅斑と浮腫により特徴づけられ、それは中波長紫外線 (middle ultraviolet light, UVB) により惹起される日焼け (sunburn) と同じ型の皮膚反応であることは現在よく知られている⁵⁾。

一方、Daniels ら⁶⁾は UVB 照射により惹起された日焼け部位において表皮では広範囲の細胞変性を伴わない若干の細胞の急性壊死が起こることを初めて顕微鏡的に観察した。引き続いて、彼らはこの壊死細胞を皮膚の日焼け反応の特徴的变化と考えて sunburn cell (SBC) と称し、また SBC の出現は表皮の有棘層に局限されることを指摘した⁷⁾。その後 Woodcock ら⁸⁾は、種々の波長の紫外線を照射後マウス表皮において形成される SBC を定量的に研究し、SBC 形成の作用波長域は 260-300 nm であること、またこの波長域では SBC 数は照射量依存的に増加することを示した。彼らは、さらに、340-400 nm の UVA 単独照射では SBC は形成されないが、8-MOP 塗布後に UVA を照射すれば SBC が形成され、照射量依存的に増加することを指摘した。このように、彼らは SBC が紫外線による日焼けおよび日焼け型皮膚反応における表皮障害の強さを表わすパラメーターとしうることを示した。

Abbreviations: 5-MOP, 5-methoxypsoralen; 8-MOP, 8-methoxypsoralen; SBC, sunburn cell; UVA, long ultraviolet light; UVB, middle ultraviolet light.

そこで、本研究ではSBCをパラメーターとしてベルガモット油およびその主要光感受性物質であるベルガプテンの光毒性を実験的に検討した。

材料および方法

I. 実験動物

ハートレー系雄白色モルモットの体重300-500gのものを用いた。被検物質塗布前にモルモットの背部皮膚の毛を電動バリカンで刈り、さらにチオグリコール酸含有クリームで脱毛後十分水洗、乾燥して実験に供した。

II. 被検物質

ベルガモットオレンジ (*Citrus bergamia*, Family Rutaceae) の果皮から抽出された純ベルガモット油 (資生堂研究所提供), および純ベルガモット油より分離、精製された結晶ベルガプテン (資生堂研究所提供) を用いた。前者は原液を、後者は少量のアセトンに溶解したのち0.4%エタノール溶液として実験に供した。

III. 照射光源

狭域紫外線 (単色光) 照射の光源として日本分光CRM-FM型回析格子照射分光器を用いた。この装置は5KWキセノンランプと反射型回析格子分光器 (回析格子線密度1200本/mm) から構成され、その性能は逆分散が1.53 nm/mm (300 nm), 放射光線の波長域は200-700 nmである。この実験ではスリット幅を2.0 mm, 照射野を10×10 mmとした。この条件下での出

射窓面内における放射照度は280 nmで0.74 mW/cm²・sec, 335 nmで1.35 mW/cm²・secであり、出射窓面における照度の均一性は面内変動で±15%以内であった。なお、毎回光量積算計で照射量の変動を検定した。

IV. 実験方法

モルモットの背部皮膚に10×10 mmの方形の窓が左右に各4個あるアルミテープを貼布した。右側の4箇所の窓内皮膚には被検物質を0.03 ml塗布し、左側の4箇所の窓内皮膚を対照とした。ベルガモット油を被検物質とした場合は対照部位に何も塗布せず、ベルガプテン液を被検物質とした場合は対照部位にその溶媒を塗布した。被検物質塗布60分後に4対の被検部位に4段階の異なる量の単色光を照射した。実験にはB域紫外線として280, 295, 310 nm, A域紫外線として325, 335, 345, 350, 365 nmの単色光を用いた。

照射24時間後、照射部位から7×7 mmの皮膚片を採取し、Bouin液で固定後、7μmのパラフィン切片を作製した。同一細胞の観察を避けるため4枚目ごとに切片を取り、ヘマトキシリン・エオジン (Hematoxylin-Eosin, H-E) 染色した。

V. 定量的観察

100×100 μmの方形枠付き接眼レンズを付けた光学顕微鏡 (倍率×400) を用いて毛包間表皮におけるSBC数を数え、200個の異なる枠内のSBC数から単位長さ (1 cm) 当たりの表皮内SBC数を求めた。各波長の各照射量群について単位長さ当りのSBC数の平



Fig. 1. Histological appearance of sunburn cells (arrows) in bergapten treated guinea pig skin 24 hr after 345 nm ultraviolet irradiation. Irradiation dose was 2 J·cm⁻². Hematoxylin-eosin stain (×500).

均値±標準偏差 (mean±S.D.) を算定し、t 検定処理した。

成 績

I. SBC の形態学的観察

H-E 染色標本では、SBC は好酸性細胞質と濃縮核を有する細胞として観察された(図1)。SBC の大多数は表皮の有棘層および顆粒層に、少数が基底層に散在していた。SBC 以外の表皮細胞は正常な外見を呈していた。

II. ベルガモット油による SBC 形成

波長 280, 295 および 310 nm の単色光を照射した場合、ベルガモット油塗布部位でも対照 (非塗布部位) でも SBC が形成され、その数は照射量依存的に増加する傾向を示したが、これらの波長の単色光照射ではベルガモット油塗布部と対照の間で SBC 数に有意差は認められなかった(表1)。照射量の対数について SBC 数をプロットした log dose-response curve では、280, 295 および 310 nm の単色光照射においてベルガモット油塗布部位での log dose-response curve と対照でのそれとはほとんど同じスローブないしカーブを示した。なお、295 nm 単色光照射の場合(図2)はベルガモット油塗布部位でも対照でも log dose-response curve は直線状で、SBC 数は照射量の対数に

ついて直線的回帰を示し、塗布部位(回帰係数 63.00, y 切片 -96.98) と対照(回帰係数 70.75, y 切片 -97.02) との間で回帰係数および y 切片に有意差は認められなかった(危険率 1%)。

波長 325, 335, 345, 350 および 365 nm の単色光を照射した場合、ベルガモット油塗布部位に比較的少数の SBC が出現したが、対照では SBC は全くまたはほとんど認められなかった(表2)。ベルガモット油塗布部位における波長別 log dose-response curve では、SBC の数は照射量依存的に増加し、照射量の対数にほぼ直線的な回帰を示した。図3は直線的回帰が成立するものとして最小二乗法により得られた理論的な回帰直線である。表2において A 域紫外線の各波長毎に最小および最大照射量により形成された SBC 数の平均値を求め、これら5つの平均値の中央値(Md)が10個であったので、これを基準として図3から表皮の単位長さ(1 cm) 当り10個の SBC を形成するのに必要な照射量を求め、その逆数をプロットしたものが図4である。その結果、ベルガモット油により惹起される SBC 形成のための作用波長は 325-365 nm の波長域であること、また 335-345 nm の波長がもっとも効果的であることが示された。

III. ベルガプテンによる SBC 形成

波長 325, 335, 345 および 350 nm の単色光を照射し

Table 1. Effect of bergamot oil on frequency of SBCs by UVB

280 nm Dose (mJ/cm ²)	Number of SBCs			
	1×10 ²	2×10 ²	4×10 ²	8×10 ²
Bergamot oil (n=4)	5.75±2.87	14.50±9.57	48.25±12.34	67.50±33.11
Control (n=4)	7.75±4.03	27.50±10.38	69.00±18.57	77.50±11.21
P (=0.05)	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
295 nm Dose (mJ/cm ²)	Number of SBCs			
	1×10 ²	2×10 ²	4×10 ²	8×10 ²
Bergamot oil (n=4)	28.50±7.85	49.50±18.88	65.25±13.82	86.25±22.69
Control (n=4)	43.50±24.52	68.50±14.06	84.25±14.36	109.00±21.76
P (=0.05)	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
310 nm Dose (mJ/cm ²)	Number of SBCs			
	1×10 ²	2×10 ²	4×10 ²	8×10 ²
Bergamot oil (n=4)	1.25±0.50	2.75±1.71	11.00±2.71	78.75±26.29
Control (n=4)	1.25±0.50	4.50±1.73	15.00±4.55	98.75±27.67
P (=0.05)	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

Results expressed as number of mean SBCs±S.D. per cm of epidermis.
P values comparing the control and the bergamot oil treated skin.
N.S.=not significant

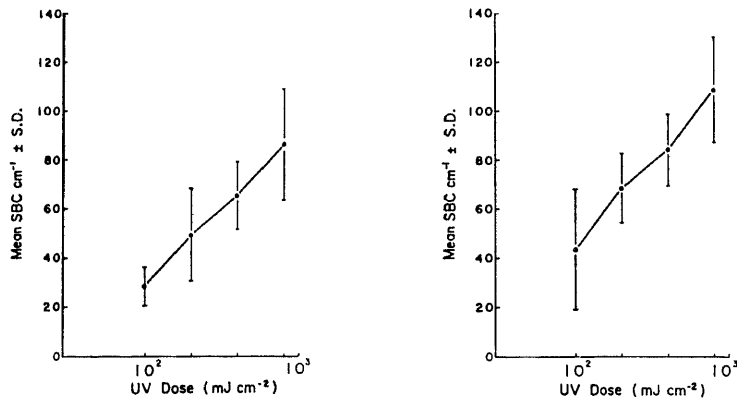


Fig. 2. Bergamot oil log dose-response curve (on the left) and control log dose-response curve (on the right) for SBC production after 295 nm ultraviolet irradiation.

Table 2. Effect of bergamot oil on frequency of SBCs by UVA

325 nm Dose (mJ/cm ²)	Number of SBCs			
	1 × 10 ³	2 × 10 ³	3 × 10 ³	4 × 10 ³
Bergamot oil (n=4)	3.50 ± 1.29	5.75 ± 0.96	10.50 ± 3.87	16.50 ± 4.20
Control (n=4)	0 ± 0	0.25 ± 0.50	0.50 ± 1.00	0.25 ± 0.50
P	<0.02	<0.001	<0.01	<0.01
335 nm Dose (mJ/cm ²)	Number of SBCs			
	6 × 10 ²	1.2 × 10 ³	2.42 × 10 ³	4.8 × 10 ³
Bergamot oil (n=4)	3.50 ± 1.29	11.75 ± 3.59	21.25 ± 7.09	24.75 ± 8.46
Control (n=4)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
P	<0.02	<0.01	<0.01	<0.01
345 nm Dose (mJ/cm ²)	Number of SBCs			
	5 × 10 ²	1 × 10 ³	2 × 10 ³	4 × 10 ³
Bergamot oil (n=4)	3.00 ± 1.41	7.25 ± 3.30	9.00 ± 2.94	22.50 ± 9.88
Control (n=4)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
P	<0.05	<0.05	<0.01	<0.02
350 nm Dose (mJ/cm ²)	Number of SBCs			
	5 × 10 ²	1 × 10 ³	2 × 10 ³	4 × 10 ³
Bergamot oil (n=4)	1.75 ± 0.50	2.50 ± 0.58	3.00 ± 0.82	5.50 ± 2.08
Control (n=4)	0 ± 0	0.25 ± 0.50	0.50 ± 1.00	0.75 ± 0.96
P	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
365 nm Dose (mJ/cm ²)	Number of SBCs			
	5 × 10 ²	1 × 10 ³	2 × 10 ³	4 × 10 ³
Bergamot oil (n=4)	2.00 ± 0.82	2.25 ± 0.50	3.50 ± 1.29	4.50 ± 1.29
Control (n=4)	0 ± 0	0 ± 0	0.50 ± 0.58	1.00 ± 0.82
P	<0.02	<0.01	<0.01	<0.01

Results expressed as number of mean SBCs ± S.D. per cm of epidermis.
P values comparing the control and the bergamot oil treated skin.

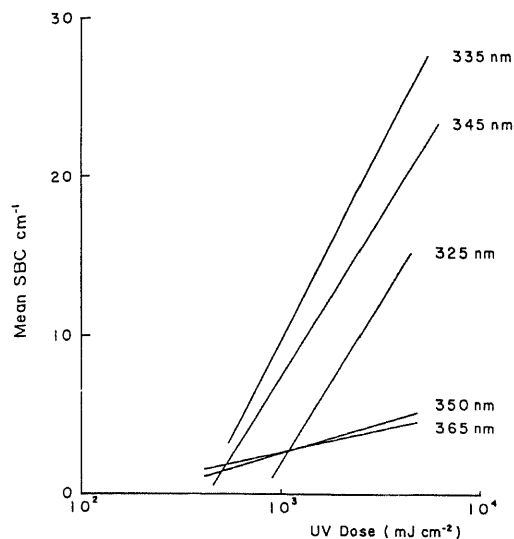


Fig. 3. Regression lines for bergamot oil log dose-response curves for SBC production by monochromatic ultraviolet irradiation at 325-365nm.

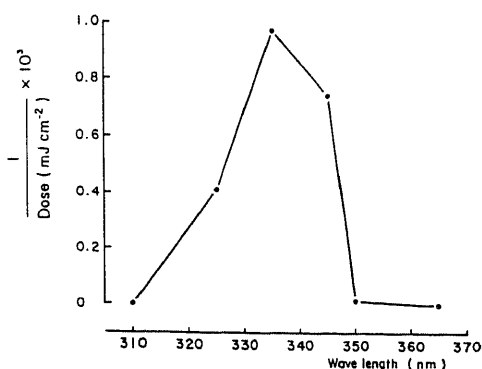


Fig. 4. Action spectrum for bergamot oil induced sunburn cells. Each point indicates a reciprocal of UV dose which is necessary for production of 10.0 SBCs per cm of epidermis. Ten SBCs was chosen because it was the median of the means of the counts at both the lowest and the highest dose-points of all UVA wavelengths.

Table 3. Effect of bergapten on frequency of SBCs by UVA

325 nm Dose (mJ/cm ²)	Number of SBCs			
	3 × 10 ²	5 × 10 ²	1 × 10 ³	2 × 10 ³
5-MOP (n=4)	3.75 ± 2.06	4.50 ± 2.65	7.25 ± 2.50	9.25 ± 2.06
Control (n=4)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
P	< 0.05	< 0.05	< 0.02	< 0.01
335 nm Dose (mJ/cm ²)	Number of SBCs			
	3 × 10 ²	5 × 10 ²	1 × 10 ³	2 × 10 ³
5-MOP (n=4)	5.75 ± 3.30	7.25 ± 3.30	15.00 ± 6.27	23.50 ± 14.39
Control (n=4)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
P	< 0.05	< 0.05	< 0.02	< 0.05
345 nm Dose (mJ/cm ²)	Number of SBCs			
	3 × 10 ²	5 × 10 ²	1 × 10 ³	2 × 10 ³
5-MOP (n=4)	6.50 ± 3.11	8.00 ± 3.74	17.50 ± 3.70	29.75 ± 15.69
Control (n=4)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
P	< 0.05	< 0.05	< 0.01	< 0.05
350 nm Dose (mJ/cm ²)	Number of SBCs			
	3 × 10 ²	5 × 10 ²	1 × 10 ³	2 × 10 ³
5-MOP (n=4)	3.00 ± 1.83	7.75 ± 3.50	16.25 ± 4.27	20.00 ± 3.74
Control (n=4)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
P	< 0.05	< 0.05	< 0.01	< 0.01

Result expressed as number of mean SBCs ± S.D. per cm of epidermis.
P values comparing the control and the bergapten treated skin.

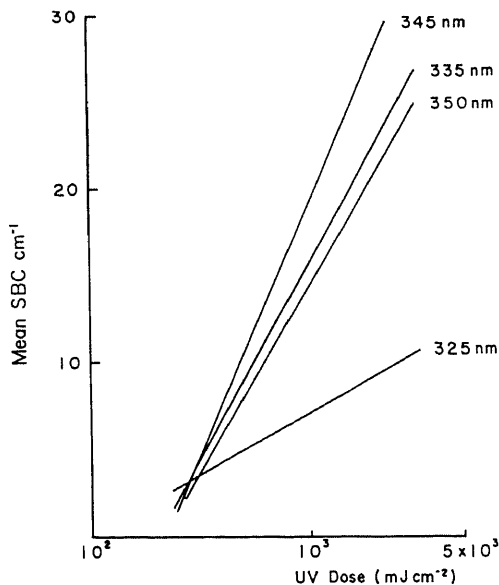


Fig. 5. Regression lines for bergapten log dose-response curves for SBC production by monochromatic ultraviolet irradiation at 325-350nm.

た場合、SBCはベルガプテン塗布部位にのみ出現し、対照では全く認められなかった(表3)。ベルガプテン塗布部位における波長別 log dose-response curveでは、SBC数は照射量依存的に増加し、照射量の対数にほぼ直線的な回帰を示した。図5は直線回帰が成立するものとして最小二乗法により得られた理論的な回帰直線である。表3においてA域紫外線の各波長毎に最小および最大照射量により形成されたSBC数の平均値を求め、これら4つの平均値の中央値(Md)が13個であったので、これを基準として図5から表皮の単位長さ(1cm)当り13個のSBCを形成するのに必要な照射量を求め、その逆数をプロットしたものが図6である。これにより、ベルガプテンにより惹起されるSBC形成のための作用波長は325-350nmの波長域であること、また335-350nmの波長がもっとも効果的であることが示された。

考 察

I. SBCの出現部位について

Daniels⁷⁾とJohnsonら⁸⁾は紫外線照射後24時間目のヒト皮膚においてSBCは表皮有棘層に存在することに注目し、この層におけるSBCの発生と紫外線のライソゾーム膜破壊による水解酵素の細胞内放出との関係を示唆した。紫外線照射後に起こる皮膚の変化の時間的推移を検討したRosarioら¹⁰⁾は、24-48時間後

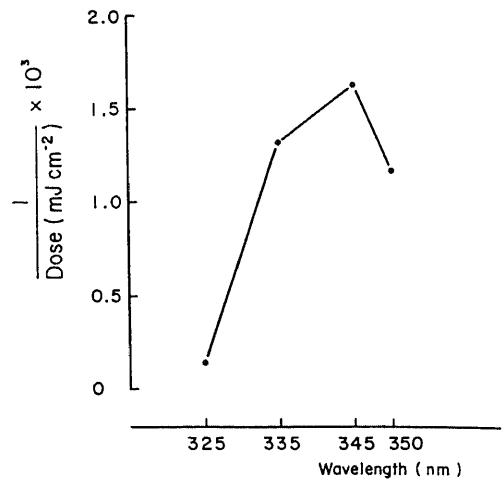


Fig. 6. Action spectrum for bergapten induced sunburn cells. Each points indicates a reciprocal of UV dose which is necessary for production of 13.0 SBCs per cm of epidermis. Thirteen SBCs was chosen because it was the median of the means of the counts at both the lowest and the highest dose-points of all UVA wavelengths.

に、SBCはマルピギー層全体に散在すること、また72時間以後にはマルピギー層の上部および角質層に存在することを示した。著者の観察でもB域波長の紫外線照射により形成されたSBCの大多数は表皮の有棘層および顆粒層に認められた。したがって、SBC形成の定量的研究には被検部皮膚の垂直切片による表皮全層の観察が必要なわけである。この点を考慮に入れるならば、表皮剝離標本における基底層のSBC数のみに基いた小幡¹¹⁾の定量的研究は信頼性に欠けるものといわざるをえない。

II. 紫外線のSBC形成のための作用波長について

この問題を初めて実験的に検討したWoodcockら⁹⁾は、紫外線のSBC形成のための作用波長は260-300nmであり、その作用は300nmより短い波長において最大であることを示した。またSBC出現の経時的変化についても検討し、300nmでは照射5時間後より観察され、24時間後にSBC形成が最大になり以後漸減すると述べている。Willisら¹²⁾は、ヒトの皮膚においてUVBの最小紅斑量(0.07 J/cm²)およびUVAの最小紅斑量(26 J/cm²)の各2-4倍量を照射した部位を組織学的に検討し、UVB照射部位では多数のSBCを観察したがUVA照射部位ではSBCが全く認められなかったことから、UVA照射後の紅斑反応をUVB照射後の日焼け反応と同様にみなす考えに疑問を提した。一方、Kumakiriら¹³⁾およびRosarioら¹⁰⁾は

ヒトの皮膚において、UVA でも大量照射すれば少数のSBCが形成されることを報告した。この点に関して、小幡¹³⁾はUVA (360 nm)の大量照射(10 J/cm²以上)によりSBCが形成されることを観察したが、その作用はUVB (300 nm)の約1/600であろうと推測している。

著者の実験のうち、ベルガモット油非塗布部位の成績が紫外線のSBC形成のための作用波長に関する情報を提供している。すなわち、波長280-310 nmのB域紫外線の照射によりSBCは多数形成されること、しかしA域紫外線の照射ではSBCは全くまたはほとんど形成されないことが示された。ただし、この実験におけるA域紫外線の最大照射量は4.8 J/cm² (335 nm)であり、より大量照射した時のUVAの作用は不明である。

III. ベルガモット油による光毒性反応について

Marzulliら⁴⁾は、ヒトおよび種々の動物の皮膚においてベルガモット油ならびにベルガプテンの浸透性とそれらによる光毒性反応の関係を検討し、反応はヒトでは前腕よりも頸部および陰囊においてよりしばしば起こり、動物ではサルやハムスターよりもヘアレスマウス、ウサギおよびモルモットにおいてよりしばしば起こることを示唆した。彼らの実験では、しかし、ベルガモット油による光毒性反応の作用波長は検討されなかった。その後もベルガモット油による光毒性反応の作用波長に関する情報は全くない。

著者の実験で、280 nmの単色光を照射した場合、ベルガモット油塗布部位と非塗布部位(対照)との間でSBC数に有意差は認められず、また両部位におけるlog dose-response curveはほとんど同じ図形となった。また、295および310 nmの単色光を照射した場合も同様であった。このことは、これらのB域紫外線を照射した場合にベルガモット油塗布部位でも対照でも変化は同じ光生物学的機構により起こることを示唆し、したがってベルガモット油による光感作は起こらないことを示唆している。他方、325、335、345、350および365 nmの単色光を照射した場合には、ベルガモット油塗布部位においてSBCが形成され、その数は照射量依存的に増加したが、非塗布部位(対照)では全くまたはほとんど形成されず、両部位のSBC数には有意差が認められた。このことは、これらのA域紫外線を照射した場合にベルガモット油塗布部では対照におけると異なる光生物学的機構により変化が起こること、言い換えれば、ベルガモット油による光感作が起こることを示している。著者の成績は、ベルガモット油による光毒性反応の結果として表皮にSBCが形成されること、またその作用波長は325-365 nmの波長

域であることを示すものである。

IV. ベルガプテンにより惹起されるSBC形成のための作用波長

Youngら¹⁴⁾はSBC数をパラメーターとして8-MOPにより惹起されるSBC形成のための作用波長を検討し、8-MOPによるSBC形成は照射量依存的であり、照射量の対数とSBC数の対数は直線的回帰を示すこと、また8-MOPによるSBC形成のための作用波長は320-375 nmの波長域であり、320-335 nmの波長がもっとも効果的であることを明らかにした。引き続き、彼ら¹⁵⁾は若干のPsoralen誘導体とUVAによるSBC形成を検討し、5-MOPの場合は8-MOPの場合と異なり、照射量の対数とSBC数の対数は2次または3次式の回帰が当てはまるであろうと推測した。なお、彼らの実験で5-MOPによるSBC形成のための作用波長は検討されなかった。

これに対して、著者の実験では、ベルガプテン(5-MOP)塗布後UVA照射した場合にSBC数は照射量依存的に増加すること、またそれは照射量の対数にほぼ直線的回帰を示すことが明らかにされた。またベルガプテンによるSBC形成のための作用波長は325-350 nmの波長域であり、335-350 nmの波長がもっとも効果的であることが明らかにされた。著者の成績は5-MOPによるSBC形成のための作用波長が8-MOPによるSBC形成のための作用波長とほぼ同じであることを示している。また、ベルガプテンによるSBC形成のための作用波長はベルガモット油によるSBC形成のための作用波長ともよく一致し、その最大効果を示す波長もほぼ同じであることが示されたが、これはベルガプテンがベルガモット油の主要光感作性物質であることを光生物学的作用の面から裏付けたことになる。

従来一般に光感作性物質の光毒性はそれにより惹起される紅斑を指標として判定され、その作用波長は紅斑を惹起するのにもっとも有効に作用する波長で表わされている。ベルガプテンによる紅斑発生のための作用波長は320-370 nmの波長域とされ¹⁶⁾¹⁷⁾、最大効果を示す波長は330-335 nm¹⁶⁾または330-340 nm¹⁷⁾とされている。異なる実験において異なる波長の単色光を選択・使用したことに基づく作用波長域のわずかな差異はあるけれども、これらの値は著者の実験で得られた値とほぼ一致している。このことから、一般に光感作性物質による光毒性反応の作用波長検出の目的にSBCを指標とする方法が紅斑を指標とする方法と同様に応用可能であると考えられる。

一般に光毒性反応の作用波長は、光感作性物質の*in vitro*における吸収波長にほぼ一致するといわれてい

る¹⁸⁾。ベルガプテンについては、その吸収波長は 240-400 nm であり¹⁹⁾、吸収極大は 267 および 313 nm とされているが²⁰⁾、著者の実験ではベルガプテンによる SBC 形成のための作用波長はその吸収波長とほぼ一致したが、その最大効果を示す波長は 335-350 nm であり、吸収極大の波長と一致しなかった。*in vitro* においてベルガプテンが DNA と結合する光反応の作用波長が 334 nm であること²¹⁾を考慮に入れるならば、そして SBC 形成過程の初期段階でベルガプテンが表皮細胞の核 DNA と結合する光反応が起こるとすれば、ベルガプテンによる SBC 形成に最も効果的な波長が *in vitro* におけるベルガプテンと DNA との光反応の作用波長とほぼ同じになることは当然考えられる。このような理由から、ベルガプテンによる SBC 形成のための最も効果的な波長とベルガプテンによる吸収極大の波長との間に不一致が生じたものと考えられる。

結 論

ベルガモット油およびベルガプテンを塗布したモルモット背部皮膚に単色光を照射して生じた表皮内 SBC をパラメーターとしてこれらの物質の光毒性を検討した。得られた成績は次のようである。

1. 単色光照射 24 時間後では大多数の SBC は表皮の有棘層および顆粒層に存在すること、したがって、SBC 形成の定量的研究には表皮全層における SBC を数えねばならないことを指摘した。

2. ベルガモット油により惹起される SBC 形成のための作用波長は 325-365 nm の波長域であった。その作用は照射量に依存的であり、また最大作用を示す波長は 335-345 nm であった。

3. ベルガプテンにより惹起される SBC 形成のための作用波長は 325-350 nm の波長域であった。その作用は照射量に依存的であり、また最大作用を示す波長は 335-350 nm であった。

4. ベルガプテンにより惹起される SBC 形成のための最大効果波長から、SBC 形成過程の初期段階においてベルガプテンと表皮細胞の核 DNA の光反応が起こりうることが推測された。

謝 辞

稿を終るに当り、御指導および御校閲いただきました広根孝衛教授に深甚の謝意を表します。なお、本研究の一部は昭和 56, 57 年度資生堂研究助成金の援助を受けた。あわせて謝意を表します。本研究の要旨は第 83 回日本皮膚科学会学術大会 (昭和 59 年, 札幌) において発表した。

文 献

- 1) Freund, E.: Über bisher noch nicht beschriebene künstliche Hautverfärbungen. *Dermatol. Wochenschr.*, **63**, 931-938 (1916).
- 2) Rosenthal, O.: Berliner Dermatologische Gesellschaft. *Dermatol. Z.*, **42**, 295-302 (1924).
- 3) Harber, L., Harris, H., Leider, M. & Baer, R.: Berloque Dermatitis. *Arch. Dermatol.*, **90**, 572-576 (1964).
- 4) Marzulli, F. & Maibach, H.: Perfume Phototoxicity. *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **21**, 695-715 (1970).
- 5) Epstein, J. H.: Phototoxicity and photoallergy: clinical syndromes, p459-477. In M. A. Pathak *et al.* (ed.), *Sunlight and Man*, Univ. of Tokyo Press, Tokyo, 1974.
- 6) Daniels, F., Brophy, D. & Lobitz, W. C.: Histological responses of human skin following ultraviolet irradiation. *J. Invest. Dermatol.*, **37**, 351-357 (1961).
- 7) Daniels, F.: Ultraviolet carcinogenesis in man. *Nat. Cancer Inst. Monograph*, **10**, 407-422 (1963).
- 8) Johnson, B. F. & Daniels, F.: Lysosomes and the reactions of skin to ultraviolet radiation. *J. Invest. Dermatol.*, **53**, 85-94 (1969).
- 9) Woodcock, A. & Magnus, I. A.: The sunburn cell in mouse skin: preliminary quantitative studies on its production. *Br. J. Dermatol.*, **95**, 459-468 (1976).
- 10) Rosario, R., Mark, G. J., Parrish, J. A. & Mihm, M. C.: Histological changes produced in skin by equally erythematogenic doses of UV-A, UV-B, UV-C and UV-A with psoralens. *Br. J. Dermatol.*, **101**, 299-308 (1979).
- 11) 小幡正明: マウス表皮における sunburn cell 形成の定量的研究—特に波長間相互作用について—. *日皮会誌*, **93**, 811-817 (1983).
- 12) Willis, I. & Cylus, L.: UVA erythema in skin: is it a sunburn? *J. Invest. Dermatol.*, **68**, 128-129 (1977).
- 13) Kumakiri, M., Hashimoto, K. & Willis, I.: Biologic changes due to long-wave ultraviolet irradiation on human skin: Ultrastructural study. *J. Invest. Dermatol.*, **69**, 392-400 (1977).
- 14) Young, A. R. & Magnus, I. A.: An action spectrum for 8-MOP induced sunburn cells in

- mammalian epidermis. *Br. J. Dermatol.*, **104**, 541-548 (1981).
- 15) Young, A. R. & Magnus, I. A. : The sunburn cell in hairless mouse epidermis: Quantitative studies with UV-A radiation and mono- and bifunctional psoralens. *J. Invest. Dermatol.*, **79**, 218-221 (1982).
- 16) Kavli, G., Midelfart, K., Raa, J. & Volden, G. : Phototoxicity from furocoumarins (psoralens) of *Heracleum laciniatum* in a patient with vitiligo. Action spectrum studies on bergapten, pimpinellin, angelicin and sphondin. *Contact Dermatitis*, **9**, 364-366 (1983).
- 17) Nakayama, Y., Morikawa, F., Fukuda, M., Hamano, M., Toda, K. & Pathak, M. A. : Monochromatic radiation and its application-Laboratory studies on the mechanism of erythema and pigmentation induced by psoralen, p591-611. *In M. A. Pathak et al. (ed.), Sunlight and Man*, Univ. of Tokyo Press, Tokyo, 1974.
- 18) Harber, L. C. & Baer, R. L. : Pathogenic mechanisms of drug-induced photosensitivity. *J. Invest. Dermatol.*, **58**, 327-342 (1972).
- 19) Zaynoun, S. T., Johnson, B. E. & Frain-Bell, W. : A study of oil of bergamot and its importance as a phototoxic agent. *Br. J. Dermatol.*, **96**, 475-482 (1977).
- 20) Pathak, M. A., Krämer, M. & Fitzpatrick, T. B. : Photobiology and photochemistry of furocoumarins (psoralens), p335-367. *In M. A. Pathak et al. (ed.), Sunlight and Man*, Univ. of Tokyo Press, Tokyo, 1974.
- 21) Dall'acqua, F., Marciari, S. & Rodighiero, G. : The action spectrum of xanthotoxin and bergapten for the photoreaction with native DNA. *Z. Naturforsch.*, **24b**, 667-671 (1969).

Quantitative Studies on Bergamot Oil-induced Sunburn Cells Yuhko Yasui, Department of Dermatology, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920 - *J. Juzen Med. Soc.*, **94**, 227-235 (1985)

Key words: sunburn cell, bergamot oil, bergapten, ultraviolet light

Abstract

The present study was pursued to investigate the phototoxic effect of bergamot oil and bergapten on sunburn cell (SBC) production. The action spectrum for SBC production was constructed by analysis of the number of sunburn cells per unit length of epidermis of the guinea pig skin treated with a constant dose of bergamot oil or bergapten, and irradiated with a monochromator at various wavelengths. The action spectrum for bergamot oil-induced SBCs was at wavelengths in the 325-365nm range. The SBCs were observed in a dose-dependent manner, and the spectral region 335-345nm was the most effective for bergamot oil-induced production of SBCs. The action spectrum for SBC production by bergapten lay within the 325-350nm range, in which peak activity was demonstrated in the region 335-350nm. The fact that the maximal bergapten sensitization values nearly correspond to the most effective value in the action spectrum for the photoreaction between bergapten and DNA *in vitro* suggests that in the initial stage of the process of SBC production photoreactions occurs between bergapten and nuclear DNA of epidermal cells.