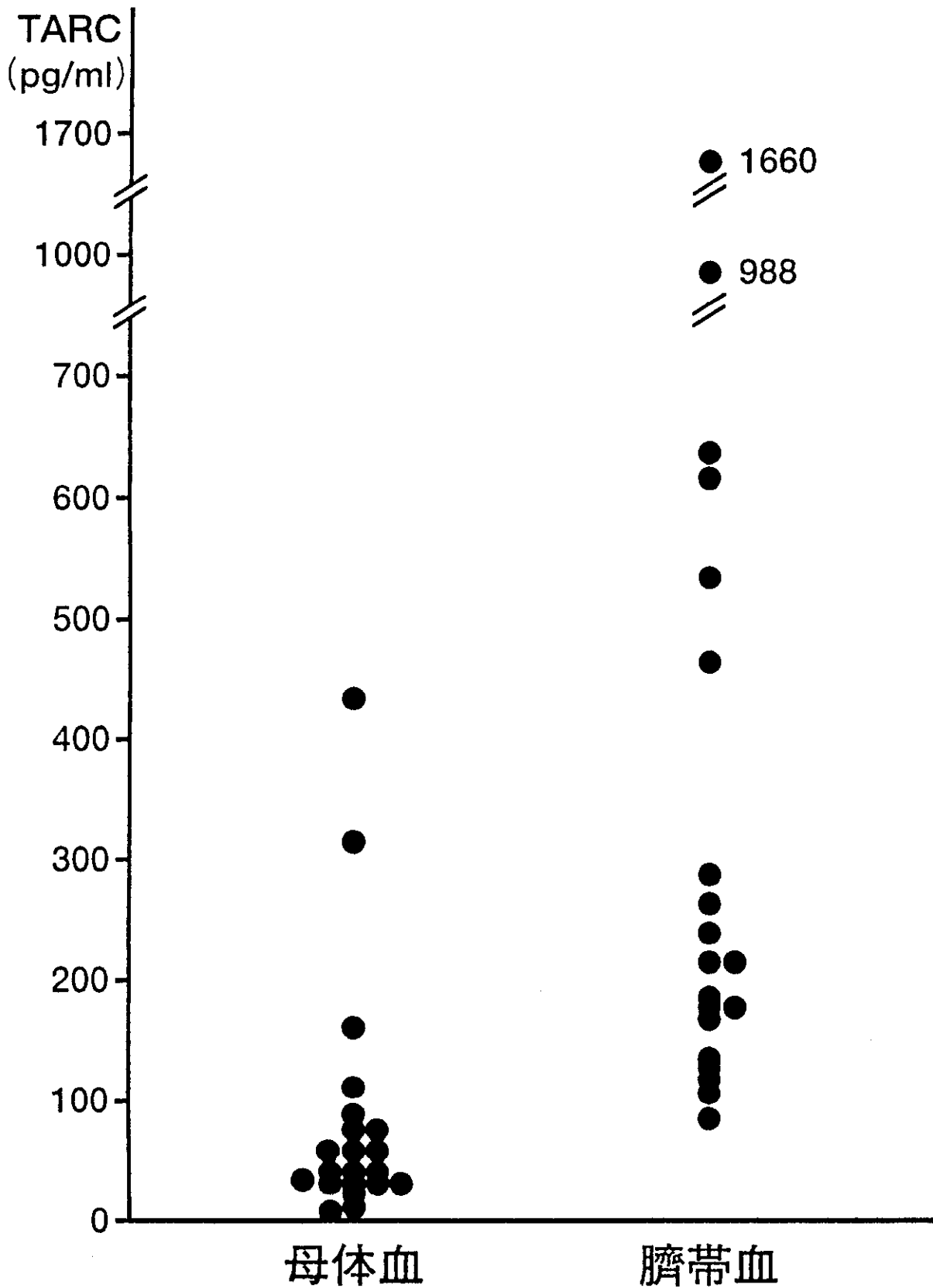


# 母体血, 臍帯血の TARC



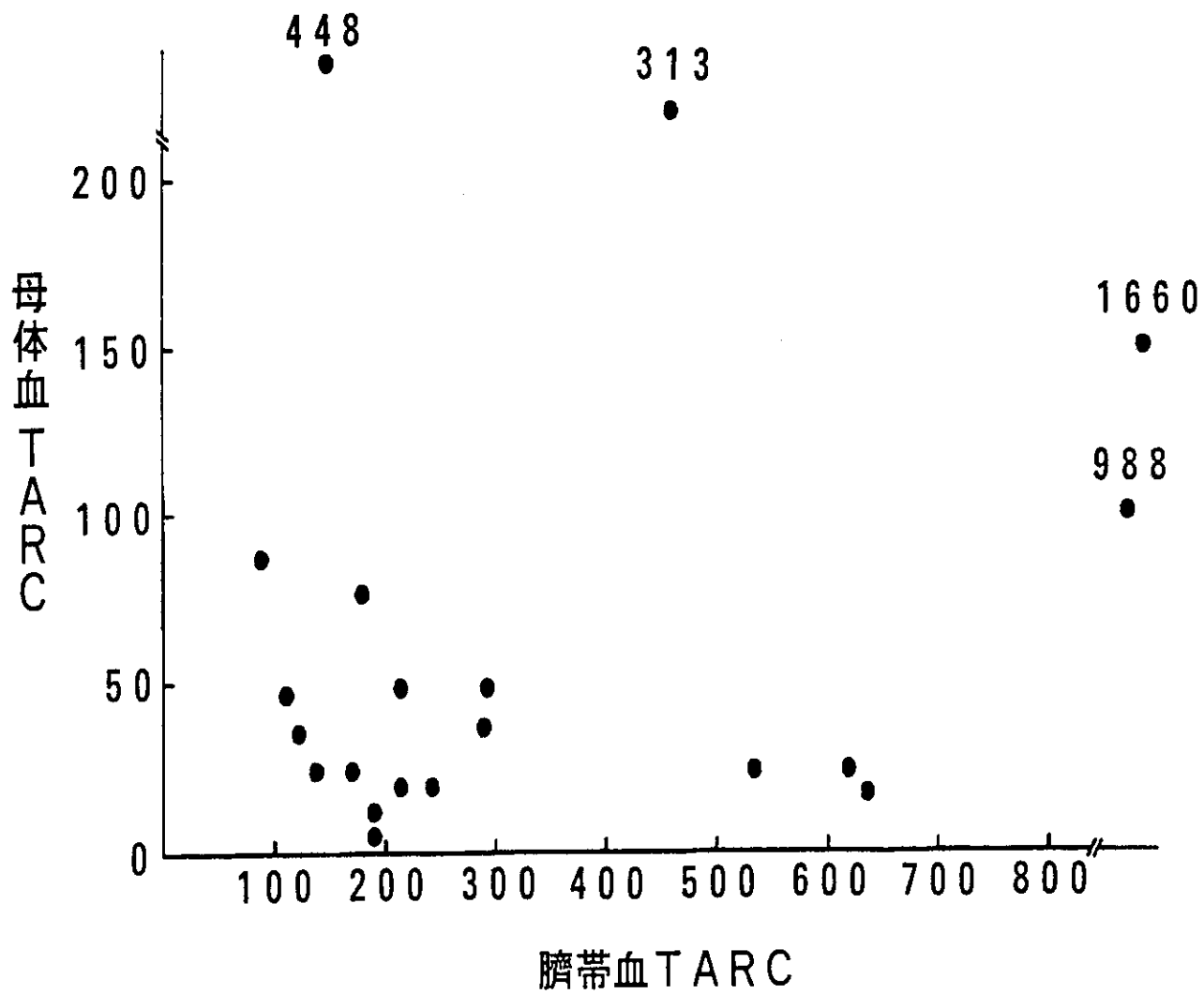


图3

研究課題名：アレルギー疾患に係わる胎内、胎外因子同定に関する研究

分担課題名：アトピー遺伝子の検討

氏名 分担研究者 森川 昭 廣

所属機関 群馬大学小児科・教授

**研究要旨** アトピー性皮膚炎の発症機序には、皮膚角質層に存在し角質細胞間をつなぐ脂質であるセラミドの合成が、アトピー性皮膚炎では低下していると報告されている。今回、群馬県立がんセンター小児科を受診した0～23歳までの男女計104名、アトピー性皮膚炎（AD群）78名、気管支喘息（BA群）19名、対照群7名を対象に皮膚バリア障害の指標である経皮水分喪失（TEWL）を測定した。その結果、TEWLは、AD群で平均 $30.8 \pm 17.1$ 、BA群で $15.4 \pm 3.0$ 、対照群で $16.1 \pm 2.2$ であり、AD群で有意に上昇していた（ $p < 0.001$ 、 $p < 0.05$ ）。TEWLとIgE値、好酸球数との相関係数は、それぞれ0.327、0.251であり、相関は見られなかった。次に、アトピー性皮膚炎の患者の末梢血よりDNAを抽出し、角質層セラミド合成酵素の一つであるスフィンゴミエリナーゼをコードする遺伝子に対するプライマーを設定してPCRを行い、アトピー性皮膚炎を含む5名において直接塩基配列決定法にて多型解析を行った。その結果、エクソン1に存在する6塩基のマイクロサテライトに6種類の配列数の異なった多型（R5～R11）が認められた。R7のホモ接合体の頻度は、アトピー性皮膚炎群において有意に高かった。今後、この多型とTEWLとの関連や、この多型の機能解析について検討する予定である。

鈴木道子 群馬大学小児科大学院  
田村一志 群馬大学小児科大学院  
小林靖子 群馬大学小児科医員  
鈴木幸代 群馬県立がんセンター小児科

ルコセレブロシダーゼあるいはスフィンゴミエリナーゼの異常が推定されているが、どちらが重要であるかは結論がでていない。グルコセレブロシダーゼそれ自体が遺伝的に欠損しているゴーシェ病（タイプII型）では、重度の魚鱗癬状の皮膚乾燥が観察され、組織学的に、角質細胞間脂質のラメラ構造に異常が認められる。アトピー性皮膚炎においても、乾燥肌は遺伝傾向がありセラミド合成酵素をコードする遺伝子の変異あるいは多型が存在する可能性が示唆される。本研究では、小児アトピー性皮膚炎患者において経皮的水分喪失量の上昇がみられるかを検討し、次に、スフィンゴミエリナーゼをコードする遺伝子に多型が存在するかを検討した。

#### A.研究目的

アトピー性皮膚炎の発症機序には、アレルギー的要因および非アレルギー要因である皮膚のバリア機能の異常が大きな役割を果たしていると考えられている。非アレルギー要因としては、皮膚角質層に存在し角質細胞間をつなぐ脂質であるセラミドの合成が、アトピー性皮膚炎では低下していると報告が1991年になされた。皮膚のセラミドは、生体の最外層を覆い、外界との境界を形成し、外界物質の侵入防止、水分を含めた体内成分の損失の防止など生命維持に必須なバリア機能を有している。アトピー性皮膚炎では、セラミド（特にセラミド1と3）の合成低下あるいは分子種の変動が報告されている。セラミドの合成低下の原因として、最終合成酵素系であるグ

#### B.研究方法

群馬県立がんセンター小児科を受診した0～23歳までの男女計104名、アトピー性皮膚炎78名、気管支喘息19名、対照群7名。平均年齢 $5.7 \pm 5.1$ 。気温26℃、

湿度 40%の条件下で、皮膚バリア障害の指標である経皮水分喪失 (TEWL) を水分蒸散測定装置を用いて測定した。また、静脈採血より血清 IgE 値および末梢血好酸球数を測定した。

次に、アトピー性皮膚炎の患者の末梢血より DNA を抽出し、角質層セラミド合成酵素の一つであるスフィンゴミエリナーゼをコードする遺伝子に対するプライマーを設定して PCR を行い、アトピー性皮膚炎を含む 5 名において直接塩基配列決定法にて多型解析を行った。その結果、エクソン 1 に関して、6 塩基の繰返し配列の部位において多型が存在する可能性が疑われた。そのため、6 塩基繰返し配列部位における多型の確認のため、gene scan 法を行った。

### C. 研究結果

経皮水分喪失 (TEWL) は、アトピー性皮膚炎群で平均  $30.8 \pm 17.1$ 、気管支喘息群で  $15.4 \pm 3.0$ 、対照群で  $16.1 \pm 2.2$  であり、アトピー性皮膚炎群で有意に上昇していた ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.05$ )。TEWL と IgE 値、好酸球数との相関係数は、それぞれ 0.327、0.251 であり、相関関係は見られなかった。

スフィンゴミエリナーゼ遺伝子解析では、エクソン 1 に存在する 6 塩基 (ctggcg) のマイクロサテライトに 6 種類の繰返し配列数の異なった多型 (R 5 ~ R 11) が認められた。

アトピー性皮膚炎患者およびコントロールにおいて、R 5 ~ R 11 の各 allele の頻度では、両群では差は認められなかった。Genotype では、R 7 のホモ接合体の頻度は、アトピー性皮膚炎群においてコントロール群よりも高かった。

### D. 考察

アトピー性皮膚炎では、セラミドの合成

が低下している結果として、経皮的水分喪失量の上昇がおり乾燥肌が生じ、さらにアレルゲンの透過性亢進によるアレルギー反応および汗や摩擦などによる軽度の物理的刺激でも皮膚炎が容易に発症すると考えられる。今回、我々は、小児アトピー性皮膚炎患者において、経皮的水分喪失量の上昇を認め、皮膚バリア障害が存在する可能性が示唆された。また、経皮的水分喪失量の上昇と血清 IgE や末梢血好酸球数とは相関関係が認められなかった。血清 IgE や末梢血好酸球数は、アレルギー的側面と考えられ、一方、経皮的水分喪失量の上昇は非アレルギー的側面である皮膚バリア障害を示す。我々の結果は、アトピー性皮膚炎における皮膚バリア障害は、アレルギー素因とは独立した因子である可能性が示唆された。

本研究において、スフィンゴミエリナーゼ遺伝子には、検討した症例数が少ないながら、明らかな遺伝子変異は認められなかった。しかしながら、エクソン 1 において ctggcg の 6 塩基の繰返し配列の数の多型が認められた。この塩基は、ロイシンとアラニンという疎水性蛋白をコードしている。

アトピー性皮膚炎と対照群との比較では、現在までのところ、症例数が少ないが、アレル頻度において明らかな差は認めなかった。しかしながら、7 回繰返すアレルのホモ接合体では、アトピー性皮膚炎群では対照群より多い傾向が認められたことより、アトピー性皮膚炎発症に関連する可能性が示唆された。

本研究は、アトピー性皮膚炎の発症機序を解明するための一役を担い、さらに遺伝子診断により乳児期早期の発症予知、あるいはプロモーター領域に関与する因子の解明によりアトピー性皮膚炎の治療にもつながる意義深いものに発展することが期待される。

## E. 結論

小児アトピー性皮膚炎の患者においても、皮膚バリア障害が存在することが明らかになった。一方、スフィンゴミエリナーゼ遺伝子解析では、エクソン1に多型が存在し、アトピー性皮膚炎と関連する可能性が示唆された。今後、この多型と TEWL との関連や、この多型の機能解析について検討する予定である。

## F. 研究発表

### 学会発表

(1) 鈴木幸代、荒川浩一、前田昇三、西村秀子、森川昭廣：アトピー性皮膚炎における経皮的水分喪失量と血清 IgE 値および好酸球数との関連、日本小児アレルギー学会（第 37 回）（2000 年 11 月 3 日～11 月 4 日、群馬）

(2) 荒川浩一、田村一志、鈴木道子、森川昭廣：サイトカイン細胞内シグナル伝達物質の遺伝子多型。シンポジウム (IV) 「アトピー遺伝子の解明とアレルギー性疾患の遺伝子治療」第 37 回日本小児アレルギー学会。2000 年 11 月（前橋）

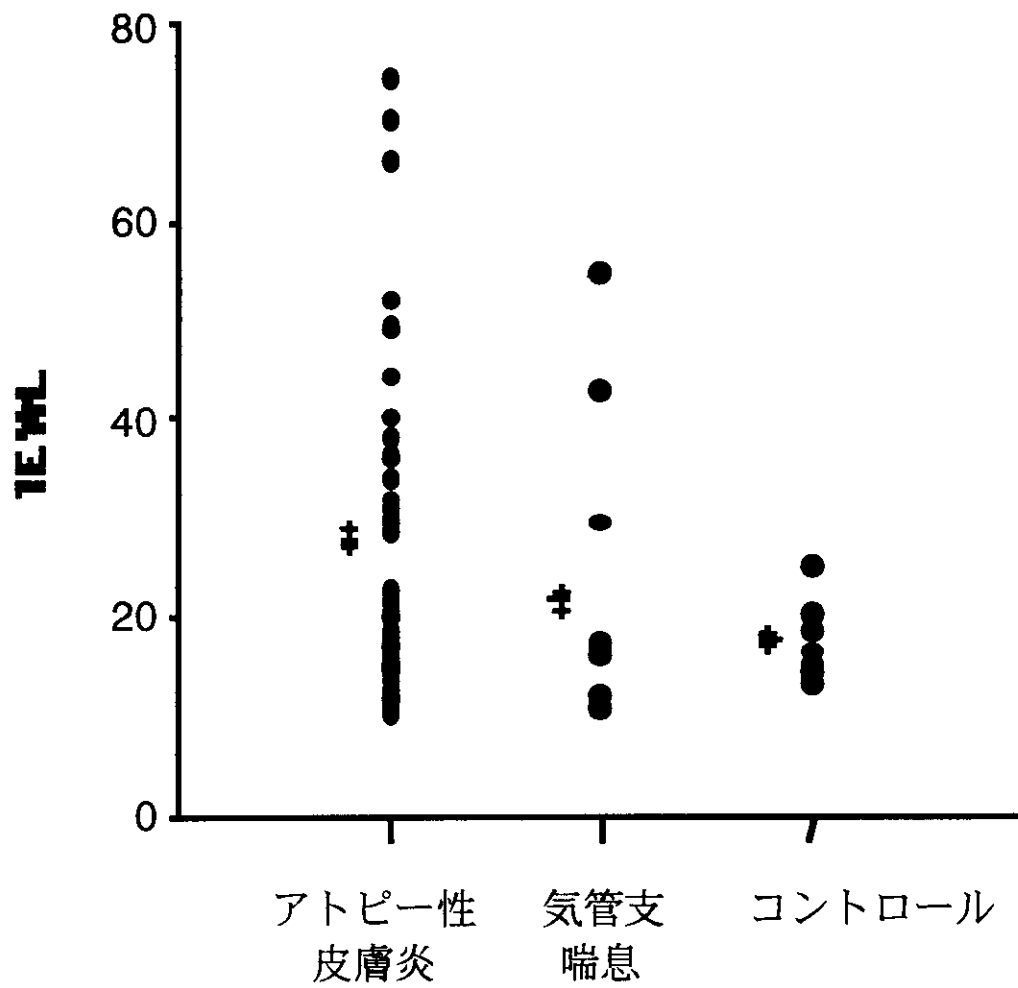


図1 アレルギー疾患と経皮的水分喪失量 (TEWL) との関係

**Sphingomyelinase gene**  
11p15.1-p15.4

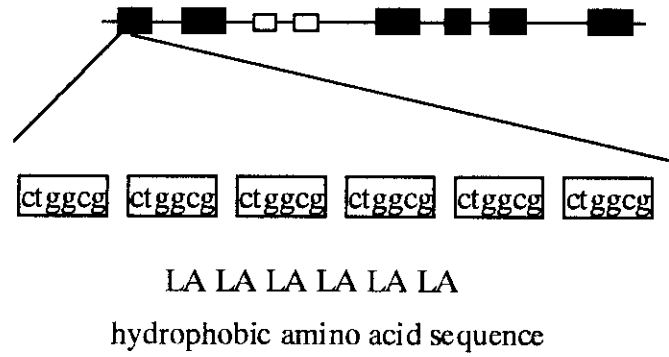


図2 スフィンゴミエリナーゼ遺伝子  
エクソン1におけるマイクロサテライトの塩基配列と蛋白

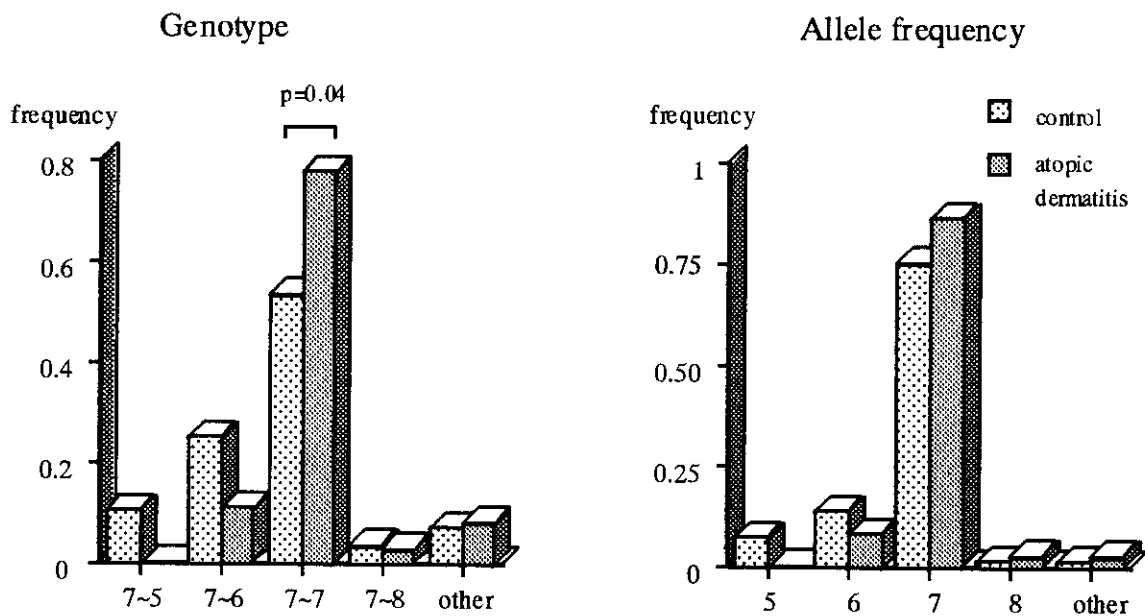


図2 スフィンゴミエリナーゼ遺伝子多型とアトピー性皮膚炎

平成12年度厚生省科学研究  
厚生省感覚器障害及び免疫・アレルギー等の研究事業

アレルギー疾患に係わる  
胎内・胎外因子に関する研究

研究報告者

発行 : 平成13年3月  
発行者 : 主任研究者 森川 昭廣  
印刷 : 有限会社 アル印刷