

|           |                                                          |
|-----------|----------------------------------------------------------|
| 氏 名       | あま や ただ ひろ<br>天 谷 忠 弘                                    |
| 学位(専攻分野)  | 博 士 (薬 学)                                                |
| 学 位 記 番 号 | 論 薬 博 第 664 号                                            |
| 学位授与の日付   | 平 成 14 年 1 月 23 日                                        |
| 学位授与の要件   | 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当                                  |
| 学位論文題目    | T 細胞特異的免疫抑制剤, Tacrolimus (FK506) のアトピー性皮膚炎に対する薬理作用に関する研究 |

論文調査委員 (主 査) 教 授 市 川 厚 教 授 川 寄 敏 祐 教 授 河 合 明 彦

## 論 文 内 容 の 要 旨

「免疫」とは＜自己＞なるものと、＜非自己＞なるものを識別し、後者に対して発動されるところの生体の生理的かつ特異的な生体防御反応である。この免疫現象をうまく利用すると、種痘に見られるように画期的な治療法になる。しかし生体が常備するこの免疫現象もしばしば、人間にとって重篤な疾患の原因となる。例えばリウマチや全身性エリテマトーデスなどのいわゆる自己免疫疾患や、環境に由来する外来物質に対し、普通なら起こらない免疫反応が宿主によっては起こってしまうアレルギー疾患がそれである。

近年、アレルギー疾患の罹患者は著しく増加しており、優れた治療薬、特に非ステロイド性の治療薬の開発が希求されている。申請者らは、放線菌 *Streptomyces tsukubaensis* の発酵濾液中からヘルパー T 細胞に作用して免疫抑制作用を発現する Tacrolimus (FK506) を見出した。作用機構は Cyclosporine A (CyA) に類似するが、細胞内での結合蛋白(受容体)は異なる。免疫抑制作用の本質はそれぞれの受容体結合物による細胞核内転写因子の機能阻害による IL2 産生の抑制である。Tacrolimus は既に、臓器移植後の拒絶反応抑制薬として開発され世界の40カ国以上で使用されているほか、日米ではリウマチ等の自己免疫疾患に対しても開発されつつある。最近、Tacrolimus にアトピー性皮膚炎に対する効果が期待されている。そこで申請者らは、免疫抑制剤 Tacrolimus の抗アレルギー作用をアトピー性皮膚炎をターゲットにしてその薬理作用について検討を行った。

### 第一章 健康成人並びにアトピー性皮膚炎患者より分離したマラセチアファーファ (*Malassezia furfur*) に対する Tacrolimus の抗真菌作用の検討

真菌の *M. furfur* (または *Pityrosporum ovale*) は皮膚の脂漏部分から常在菌として検出され、これまで顔面、頸部のアトピー性皮膚炎の主なアレルゲンの一つではないかと考えられている。この *M. furfur* 26 株をアトピー性皮膚炎又は健康成人から分離し、その抗真菌活性を Tacrolimus, CyA, pyrrolnitrin 及び miconazole とを比較評価した結果、26株すべて最小阻止濃度 (MIC) 0.5~32 mg/L の Tacrolimus で増殖阻害された。抗真菌剤である pyrrolnitrin, miconazole の MIC は 1~32 mg/L であった。一方、CyA は何らの抗真菌活性を示さなかった。他方、顔面、頸部の常在真菌ではない *Candida* や *Trichophyton* に対しては Tacrolimus は不活性であったが、*Aspergillus* に対し MIC が 0.008 mg/L 以下、*C. neoformans* に対して 1~32 mg/L という抗菌活性を示した。アトピー性皮膚炎患者の顔面における *M. furfur* は、1週間 Tacrolimus 軟膏塗布により、その spore の数が著減した。*M. furfur* に対する Tacrolimus の強い抗菌作用はアトピー性皮膚炎の治療に有用と推定される。

### 第二章 末梢血単核球細胞の好中球遊走因子に対する Tacrolimus (FK506) による阻害作用の検討

好中球は細菌感染などに対し、生体防御因子として機能するほか、リウマチや乾癬、喘息など種々の炎症性疾患の成因に関わっている。アトピー性皮膚炎の炎症症状にも関与していると考えられていることから、炎症部位への好中球遊走に対する Tacrolimus の作用を検討した。その結果、Tacrolimus は末梢血単核球細胞の好中球遊走因子である IL-8 の産生を 1 ng/ml という低濃度で顕著に阻害する事がわかった。その作用は CyA の100倍強力であった。Tacrolimus のアトピー性皮

膚炎における炎症に対する著明な臨床効果の一端に、このような強い好中球遊走阻止作用も含まれていると考えられる。

### 第三章 活性化ヒト末梢血単球由来のアトピー性皮膚炎関与サイトカインの産生に対する Tacrolimus とステロイドの作用比較

Tacrolimus は既に臨床的にアトピー性皮膚炎に著効を示すことが証明されているが、その真の薬理メカニズムには諸説があって確立していない。一方でアトピー性皮膚炎の発症機構も明確に解明されていない。近年、アトピー性皮膚炎の病態形成に IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, INF $\gamma$ , GM-CSF などが重要な役割を果たしていることが明らかにされてきた。Tacrolimus はもともと IL-2 を始めとするこれらのサイトカインの生成を阻害することが報告されており、アトピー性皮膚炎では T 細胞が活性化状態にあると考えられ、この T 細胞活性化状態でのこれらサイトカイン産生に及ぼす Tacrolimus の作用を見ることはアトピー性皮膚炎に対する本剤の効果を理解するのに有用と考えられる。

T 細胞におけるシグナル伝達に關与する CD 抗原抗体 (CD3/CD28, CD3/CD2) による T 細胞刺激下のサイトカイン産生に与える Tacrolimus の作用を検討した結果、Tacrolimus は Betamethasone valerate と同等かやや強く、Alclomethasone dipropionate より有意に強くこれらサイトカインの産生を全て抑制した。Tacrolimus のアトピー性皮膚炎に対する著明な効果にはこのようなアレルギー惹起性のサイトカインの産生抑制が大きな役割を果たしているものと考えられ、同様なサイトカインの介在する他のアレルギー性疾患に対しても有効性が期待される。

以上、本論文は免疫抑制剤 Tacrolimus の抗アレルギー作用を、アトピー性皮膚炎をターゲットにしてその薬理作用について明らかにしたものであり、その成果は本剤の臨床開発研究において重要な基礎知見となるものである。

### 論文審査の結果の要旨

アレルギー疾患の罹患者の著しい増加に対して、優れた治療薬、特に非ステロイド性の治療薬の開発が望まれている。本研究は、放線菌 *Streptomyces tsukubaensis* の培養濾液から単離された免疫抑制剤 Tacrolimus (FK506) がアトピー性皮膚炎に対して顕著な効果を呈することを臨床生化学的に明らかにしたものである。

著者はまず、アトピー性皮膚炎患者の顔面および頸部の皮膚から真菌 *M. furfur* 26株を分離し、それらに対する FK506 の抗真菌活性を評価し、既存の抗真菌剤のいずれよりも強い活性を有することを見出した。さらに、FK506 はアトピー性皮膚炎患者の顔面における *M. furfur* に対しては強い抗菌活性を示すが、顔面、頸部以外の *Candida* 等の真菌には不活性であることから、アトピー性皮膚炎の治療薬として有効であることが分かった。

次いで、FK506 が細菌感染の生体防御因子として機能するとともに、リウマチや喘息等の炎症性疾患の成因に関わる好中球の細胞遊走活性を顕著に抑制することを見出し、そのメカニズムは、FK506 が炎症部位の単球における好中球遊走因子 IL-8 の産生を低濃度で阻害することにあることを証明し、FK506 の臨床効果の一端を明らかにした。

アトピー性皮膚炎に対する FK506 の臨床効果のメカニズムはいまだ完全には確立していない。そこで、アトピー性皮膚炎の病態形成において活性化する T 細胞からのサイトカイン産生に対する FK506 の作用を調べた結果、FK506 が IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, INF- $\gamma$ , GM-CSF の産生を抑制し、その効果は既知の Betamethasone valerate と同程度もしくはそれ以上であることを明らかにした。これらの結果から、著者は FK506 が同種のサイトカインの介在する他のアレルギー性疾患に対しても有効である可能性を示唆した。

以上、本論文は免疫抑制剤 Tacrolimus の抗アレルギー作用について、アトピー性皮膚炎を標的としてその薬理作用を明らかにしたものであり、その成果はアトピー性皮膚炎の治療薬の臨床開発研究において重要な基礎的知見となる。

よって、本論文は博士(薬学)の論文として価値あるものと認める。

さらに、平成13年12月20日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。