

論文の内容の要旨

獣医学専攻

平成10年度博士課程入学

氏名 マルコッティ, バレリア

指導教官名 土井邦雄

論文題目 Pathological studies on the dorsal skin responses to UVB-irradiation in
WBN/ILA-*Ht* rats

(UVB 照射に対する WBN/ILA-*Ht* ラット背部皮膚の反応に関する
病理学的研究)

体表面を覆う皮膚は、その表面積から考えて、哺乳動物最大の器官の一つであり、環境化学物質に日常的に暴露されている。皮膚は異質な細胞集団から構成されており、同時に多様な機能を有する動的な器官である。近年、成層圏のオゾン層の破壊により紫外線量の地表到達量が増加し、加えて、人工的日焼けの流行、医療用の紫外線照射の普及などにより、ヒトが紫外線に暴露される機会が増えて来たところから、紫外線による皮膚障害の可能性が高まって来ている。紫外線はその波長により A から C まで3種類に分類されるが、中でも紫外線 B (UVB) は 290~320 nm の波長を有し、真皮浅層まで達し、表皮のみならず真皮にも DNA 傷害を基盤とする種々の障害をもたらすことが報告されている。しかし、UVB 照射による皮膚傷害の最大の問題である皮膚癌の発現機序ならびに前癌病変については未だ不明な点が多い。

ところで、WBN/ILA-*Ht* ラット (HtRs) は日本で開発された Wistar ラット由来の貧毛ラット (*Ht*:常染色体性優性遺伝子) で、被毛が少なく、皮膚の組織構造がヒトに類似しており、また、剃毛の必要がないため、皮膚毒性研究に多用されている。本研究では、UVB 長期照射による皮膚発癌に関する研究の第一歩として、UVB 誘発急性病変および皮膚癌の前駆病変を明らかにする目的で、HtRs の背部皮膚に UVB を 1 ないし 2 回および 3 ヶ月間連続照射し、それに対する皮膚反応を多角的に検索した。論文は以下の 2 章からなる。

第 1 章 UVB 照射による急性皮膚反応

HtRs の背部皮膚に UVB (10 kJ/m²) を単回または異なる間隔 (12、24、48 時間) で 2 回照射し、皮膚の形態学的変化を検索するとともに、単回投与後のサイトカイン (Th1-related IFN- γ and IL-2; Th2-related IL-4 and IL-5; TGF- β 1) の動態を reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法を用いて mRNA レベルで検索した。

第 1 回目の照射後 12 から 24 時間にかけて照射部皮膚に紅斑が認められた。第 1 回目の照射の 12 あるいは 24 時間後に第 2 回目の照射を行うと、紅斑はより早期に発現し、その程度も強く、また、真皮の毛細血管の拡張と水腫および肥満細胞を含む炎症性細胞浸潤もより高度に観察された。ただし、48 時間後に第 2 回目の照射を行った群ではこうした病態の増強は認められなかった。

表皮では第 1 回照射後に日焼け細胞が出現した。日焼け細胞の核は組織切片上で断片 DNA を検出する TUNEL 法に陽性を示し、また、アポトーシスに特徴的な電顕像を示すことから、アポトーシスに陥った表皮細胞の集団であると考えられた。第 1 回目の照射の 12 あるいは 24 時間後に第 2 回目の照射を行とこれらの変化は増強したが、48 時間後に第 2 回目の照射を行った群では、表皮過形成がより顕著であったことを除き、組織反応の程度は単回照射の場合とほぼ同様であった。このことは、上記の真皮の所見と併せて考えると、皮膚病変は UVB 照射後 48 時間でほぼ回復することを示唆している。

電顕観察では、UVB 照射 3 時間後に表皮の有棘細胞および基底細胞のミトコンドリアの腫大・空胞化が認められた。6 時間後になるとアポトーシスの特徴を示す細胞が認められ、同時に、明瞭な核小体を有する表皮細胞が基底層および基底上層に出現した。12 時間後には明瞭な核小体を有する細胞が増加し、表皮基底細胞層に細胞間水腫が認められた。

また、単回投与の 12 および 24 時間後にはサイトカイン (IFN- γ 、IL-4、IL-5、TGF- β 1) の mRNA の発現レベルの上昇が観察され、CD4⁺ T 細胞の関与が示唆された。

以上の結果から、UVB 照射に対する皮膚の急性反応として、血管拡張と水腫、表皮細胞のアポトーシス、および、各種サイトカインの発現を伴う炎症性細胞浸潤が観察されることが示された。

第 2 章 UVB 照射による亜慢性皮膚反応

HtRs の背部皮膚に UVB (10 kJ/m²) を毎日 3 カ月間照射し、皮膚の形態変化、

血中 IgG および IgE レベル、ならびに、がん遺伝子(*H-ras*)およびサイトカイン (Th1-related IFN- γ and IL-2; Th2-related IL-4 and IL-5; TGF- β 1)の発現の推移を mRNA レベルで検索した。

照射開始 1 カ月後には表皮と毛包上皮の過形成および錯角化が認められ、時間の経過とともにその程度は増強し、その結果、表皮は顕著に肥厚し、また、真皮層に乳頭状に突出した。表皮の肥厚部、特に真皮への突出部の細胞は pleomorphism を示し、真皮内への migration を示唆する所見も観察された。真皮浅層では照射開始 1 カ月後に水腫、肥満細胞浸潤、線維芽細胞増殖が観察され、3 カ月後には水腫と肥満細胞浸潤がより顕著になり、膠原線維の変性もみられた。水腫は表皮へも広がり、表皮細胞の解離も認められた。

電顕的検索では上記の光顕的変化を裏付ける所見が得られた。特に、表皮—真皮間基底膜および基底細胞—基底膜間の hemidesmosome の消失が、皮膚水腫の進行に伴って顕著になった。表皮細胞の pleomorphism や核分裂像および核小体の腫大ならびに真皮への migration を示唆する像も顕著に認められた。ランゲルハンス細胞は照射 3 カ月後でも確認された。真皮に浸潤した肥満細胞は時間の経過に伴ってその多くが脱顆粒を呈した。また、変性した真皮浅層の膠原線維の径は減少し、配列の異常がみられた。

増殖細胞のマーカーである proliferating cell nuclear antigen (PCNA)陽性表皮細胞は照射開始 1 カ月後より増加し、2 カ月後にプラトーに達した。また、表皮細胞の腫瘍化に関連していると考えられている *H-ras* の発現も上昇した。さらに、個体差があるものの、血清 IgE 値が照射開始 2 カ月後以降上昇傾向を示した。対照群に比べて、UVB 照射期間中、IFN- γ 、IL-2、IL-4 および IL-5 の mRNA の発現レベルは高かったが、TGF- β 1 mRNA の発現レベルは 2 カ月後まではむしろ低く、3 カ月後に高くなった。

以上の結果から、UVB の長期照射は Th1 および Th2 関連サイトカインの発現、血清 IgE の上昇および肥満細胞の脱顆粒など、過敏症反応を誘導するばかりでなく、表皮細胞の増殖、pleomorphism、真皮への migration ならびに腫瘍関連遺伝子 (*H-ras*、TGF- β 1) の発現など、腫瘍化の進行も誘導することが示された。

本研究により UVB 照射に対する急性および亜慢性の皮膚反応の性状と推移が明らかにされ、紫外線による皮膚傷害、特に皮膚発癌の発現機序を考える上

で有用な知見が得られた。さらに、皮膚科学領域における HiR の有用性が再確認された。