

Title	Topical Application of FK506
Author(s)	笹川, 達也
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/46336">https://hdl.handle.net/11094/46336</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	笹川達也
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第19829号
学位授与年月日	平成17年10月19日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	Topical Application of FK506 (Tacrolimus) Ointment Inhibits Mite Antigen-Induced Dermatitis by Local Action in NC/Nga Mice. (ダニ抗原誘発 NC/Nga マウス皮膚炎モデルに対する FK506 軟膏の作用)
論文審査委員	(主査) 教授 宮坂 昌之 (副査) 教授 平野 俊夫 教授 片山 一朗

#### 論文内容の要旨

##### 〔 目 的 〕

ダニ抗原は、ヒトアレルギー疾患において最も主要なアレルゲンの1つである。SPF 環境下の NC/Nga マウスにダニ抗原を連続的に皮内投与することによってヒトアトピー性皮膚炎様の皮膚炎モデルを作製した。ヒトアトピー性皮膚炎の病因論的な考察を行う為、本モデルを解析し、並びに本モデルに対する FK506 軟膏（タクロリムス軟膏、プロトピック）の作用を検討した。

##### 〔 方法ならびに成績 〕

6-7週齢の雌性 NC/Nga マウスの右耳介に抗原であるヤケヒョウダニ抽出物を  $5\mu\text{g}/10\mu\text{L}$  にて day0、2、4、7、9、11、14、16 に皮内投与し、NC マウスダニ抗原誘発皮膚炎モデルを作製した。FK506 軟膏 (0.03-0.3%) もしくは対照としてステロイド軟膏 (0.12% リンデロン®-V 軟膏、betamethasone valerate) を皮内投与の3時間前及び3時間後に  $10\mu\text{L}$  塗布した。症状の観察、耳介腫脹の変化、血中 IgE 濃度、病理組織学的観察 (トルイジンブルー染色、コンゴレッド染色、CD4、IL-4、IFN $\gamma$ 、ICAM-1、VCAM-1、TNF $\alpha$ )、所属リンパ節の細胞数、フローサイトメーターを用いた解析 (TCR $\alpha\beta$ 、CD4、CD8 $\alpha$ 、CD69、Mac-1、B220、IL-4/IFN $\gamma$ ) 及び培養試験を行った。また、抗原を投与していない左耳介に FK506 軟膏を塗布した時の効果を検討した。

ヤケヒョウダニ抽出物を投与した NC/Nga マウスでは、投与した右耳介において耳介腫脹 (浮腫)、紅斑、鱗屑、擦過傷及び血中 IgE の上昇が観察された。Day18 の耳介を病理組織学的に解析したところ、肥満細胞の脱顆粒及び好酸球、CD4 陽性細胞の顕著な浸潤が観察された。また、IL-4、IFN $\gamma$ 、TNF $\alpha$ 、血管内皮細胞上の ICAM-1 及び VCAM-1 の発現上昇が認められた。所属リンパ節を解析したところ、細胞数が大幅に増加しており、特に CD69 陽性細胞、B220 陽性細胞及び IL-4 陽性 IFN $\gamma$  陰性細胞の割合が大きく増加しているのが観察された。所属リンパ節細胞をダニ抗原で刺激培養したところ、IFN $\gamma$  は検出されず、IL-4 及び IL-5 の産生が認められた。

一方 FK506 軟膏塗布マウスでは、皮膚症状が濃度依存的に抑制されていた。ステロイド軟膏塗布マウスも同様に皮膚症状が抑制された。FK506 軟膏塗布マウスでは、肥満細胞の脱顆粒、好酸球及び CD4 陽性細胞の浸潤が抑制されており、IL-4、IFN $\gamma$ 、TNF $\alpha$ 、血管内皮細胞上の ICAM-1 及び VCAM-1 の発現上昇も抑制されていた。しかしながら、所属リンパ節の細胞数、及びその比率については変化が見られなかった。FK506 軟膏の全身的な作用を確認する為、抗原非投与部位 (左耳介) に FK506 軟膏を塗布し、抗原を投与した右耳介に対する作用を観察したところ、

有意な耳介腫脹の改善効果は観察されなかった。

[ 総 括 ]

SPF 環境下の NC/Nga マウスにダニ抗原を投与することにより皮膚炎症状（浮腫、紅斑、鱗屑、擦過傷）、血中 IgE 値の上昇、皮膚局所における肥満細胞の脱顆粒及び細胞浸潤（好酸球、CD4 陽性 T 細胞）が観察されたことから、本モデルはヒトアトピー性皮膚炎に類似している事が示された。所属リンパ節の解析から、所属リンパ節細胞の増殖及び活性化が観察され、ダニ抗原特異的 Th2 細胞が著しく増加している事が判明した。

FK506 軟膏塗布により、皮膚炎症状及び病理組織学的変化は改善されたが、所属リンパ節の細胞数、ポピュレーション及び活性化の程度が変化していなかった。また、抗原非投与部位に FK506 軟膏を塗布しても、抗原投与部位の皮膚炎は抑制されなかった。これらのことから、FK506 は全身的に作用して皮膚症状を抑制しているのではなく、皮膚局所のみ作用する事によって皮膚症状を改善することが示される。

### 論文審査の結果の要旨

SPF 環境下の NC/Nga マウスの耳介にヤケヒョウヒダニ抽出物を連続的に皮内投与することによって皮膚炎モデルを作製した。抗原投与部位に皮膚炎症状が観察され、炎症細胞の浸潤が観察された。また、所属リンパ節細胞が増殖し、活性化していた。これらのことから、このモデルはアトピー性皮膚炎に類似していることが示唆された。

また、このモデルに対する FK506 軟膏の作用を検討した。FK506 軟膏は、皮膚炎を抑制するものの、所属リンパ節細胞の増殖及び活性化を抑制せず、抗原投与部位以外に塗布しても有効性を示さなかった。これらのことから、FK506 軟膏は皮膚局所で作用して皮膚炎を抑制することが示された。

FK506 軟膏塗布マウスの耳介で、血管内皮細胞上の ICAM-1 及び VCAM-1 の発現亢進及び TNF $\alpha$  の産生が抑制されていた。このことから、FK506 軟膏は TNF $\alpha$  産生を抑制する事により血管内皮細胞上の ICAM-1 及び VCAM-1 発現誘導を抑制して、炎症細胞浸潤を抑制することが示唆された。

FK506 軟膏塗布マウスで、抗原投与 1 時間後の耳介腫脹を抑制しなかったことから、FK506 は即時型反応を抑制しないことが示された。

上記の研究は、博士（医学）の学位授与に値する。