

平成28年1月

和久本圭子 学位論文審査要旨

主 査 海 藤 俊 行
副主査 梅 北 善 久
同 山 元 修

主論文

Novel *in vivo* observations on double acting points of luliconazole on *Trichophyton rubrum*: an ultrastructural study

(*In vivo* における *Trichophyton rubrum* に及ぼすルリコナゾールの2重作用点の新規観察：電子顕微鏡学的研究)

(著者：和久本圭子、山田七子、森野慎一、山元修)

平成27年 Medical Mycology 53巻 860頁～867頁

参考論文

1. Solitary sclerotic fibroma of the skin: morphological characterization of the 'plywood-like pattern'

(皮膚の孤発性硬化性線維腫：木目様パターンの形態学的特徴づけ)

(著者：和久本(中島)圭子、山田七子、足立孝司、吉田雄一、山元修)

平成20年 Journal of Cutaneous Pathology 35巻 74頁～79頁

2. Solitary sclerotic neurofibroma of the skin

(皮膚の孤発性硬化性神経線維腫)

(著者：和久本(中島)圭子、山田七子、吉田雄一、山元修)

平成20年 The American Journal of Dermatopathology 30巻 278頁～280頁

3. Primary cutaneous aspergillosis

(原発性皮膚アスペルギルス症)

(著者：和久本(中島)圭子、山田七子、吉田雄一、山元修)

平成22年 Acta Dermato-Venereologica 90巻 519頁～520頁

学 位 論 文 要 旨

Novel *in vivo* observations on double acting points of luliconazole on *Trichophyton rubrum*: an ultrastructural study

(*In vivo* における *Trichophyton rubrum* に及ぼすルリコナゾールの2重作用点の新規観察：電子顕微鏡学的研究)

皮膚糸状菌に対する抗真菌外用薬の作用については、これまで *in vitro* 標本について走査型電子顕微鏡（走査電顕）や透過型電子顕微鏡（透過電顕）を用いた研究が行われてきた。一方、*in vivo* 標本については、糸状菌感染動物に抗真菌薬を外用して作用を検討した論文は報告されているが、ヒトの *in vivo* 標本で皮膚糸状菌に対する抗真菌外用薬の作用について電子顕微鏡学的に明らかにした報告はない。本研究では、*Trichophyton* 属に対し *in vivo* と *in vitro* において抗真菌活性を示す、新しいイミダゾール系の抗真菌外用薬ルリコナゾールをヒト足白癬病変に外用し、治療前後で鱗屑内 (*in vivo* 標本) の皮膚糸状菌に生じた形態学的変化を電子顕微鏡で観察してルリコナゾールの作用点を明らかにした。

方 法

典型的な臨床所見と真菌検査の陽性判定により、足白癬と診断された12名の患者を抽出した。1%ルリコナゾール含有抗真菌外用薬を塗布する前後（前、1日目、7日目）の病変部から鱗屑を採取し、走査電顕と透過電顕を用いて鱗屑中の糸状菌の形態学的観察を行った。

結 果

全症例で病変部から *Trichophyton rubrum* が培養、同定された。

走査電顕観察では、外用前は、角質細胞表面に沿うように、表面が平滑で均一な幅の菌糸が直線的に伸長していたが、外用1日後では、菌糸が部分的に膨化し、数珠状になっていた。さらに菌糸は分岐したあと伸長が止まり、先端がつぼみ状になっている部位も観察された。膨化している菌糸の表面は粗であった。外用7日後では、短縮、扁平化、捻じれといった劇的な形態学的変化が認められた。

透過電顕観察では、外用前は、角質細胞の間に隔壁により区切られた菌糸が観察された。細胞壁は平均の厚さが0.4 μm であり、整然とした層状構造を呈していた。外用後の大きな

特徴は、最初に細胞壁に変化が認められた点である。まず、細胞壁の最外層に顆粒状物質の沈着が確認されたが、この時点では細胞壁は層状構造を保持していた。この顆粒状物質は、徐々に細胞壁の最外層に蓄積して網目状になったあと、最外層から遊離するのが確認された。更に細胞壁外層が変性し、層状構造の喪失や層の解きほぐれによる膨化が認められた。これに続いて細胞壁内層の層状構造の電子密度が低下して不明瞭になる変化が現れた。一方、細胞膜の明瞭な形態変化は、細胞壁内層の変性後に初めて観察された。細胞膜は部分的に断裂して、細胞質の変性を伴うことがあった。外用7日後では、更に細胞質の虚脱が認められた。

考 察

In vivo におけるルリコナゾールの作用は、走査電顕観察では従来報告されたイミダゾール系抗真菌外用薬の *in vitro* での濃度依存性の作用と類似していた。透過電顕観察では、最初に顆粒状物質が細胞壁最外層に出現し、次に細胞壁の外側から層状構造の喪失と膨化が認められ、遅れて細胞膜の変化が現れることが初めて明らかになった。ルリコナゾールは既知のエルゴステロール生合成阻害作用の他に、細胞壁に対する直接的あるいは間接的な変性作用により菌糸を破壊する可能性が示唆された。

結 論

ヒト足白癬病変部の鱗屑中の皮膚糸状菌に対するイミダゾール系抗真菌薬ルリコナゾールの作用について電子顕微鏡学的検討を行った。透過電顕観察により最初に菌糸の細胞壁に変化が起こり、遅れて細胞膜の変化が起こることが判明したことから、ルリコナゾールは鱗屑中の皮膚糸状菌に対して細胞壁と細胞膜の2つの作用点を有する可能性が考えられた。