

氏 名（本籍） たけ まつ ひで あき
竹 松 英 明

学 位 の 種 類 医 学 博 士

学 位 記 番 号 医 第 1 5 9 2 号

学位授与年月日 昭 和 5 9 年 9 月 5 日

学位授与の要件 学位規則第5条第2項該当

最 終 学 歴 昭 和 5 2 年 3 月
東北大学医学部医学科卒業

学 位 論 文 題 目 組織学的色素失調状態におけるメラニン顆粒の真皮内での動態および真皮からの除去の試みについて

（主 査）

論文審査委員 教授 田 上 八 郎 教授 多 田 啓 也

教授 京 極 方 久

論文内容要旨

目 的

組織学的色素失調では、表皮内のメラニンが真皮内に沈着し、刺青でみられるような状態にある。固定薬疹、リール黒皮症等多くの疾患でみられる。これらのメラニン顆粒は、刺青でみられるように、マクロファージ内に取込まれ、様々な治療に反応しにくい。メラニン合成を迎えるアスコルビン酸、ハイドロキノンは全く効果がなく、また、色素沈着の部位を剥ぎとる方法も試みられたが、あとに瘢痕、色素沈着を残す等の欠点があった。このように、組織学的色素失調は、後天的色素沈着症のなかでも治療法がもっともかえりみられなかったものである。

今まで組織学的色素失調状態の検索は、光顕あるいは電顕を用いた形態学的なものが用いられ、メラニン量の変化をとらえることが十分にできなかった。そのため、メラニンを含むオルガネラであるメラノソームを標識し、これをモルモット皮内に注入し、経時的な変化をとらえる方法を用いた。メラノソームはマクロファージ内にとりこまれるので、マクロファージに毒性のあるカラゲナンを投与した場合の効果、次に、炎症性細胞をより多く色素沈着部位に集め、リンパ管系へ送り込ませる方法を試みた。また、マクロファージに対する抗血清を色素沈着部位に注入し、メラニンを細胞外へ放出させた場合の効果について検討した。

方 法

1) 標識メラノソームの作製 : スイス・マウスの皮下にマウス・メラノーマを移植し、腫瘍が1~2cmになった時点で ^{14}C amino acid mixture あるいは ^3H -dopa をモルモットの腹腔内に投与し、メラノソームの蛋白あるいはメラニン部分を標識した。2) 実験的組織学的色素失調の作製 : 1) で得た標識メラノソームをモルモット皮内に注入し、2週間たち、マクロファージに取込まれた時点で、組織学的色素失調状態として用いた。3) カラゲナンの腹腔内投与 : メラノソームがマクロファージに取込まれる過程を阻害した場合の効果を見るため、 ^{14}C -amino acid mixture で標識したメラノソームを皮内注する時、マクロファージに毒性のあるカラゲナンを腹腔内に投与した。その後、メラノソームを皮内注した部に残っている放射活性を経時的に測定した。3) 炎症性浸潤細胞の効果 : 炎症の際集ってくる細胞にメラノソームを取込ませ、リンパ管系へ送り込ませることを期待して、dinitrochlorobenzene (DNCB) による炎症を、実験的色素失調部位に起させた。その後、その場に残っている放射活性を経時的に測定した。4) 抗マクロファージ抗血清の作製 : モルモット腹腔内から得たマクロファージでウサギを免疫し得た。5) 抗マクロファージ抗血清の効果 : 実験的色素失調部位に、抗血清を3回皮内注し、残ってい

る放射性活性を測定した。

結 果

1) カラゲナン腹腔内投与のメラノソーム除去に対する効果：カラゲナンを投与すると、蛋白部分の消失の抑制がみられ、7日後の時点で、コントロールより明らかな抑制効果が認められた。2) 炎症性細胞によるメラノソーム除去効果：DNCB塗布により、標識メラノソームの消失が促進され、7日目では、約28%の消失が認められた。3) 抗マクロファージ抗血清の性状：蛍光抗体法で、モルモット・マクロファージの細胞膜との反応性がみられた。細胞毒性試験では、dose-dependentな効果がみられた。この効果は、メラノソームを貪食させたマクロファージと、貪食させていないマクロファージで有意な差はみられなかった。4) 抗マクロファージ抗血清のメラノソーム除去に対する効果：抗血清を注入すると強い炎症反応がみられ、抗血清を希釈しない場合には壊死に陥った。ところが、標識メラノソームの消失の程度は、正常血清あるいはPBSを注入した部位と同様であった。

考 察

カラゲナンを投与するとメラノソームの消失が抑制されたのは、カラゲナンがモルモット腹腔へマクロファージを動員し、かつこれに toxic に働いた結果、メラノソームを注入した部位へのマクロファージの集積が抑えられ、マクロファージに取込まれるメラノソームの量が減ったためと考えられる。このことは、Boyden 法でメラノソームがマクロファージに対し chemo tactic に働いているという以前の実験結果とあわせ、マクロファージが局所に動員され、メラノソーム除去作業をさかんに行っていることを示すものである。

DNCB塗布による炎症反応を起させると、メラニン除去の部分的促進がみとめられた。このことは、一回だけでは不十分であっても、反復して行い得るならば、最終的にはかなりの効果があることを示唆し、今後このやり方にもとづく治療応用への光明を残したと評価できる。

マクロファージに対し toxic に働く抗血清を注入してもメラノソーム除去が行えなかったのは、新たに局所に集ってメラノソームを貪食したマクロファージがリンパ管系へ移動できなかったためと考えられる。

審 査 結 果 の 要 旨

組織学的色素失調は、全身性紅斑性狼瘡等多くの皮膚疾患に認められる色素沈着であり、皮膚の表皮基底細胞が障害され、それに含まれるメラノソームが真皮内マクロファージに貪食され、いれずみでみられるような真皮内色素沈着になっている。このように、メラノソームがマクロファージに貪食された組織学的色素失調は、きわめて慢性の経過をとることが多い。これに対する治療としては様々な療法が試みられたが、まったく効果を挙げていないといってよく、組織学的色素失調は後天的色素沈着症のなかでも治療法がもっともかえりみられなかったものである。

本論文の著者である竹松英明は、組織学的色素失調で、マクロファージに貪食された真皮内メラノソームの動態をとらえるため、放射性同位元素でメラノソームを標識し、モルモットの皮内に注入し、その部位における放射活性の減衰によりメラノソームの除去をみるモデルをもちいた。このモデルで、マクロファージに毒性のあるカラゲナンを投与した場合、遅延型接触過敏反応を利用して、マクロファージなどの炎症性細胞を局所に集積した場合、さらにモルモットのマクロファージに対する抗血清を皮内に注入した場合の効果について検討した。

その結果、(1)メラノソームをモルモットの皮内に注入するとき、抗マクロファージ剤であるカラゲナンを、モルモットの腹腔に投与すると、メラノソームの真皮からの消失が抑制され、メラノソームの除去にマクロファージが重要な役割を演ずることがわかった。(2)メラノソームを注入してある部位に、dinitrochlorobenzene, DNCBにより遅延型接触皮膚炎を起こし、マクロファージをはじめとする炎症性浸潤細胞をあつめると、メラノソームがより多く真皮から除去された。(3)メラノソームをとりこんでいる細胞であるモルモットのマクロファージに対する抗血清を作製し、メラノソームを注入してある部位に皮内投与したが、メラノソームの真皮からの消失は、コントロールと比較して有意な差は認められなかった。すなわち、真皮マクロファージが死に至り、メラノソームが細胞外に放出されても、その場に集まってきたマクロファージにふたたび貪食されてしまっていることがうかがわれた。

真皮内マクロファージは、組織学的色素失調の成立および色素の除去に重要な役割を演じている。本論文は、真皮内マクロファージの動態およびマクロファージに特異的に反応する薬剤、炎症性浸潤細胞、抗マクロファージ抗血清との関係について基礎的な検討を加えたものであり、学位授与に値するものと判定する。