

授与機関名 順天堂大学

学位記番号 甲第 2737 号

Suppressive effect of Yokukansan on glutamate released from canine keratinocytes

犬ケラチノサイトから放出されるグルタミン酸に対する抑肝散の抑制効果

春日 陽一郎 (かすが よういちろう)

博士 (医学)

#### 論文内容の要旨

犬のアトピー性皮膚炎 (CAD) は、アレルゲン暴露による皮膚バリア機能障害によって引き起こされる。マウスを用いた過去の報告では、皮膚におけるグルタミン酸の過剰放出が、皮膚バリア機能の回復の遅れ、表皮の肥厚および苔癬化と関連していることが示された。そして先行研究では、抑肝散 (YKS) の投与が表皮のグルタミン酸レベルを低下させることにより、NC/Nga マウスの皮膚炎の重症度と掻破行動を軽減させることを示した。しかし、イヌのケラチノサイトとグルタミン酸との関連はまだ調べられていない。さらに、YKS がケラチノサイトからのグルタミン酸放出を抑制するメカニズムも不明である。そこで我々は、イヌの前駆表皮ケラチノサイト (CPEK) からのグルタミン酸放出と、この放出に対する YKS の抑制効果を調べることを目的とした。また、CAD 治療への応用を可能にする YKS の根本的な作用機序を探索した。

その結果、CPEK は細胞密度依存的にグルタミン酸を放出し、これは YKS によって濃度依存的に抑制されることが分かった。具体的には、CPEK が 24 時間に培地中に放出するグルタミン酸は 73.2  $\mu\text{M}$  であるが、YKS を投与すると 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$  で 49.6 $\mu\text{M}$ (67.8%)、250 $\mu\text{g}/\text{mL}$  で 40.3 $\mu\text{M}$ (55.0%) そして 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$  で 37.5 $\mu\text{M}$ (51.2%) と減少した。これまでの研究で示唆されているような、N-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) 受容体拮抗作用やグルタミン酸トランスポーターの活性化が関与している証拠は認められなかった。さらに、YKS と同様に、グルタミン酸デヒドロゲナーゼ阻害剤であるエピガロカテキンガレート (EGCG) で処理すると、細胞からのグルタミン酸放出を抑制できることが示された。さらに、YKS は放射性同位元素標識グルタミンの細胞内取り込みを濃度依存的に減少させた。

今回の結果から、CPEK からのグルタミン酸放出は YKS によって効果的に抑制されることが示され、CAD 時の皮膚バリア機能維持における YKS の有用性が示唆された。また、CPEK は YKS の作用機序を解析するのに適していることが示された。YKS の作用機序は、これまでの研究で報告されているものとは異なることがわかったが、正確な機序と CAD 治療における臨床的有効性を解明するためには、さらなる研究が必要である。