

氏名(本籍)	藤 澤 裕 志 (千葉県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博乙第1534号
学位授与年月日	平成11年4月30日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
審査研究科	医学研究科
学位論文題目	Costimulation with ultraviolet B and interleukin-1 α dramatically increase tumor necrosis factor- α production in human dermal fibroblasts (UVB及びIL-1 α 刺激はヒト皮膚線維芽細胞からのTNF- α 産生を著しく増加させる)
主査	筑波大学教授 医学博士 住田孝之
副査	筑波大学教授 医学博士 小山哲夫
副査	筑波大学教授 医学博士 中内啓光
副査	筑波大学教授 医学博士 本村幸子
副査	筑波大学助教授 医学博士 中原朗

論文の内容の要旨

Tumor necrosis factor- α (TNF- α) は、マクロファージ由来のサイトカインとして報告され、その後、表皮角化細胞、ランゲルハンス細胞、肥満細胞などの皮膚の構成細胞からも産生されていることから、TNF- α が皮膚の免疫反応に関与していると考えられている。一方、Ultraviolet B (UVB) は表皮角化細胞から IL-1 α や TNF- α を含む種々のサイトカイン産生を誘導することも報告されている。しかし、表皮に比較し、UVBの到達が少ない真皮に存在するヒト皮膚線維芽細胞からの TNF- α 産生に対する UVB の影響は不明である。そこで、本研究では、UVB および IL-1 α の刺激により、ヒト皮膚線維芽細胞が TNF- α を産生するか否かを検討した。

(材料と方法)

新生児包皮由来のヒト皮膚線維芽細胞を Dulbecco's modified Eagle's medium で培養皿に継代培養した。UVB照射はリン酸緩衝液で細胞に付着した培養液を洗浄後、リン酸緩衝液を取り除いて、0.36mW/cm²の強度で行った。TNF- α の濃度は細胞を刺激後培養上清を集め、TNF- α に特異的な ELISA kit を用いて測定した。TNF- α , glyceraldehyde-3-phosphate-dehydrogenase (G3PDH) の mRNA レベルは細胞を刺激6時間後、RNA を抽出し DNA に変換後、PCR を行い決定した。正常表皮角化細胞も新生児包皮から採取したものを培養し使用した。IL-1 レセプターの数は、¹²⁵I ラベルした TNF-1 α を用いた結合実験で検討した。

(結果)

- 1) UVB (200J/m²) 照射により培養ヒト皮膚線維芽細胞は 20pg/ml の TNF- α を産生した。
- 2) IL-1 α (10ng/ml) によりヒト皮膚線維芽細胞は 25pg/ml の TNF- α を産生した。
- 3) UVB 照射直後に IL- α を加えたところ、相乗的に TNF- α が産生された (750pg/ml)。
- 4) この相乗効果は TNF- α mRNA レベルの相乗的上昇を介していた。
- 5) LPS による刺激は IL-1 α と異なり UVB 照射による TNF- α 産生に影響を与えなかった。
- 6) UVB 及び IL-1 α 刺激によるヒト皮膚線維芽細胞からの TNF- α 産生の時間経過は、3時間後から明らかにな

り次第に増加した。

7) UVB 照射直後に IL-1 α を加えた場合相乗効果は最大になり、6 時間後に加えた場合相乗効果は消失した。

8) ヒト皮膚線維芽細胞の IL-1 α レセプター数は、UVB 照射前後で変化はなかった。

9) 表皮角化細胞では、UVB 及び IL-1 α 刺激により、軽度の TNF- α 増加がみられただけであった。

(考察)

ヒト皮膚線維芽細胞は、UVB 照射直後に IL-1 α を加えることにより、相乗的に TNF- α を産生することが判明した。この事実から、皮膚が UVB 照射をうけると、UVB と表皮角化細胞由来の IL-1 α との複合刺激により、真皮に存在するヒト皮膚線維芽細胞から TNF- α が産生される可能性が強く示唆された。TNF- α は IL-1 α とともに強い起炎症作用を呈するので、UVB により引き起こされる皮膚の炎症において、皮膚線維芽細胞が産生する TNF- α は重要な役割を果たしていると考えられる。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、UVB による皮膚炎症の発症機序を解明するために、真皮に存在する皮膚線維芽細胞に対する UVB の影響を明らかにすることを目的としたものである。筆者らは、ヒト線維芽細胞の *in vitro* 培養系を用いて、UVB と IL-1 α の複合刺激により線維芽細胞から TNF- α が産生されることを初めて見出した。この事実から、UVB による皮膚炎症が、表皮角化細胞由来の IL-1 α と真皮の線維芽細胞から産生される TNF- α により引き起こされている可能性が強く示唆された。本研究は、UVB による皮膚炎症の発症機構を解明する上で重要な成果であり、世界的に高く評価される。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。