

氏 名 (本籍) お ばた まさ あき
 小 幡 正 明

学 位 の 種 類 医 学 博 士

学 位 記 番 号 医 第 1 5 5 7 号

学 位 授 与 年 月 日 昭 和 5 9 年 2 月 2 2 日

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴 昭 和 5 2 年 3 月
 千 葉 大 学 医 学 部 医 学 科 卒 業

学 位 論 文 題 目 Alteration of murine epidermal Langerhans
 cell population by ultraviolet light : Quantitive
 and morphological studies on the effects of
 various doses and wavelengths of monochromatic
 light on Ia bearing Langerhans cells.

(紫外線照射によるマウス表皮ランゲルハンス細胞
の変化 : Ia 抗原陽性ランゲルハンス細胞に対
する種々の照射量, 波長の単色光の作用につい
ての定量的, 形態学的研究)

(主 査)

論 文 審 査 委 員 教 授 田 上 八 郎 教 授 松 沢 大 樹

教 授 坂 本 澄 彦

論文内容要旨

紫外線は接触過敏感症に代表される遅延型免疫反応に対し抑制的に作用する。これは表皮に常在する骨髄由来の担免疫細胞であるランゲルハンス細胞 (Langerhans cell ; LC と略) の機能的損傷を介した現象であると考えられている。しかしこの LC の変化についての波長, 照射量別の詳細な解析はまだなされていない。そこで今回, 様々な波長の紫外域学色光によるマウス表皮 LC の変動を検討した。すなわち遅延型免疫反応において不可欠である機能的マーカーである Ia 抗原を表現する LC の数を定量的に解析し, 同時に電顕的に形態の変化を調べた。

方 法

C3H/He マウスを用い, その耳介背面に紫外線を照射した。これには 2 kW の xenon lamp を有する回析格子モノクロメーター (CT-25 N) を用い, 様々な照射量の 260~400 nm 域の単色光の 1 回照射をおこなった。一部では光感作物質である 8-MOP を外用により用いた。経時的観察では照射後 6 時間から 14 日までの間に標本を採取し, 作用波長, dose-response relationship をみる系では 24 時間後に採取した。Ia 抗原陽性細胞は, 抗 Ia^K モノクローナル抗体, 及び酵素抗体法 (avidin-biotin-peroxidase complex 法) により明らかにし, EDTA 表皮剥離標本を用いて定量的に解析した。また通常の電顕及び上記の剥離標本を用いた免疫電顕により, 形態学的変化及び Ia 抗原表現との関連について検討した。

結 果 及 び 考 按

1) 経時変化: UV-B (300 nm, 200mJ/cm²) 及び P-UVA (20 μl, 1% 8-MOP 外用 + 360 nm, 1 J/cm²) 照射後の経時変化を調べた。UV-B, P-UVA の双方において基本的に同じ変化が観察された。①「損傷期」(0~48 時間): Ia 陽性細胞数の著明な減少がみられた。これは電顕的観察による LC の変生, 消失の過程と対応していた。すなわち形態学的に核, 細胞質の濃縮, 細胞融解といった変生像がみられ, 数は著明に減少した。これは keratinocyte (KC と略) の変化に較べてより強い変化であった。免疫電顕的検索では, 残存 LC の大部分に Ia 抗原が残存していたが, 一部では形態学的変化を伴わずに Ia 抗原のみを喪失している細胞もみられた。紫外線照射による Ia 陽性細胞の減少は LC の実質的な変生, 消失に基づくものと推測された。②「回復期」(4~14 日): 4 日目では上述の変生細胞は消失し, かわって表皮肥厚, KC の活性の増加, 分裂像がみられた。一方残存する LC にも同様の活性の増加, 巨大化がみられたが, 数の回復は伴わなかった。14 日目までには LC の数, 形態はほぼ正常化した。以

上の損傷、回復期をとおして残存する Ia 陽性 LC の大きさの増大がみられた。その程度は LC 数の減少にほぼ逆相関しており、ピーク時には正常の 5 ～ 6 倍に達した。Ia 陽性 LC は 14 日までに、不完全ながら数、大きさ、分布において回復傾向を示したが、そのペースは遅く、LC の細胞分裂像もみられなかったことから、骨髄からの新しい LC の供給に基づく回復であることが示唆された。

2) 定量的観察：①Dose-response relationship：種々の照射量の UV-B (300 nm), P-UVA (8-MOP + 360 nm) 照射 24 時間後における Ia 陽性細胞数の変動を検討した。UV-B, P-UVA の双方において照射量依存性の Ia 陽性細胞の減少が生じた。すなわち、UV-B では 25, 50 mJ/cm² といった低照射量においても著明な減少が生じ、1 J/cm² ではほぼ消失した。P-UVA でも同様の傾向がみられた。すなわち 100 mJ/cm² の照射により約 60% の減少が生じ、照射量に対数比例する形で減少した。②作用波長：紫外線単独照射群と 8-MOP 外用+紫外線照射群における Ia 陽性細胞減少の作用波長を調べた。単独照射群では 320 nm より長波長域すなわち UV-A 域では Ia 陽性細胞の減少はみられず、300 nm より短波長域すなわち UV-B, UV-C 域において著明な減少がみられた。8-MOP 外用+紫外線照射群では 320 から 380 nm の間に有意の Ia 陽性細胞減少の増強効果がみられた。以上の Ia 陽性細胞減少の作用波長は、紫外線紅斑, sunburn cell 形成, KC における DNA 修復合成等の作用波長と一致するものであり、これらの表皮組織損傷に共通する mechanism の存在が示唆された。

結 語

紫外線照射は表皮における Ia 陽性 LC の著明な減少を惹起するが、これは LC の実質的な細胞死、消失に基づくものと考えられた。少数の LC は形態学的変化をあまり伴わずに膜抗原のみの喪失を示した。いずれの場合でも、この Ia 抗原は遅延型免疫反応において、抗原の trapping, 提示に必要な機能的抗原と考えられており、紫外線は LC 機能に大きな障害をおよぼすものと思われた。

審 査 結 果 の 要 旨

ランゲルハンス細胞は表皮中で唯一 Ia 抗原を表現し、IgG-Fc あるいは C3b のレセプターをもつ樹枝状細胞で、接触過敏感あるいは皮膚の移植免疫に重要な役割を果たすと考えられる。紫外線照射は皮膚における遅延型接触過敏感反応の成立を抑制する。これも Ia 抗原発現ランゲルハンス細胞の機能的、形態学的損傷を介した現象であると考えられている。このようにランゲルハンス細胞を傷害する紫外線照射の波長、照射量別によるこの細胞の変動に関する詳細な解析はなされていない。

本論文の著者である小幡正明は紫外線によるランゲルハンス細胞損傷の機序を明らかにする目的で、マウス耳に様々な波長の紫外域単色光を照射し、Ia 抗原陽性細胞の変動を定量的に解析し、同時に電顕を用いて形態学的検討を加えた研究をおこなった。

その結果、(1)、Ia 陽性細胞減少の作用波長は、いわゆる日焼けの波長域 (300 nm) より短波長域にあり、また光感作物質 (8-MOP) の存在下では 320-380 nm にあった。(2)、300 nm 単色光、及び 8-MOP + 360 nm 単色光照射後の経時的観察では、照射後 24 時間までに Ia 陽性細胞数の著明な減少が生じ、14 日までに不完全な回復がみられた。この数の減少に逆相関して残存 Ia 陽性細胞の巨大化が生じた。(3)、電顕的には、これらに対応して、0~48 時間の損傷期においてはランゲルハンス細胞の変性像、数の減少がみられ、それ以降の回復期では残存細胞の巨大化が観察された。(4)、照射後 24 時間における免疫電顕的観察では、残存ランゲルハンス細胞の大部分は Ia 抗原を発現しており、Ia 抗原のみ失われた同細胞は少数であった。

以上のように著者は、紫外線による Ia 抗原陽性細胞の減少は、その一部は膜抗原の喪失に基づくが、大部分はランゲルハンス細胞自体の実質的な減少に基づくものであることを明らかにし、またいわゆる "sunburn histology" を惹起する波長域にその作用があることをみいだした。

Ia 抗原は遅延型免疫反応の開始、成立に不可欠な機能的膜抗原である。本論文はその変動と紫外線照射との関係について基礎的な知見を加えたものであり、学位授与に値するものと判定する。