

氏 名 (本 籍)	お がさわら きょう こ 小笠原 恭 子 (神奈川県)
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 乙 第 1799 号
学位授与年月日	平成 14 年 2 月 28 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	人間総合科学研究科
学 位 論 文 題 目	表皮角化細胞による TNF- α 生産に及ぼす Interferon の影響及び水疱性類天疱瘡における TNF- α 、IL-1 α 、IL-6、IL-8 の役割の検討
主 査	筑波大学教授 医学博士 住 田 孝 之
副 査	筑波大学助教授 医学博士 松 井 良 樹
副 査	筑波大学講師 医学博士 堤 明 人

論 文 の 内 容 の 要 旨

(目的)

表皮角化細胞が interleukin-1 α (IL-1 α) を産生し炎症に関与していることが明らかになって以来、多数のサイトカインが表皮角化細胞から産生されることが判明した。tumor necrosis factor- α (TNF- α) もそのひとつで、皮膚の炎症性疾患で特に重要な役割を演じている。皮膚の炎症においてサイトカインネットワークは重要な役割をもつが、その全容は十分に明かではない。炎症時には、表皮角化細胞は TNF- α を産生し、同時にリンパ球由来の interferon (IFN) 及び自己の放出した IL-1 α にさらされる。しかし、IFN や IFN 及び IL-1 α が表皮角化細胞の TNF- α 産生に及ぼす影響は検討されていない。そこで、本研究では、表皮角化細胞からの TNF- α 産生に及ぼす IFN と IFN 及び IL-1 α の影響を調べた。

一方、水疱性類天疱瘡はヘミデスマゾームに対する自己抗体が原因の自己免疫性疾患である。水疱性類天疱瘡での水疱形成には自己抗体の存在の他に補体の活性化や白血球の浸潤といった炎症反応が必要であり、水疱形成にサイトカインが何らかの役割をもつことが推測される。本研究では、皮膚のサイトカインネットワークで炎症時に産生誘導されるサイトカインである TNF- α 、IL-1 α 、IL-6、IL-8 の水疱形成における役割も検討した。

(対象と方法)

- 1) IFN、IFN 及び IL-1 α を培養ヒト表皮角化細胞、培養ヒト皮膚繊維芽細胞の培養液に加え、一定時間後培養液を回収し、TNF- α 濃度を ELISA 法で調べた。
- 2) 表皮角化細胞では mRNA 量を PCR 法で測定した。
- 3) 水疱性類天疱瘡患者 10 人の病変部から皮膚を採取し、TNF- α 、IL-1 α 、IL-6、IL-8 の存在を免疫組織学的方法を用いて検討した。
- 4) 水疱性類天疱瘡患者 40 人と、尋常性天疱瘡患者 14 人の病変部を CK-E3 抗体を用いてケラチン 17 の発現を免疫組織学的に検討した。
- 5) 有棘細胞癌由来の DJM-1 細胞の培養液中に 6 人の水疱性類天疱瘡患者血清と 4 人の正常人コントロール血清由来の精製 IgG 液を加え、培養上清中の TNF- α 、IL-1 α 、IL-6、IL-8 の濃度を ELISA 法を用いて測定した。

(結果)

- 1) IFN- α , IFN- β は表皮角化細胞のTNF- α 産生に影響を与えなかったが、IFN- γ あるいはIL-1 α はTNF- α 産生を濃度依存性に増加させた。またIL-1 α とIFN- γ を組み合わせることにより相乗的にTNF- α 産生を増加させた。
- 2) 表皮角化細胞からのTNF- α 蛋白産生の誘導は、IL-1 α , IFN- γ , IL-1 α 及びIFN- γ のそれぞれの刺激でTNF- α mRNA レベルの増加を伴っていた。一方、皮膚繊維芽細胞ではIFN- γ 単独ではTNF- α 産生は見られなかったが、IL-1 α 及びIFN- γ による刺激では著しくTNF- α 産生を誘導した。
- 3) 水疱性類天疱瘡患者から採取した病変皮膚の免疫組織染色では、TNF- α は10例中5例で水疱の周囲に浸潤した炎症細胞に陽性、3例でIL-6が、7例でIL-8が水疱周囲の真皮に浸潤した炎症細胞と炎症細胞が浸潤した周囲の表皮角化細胞に陽性を示した。IL-1 α は10例中2例で表皮角化細胞に陽性を示し、7例で浸潤した炎症細胞が陽性に染色された。
- 4) ケラチン17は、水疱性類天疱瘡の31例で陽性であったが、尋常性天疱瘡ではすべて陰性だった。
- 5) 精製IgG液により刺激したDJM-1細胞の培養液中のサイトカインの濃度は、水疱性類天疱瘡患者と正常人との間で有意差は見られなかった。

(考察)

IL-1 α , IFN- γ , TNF- α は、表皮角化細胞からIL-6, IL-8を産生させるため、さらに炎症を拡大させる。また、IFN- γ , TNF- α は、表皮角化細胞、血管内皮細胞上の細胞接着分子の発現を誘導するため、この反応は炎症の維持に働くと推察される。従って、IFN- γ , IL-1 α 及びIFN- γ による表皮角化細胞からのTNF- α 産生誘導は、真皮での反応も加担して、皮膚での炎症反応を拡大、遷延させる働きがあると考えられた。

一方、水疱性類天疱瘡では、TNF- α , IL-1 α , IL-6, IL-8が一部の病変に依存しており、ケラチン17も約78%で陽性であることから、これらのサイトカインが水疱形成に関与している事が示唆された。しかし、抗体を培養表皮細胞に反応させても、有意にサイトカインの産生が増加しなかったことから、抗体以外の機序により誘導されている可能性が示された。これらのサイトカインは、補体の活性化や白血球の遊走を起こす働きを持つため、それにより炎症を拡げる役割を果たしていると考えられた。

(結論)

IFN- γ はIL-1 α と共に、表皮角化細胞及び皮膚繊維芽細胞からのTNF- α の産生を増加させ、皮膚の炎症を拡大、遷延させる働きがあることが判明した。一方、水疱性類天疱瘡では、TNF- α , IL-1 α , IL-6, IL-8の産生は、自己抗体が表皮角化細胞上の抗原に結合することが直接刺激となって誘導されるのではなく、二次的に誘導され、水疱形成時に炎症を拡大、遷延させる働きを担っていることが推測された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、正常皮膚の表皮角化細胞や繊維芽細胞からのTNF- α 産生において、IFN- γ やIL-1 α が関与していることを蛋白レベル、mRNAレベルで明らかにした研究である。さらに、水疱性類天疱瘡の病巣局所において、TNF- α , IL-1 α , IL-6, IL-8などのサイトカインやケラチン17の発現が認められることを免疫組織化学的解析で明らかにした。サイトカインを介した皮膚の炎症機序や水疱性類天疱瘡の発症機序を解明するために価値ある研究であり、国際的にも高く評価されている。

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。