

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 マルコッティ ヴアレリア

皮膚は体表を被う最大の器官であり、環境化学物質に日常的に暴露されている。近年、オゾン層の破壊により紫外線の地表到達量が増加し、紫外線による皮膚障害の可能性が高まっている。紫外線は波長により 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、真皮に DNA 傷害を基盤とする種々の障害をもたらすことが知られている。一方、WBN/ILA-*Ht* ラット (HtRs) は 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、HtRs の背部皮膚に UVB を 1 ないし 2 回または 3 ヶ月間連続照射し、誘導される皮膚反応を多角的に検索した。

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/m^2) 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 RT-PCR 法を用いて mRNA レベルで検索した。

第 1 回照射後に真皮の充血水腫、炎症細胞浸潤および表皮細胞アポトーシス (日焼け細胞) が観察された。第 1 回照射の 12 あるいは 24 時間後に第 2 回目の照射を行うとこれらの変化は増強されたが、48 時間後に行った場合は、表皮過形成が顕著であったことを除き、その組織像は単回照射の場合とほぼ同様であった。

電顕観察では、照射 3 時間後に表皮有棘細胞および基底細胞でミトコンドリアの腫大・空胞化が認められた。6 時間後ではアポトーシス細胞が認められ、核小体明瞭な細胞が基底層および基底上層に出現した。12 時間後にはこれらの細胞が増加し、基底細胞層に細胞間水腫が認められた。

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) mRNA の発現レベル上昇がした。

以上の結果から、UVB 照射に対する皮膚の急性反応は、血管拡張と水腫、表皮細胞アポトーシス、および各種サイトカインの発現を伴う炎症性細胞浸潤であることが示された。

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)mRNA 発現の推移を検索した。

照射1カ月で表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、真皮層に乳頭状に突出した。同部の表皮細胞は pleomorphism を示した。真皮浅層では照射1カ月で水腫、肥満細胞浸潤、線維芽細胞増殖が観察され、3カ月で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。

電顕的検索では基底細胞-基底膜間 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 も認められた。真皮肥満細胞の多くは時間の経過に伴い脱顆粒を呈した。真皮膠原線維径は減少し、配列の異常もみられた。

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1カ月で増加し、2カ月にプラトーに達した。また、表皮細胞での *H-ras* の発現も上昇した。個体差があるものの、血清 IgE 値が照射2カ月以降上昇傾向を示した。IFN- γ 、IL-2、IL-4 および IL-5 の mRNA 発現レベルは1ヶ月以降上昇したが、TGF- β 1 は2カ月までは低く、3カ月で上昇した。

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、過敏症反応を誘導し、さらには表皮細胞の増殖、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可能性が示された。

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と有用な知見が得られた。さらに、皮膚科学領域における HtR の有用性が再確認された。よって審査委員一同は本論文が博士(獣医学)の学位を授与するに値するものと認めた。