

論文内容要旨

論文題目

炎症後色素沈着症のモデル動物の確立と病態解明

責任講座： 皮膚科学 講座
氏名： 中野 祥子

【内容要旨】(1,200字以内)

《背景》

炎症後色素沈着 (PIH: Post-inflammatory hyperpigmentation) は、アトピー性皮膚炎などの患者において整容面で問題となることが多く、QOL を著しく低下させる。過去の所属研究室の報告で、ヒトの表皮と同程度のメラノサイトが存在し表皮ケラチノサイトにもメラニンが沈着するヒト型表皮を持つ遺伝子導入マウスを、さらにヘアレス化したマウス (hk14-SCF Tg/HRM) の作製に成功した。本研究では、hk14-SCF Tg/HRM に接触皮膚炎を繰り返すことで、その後 PIH を発症させることに成功し、再現性のある PIH モデルマウスの作製法を確立した。このマウスを用い、組織学的検討、分子生物学的検討、ならびに外用剤塗布による効果について検討した。

《方法》

hk14-SCF Tg/HRM の背部に、DNFB: 2, 4-dinitrofluorobenzene を合計 9 回反復塗布し、くり返し接触皮膚炎を生じさせた。その後 PIH を確認し、炎症後色素沈着マウスとして使用した。まず、本マウスの皮膚色 (メラニンインデックス) と組織学のおよび肉眼的経過を観察した。次に、皮膚組織内における各炎症性サイトカインの mRNA 発現をリアルタイム PCR で解析した。PIH の病態解明のため、表皮/真皮メラニン量を画像解析とメラニン分解産物によって解析し、真皮メラニン含有細胞について免疫組織化学染色 (マウスマクロファージマーカーとして抗 F4/80 抗体) と電子顕微鏡により検討した。最後に、PIH に対する各外用剤塗布の効果を経時的にメラニンインデックスと写真により評価した。

《結果》

炎症後色素沈着モデルマウスでは、くり返し接触皮膚炎を生じた後から徐々にメラニンインデックスが低下した。また、組織学のおよび肉眼的に PIH を反映していた。炎症性サイトカインの検討では、今回調べ得た IFN γ 、TNF α 、IL-2, 4, 5, 13 で、統計学的有意に mRNA 発現が増強していた。表皮/真皮メラニンの動態解析では、表皮より真皮のメラニンがより長期間残存することが示された。抗 F4/80 抗体による免疫組織化学染色では、真皮のメラニン含有細胞のうち F4/80 陽性となる細胞は半分以下だったが、電子顕微鏡による観察では真皮メラニン含有細胞は主にマクロファージであり、真皮メラニンの貪食に F4/80 陰性のマクロファージが関与する可能性が示唆された。PIH に対して外用剤を塗布したところ、コントロールと比較してメラニンインデックス値に有意差を認めなかったが、0.25%トレチノイントコフェリル軟膏と 8%トラネキサム酸軟膏についてはメラニンインデックス値に低下の傾向がみられた。

《結論》

本研究では炎症後色素沈着モデル動物の作製に成功し、そのモデル動物による検討で、真皮で残存するメラニンの大部分がマクロファージ、特に F4/80 陰性マクロファージに貪食されていることが明らかとなり、マクロファージを対象とした炎症後色素沈着に対する新しい治療戦略が示唆された。今後はモデル動物を使用することにより今まで困難であった PIH の病態解明をさらに進め、治療法の開発にもつなげることが期待される。

平成 31 年 1 月 21 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 中 野 祥 子

論文題目： 炎症後色素沈着症のモデル動物の確立と病態解明

審査委員：主審査委員 中 島 修

副審査委員 欠 畑 誠 治

副審査委員 藤 井 順 逸



審査終了日：平成 31 年 1 月 18 日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

炎症後色素沈着は、アトピー性皮膚炎患者など、皮膚での慢性炎症を伴う疾患において、炎症が消失した後も皮膚色素沈着が持続する病態で、患者 QOL を著しく低下させにもかかわらず、現在まで、その病態解析は十分に行われていない。理由の一つとして、適切なモデル動物が確立されていないことが挙げられる。

ヒト表皮にはメラノサイトが局在するが、モデル動物として頻用されるマウスでは表皮にメラノサイトが局在せず、皮膚色素沈着が関係する病態モデル動物として、マウスは不適な特性をもつ。中野氏が所属する本学医学部皮膚科学講座では、人工的にメラノサイトを表皮に局在させたトランスジェニックマウス (hk14-SCF Tg) と、ヘアレスマウス (HRM) との複合変異マウスを作製し、メラノサイトが表皮に局在し、かつ、平均的な日本人の皮膚色を呈し、かつヘアレス化した hk14-SCF Tg/HRM を確立している。

中野氏は、この hk14-SCF Tg/HRM に対して、化学薬品塗布による繰り返し接触皮膚炎誘導を行い、アトピー性皮膚炎と類似した、サイトカイン発現パターンを呈する炎症を惹起させた。炎症誘導前と炎症誘導終了後における、メラニンインデックス (皮膚色) 解析および組織学的解析から、炎症誘導終了後 1 週間で、皮膚色が最も褐色化するものの、組織学的には皮膚炎が観察されていた。炎症誘導終了後 2 週間経過すると、表皮基底層の変化を認めず、炎症終結が組織学的に確認され、表皮および真皮でのメラニン増加が観察されることから、ヒト炎症後色素沈着症と同様の病理像を呈することを認めた。以上から、本マウスモデル系が、アトピー性皮膚炎患者でのヒト炎症後色素沈着症動物モデルとなることを示した。

さらに、中野氏は、炎症後色素沈着症でのメラニン量動態の組織学的・生化学的解析を、本マウスモデル系を利用して行い、真皮でのメラニンの残存が炎症後色素沈着の本態であることを示し、さらに、組織学的解析・電子顕微鏡解析から、真皮で残存するメラニンの大部分が、マクロファージ、特に、F4/80 陰性マクロファージに貪食されていることを明らかにし、炎症後色素沈着症の新しい治療戦略のヒントを見出した。加えて、既存の炎症後色素沈着に効果があるとされる薬剤の効果を本動物モデルで検証している。

本研究では、確立された炎症後色素沈着症モデル動物を利用して、現在まで不明であった、炎症後色素沈着症の詳細な病態解明がなされ、新しい治療戦略が示唆された。また、hk14-SCF Tg/HRM が、皮膚色素沈着に関わる動物モデルとして汎用性を有していることが示された。

以上より、審査会では、本研究が学位 (医学博士) の授与に十分、相応しいものと判定した。

(1, 200 字以内)