

軟サンゴフトウネタケ抽出物（MC-1）の抗炎症、抗アレルギー性皮膚炎作用発現メカニズムの解析

崔, 学柱

<https://doi.org/10.15017/1785456>

出版情報：九州大学, 2016, 博士（創薬科学）, 論文博士
バージョン：
権利関係：全文ファイル公表済

氏名	崔 学柱		
論文名	軟サンゴフトウネタケ抽出物 (MC-1) の抗炎症、抗アレルギー性皮膚炎作用 発現メカニズムの解析		
論文調査委員	主査	九州大学	准教授 宮本智文
	副査	九州大学	教授 森元 聡
	副査	九州大学	准教授 田中宏幸
	副査	九州大学	准教授 渡 公佑

論文審査の結果の要旨

日本をはじめとする先進国では、産業の発展に伴う大気汚染、食生活や生活環境の変化によるアレルギー疾患の有病率が増加しており、韓国も産業化と都市化などの影響で、大人の喘息とアトピー患者数は毎年増加している。アレルギーは、再発が頻繁で症状が悪化すると、通常为社会活動に制約が生じるだけでなく、長期の通院や入院治療が必要となる。このように、韓国や日本など多くの国々でアトピー、喘息などアレルギー性疾患の増加が大きな社会問題になっている。現在までに知られているアトピー性皮膚炎の治療に使用されている薬にはステロイド剤や抗ヒスタミン剤の塗布、及び、その服用の他、免疫抑制剤が使用されており、ほとんどはステロイド剤で、大量または長期間の使用により全身的には副腎皮質機能低下、局所的には皮膚萎縮、毛細血管拡張など重篤な副作用を起こす可能性が高く、安全性に問題がある。そこで、これらステロイド剤に代わる副作用の少ない伝統的漢方薬や天然物からアレルギー性炎症を抑制する物質を単離、同定し、アトピーなど炎症性の疾患の治療に有効な生物応答調節 (BRM) 剤の開発が望まれている。本研究では、沖縄県沿岸に生息する軟サンゴフトウネタケのノルマルヘキササン抽出物 (以下、MC-1) を使用し、MC-1 の抗炎症、抗アレルギー作用発現メカニズムを *in vitro* と *in vivo* で解析した。

各種培養細胞株に対する MC-1 の細胞増殖阻害活性を検討した結果、MC-1 は全ての細胞株に対し、2 μ g/ml 濃度では増殖を阻害しなかった。THP-1 細胞と EoL 細胞に対しては 4 μ g/ml、Raw264.7 細胞と Jurkat 細胞に対しては、8 μ g/ml の濃度で細胞増殖阻害活性を示した。次に、各種培養細胞に対する MC-1 の抗酸化、抗炎症活性を評価した。マウスマクロファージ由来細胞株である Raw264.7 細胞を LPS で刺激し、産生した ROS と NO 生成抑制活性を検討した結果、MC-1 は濃度依存的な産生抑制活性を示した。また、MC-1 は炎症や発熱を起こし、リンパ球や好中球などを活性化する IL-1 β の産生に対し、ELISA 測定と mRNA 発現解析により、濃度依存的な抑制活性を有することが確認された。また、MC-1 は LPS 刺激による Raw264.7 細胞での IL-13 産生を抑制した。更に、MC-1 は単球、マクロファージ、血管内皮細胞などから産生され IL-6, IL-8 などの産生を誘導し、細胞膜表面の TNF- α receptor に結合して炎症をおこす TNF- α の産生と TNF- α mRNA の発現を Raw264.7 細胞及び Jurkat 細胞株に対し著しく抑制した。ヒト T 細胞株である Jurkat 細胞に対し、MC-1 は IL-4, IL-5 の産生を著しく抑制した。一方、IgE の産生を抑制する INF- λ の生成は促進した。MC-1 はマウス由来のマクロファージ細胞株である Raw264.7 細胞で IL-6 の産生や IL-6 の mRNA 発現を抑制した。また、ヒト単球細胞株である THP-1 細胞とヒト好酸球細胞株である EoL-1 細胞で、濃度依存的に IL-6 の産生を抑制した。MC-1 はヒト単

球細胞株である THP-1 細胞に対して、4 μ g/ml 濃度で有意な IL-8 の産生抑制活性を示し、MCP-1 の分泌は全濃度で有意な抑制を示した。ヒト好酸球細胞株である EoL-1 細胞に対しても、THP-1 細胞と同様に IL-8 は 4 μ g/ml 濃度で有意な産生抑制活性を示し、MCP-1 の分泌は全ての濃度で抑制する傾向を示した。以上の実験結果より、MC-1 が炎症関連細胞群に対し、炎症性サイトカインやケモカインの産生抑制効果を介して抗炎症、抗アレルギー作用を示すことが示唆された。

次に、屋内塵性ダニ (HDM) 粉末を背部皮膚に塗布して誘起した皮膚炎 NC/Nga マウスを用い、MC-1 の抗炎症作用と作用機序を解析した。MC-1 の経口投与により、臨床的肉眼薬効評価では MC-1 投与群で対照群に比べて 紅斑、浮腫、痂皮、苔癬化などの症状が顕著に抑制された。MC-1 の毒性については、肝機能指標である ALT は正常群との差は認められなかったが、AST 数値は、投与量の増加により若干増加することが確認された。腎臓機能指標である BUN 数値は若干抑制されることが確認されたが、クレアチニン数値に顕著な腎毒性は確認されなかった。また、MC-1 投与により 15weeks で血清中の IgE は両量共にほぼ正常値に改善された。更に、MC-1 は histamine の血清中のレベルはほぼ正常値に改善した。CD3/CD28 で誘導した脾臓細胞培養液で IL-4 と INF- λ の産生量を測定した結果、Th2 細胞サイトカインである IL-4 の用量依存的な産生抑制活性が見られたが、Th1 細胞のサイトカインである INF- λ には顕著な産生亢進作用が確認された。MC-1 の投与により白血球数の減少と好中球数は増加がみられ、また、リンパ球数は対照群に比べて、有意な減少を示した。PBMC を分離し CD4⁺免疫細胞数を解析したが、有意な変動は確認されなかった。更に、ALN と dosal skin 中の免疫細胞数は、対照群に比べて MC-1 の投与群で有意な減少を示した。しかし、DLN 中の CD4⁺免疫細胞については、すべての投与群で CD4⁺免疫細胞の有意な増加が確認された。CD8⁺免疫細胞数は PBMC や ALN, dosal Skin 中で、対照群に比べて有意な減少を示したが、DLN 中の CD8⁺免疫細胞は、対照群に比べてすべての投与群で CD8⁺免疫細胞の有意な増加を示した。MC-1 の経口投与により、すべての投与群で CCR3⁺免疫細胞数の有意な減少が確認された。CD4⁺/CD25⁺免疫細胞は ALN 中では MC-1 (400mg/kg) 投与群で有意な減少を示したが、DLN 中ではすべての投与群で有意な増加を示したこれは背中のアトピー性皮膚炎発症部位に近い DLN 中の regulatory T リンパ球が活性化されたことによると考えられる。Dosal skin での IL-5 と IL-13 の遺伝子発現はすべての MC-1 投与群で有意に減少した。皮膚組織を H & E 染色と toluidine blue 染色により解析した結果、対照群は、epidermis の厚さが過形成、展開されていた。また、その周辺に色素沈着、顆粒の増加、不全角化症、肥満細胞の浸潤が上群に比べて顕著に増加したが、MC-1 (200mg/kg) 投与群では、対照群に比べて、正常群の近くに epidermis の厚さが減少し、その周辺に細胞変形と放棄の症状、肥満細胞の浸潤の減少が認められた。以上、MC-1 は Th1 と Th2 細胞のバランスや免疫細胞の調節により、抗炎症、抗アレルギー作用を発現していることが明らかとなった。

以上の結果より、本論文は博士 (創薬科学) の学位を授与するに相応しいと判定した。

2. 原則として、次の書式で作成すること。

「論文内容の要旨」は、12ポイント（センタリングしておくこと）

本文の文字サイズは、10.5ポイント

1行の字数44字、行数42行

左右20mm・上下25mm程度あけ、ページ数は記入しないこと

3. 論文内容の結果の要旨は、2枚程度にまとめること。

*この原稿は、「九州大学博士学位論文内容の要旨及び審査の結果の要旨」の原稿としてオフセット印刷しますので、鮮明な原稿を提出すること