接触性皮膚アレルギー反応に対する新しい シクロスポリン軟膏の有用性

武永美津子・柳川 明・工藤敏隆・松本香代・川合眞一・五十嵐理慧・水島 裕*

A new valuable CSA ointment on contact skin reactions

A new cyclosporin A (CSA) ointment was prepared and its effect on contact skin reactions was evaluated in guinea pigs. 0.1% or 0.5% dinitrofluorobenzene (DNFB)-induced contact skin reactions were inhibited by twice daily topical application of 1~10% CSA ointment preparation, which showed more potency as compared to those of other topical CSA's or steroids. In contrast to oral administration of CSA (50 mg/kg) for 4 days, topical application over the same period resulted in more suppressive effect on contact skin reactions with rather lower CSA levels in blood (150 ng/ml). CSA contents of this preparation were little changed even at 60°C for 3 months.

These results indicate that this new CSA ointment is effective and stable preparation. Moreover, there would be a possibility that this preparation may be valuable in the treatment of human cutaneous immune-mediated disorders.

Mitsuko Takenaga・Akira Yanagawa・Toshitaka Kudo・
Kayo Matsumoto・Shinichi Kawai・Rie Igarashi・
Yutaka Mizushima*

key words: cyclosporin A (CSA), topical application, contact skin reaction, DNFB

シクロスポリン(cyclosporin A, CSA)は、サンドファーマ社(スイス)によってノルウェーの土壤において発見された真菌の一種である *Tolypocladium inflatum* Gams から抽出された物質で、構造的には 11 個のアミノ酸からなる分子量 1203 の cyclic peptide である。CSA が細胞性ヘルパー T 細胞の機能低下を介する免疫抑制作用を示すことは Borel らにより報告され¹⁾、さらに動物による同種移植において CSA が移植弁の生着延長効果を示し²⁾ 移植免疫に有効であることが明らかとなり、強力な免疫抑制剤として現在までに腎移植、骨髄移植などに広く使用されている。

また、実験的自己免疫性ブドウ膜炎の発症を CSA が強く抑制することや³⁾、臨床的にも難治性

のブドウ膜炎の治療に有用であることが明らかとなり⁴⁾、パーチェット病などにも繁用されている。以上の疾患に加え、近年実験動物の皮膚アレルギー反応^{5~11)}やアトピー性皮膚炎^{12,13)}、乾癬^{14,15)}、脱毛症^{16,17)}などの皮膚科疾患に対する CSA の全身投与あるいは外用剤の有効性が報告されてきた。とりわけ長期の全身投与による腎毒性などの副作用の観点から、外用 CSA はこれらの疾患に対してより望まれる剤形であると思われる。

しかし、これまでのところ外用剤塗布における有効例は CSA の多量投与あるいは長期にわたる投与に限られており、臨床的に十分満足できるものは少ないのが現状である。

そこで、今回筆者らは製剤的に安定で、しかもこれまでの報告例にくらべて吸収性、持続性のすぐれていると考えられる CSA 軟膏を調製し、有用性の検討を動物を用いて行った。

方 法

(1) 使用動物

日本 エスエルシー(静岡)より購入した Hartley 系雄性モルモット(体重 400~500 g)を用い、室温 23±1.0°C、湿度 55±5%、自由給水、固形標準飼料摂取による 1 週間の予備飼育のあと、実験に用いた。

(2) 試 薬

シクロスポリン(cyclosporin A, CSA)は、サンド薬品(東京)より供与を受けた。CSA 軟膏(0.1~10 W/W%)は、表 1 の処方に従って調製した。cyclophosphamide はナカライテスク(京都)、2,4-dinitrofluorobenzene(DNFB) は和光純薬(東京)からそれぞれ購入した。また、液体クロマトグラフィー(HPLC)に用いた solvent は、すべて HPLC grade のものを用いた。

(3) 接触性皮膚アレルギー反応

感作 3 日前に cyclophosphamide (200 mg/kg)を

* Institute of Medical Science, St. Marianna University School of Medicine 聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター

表 1 CSA 軟膏組成

成 分	含有範囲(W/W%)
シクロスポリン	0.1~10.0
エタノール	2.0~15.0
オリーブ油	35~60
ポリオキシエチレン グリセリルモノステアレート またはポリオキシエチレン グリセリルモノオレエート	20~45
吸収促進剤	1.0~15.0
二酸化珪素	5~10
計	100%

腹腔内投与したモルモットに 50 μ l の 10% DNFB (アセトン:オリーブ油=1:1 に溶解) を片耳朶に塗布し、感作を行った。8 日後、前もって脱毛した両側腹部に 0.5% あるいは 0.1% DNFB (アセトン:オリーブ油=4:1 に溶解) を 20 μ l 塗布し(直径 15 mm の円状)、接触性皮膚アレルギー反応を惹起した。両側腹部の対応する位置に抗原塗布後、50 μ l の軟膏基剤あるいは CSA 軟膏を塗布した。実験によっては、CSA 軟膏塗布の対応する位置に種々の外用 CSA あるいはステロイド軟膏を塗布した。この軟膏塗布は 1 日 2 回 8 時間の間隔をおいて行い、とりわけ最初の軟膏塗布に関しては、抗原である DNFB を塗布し、風乾したのち、ただちに行った。アレルギー反応の判定は、惹起から 24 時間後、48 時間後、および 72 時間後に Aldridge ら¹¹⁾の判定基準に準じて行った。

0=変化なし。1=斑状のピンク色。2=ピンク色。3=発赤。4=浮腫を伴う発赤。

(4) CSA の測定

血中 CSA は経時的に心臓採血を行い、EDTA を含む全血を Wolf らの方法に従い¹⁸⁾、radioimmunoassay (RIA)法により測定した。

軟膏 CSA 濃度はエタノール抽出のあと、70°C に設定したカラムオープン内に ODS-5 μ m(4.0 ϕ $\times$ 150.0 mm)カラム(Rockland Technologies, Inc., USA)を装着した HPLC system(島津製作所、東京)を用い、検出波長 214 nm で測定した。10 mM KH₂PO₄: CH₃OH=3:7(v/v)から 6 min 後に CH₃OH 100% に切りかわる gradient system で流速 1 ml/min で CSA を溶出させた。以上の条件下での standard CSA 溶出時間は 10.8 min であった。

表 2 Inhibitory effect of topical CSA on skin test reactivity to DNFB

CSA	intensity of reaction		
	24	48	72 (hr)
(a) 0.1% DNFB			
0.1% -★ n=8	2.1 $\pm$ 0.3	3.1 $\pm$ 0.2	2.5 $\pm$ 0.2
+	0.3 $\pm$ 0.2 ^{*2)}	1.0 $\pm$ 0.2 ^{*2)}	0.8 $\pm$ 0.2 ^{*2)}
1.0% - n=8	2.4 $\pm$ 0.3	3.1 $\pm$ 0.2	2.4 $\pm$ 0.2
+	0.1 $\pm$ 0.1 ^{*2)}	0.4 $\pm$ 0.3 ^{*2)}	0.1 $\pm$ 0.1 ^{*2)}
10% - n=4	2.0 $\pm$ 0.4	3.0 $\pm$ 0	2.3 $\pm$ 0.3
+	0 $\pm$ 0 ^{*1)}	0.5 $\pm$ 0.3 ^{*1)}	0.3 $\pm$ 0.3 ^{*1)}
(b) 0.5% DNFB			
0.1% - n=9	3.4 $\pm$ 0.2	3.4 $\pm$ 0.2	2.7 $\pm$ 0.2
+	2.4 $\pm$ 0.3	2.7 $\pm$ 0.3	1.8 $\pm$ 0.3
1.0% - n=9	3.4 $\pm$ 0.2	3.4 $\pm$ 0.2	2.7 $\pm$ 0.2
+	0.7 $\pm$ 0.3 ^{*2)}	1.0 $\pm$ 0.3 ^{*2)}	0.6 $\pm$ 0.2 ^{*2)}
10% - n=4	3.3 $\pm$ 0.3	3.3 $\pm$ 0.3	2.3 $\pm$ 0.3
+	0.8 $\pm$ 0.5 ^{*1)}	1.0 $\pm$ 0.6 ^{*1)}	1.0 $\pm$ 0.6

Values are expressed as means $\pm$ SD.

★: vehicle treatment

*¹⁾ P<0.05, *²⁾ P<0.01 vs vehicle treatment

(5) CSA 軟膏安定性試験

5% CSA 軟膏と対応する基剤をアルミ製チューブに封入し、4°C、40°C、60°C に保存した。作成時および保存後 1 カ月ごとに軟膏をエタノールによる抽出を行い、CSA 量を HPLC によって測定した。

(6) 統計学的処理

表示した数値は、平均土標準偏差であらわした。アレルギー反応でのスコア値は、符号付き Wilcoxon 順位と検定を行い、P<0.05 のとき有意差ありとみなした。

結 果

(1) CSA 軟膏の接触性皮膚炎に対する抑制効果

0.1% DNFB 塗布によって誘発された接触性皮膚アレルギー反応は、48 hr 後にもっとも強い反応を示した。これに対して 0.1% CSA 軟膏を塗布した場合、24 hr 後のアレルギー反応をいちじるしく抑え(P<0.01)、48 hr 後、72 hr 後についても同様に有意に抑制した。また、1%および 10% CSA 軟膏を塗布した場合も同様に、いずれも有意な抑制が認められた(表 2 a)。

0.5% DNFB 塗布によって接触性皮膚アレルギー

図1 CSA concentration in whole blood

Blood was collected 1hr after CSA treatment (arrow, $\Rightarrow$ topical administration, $\Rightarrow$ p.o.) by (O) 5% ointment (5 mg $\times$ 2/day) or (●) p.o. (50 mg/kg/day).

Values are expressed as means $\pm$ SE. CSA ng/ml derived from four animals. CSA levels before treatment were not detectable (<20 ng/ml).

ー反応を誘発すると、24 hr 後から 48 hr 後にかけてもっとも強いアレルギー反応があらわれた。0.1% CSA 軟膏を塗布した場合、反応を抑える傾向はあるものの有意差は認められなかった。一方、1% CSA 軟膏を塗布した場合、24 hr 後の皮膚アレルギー反応をいちじるしく抑えており ($P<0.01$)、48 hr 後、72 hr 後についても同様に有意に抑制した。また、10% CSA 軟膏を塗布すると、1% CSA 軟膏塗布と同様に有意な抑制が認められた(表2b)。

(2) CSA 軟膏塗布による血中濃度の推移

予備的な検討で、軟膏塗布後 1 hr および 4 hr 後の血中 CSA 濃度には、あまり変化が認められなかった。そこで軟膏を塗布してから 1 hr 後に採血し血中 CSA 濃度を RIA 法により測定した。図1に示したように、軟膏塗布(0.5% DNFB アレルギー反応を惹起させた4ポイントについて5% CSA 軟膏を1日2回塗布、1ポイントにつき CSA 5 mg $\times$ 2/day 塗布)に伴い、血中 CSA 濃度は漸次増加した(day 3, 150 ng/ml blood)。こ

表3 Comparison of a new CSA ointment preparation with other CSA's on skin test reactivity to 0.5% DNFB

treatment CSA (%)	intensity of reaction		
	24	48	72 (hr)
no treatment 0	3.3 $\pm$ 0.4	3.0 $\pm$ 0	2.5 $\pm$ 0.4
①★ 10	2.0 $\pm$ 0.9	2.3 $\pm$ 1.0	0.8 $\pm$ 0.4
10	0.6 $\pm$ 0.5 ^{*2)}	0.6 $\pm$ 0.8 ^{*2)}	0.7 $\pm$ 0.6 ^{*2)}
②★ 5	2.2 $\pm$ 0.9	2.2 $\pm$ 1.1	1.8 $\pm$ 0.8
5	0.8 $\pm$ 0.4 ^{*1)}	1.0 $\pm$ 0.6	0.7 $\pm$ 0.6 ^{*1)}
③★ 5	2.2 $\pm$ 0.7	2.3 $\pm$ 1.0	1.9 $\pm$ 0.2
5	0.8 $\pm$ 0.3 ^{*1)}	0.8 $\pm$ 0.7	0.8 $\pm$ 0.5 ^{*2)}
④★ 10	0.8 $\pm$ 0.7	1.7 $\pm$ 0.5	2.0 $\pm$ 0.0
10	0.5 $\pm$ 0.5	0.8 $\pm$ 0.5 ^{*1)}	0.7 $\pm$ 0.6 ^{*2)}

Values are expressed as means $\pm$ SD. Six animals were used in each group.

*¹⁾ $P<0.05$, *²⁾ $P<0.01$ vs the treatment of CSA ointment containing various vehicles. Each lower score value is the result obtained from the treatment of newly-prepared CSA ointment.

★: Vehicles are as follows. ① polyoxy-5-oleate, olive oil and ethanol. ② castor oil. ③ 20% propylene glycol-castor oil. ④ 43% olive oil, 10% ethanol, 30% polyoxyl-5-oleate and 7% SiO₂.

のとき皮膚アレルギー反応のスコア値は、24 hr 値で 0.8 ± 0.4 、48 hr 値で 0.8 ± 0.6 (mean $\pm$ SD) であった。一方、基剤塗布のみのスコア値は、それぞれ 3.0 ± 0.4 、 3.3 ± 0.4 であり、両者の間に有意差が認められることを確認した。

0.5% DNFB による皮膚アレルギー惹起直後から、軟膏塗布群とともに CSA 経口投与群(50 mg/kg/day)を加え、アレルギー反応を観察するとともに、血液中に含まれる CSA 濃度を測定した。採血は、軟膏塗布群と同様に投与後 1 hr 後に行った。経口投与の場合、漸次血中 CSA 濃度が上昇したが(図1, day 3, 830 ng/ml blood)、0.5% DNFB 接触性皮膚炎の反応は抑えなかった(24 hr 値, 3.0 ± 0.4)。

(3) 各種外用 CSA の DNFB 接触性皮膚アレルギー反応への抑制作用

これまで報告されている方法^{19,21)}に準じて種々の外用 CSA (①～④)を作成し、これらの 0.5% DNFB 誘発接触性皮膚アレルギー反応に対する抑制効果を、今回新たに調製した CSA 軟膏と比較した。

表4 Comparison of a new CSA preparation with steroids on skin test reactivity to 0.5 % DNFB

treatment	intensity of reactions		
	24	48	72 (hr)
CSA vehicle	3.7±0.5	3.5±0.5	2.7±0.8
5% CSA	1.7±0.5	1.8±0.6	1.5±0.5
10% CSA	0.8±0.8	1.0±0.8	0.8±0.6
steroid-①	3.5±0.6 ^{*2,4)}	2.7±0.5 ^{*1,3)}	1.9±0.8 ^{*4)}
steroid-②	3.5±0.6 ^{*2,4)}	2.8±0.4 ^{*1,4)}	2.1±0.2 ^{*3)}
steroid-③	3.3±0.5 ^{*2,4)}	3.0±0.2 ^{*2,4)}	2.4±0.4 ^{*2,4)}
steroid-④	3.5±0.6 ^{*2,4)}	3.3±0.5 ^{*2,4)}	2.8±0.3 ^{*2,4)}

Values are expressed as means±SD.

Six animals were used in each group.

*1) $P<0.05$, *2) $P<0.01$ vs 5% CSA at the same time point.

*3) $P<0.05$, *4) $P<0.01$ vs 10% CSA at the same time point.

steroid-①: 0.05% Clobetasol 17-propionate (デルモベート®)

steroid-②: 0.064% Betamethasone 17,21-dipropionate (リンデロン DP®)

steroid-③: 0.12% Betamethasone 17-valerate (リンデロン V®)

steroid-④: 0.05% Clobetasone 17-butyrate (キンダベート®)

結果は表3に示した。無処置群にくらべ、①～④の外用 CSA 塗布群は、いずれもアレルギー反応を抑制した。しかし、今回新たに調製した CSA 軟膏は、これらを上回る抑制効果を示した。とりわけ ① CSA 塗布群にくらべ、10% CSA 軟膏塗布群は、24 hr 値から 72 hr 値までいずれもいちじるしい有意の抑制効果を示した。また、②および ③ CSA 塗布群は、48 hr 値では両者の間に有意差が認められないものの、24 hr, 72 hr 値では有意差がみられた。一方、④ CSA 塗布群は、24 hr 後の皮膚アレルギー反応のスコア値は、今回新たに調製した 10% CSA 塗布とほぼ同等の力価でアレルギー反応を抑えている。ところが、④ CSA 軟膏塗布効果は 48 hr, 72 hr 後では漸次低下し、10% CSA 軟膏塗布群が有意に抑制効果を示した。

なお、これらの外用 CSA は、すべて使用前に HPLC で濃度の確認を行った。

(4) CSA 軟膏とステロイド軟膏との比較

すでに市販されているステロイド軟膏4種、デルモベート軟膏(0.05% プロピオン酸クロベタゾン)、リンデロン DP 軟膏(0.064% ジプロピオ

ン酸ベタメタゾン)、リンデロン V 軟膏(0.12% 吉草酸ベタメタゾン)、キンダベート軟膏(0.05% 酪酸クロベタゾン)を用いて DNFB 接触性皮膚アレルギー反応に対する効果を検討し、CSA 軟膏(5% および 10%)の効果と比較した。

結果は表4に示した。4種のステロイドのうち、もっとも効果の強いとされるデルモベート軟膏の 24 hr および 48 hr スコア値は、それぞれ 3.5 ± 0.6 , 2.7 ± 0.5 (mean±SD)であった。

一方、5% CSA 塗布 24 hr および 48 hr スコア値は 1.7 ± 0.5 , 1.8 ± 0.6 であり、デルモベート軟膏塗布にくらべ明らかにすぐれた抑制効果を示した。72 hr スコア値はデルモベートおよび 5% CSA それぞれ 1.9 ± 0.8 , 1.5 ± 0.5 であり、両者の間には有意の差はみられなかった。しかし、10% CSA 軟膏塗布群とデルモベート軟膏塗布群との間には有意差が認められた。

リンデロン DP 軟膏塗布にみられたスコア値は、デルモベート軟膏塗布群とほぼ同様であった。72 hr 後のアレルギー反応に対する効果は、デルモベート軟膏塗布と同様に 10% CSA 軟膏塗布群との間のみ有意の差がみられている。

また、他の2種のステロイド軟膏塗布群に対して、5%, 10% CSA 軟膏塗布群のいずれもが著明な抑制効果を示した。以上のように4種のステロイド間の皮膚アレルギー反応への抑制力価にはやや差がみられたが、CSA 軟膏塗布の抑制効果はステロイドのそれにくらべ、いちじるしくすぐれていた。

なお、ステロイド軟膏の vehicle は入手不可能であったため、両者の比較は行わなかった。一方、5% および 10% CSA 軟膏塗布については、基剤塗布(24 hr : 3.7 ± 0.5 , 48 hr : 3.5 ± 0.5 , 72 hr : 2.7 ± 0.8)にくらべ、接触性皮膚アレルギー反応を有意に抑制することを確認した。

表には示さなかったが、0.1% DNFB 誘発アレルギー反応に対しても同様な傾向がみられ、ステロイド軟膏塗布群にくらべ CSA 軟膏塗布群がいちじるしい抑制効果を示した。

(5) CSA 軟膏の安定性

基剤のみをエタノールで抽出後 HPLC で検出した場合、CSA のピークを妨害する物質は存在しなかった。また、4°C, 40°C および 60°C に保存後も、基剤からの妨害物質は認められなかった。

表 5 Contents of CSA (5% CSA ointment)

month	4°C	40°C	60°C
1	52.7 (102.4)	52.4 (101.8)	50.3 (97.7)
2	50.7±0.63 (98.5)	50.5±1.33 (98.2)	47.2±0.61 (91.7)
3	51.5±1.52 (100.0)	50.0±1.02 (97.1)	48.0±1.56 (93.2)
4	51.4±0.53 (99.8)	50.4±1.22 (97.9)	48.4±1.11 (94.1)

Values are expressed as mean±SD. CSA mg/g derived from two six assays.

Values in parenthesis are the percentage of CSA, where 51.5 mg per gram ointment was considered as 100%.

5% CSA 軟膏(作成時測定 51.5 mg CSA/g)を 4°C 下に 1 カ月間, 2 カ月間, 3 カ月間および 4 カ月間保存すると, 軟膏 1 g 中に含まれている CSA 量は, それぞれ 52.7 mg, 50.7 mg, 51.5 mg および 51.4 mg であった(表 5)。

40°C 保存下でも, 作成時の CSA 量と有意の差はほとんどみられなかった。

また, 60°C 保存では, 4°C, 40°C 保存とくらべ CSA 含量が低下する傾向がみられたものの, 大きな差はみられなかった。

考 察

新たに作成した CSA 軟膏は, モルモットを用いた接触性皮膚炎モデルに対してきわめていちじるしい抑制効果を示し, なおかつ 60°C 保存後も 4 カ月間安定であった。

外用 CSA が DNFB あるいは DNCB 誘発接触性皮膚アレルギー反応を抑制することは, すでに実験動物を用いて報告されている。Nakagawa⁹⁾はオリーブ油に溶解した 0.16~2.5% CSA を, Biren¹⁰⁾は azone を含む 15% CSA を, Aldridge¹¹⁾はエタノールとオリーブ油(1:2)に溶解した 2% CSA を, それぞれ用いて外用 CSA の効果を明らかにしている。

今回, 彼らの成績と同様な結果を得ただけでなく, 筆者らの調製した CSA 軟膏は製剤的にも非常に安定で, ヒトアレルギー性皮膚疾患に対してそのまま応用可能な剤形であることを示した。

外用 CSA は, ヒト皮膚科疾患に対してこれまでさまざまな試みられてきた。

Prost¹³⁾は, アトピー性皮膚炎患者に対して

10% CSA gel を 1 日 2 回疾患部位に 14 日間塗布し, 湿疹, 発赤, 出血などの項目に対していずれも placebo 塗布部にくらべて有意に抑制効果がみられたと報告している。

また, Parodi¹⁴⁾らの報告によれば, 3 年間脱毛症で苦しんだ 23 歳の男性に 0.25% CSA 含有ローションを塗布しつづけたところ, 1 年 4 カ月後にはいちじるしい改善がみられたという¹⁶⁾。

しかしこのほかには, 外用 CSA の効果について疑問視する報告が多い。たとえば, 乾癬の疾患部位に 10% CSA (CSA 量として 42 mg)を 1 日 2 回 4 週間にわたって塗布しつづけたにもかかわらず, 症状のスコア値には改善がみられていない¹⁹⁾。

Schauder²⁰⁾も同じく乾癬に対して 3 週間から 10 週間の CSA 塗布を試みているが, 明らかな改善が認められたのは 12 例中 3 例であったと報告している。

また, Cole¹⁸⁾らは, ヒト皮膚での吸収性実験を行い, もっとも吸収性にすぐれていた vehicle に溶解した 10% CSA を, 接触性皮膚炎患者に抗原惹起の 48 時間前に塗布し評価を試みたが, 10 例中明らかな効果が認められたのは 1 例のみにとどまっている²¹⁾。

実験動物で外用 CSA の有用性を示した Aldridge¹¹⁾らは, その後 nickel に対する接触性皮膚炎患者に nickel sulfate を含む 5% CSA を用いた patch test を行っているが, 18 人中 4 人が抑制効果を示したのみである²²⁾。

しかし, モルモット皮膚アレルギー反応で比較するかぎり, 今回調製した CSA 軟膏は, 上記の処方で検討された外用 CSA より著明な抑制効果を示した。これは, ヒト皮膚疾患に対しても, より有効であるように思われる。

ヒト接触性皮膚炎に対して, 臨床では多くの場合, 外用ステロイドが処方されている。Lembo¹⁷⁾らは, ヒト接触性皮膚炎に対して, ステロイド塗布群は有効であるが, CSA 塗布群は無効であると報告している²³⁾。また Aldridge¹¹⁾らも, ステロイドとして 2% hydrocortisone を用いると, モルモットに対する皮膚アレルギー反応を強く抑制することを示している¹¹⁾。

しかし今回の検討では, DNFB (0.5% および 0.1%)誘発皮膚アレルギー反応に対して, CSA 軟

膏塗布が市販のステロイド軟膏塗布にくらべ、抑制効果の点で明らかにすぐれていた。これは、基剤の内容に加え薬剤の含有率なども異なるため、単純な比較はできないものの、今後ヒトでの CSA 軟膏の有効性を強く示唆する結果といえよう。

ところで Reitamo ら²⁴⁾は、外用 CSA の DNCB に対する皮膚アレルギー反応を抑制する効果がモルモットでは大きいものに対して、ヒト健常人では小さいことを示し、ヒトと実験動物とでは皮膚からの吸収性にかかなりの隔たりがあることを指摘している。全身投与では種々の皮膚疾患に対する CSA の抑制効果が一致して認められていることから^{12, 14, 15)}外用 CSA による効果は、多くは皮膚からの吸収性が障害となっていると考えられる。これまで皮膚からの吸収を高めるために、azone, dimethylsulfoxide, pyrrolidone derivatives などを加える試みが考案されてきたが、残念ながらすぐれた成績はこれまで報告されていない^{24, 25)}。

外用 CSA 軟膏調製にあたり第一に考慮した点は、皮膚からの吸収性にすぐれ薬剤が作用点まで到達しうる剤形の設計である。モルモット皮膚に 1 日当り総量 40 mg の CSA を塗布したところ、150 ng/ml (RIA 測定法)の CSA が血中に検出されたが、これは、筆者らの調製した CSA 軟膏が皮膚からの吸収にすぐれた処方であることを強く示唆している。また、同時に皮膚アレルギー反応に対する今回の CSA 軟膏の抑制効果の強さは、この血中 CSA 濃度の結果で一部説明されると思われる。

一方、今回 CSA の経口投与の血中濃度が高値を示したのにもかかわらず、DNFB 誘発皮膚アレルギー反応をあまり抑制しなかったのに対して、CSA 軟膏は 2 分の 1 以下の量で著明に抑制した。このことは、外用剤の場合、吸収が良好ならば皮膚局所で CSA の高濃度が得られ、なおかつ高い効果が得られるものと考えられる。

副作用に関しては長期にわたる投与結果を待たなければならないので、今回の成績のみでは議論できないであろう。しかし、投与群の腎病理所見をみるかぎりにおいては、特筆すべきものはみられなかった。

CSA 軟膏調製のうえで第二に考慮した点は、作用点に到達した薬剤が薬理作用を失わず、しかも軟膏として実用可能な剤形であることである。

60°C 保存後の軟膏 CSA 量はほとんど変化がみられなかったうえに、データには示さなかったが、37°C で 3 カ月間保存後の CSA 軟膏塗布は、DNFB 誘発皮膚アレルギー反応を作成時の CSA 軟膏とほぼ同等の力価で抑制した。これは、CSA 軟膏が製剤的にも非常に安定であることを示している。

今回開発した CSA 軟膏は、実験動物の皮膚アレルギー反応に対して従来のものと比較してはるかに有効性にすぐれていた。製剤としての安定性も十分であることから、今後ヒトの種々の皮膚疾患治療薬としての臨床的な応用が期待される。

文 献

- 1) Borel, J.F.: Comparative study of *in vitro* and *in vivo* drug effects on cell-mediated cytotoxicity. *Immunology* 31: 631-641, 1976.
- 2) Dunn, D.C., White, D.J.G., Herbertson, B.M., Wade, J.: Prolongation of kidney survival during and after cyclosporin A therapy. *Transplantation* 27: 359-361, 1979.
- 3) Nussenblatt, R.B., Rodriques, M.M., Wacker, W.B., Cevario, S.J., Salinas-Carmona, M.C., Gery, I.: Cyclosporin A. Inhibition of experimental autoimmune uveitis in Lewis rats. *J. Clin. Invest.* 67: 1228-1231, 1981.
- 4) Nussenblatt, R.B., Palestine, A.G., Chan, C-C.: Cyclosporin A therapy in the treatment of intraocular inflammatory disease resistant to systematic corticosteroids and cytotoxic agents. *American J. Ophthalmology* 96: 275-282, 1983.
- 5) Borel, J., Feurer, C., Gubler, H.: Effects of the new anti-lymphocyte peptide cyclosporin A in animals. *Immunology* 32: 1017-1025, 1977.
- 6) Thomson, A.W., Aldridge, R.D.: Absence of dependence on cyclophosphamide-sensitive suppressor cells in suppression of cell-mediated immunity by cyclosporine in the guinea pig. *Transplantation* 38: 76-77, 1984.
- 7) Rullan, P.P., Barr, R.J., Cole, G.W.: Cyclosporine and murine allergic contact dermatitis. *Arch. Dermatol.* 120: 1179-1183, 1984.
- 8) 松本達二, 三上 健, 成瀬龍介, 村上知教, 佐々木 大, 渡部俊彦, 今野成子, 紺野由希子, 鈴木益子: 遅延型過敏症反応に対するシクロスポリンの抑制効果. 薬理と治療 19: 57-65, 1991.
- 9) Nakagawa, S., Oka, D., Jinno, Y., Takei, Y., Bang, D., Ueki, H.: Topical application of cyclosporine on guinea pig allergic contact dermatitis. *Arch. Dermatol.* 124: 907-910, 1988.
- 10) Biren, C., Ganderup, G., Lemus, L., McCullough, J., Barr, R.: Topical cyclosporine (CSA):

- Effect on contact dermatitis in guinea pigs. *J. Invest. Dermatol.* 82(abstract.): 419, 1984.
- 11) Aldridge, R.D., Thomson, A.W., Rankin, R., Whiting, P.H., Cunningham, C., Simpson, J.G.: Inhibition of contact sensitivity reactions to DNFB by topical cyclosporin application in the guinea-pig. *Clin. Exp. Immunol.* 59: 23-28, 1985.
 - 12) van Joost, T., Stoltz, E., Heule, F.: Efficacy of low-dose cyclosporin in severe atopic skin disease. *Arch. Dermatol.* 123: 166-167, 1987.
 - 13) Prost, Y., Bodemer, C., Teillac, D.: Double-blind randomized placebo-controlled trial of local cyclosporin in atopic dermatitis. *Arch. Dermatol.* 125: 570, 1989.
 - 14) van Joost, T.H., Bos, J., Heule, F., Meinardi, M.M.H.M.: Low-dose cyclosporin A in severe psoriasis: a double-blind study. *Br. J. Dermatol.* 118: 183-190, 1988.
 - 15) Griffiths, C.E.M., Powles, A.V., Leonard, J.N., Fry, L.: Clearance of psoriasis with low dose cyclosporin. *Br. Med. J.* 293: 731-732, 1986.
 - 16) Parodi, A., Rebora, A.: Topical cyclosporine in alopecia areata. *Arch. Dermatol.* 123: 165-166, 1987.
 - 17) de Prost, Y., Teillac, D., Paquez, F., Carrugi, L., Bachelez, H., Touraine, R.: Placebo-controlled trial of topical cyclosporin in severe alopecia areata. *Lancet* 2: 803-804, 1986.
 - 18) Wolf, B.A., Daft, M.C., Koenig, J.W., Flye, M.W., Turk, J.W., Scott, M.G.: Measurement of cyclosporine concentrations in whole blood: HPLC and radioimmunoassay with a specific monoclonal antibody and ^3H - or ^{125}I -labeled ligand compared. *Clin. Chem.*, 35: 120-124, 1989.
 - 19) Bousema, M.T., Tank, B., Heule, F., Naafs, B., Stolz, E., Joost, T.: Placebo-controlled study of psoriasis patients treated topically with 10% cyclosporin gel. *J. American Acad. Dermatology* 22: 126-127, 1990.
 - 20) Schauder, C.S., Gorsusky, D.C.: Topical cyclosporine A in the treatment of psoriasis. *Clin. Res.* 34: 1007, 1986.
 - 21) Cole, G.W., Shimomaye, S., Goodman, M.: The effect of topical cyclosporin A on the elicitation phase of allergic contact dermatitis. *Contact Dermatitis* 19: 129, 132, 1988.
 - 22) Aldridge, R.D., Sewell, H.F., King, G., Thomson, A.W.: Topical cyclosporin A in nickel contact hypersensitivity. *Clin. Exp. Immunol.* 66: 582-589, 1986.
 - 23) Lembo, G., Balato, N., Patrino, C., Ayala, F.: Influence of topical cyclosporin A on patch test reactions. *Contact Dermatitis* 20: 155-156, 1989.
 - 24) Reitamo, S., Kayhko, K., Laurema, A.I., Mustakallio, K.K.: Topical cyclosporin and contact dermatitis in guinea pig and man. *Arch. Dermatol.* 125: 568, 1989.
 - 25) Thomson, A.W., Payne, S.N.L.: Percutaneous absorption of cyclosporin. *Lancet* 1: 1000, 1988.