

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	西 浦 英 樹
論文題目	The bystander effect is a novel mechanism of UVA-induced melanogenesis. （バystanダー効果はUVAによって誘導されるメラノジェネシスの新規作用機構である。）		
（論文内容の要旨）			
皮膚における紫外線や酸化ストレス応答の1つとしてメラノサイトにおけるメラニン合成（メラノジェネシス）が知られており、このメラノジェネシスは紫外線照射によってケラチノサイトから放出されるエンドセリンやα—MSHなどのサイトカインがメラノサイトを刺激することで誘導されると報告されている。この反応によって合成されたメラニンは、メラノサイトから周囲のケラチノサイトに受け渡され、ケラチノサイトの核を紫外線から保護するメラニンキャップを形成することがわかっている。皮膚組織において、メラノサイトはケラチノサイトに囲まれるように存在していることから、メラノサイト同士が接触してギャップジャンクションを介した細胞間コミュニケーションは存在しないとされている。しかし、メラノサイト、ケラチノサイトはいずれも同じ表皮に存在し、常に紫外線にさらされていることを考えると、メラノサイト単独でもメラノジェネシスを誘導し、また、ギャップジャンクションを介さなくとも何らかの情報伝達でメラノサイト間での細胞間コミュニケーションが働き、紫外線に被ばくした情報を速やかに周囲のメラノサイトに伝達してメラノジェネシスを誘導していると考えられる。 そこで、放射線の影響として良く知られている「バystanダー効果」に着目した。放射線バystanダー効果とは、放射線に被ばくした細胞から分泌される因子の影響で、被ばくしていない細胞でも放射線の影響が及ぼされる現象である。この現象を参考に、マウスB16メラノーマ細胞を用いて紫外線照射によるメラノジェネシスを指標としたバystanダー効果について調べた。 結果、UVA照射後24時間培養したマウスB16メラノーマ細胞の培地を非照射細胞（バystanダー細胞）にトランスファーすることで、メラノジェネシスを指標としたバystanダー効果を確認した。UVAは細胞内のポルフィリンなどの分子に吸収されて一重項酸素を発生し、細胞内酸化度上昇を引き起こしてメラノジェネシスを誘導することが知られている。そこで、バystanダー細胞においても細胞内酸化度の上昇を伴ってメラノジェネシスが誘導されると考え、ミトコンドリアへの影響について調べた。結果、メディウムトランスファー1－4時間後にミトコンドリア膜電位の低下を確認した。そして、9－12時間後に細胞内酸化度上昇、24時間後にメラニンラジカル及び長寿命ラジカルの発生を確認した。ミトコンドリア膜電位の低下に伴う細胞内酸化度上昇を引き起こす因子としてカルシウムイオンの関与が考えられることから、メディウムトランスファー時にEGTA処理を行うことでバystanダー効果が抑制されることが考えた。結果、EGTA処理によってバystanダー細胞でのメラノジェネシス抑制を確認し、また、ミトコンドリア膜電位、細胞内酸化度上昇もコントロールレベルまで回復することを確認した。 これらの結果から、マウスB16メラノーマ細胞におけるメラノジェネシスを指標としたUVA照射バystanダー効果を初めて確認した。また、バystanダー細胞におけるメラノジェネシスの作用メカニズムは、UVA照射細胞からバystanダー因子としてカルシウムイオンが放出され、バystanダー細胞のミトコンドリア膜電位低下に伴う細胞内酸化度上昇によって誘導されることを明らかにした。			

（論文審査の結果の要旨） 紫外線照射後に皮膚組織で観察されるメラニン合成(メラノジェネシス)は、照射されたケラチノサイトから放出されたサイトカインによってメラノサイトが刺激されることで誘導されるとされているが詳細は明らかではない。申請者は、皮膚組織におけるメラノサイトとケラチノサイトの存在状態や役割を考えると「紫外線によるメラノジェネシスには、ケラチノサイトの介在は必須ではないのではないか？」とする疑問を持ち、その疑問を解決するために本研究を実施した。 申請者は、まず、マウスB16メラノーマ細胞を材料にUVAあるいはUVB照射によるメラノジェネシス誘導を調べ、UVAを直接照射されたメラノサイトでメラノジェネシスが誘導されるがUVBでは誘導されないことを発見した。一方、UVAあるいはUVBを照射したメラノサイトの培養上清を非照射メラノサイトに処理すると、どちらの培養上清も非照射メラノサイトのメラノジェネシスを誘導することが判った。そして、そのメラノジェネシスは、紫外線を照射されたメラノサイトが放出したCa²⁺イオンが引き金となり、非照射細胞のミトコンドリア膜機能が低下し、細胞内活性酸素が増えることによって誘導されることを明らかにした。 以上の結果は、紫外線によるメラノジェネシスの誘導機構としてケラチノサイトを介さず、メラノサイト間のバystanダー効果が関与する新しい経路があることを示したものである。 以上の研究は、ヒト皮膚組織におけるメラノジェネシスの機構解明に貢献し、ひいては、医学の発展に寄与するところが多い。 したがって、本論文は、博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。 なお、本学位授与申請者は、平成24年2月21日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			