

いている。5：日常的なかゆみが継続している。4：かゆみはあるが、かくとしばらくは治まる。3：時に手がゆき、軽かく程度。あまり気にならない。2：軽いかゆみはあるが、特にかかなくても我慢できる。1：かゆみはほとんどない。ムズムズする程度。0：まったくかゆみを感じない。の10段階評価を用いた。また、皮疹の状態は、患者が一番悪いと判断した時を10ポイントとした自己評価で記載させた。加えて、タクロリムス軟膏は、ヒリヒリ、ヒリビリといった灼熱感や皮膚刺激症状の局所副作用が70%から80%の患者でみられるとされる。そこで患者に、この症状の一番ひどいと思われる状態を10ポイントとした場合の症状の推移を、症状日記に記入してもらった。これらの評価における治療開始時と治療後2週間までの毎日との統計学的判定は、対応のあるt検定を用いた。

### C 結果

グループ1は38名で、平均年齢は32.0±9.7歳、男性24例、女性14例、AD罹患期間は平均19.9±12.0年間、ステロイド使用期間は平均10.3±9.4年間、合併した他のアレルギー疾患は喘息12例(32%)、アレルギー性鼻炎10例(26%)であった。グループ2は9名で、平均年齢は39.8±13.1歳、男性5例、女性4例、AD罹患期間は平均27.7±13.3年間、喘息3例(33%)、アレルギー性鼻炎2例(22%)であった。

治療開始時の皮疹スコアは、グループ2の方がグループ1よりスコア値が高かった。グループ1はタクロリムス軟膏の治療で皮疹スコアが急速に低下し、治療開始時に比べ、治療1、2週後で共に、有意に改善した(P<0.01)。一方、グループ2は徐々に低下したが、治療1、2週後では治療開始時に比べ、スコア上、有意差はでない。そこで、4週後まで観察したところ、有意な改善をみ(P<0.05)、スコア値はグループ1の治療2週後とほぼ同値であった。治療開始時の掻痒スコアは、皮疹スコアと同様、グループ2の方がグループ1より高値で、より掻痒を訴えた。グループ1は、タクロリムス軟膏の治療1、2週後で掻痒スコアが急に低下し、治療開始時に比べ、治療1、2週後で共に、有意に掻痒が改善した(P<0.01)。一方、グループ2は、治療1、2週後で徐々に軽快し、4週後で治療開始時に比べ、有意差をみた(P<0.05)。しかし、スコア値は、グループ1の

2週後の方が低かった。

症状日記におけるかゆみ評価は、タクロリムス軟膏の治療開始2日ですぐ軽減し、3日目からは、治療開始時に比し有意に軽快の一途を辿った(P<0.01)。皮疹の状態も、開始2日ですぐ軽減し、3日目からは治療開始時に比し有意に軽快し続けた(P<0.01)。皮疹の悪化や再燃などのリバウンド現象と思われる所見は全例、みなかった。また、皮膚刺激症状の局所副作用はグループ1とグループ2で差はなく、47名中31名66%で同様の症状を観察し、タクロリムス外用開始2日間はやや悪化したが、3日目で有意に減少し(P<0.01)、4日日以降も引き続き有意に軽減した。

### D 考察

タクロリムス軟膏治療開始時の皮疹スコア及び掻痒スコアは、共にグループ2がグループ1よりスコア値が高く、重症であった。これはグループ2が未治療であることによると推測した。グループ1は、皮疹スコア、掻痒スコアとも治療1、2週後で、治療開始時に比べ、有意に改善した。加えて、症状日記のかゆみ評価、皮疹の状態からも、治療開始時に比べ、有意な改善傾向をみた。しかも、症状日記では全例、リバウンド現象を認めなかった。これらの所見より、今まで報告されている臨床試験での成績と同様に、マイルドレベルのステロイド外用薬よりタクロリムス軟膏の方が有効で、ステロイド外用からの急な変更に伴うリバウンド現象などの副作用なく、AD皮疹の軽快や改善を可能にすると推測された。また、タクロリムス軟膏の副作用は約2/3でみられたが、一時的な局所の皮膚刺激感のみであった。軟膏使用前、患者にこの症状をよく説明すれば、臨床上的問題は起きないと想像される。

現在、ステロイド外用薬はAD治療において、最も有効な薬剤である。しかし、ステロイド外用薬の突然の中止はリバウンド現象を引き起こす可能性がある。一方、タクロリムス軟膏は、使用開始時に刺激感はあるが、長期間使用しても、ステロイド外用薬で問題となる毛細血管拡張や皮膚萎縮を生じず、ステロイドと共にADに有効な外用薬として期待されている。両者を上手に使い分けるとそれぞれの副作用を減弱し、効果を有効に利用できる。しかし、この2つの軟膏の選択基準や変換時期は、まだ明確に確立されていない。今回の検討で、タクロリムス外用療法は、リバウンド

現象を意識せず、マイルドレベルのステロイド外用療法からの急な変更ができると推測された。今後、ステロイド外用薬で十分な改善の得られない症例、ステロイド外用薬の副作用に悩む症例、などにこの変更は有効と思われる。

#### E 結論

AD 顔面皮疹で長期に使用されたマイルドレベルのステロイド外用を中止し直後からタクロリムス軟膏に切り替えても、リバウンド現象はなく、皮疹はより改善する。従って、リバウンド現象を気にせず、タクロリムス外用療法へのすみやかな変更が可能と考える。

#### F 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Tanaka A, Takahama H, Kato T, Kubota Y, Kurokawa K, Nishioka K, Mizoguchi M, and Yamamoto K. Clonotypic analysis of T cells infiltrating the skin of patients with atopic dermatitis: evidence for antigen-driven accumulation of T cells. *Hum Immunol* 48, 107-113, 1996.
- 2) Kawakami T, Soma Y, Mizoguchi M, and Saito R. Immunohistochemical expression of TGF  $\beta_3$  in calcinosis in a patient with systemic sclerosis and CREST syndrome. *Br J Dermatol* 143, 1098-1100, 2000.
- 3) Kunisada T, Lu SZ, Yoshida H, Nishikawa S, Nishikawa S, Mizoguchi M, Hayashi S, Tyrrell L, Williams DA, Wang X, and Longley BJ. Murine cutaneous mastocytosis and epidermal melanocytosis induced by keratinocyte expression of transgenic stem cell factor. *J Exp Med* 187, 1565-1573, 1998.
- 4) Kanbe T, Soma Y, Kawa Y, Kashima M, and Mizoguchi M. Serum levels of soluble stem cell factor and soluble KIT are elevated in patients with atopic dermatitis and correlate with the disease severity. *Br J Dermatol*, in press.
- 5) Kawakami T, Soma Y, Morita E, Koro O, Yamamoto S, Nakamura K, Tamaki K, Yajima K, Imaizumi A, Matsumaga R, Murakami N, Kashima M, and Mizoguchi M. Safe and effective treatment of refractory facial lesions in atopic dermatitis using

topical tacrolimus following corticosteroid discontinuation. *Br J Dermatol*, in press.

G 知的財産権の出願、登録状況  
なし

血中ヒスタミン・トリプターゼ濃度を指標とする抗アレルギー薬のアトピー性皮膚炎に対する有効性の研究

分担研究者 溝口 昌子

(聖マリアンナ医科大学皮膚科教授)

研究協力者 今泉 明子 (聖マリアンナ医科大学皮膚科大学院)

川上 民裕 (聖マリアンナ医科大学皮膚科助手)

村上 富美子 (聖マリアンナ医科大学皮膚科講師)

## 研究要旨

アトピー性皮膚炎 (以下、AD) に対する抗アレルギー薬の効果は、併用するステロイド外用薬の強力な抗炎症作用にマスクされ、患者に自覚されにくい。また、これまで AD を対象に二重盲検法で本薬の効果調べた報告もない。そこで治療前後の皮疹の重症度評価と血中ヒスタミン・トリプターゼ濃度を測定し、両者の関連を検討した。対象は、日本皮膚科学会アトピー性皮膚炎診断基準を満たす 1 ヶ月以上無治療の AD 患者で、抗アレルギー薬内服+外用薬で治療した。①ステロイド外用群と②保湿剤外用群の 2 群で検討した。また、疾患コントロールとして急性蕁麻疹、肥満細胞症を設定した。重症度評価には皮疹スコアと掻痒スコアを設定し、内服治療前後に両スコアを判定するとともに採血にて血中ヒスタミン・トリプターゼ濃度を測定し比較検討した。抗アレルギー薬として第 2 世代の抗ヒスタミン薬を用いた。統計学的判定には対応ある t 検定を用いた。

対象疾患別の血中ヒスタミン濃度は、AD は対照疾患に比べ高値を示し、肥満細胞症および健常人とは有意差であった。治療前後の血中ヒスタミン濃度は、①②群とも有意の低下を認めた ( $p < 0.05$ )。さらに、②群では治療前後に血中トリプターゼ濃度の有意の低下を認めた ( $p < 0.05$ )。①群では、治療前後に皮疹スコア・掻痒スコアについて両スコアとも有意な改善を認めたが、掻痒の改善がより顕著であった ( $p < 0.001$ )。同様に②群の皮疹スコア・掻痒スコアに関して検討したところ、掻痒スコアにのみ有意な改善を認めた ( $p < 0.01$ )。治療前の血中ヒスタミン・トリプターゼ濃度は、弱い相関性が得られた。

以上の結果より、抗アレルギー薬は、AD の掻痒に有効である考える。

## A. 研究目的

アトピー性皮膚炎 (以下、AD) は、掻痒のある湿疹を主病変とし、増悪・緩解を繰り返す疾患であり患者の多くはアトピー素因を

持っている。また、AD の病変は湿潤・糜爛がある急性湿疹と皮膚肥厚・苔癬化のある慢

性湿疹など様々なものがある。慢性病変では、組織学的に真皮上層に多数に肥満細胞が認められるが、肥満細胞の産生する chemical mediator と AD の病態、特に掻痒との関連についてはいまだ不明な点が多く、今後 AD を評価し治療していくうえで重要なものとなると考えられる。また、一方で AD に対する抗アレルギー薬の効果は、併用するステロイド外用薬の強力な抗炎症作用にマスクされ、患者に自覚されにくい。また、これまで AD を対象に二重盲検法で本薬の効果をみた報告もない。そこで、今回抗アレルギー薬の AD に対する有効性を知る目的として、治療前後の皮疹の重症度評価と血中ヒスタミン・トリプターゼ濃度を測定し、両者の関連を検討した。

#### B.方法

対象は、日本皮膚科学会アトピー性皮膚炎診断基準を満たす1ヶ月以上無治療なAD患者である。対象内訳としては保湿剤外用群15例、ステロイド外用群9例の計24例(男8/女16)である。また、疾患コントロールとして10例；急性蕁麻疹6例(男1/女5)・肥満細胞患者4例(男3/女1)を設けた。除外項目としては、1ヶ月以内に気管支喘息発作をおこしていない患者である。重症度評価として治療前後の皮疹スコア(部位ごとに0なし・1軽症・2中等度・3重症・4最重症まで点数化)および掻痒スコア(0なし・1軽重；時々感じるが、軽い・2軽度；しばしば感じるが、かまんできる・3中等度；かなりひどいが、仕事・勉強・睡眠が出来ない

ほどではない・4高度；仕事・睡眠が妨げられるほどひどい、まで点数化)を評価した。また、治療前後の急性炎症面積および苔癬化面積の測定も行った。重症度評価は、治療前および治療後(原則として2週間後)に設定し評価した。また、治療前後の計2回血液を採取し、血中ヒスタミン濃度(RIA固相法)、血中トリプターゼ濃度(ELISA法)を測定した。使用した抗アレルギー薬は第2世代の抗ヒスタミン薬を使用した。これらの評価を統計学的に検討するため対応あるt検定を用いた。

#### C.結果

治療前の対象疾患別血中ヒスタミン濃度を比較検討した結果、AD全24症例は、 $5.1 \pm 2.70 \text{ nM}$ と、他群に比べ高値を示し、肥満細胞症と健常人に比較し有意の差であった。次に、抗アレルギー薬内服前後の血中ヒスタミン濃度をAD全例で検討した結果、対応あるt検定で治療後に有意の低下を認めた( $p < 0.01$ )。さらに、抗アレルギー薬内服+ステロイド外用群(9例)の血中ヒスタミン濃度を検討した結果は対応あるt検定にて治療後平均値の有意の低下を認めた( $p < 0.05$ )。同様に、治療前および抗アレルギー薬内服+保湿剤外用群(15例)の血中ヒスタミン濃度について検討したところ有意の低下を認めた( $p < 0.05$ )。次に、治療前および抗アレルギー薬内服+保湿剤外用群の血中トリプターゼ濃度について検討したところ有意の低下を認めた( $p < 0.05$ )。また、治療前の血中ヒスタミン濃度と血中トリプターゼ濃度につ

いて検討したところ、両者に弱い相関が認められた ( $r=0.43$ )。さらに、治療前および抗アレルギー薬内服+ステロイド外用群の皮疹スコア・掻痒スコアに関して検討したところ両スコアとも有意な改善を認めたが、掻痒の改善がより顕著であった ( $p<0.001$ )。同様に、治療前および抗アレルギー薬内服+保湿剤外用群の皮疹スコア・掻痒スコアに関しては、掻痒にのみ有意な改善を認めた ( $p<0.01$ )。さらに、治療前の血中ヒスタミン濃度と皮疹スコア・掻痒スコアについて検討したところ、有意差は認めないものの血中ヒスタミン濃度と掻痒スコアに弱い相関性が認められた。また、治療前後の血中ヒスタミン濃度差と皮疹改善度・掻痒改善度について検討した結果、血中ヒスタミン濃度差と掻痒スコア改善度は弱い相関性があることが示唆された。ここで同様にして治療前後の血中トリプターゼ濃度差と皮疹改善度・掻痒改善度についても検討したところ、血中トリプターゼ濃度差と掻痒スコア改善度により相関があることが認められた。

#### D. 考察

抗アレルギー薬内服前後で保湿剤外用群でも掻痒スコアに有意な低下を認めたことより抗アレルギー薬は、皮疹より掻痒に有効であると考えられる。従って、抗アレルギー薬の持つ止痒効果により掻痒が妨げられ保湿剤外用群でも抗アレルギー薬内服前後で血中ヒスタミン濃度の有意な低下につながったのではないかと考えた。また、トリプターゼは、ヒスタミンに比し、採血後より安定で測定しやすい

といわれているが検出限界の症例も多く皮疹・掻痒スコアとの関連を検討しにくいという欠点がある。今後、どちらが皮疹・掻痒とより相関するか症例を増やし検討する必要があると考える。治療の指標として血中ヒスタミン濃度や血中トリプターゼ濃度が使用可能であれば、客観的に薬剤の有効性を判断する要素が増えることになる。その点でも本研究は興味深い。

#### E. 結語

保湿剤外用群でも抗アレルギー薬内服前後で血中ヒスタミン濃度の有意な低下を認め、掻痒スコアの有意な低下をみたことより抗アレルギー薬は、AD の治療として有用であると考えられた。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Tanaka A, Takahama H, Kato T, Kubota Y, Kurokawa K, Nishioka K, Mizoguchi M, and Yamamoto K. Clonotypic analysis of T cells infiltrating the skin of patients with atopic dermatitis: evidence for antigen-driven accumulation of T cells. *Hum Immunol* 48, 107-113, 1996.
- 2) Kawakami T, Soma Y, Mizoguchi M, and Saito R. Immunohistochemical expression of TGF $\beta_3$  in calcinosis in a patient with systemic sclerosis and CREST syndrome. *Br J Dermatol* 143, 1098-1100, 2000.

課題名 成人型アトピー性皮膚炎に対する UVB 療法に関する研究

氏名 分担研究者 吉池 高志

所属機関 順天堂大学医学部教授（順天堂伊豆長岡病院皮膚科）

研究要旨：UVB（中波長紫外線療法）は欧米においては、アトピー性皮膚炎の維持療法などとして、広く用いられている。理由としては、その比較的簡便性と同時に照射エネルギーの強さがある。23名の成人型アトピー性皮膚炎患者に対し、外来において週1回、8週の治療効果を検討した。その結果、

1. 重症度は平均 13.6 から 9.1 へと減少した。
2. 軟膏使用量は平均 21.5g/週から 8.9g/週へと減少した。
3. LDH が平均 432.5U/ml から 345.7U/ml へと減少した。
4. 治療中、軽度紅斑や落屑、色素沈着といった日焼け反応はほぼ全例に認められたが、重篤なものはなかった。

以上から、UVB 療法は成人型アトピー性皮膚炎に対する有用な治療であることが示された。

#### A. 研究目的

わが国における紫外線療法のアトピー性皮膚炎に対する治療における位置づけは、難治例に対する第2選択（特殊療法）である。その有効性については内外で従来より客観的に認められている。加えるに、煩雑性や習熟を要する問題はあるもののその副作用は比較的少ない。そういった点を鑑みて、欧米ではこれを標準治療の一つに加えるのが普通である。ただ、我が国においては、アトピー性皮膚炎に対する一部の紫外線療法の保険適応が認められていないことに加え、手技が煩雑なこともあって、ごく一般的に行われているものとはいえない。ただ、紫外線照射装置は多くの皮膚科診療施設に設置されていることも

あって、難治性アトピー性皮膚炎患者の増大に伴って、今後その使用も増えていくであろうことが十分予想される。

前年度までの本研究において、以下のことを報告してきた。すなわち、（1）重症難治性アトピー性皮膚炎に対して PUVA 療法は有効な第二選択治療である。（2）PUVA 療法（長波長紫外線+メソキサレン）は保険適応外である。（3）単なる「紫外線療法」の適応範囲は広い。（4）「低電圧」UVA-1 療法は無効であった。（5）UVA+UVB 療法は軽症・中等症に対しては有効であったが、重症例には無効であった。

以上、光線療法および光化学療法がアトピー性皮膚炎、ことに難治性アトピー性皮膚炎

に対する有用な治療法であ

ることは明らかになったが、欧米で広く行われている UVB 療法についても検討を要すると考えられた。その理由として、(1) 深達度は UVA に劣るが、照射エネルギーが大きい、(2) 短時間照射ですむこと、メソキサレン投与が不要なことから簡便である。(3) 保険適応がある、ということがあげられよう。

## B. 研究方法

対象としたのは成人型アトピー性皮膚炎患者 23 名である。男 15 名・女 8 名。年齢平均は 21.7 歳 (18~39 歳)、スキンタイプ I: 3 名・II: 18 名・III: 2 名。罹病期間の平均 8.7 年 (1~25 年)。重症度は平均 13.6 (5~19)。さらに、血清 LDH 値 432.5U/ml (233~729U/ml)、末梢血好酸球平均 8.1% (1~18%)、血清 IgE 値平均 3,546IU/ml (25~23,140IU/ml) であった。治療スケジュールであるが、以下の通りとした。

1. 通院中の外来患者に対して行う。
2. 観察期間は 8 週とする。
3. 併用療法は治療前に用いていたステロイド (strong まで) 外用を体幹・四肢のみに可とする。
4. 治療前に用いていた抗ヒスタミン薬は 1 週以上の wash out を経て中止する。
5. 治療前後に眼科学的チェックを実施する。
6. 観察項目: 重症度・LDH・好酸球・IgE  
照射方法については以下のごとく実施した。
  1. 照射装置: デルマレイ M-DMR-TS(II)
  2. ランプ: FL-SE30

3. 放射照度: 0.96mW/cm<sup>2</sup>

4. 体幹・四肢の皮疹部にステロイド、他に白色ワゼリンを外用して照射

5. 最少紅斑量 (MED): 腹部において測定する。

6. 照射頻度: 週 1 回の計 8 回

7. 初回照射量: 70%MED

8. 照射増量: 50%→30%→0%

9. 皮膚光毒反応(burn)出現時: 衣類・顔袋・亜鉛華軟膏などで遮蔽

刺激反応については、自覚的な刺激感、他覚的な紅斑・落屑をもって判定した。

## C. 研究結果

照射量を考慮する上で、まず健常人 5 名の最少紅斑量を腹部と前腕屈側の 2 カ所を用いて測定した。スキンタイプは Japanese Skin Type I (赤くなるが黒くならない) が 1 名、II (赤くなって黒くなる) が 4 名、III (赤くならず黒くなる) は 0 名である。腹部における最少紅斑量 (J/cm<sup>2</sup>) はそれぞれ 0.05 (スキンタイプ I), 0.05・0.08・0.10・0.15 (以上スキンタイプ II)、また前腕屈側では 0.10 (スキンタイプ I), 0.08・0.10・0.18・0.20 (以上スキンタイプ II) であった。すなわち、体幹よりも四肢の方が最少紅斑量が大きい、したがって当然、治療照射量も大きくなることが予想された。

治療の結果、重症度については平均 13.6 から 9.1 へと減少 (Mann-Whitney 検定, p=0.021)、それに伴い軟膏使用量も平均 21.5g/週から 8.9g/週 (p=0.009) へと、臨床検査データにおいても LDH が平均

432.5U/ml から 345.7U/ml へと減少した (p=0.025). 治療中, 軽度紅斑や落屑, 色素沈着といった日焼け反応はほぼ全例に認められたが, 重篤なものはなかった.

#### D. 考察

光線療法は, その多彩な作用(細胞増殖抑制・細胞毒性・免疫調整)と選択性(皮膚の増殖・活性化細胞)によりアトピー性皮膚炎に有効である. 適用にあたっては risk/benefit balance を十分に考慮しなければならないが, 選択的紫外線療法を含む新しい光源やソラレンの開発・併用療法など, risk を減じ benefit を高める工夫が着々と進んでいる.

UVB 療法は現在アトピー性皮膚炎に対する維持療法として欧米では広く実施されている. 我が国では難治性アトピー性皮膚炎に対して PUVA 療法がしばしば用いられているものの, UVB 療法についてはまだ一般的とはいえない. メソキサレンの内服・外用が不要で照射時間が短く, 照射後の注意も必要ないために, 外来で広くかつ簡便に行える可能性を秘めている. ただ, 最少紅斑量の測定が煩雑であることや, 治療効果を上げるためには, 一定の”日焼け反応”が必須であること, 部位によって治療に要する照射量が異なることは, なお改善を要する問題であろうかと考える.

#### E. 結論

ステロイド外用薬に併用した UVB 療法(外来週 1 回法) はステロイド外用薬単独治療で改善の明かでないアトピー性皮膚炎の症状を

低減するのに有効であり, 結果としてステロイド外用薬の使用量も低減する. ただ, 若干の煩雑性を伴い, 治療のためには軽度日焼け反応は必須であるため, さらに工夫・改善するとともに, 入院患者に対する週 3 回法の評価を行う予定である.



## 課題名 アトピー性皮膚炎におけるいわゆる民間療法の評価に対する研究

分担研究者 中村晃一郎

所属機関 東京大学大学院医学系研究科皮膚科 講師

研究要旨 アトピー性皮膚炎（AD）をめぐってさまざまな民間療法がみられているが、これらの民間療法の中には、ステロイドの使用を拒絶することによって、AD患者にとって不利益をもたらす場合も報告されている。不適切な民間療法の実態を把握し、その状況を明らかにすることが、AD患者の治療の向上を計るうえで必要であると思われる。本年度は、MEDLINEを用いて集計したADの報告例4,334,143例の中から、民間療法施行後の悪化事例について、悪化事例40例として検討した。皮膚症状の増悪の原因として、過度の食事制限、温泉療法、漢方薬、超酸性水、イオン水、針治療、イソジン液、特殊外用剤などによる報告例が認められた。合併症として、カポジ水痘様発疹症、streptococcal toxic shock syndrome、ブドウ球菌性熱傷様皮膚症候群、伝染性膿痂疹などが認められた。抗生物質、抗ウイルス剤などの治療によって軽快した症例が27例であったが、いっぽうでは死亡の報告例3例も認められた。不適切な民間療法によって、アトピー性皮膚炎患者において健康被害を生じていることが明らかにされ、不適切な民間療法としてこれらに留意する必要があると思われた。

### A. 研究目的

近年、アトピー性皮膚炎をめぐってさまざまな民間療法がみられている。これらの民間療法の中には、日常診療において補助的な役割を果たすと思われる民間療法も存在するが、いっぽうではステロイド使用を拒絶することによって、患者にとってむしろ不利益をもたらす場合も近年、数多く報告されている。ステロイドを拒絶し、民間療法に依存したためアトピー性皮膚炎そのもの悪化だけでなく、社会生活上の支障をもきたす患者も数多くみられる。不適切な民間療法の実態を把握し、その状況を明らかにすることが、アトピー性皮膚炎の患者の治療の向上を計るうえで必要

であると思われる。

### B. 研究方法

本年度は、JMEDICINEの文献的に記載されている4,334,143例の中から、民間療法を施行したAD患者で、民間療法によって症状の悪化を認めた報告例について検討した。

### C. 研究結果

民間療法を施行したAD患者のうち、症状の悪化を認めた症例は40例であった。年齢別に見るとその内訳は、9才未満が17例、10才～19才が9例、20才～29才が11例、30才以上が2例であった。皮膚症状の

増悪を生じた民間療法の内容としては、過度の食事制限7例、温泉療法6例、漢方薬5例、超酸性水5例、イオン水3例、針治療3例、イソジン液3例、特殊外用剤6例などの報告例が認められた。悪化した民間療法施行中のステロイド外用に関しては、記載のあった17例中、すべての症例において民間療法施行中にステロイド外用剤を中止しており、中止による皮疹の増悪が認められた。また皮疹の増悪とともに認められた合併症として、細菌、ウイルス感染症などの増悪例が多く報告されており、カポジ-水痘様発疹症9例、streptococcal toxic shock syndrome 1例、ブドウ球菌性熱傷様皮膚症候群3例、伝染性膿痂疹6例であった。また民間療法で使用した外用剤による接触皮膚炎が6例認められた。内臓合併症として、腎不全2例、くる病1例、横紋筋融解症2例、メトヘモグロビン血症1例、糸球体腎炎1例が認められた（重複を含む）。また民間療法施行後に精神運動発達の遅れ、職場復帰不能、登校不能などの残存した症例も認められた。民間療法施行によって悪化した皮膚症状に対して、抗生物質、抗ウイルス剤などが投与されており、これによって軽快したものが27例であった。しかし記載のあった報告で、合併症の残存した症例（透析直前1例、心不全1例）が認められた。死亡例の報告が3例あり、その内訳は、重症感染症に罹患した症例、過度の食事制限による栄養障害等であった。

#### D. 考案

ADをはじめとするアレルギー疾患におい

て、さまざまな民間療法が行われ、日常診療の補助として有用であることもしばしば報告されている。しかし、現在行われている民間療法の中には、AD患者に対して、症状の増悪をもたらし、不利益を生じている民間療法も多数報告されている。このような現状をふまえて、本年度の研究では、民間療法施行後に、症状の悪化の生じている40例の報告をもとに、その合併症、転帰などを検討した。その結果、民間療法によって悪化した症例のなかに重篤な細菌、ウイルス感染症の併発、あるいは内臓合併症を生じた症例が多数存在することが明らかにされた。また、これらの民間療法のなかに、ステロイド外用を中心とした治療を拒否しているものが多いことも明らかにされた。

ADにおける不適切治療による健康被害の調査が、日本皮膚科学会を中心に施行されており、不眠などのQolの低下、休学、自宅への引きこもり、金銭的被害、眼合併症等が報告されている。本年度の研究は、これらの合併症をさらに詳細に検討したものと考えられる。民間療法によるAD患者の健康被害を少なくするために、民間療法による悪化事例の実態を検討することが重要であり、同時にステロイド外用療法を中心とした正しい治療法の情報を患者に伝えることが必要であると考えられる。さらには、これらの不適切な民間療法に対する認識を広めていくことが必要であると考えられた。民間療法がすべて悪いわけではないが、悪化例が報告されている現状から、今後行政的な規制も必要ではないかと考えられた。

## E. 結論

AD の治療においてさまざまな民間療法が行われている中で、民間療法による健康被害も多数生じていることが明らかにされた。こ

のような民間療法による悪化事例の実態の実情を明らかにし、認識を広めていくこと、またステロイド外用療法を中心とした正しい治療法の情報を患者に伝えることが、AD の治療の向上に有用であると思われた。

## F. 研究発表

### 論文発表

中村晃一郎、他：アトピー性皮膚炎、免疫症候群、日本臨床、547-50、2000

Wakugawa M, Hayashi K, Nakamura K, Tamaki K. Evaluation of mite allergen-induced Th1 and Th2 cytokine secretion of peripheral blood mononuclear cells from atopic dermatitis patients: association between IL-13 and mite-specific IgE levels. J Dermatol Sci. 2001, 25:116-126.

## G. 知的財産権の出願、登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

アトピー性皮膚炎治療ガイドラインの作成およびその評価に関する研究

分担研究者 山本昇壯 広島大学医学部皮膚科教授

研究要旨 本研究の目的は、ともすれば混乱しがちなアトピー性皮膚炎の治療に関して、その基本的治療概念を示す治療ガイドラインを作成することである。平成12年度は、平成11年度に作成した「アトピー性皮膚炎治療ガイドライン1999」の内容を再度検討し、一部修正して「アトピー性皮膚炎治療ガイドライン2001」を作成した。昨年度のアンケート調査の結果に基づき修正した主な点は、①重症度評価のめやすの改正、②原因・悪化因子への発汗の追加、③保湿剤の表の追加、④薬物療法の基本におけるステロイド外用の留意すべき点の追加、⑤タクロリムス外用薬の使用に関する記述の追加、などである。

A. 研究目的

アトピー性皮膚炎の治療にさいして、従来みられていた医師の極端に偏向した治療概念や患者のステロイド外用薬に対する過度の恐怖心・拒否反応は、最近はかなり少なくなってきたと一般には認識されつつある。しかし、現在なお民間療法をはじめその有効性が科学的に検証されていない多くの治療法が提唱され、また一部では医師の治療概念の理解不足のために、患者が不利益を被る場合があることも否定できない。本研究の目的は、アトピー性皮膚炎の診療に携わる臨床医を広く対象として、本症の治療の基本概念を示し、本症の治療における混乱を避け患者のQOLの向上に貢献することを目的としている。平成11年度は「アトピー性皮膚炎治療ガイドライン1999」を作成しその普及に努めたが、平成12年度は平成11年度に実施した本治療ガイドラインの内容に関するアンケート調査から、修正すべき点を再検討し、「アトピー性皮膚炎治療ガイドライン2001」を作成し、さらに普及に努めることを目的とした。

B. 研究方法

アトピー性皮膚炎の診療に携わる機会をもつ皮膚科、小児科、内科のアレルギー専門医で組織された研究班において、「アトピー性皮膚炎治療ガイドライン1999」の内容の妥当性について本症の診療に携わる機会をもつ皮膚科医、小児科医および内科医計1000名を対象として平成11年度に実施したアンケート調査（回答：586名）の結果を解析し、修正すべき内容について検討した。その結果を、「アトピー性皮膚炎治療ガイドライン2001」として前回同様小冊子を作成し、分担研究者および研究協力者を通じてその普及に努めた。なお、本研究においては倫理面で問題となるような点はない。

C. 研究結果

平成11年度に作成された「アトピー性皮膚炎

治療ガイドライン1999」の概要が①正しく診断が行われること、②的確な皮膚症状の評価がなされること、③治療の基本の3点からなっており、その中心である治療の基本が(a)原因・悪化因子の検索と対策、(b)スキンケア（異常な皮膚機能の補正）、(c)薬物療法から成る（図1）ことについては、アンケート調査において医師の90%以上が妥当であると回答している。従って、平成12年度はこの概要の修正は行わなかった。アンケート調査の結果から修正すべき点の有無を、分担研究者および研究協力者全員の見解も含めて検討し、以下の5点を中心に修正を加えることとした。

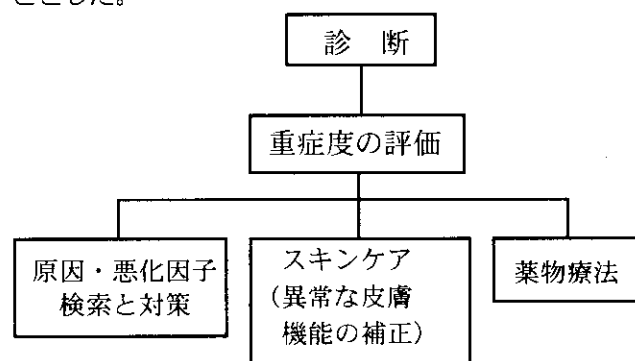


図1. 治療ガイドラインの概要

1) 重症度のめやす

1999年度版では、診察時に大凡の皮膚症状の評価を行うために、軽症、中等症、重症、最重症の4段階評価とし表1のように定めた。しかし、軽症から最重症までの個々の段階における症状の程度の説明に一部矛盾があり、診療上分類できない症例が存在することが明らかとなったので、表1のように修正することとした。

なお、修正した「重症度のめやす」には、「軽度の皮疹」および「強い炎症を伴う皮疹」の例をカラー写真で提示した。

## 2) 原因・悪化因子

代表的な原因・悪化因子として、2001年版では「発汗」が加えられた(図2)。

## 3) 保湿剤の付表

保湿を目的とした主な外用薬を医薬品に限って表に記した(表2)。

## 4) 薬物療法の基本におけるステロイド外用の留意すべき点の追加

1999年版ではステロイド外用に関して留意すべき点はとくに記載されていなかったが、2001年版では次の事項が加えられた。

(1) 顔面にはステロイド外用薬はなるべく使用しない。用いる場合は、可能な限り弱いものを短期間にとどめる。

(2) 長期使用後に突然中止すると皮疹が急に増悪することがあるので、中止あるいは変更は医師の指示に従うよう指導する。

(3) 強度と使用量をモニターする習慣をつける。

## 5) タクロリムス外用薬の使用に関する記述の追加

2001年版では非ステロイド系免疫抑制薬であるタクロリムス外用薬が使用可能となったので、その使用ガイダンスにのっとって用いることを記載した。

## D. 考察

本治療ガイドラインの作成の趣旨は「現在ともしれば混乱しがちなアトピー性皮膚炎の治療に関して、その概要を示すものであって必ずしも個々の治療法の詳細を示すものではない。なお、本ガイドラインはアトピー性皮膚炎の診療にかかわる臨床医を広く対象として作成されたものである」と述べられている。アトピー性皮膚炎の発症機序、炎症機構あるいは病態が必ずしも解明されているとはいえず、したがって、普遍的な疾患概念・治療概念が確立され普及しているとはいえない面もある。そこに、本症の治療に関して患者においても医師においても少なからず混乱が生じてきた原因があると思われる。

本治療ガイドラインの作成は、診療現場におけ

るその混乱の鎮静化が第一の目的である。かつて、本症の治療ガイドラインが第5回日本アレルギー学会春期臨床大会のシンポジウムの一環として作成され、個々の治療法について詳細な解説がなされた。しかし、治療ガイドラインとしては機能し難いとの批判が多かったため、その反省に立って今回の治療ガイドラインの作成にあたっては、いかに基本的な治療概念を診療の現場に浸透させるかを第一の目標とした。そのためには、図表を中心として簡潔に表現することが重要であるとの認識で一致し、それに基づいて1999年版を作成した。その結果、一般には、従来みられていた本症の治療に関わる混乱はかなり鎮静化してきたとの認識が多いようである。

それを踏まえて、平成12年度も同様の考えのもとに1999年版に修正を加えて2001年版を作成した。1999年版は冊子の部数が不足したため、2001版は十分要望に応えられるよう増刷し、普及に努める予定である。なお、本治療ガイドラインに示されている項目についてのより詳細な解説が要望されているので、次年度は本小冊子の別冊としてその解説書を作成する予定である。

## E. 結語

「アトピー性皮膚炎治療ガイドライン1999」の一部を修正・追加し、2001年版を作成した。2万部印刷し分担研究者および研究協力者に配付し、その普及に努めた。

## F. 研究発表

- 1) 山本昇壯, 秀 道弘: アトピー性皮膚炎治療ガイドライン. 日本薬剤師会雑誌, 52: 389-397, 2000.
- 2) 山本昇壯: アトピー性皮膚炎の治療ガイドライン. アレルギーの臨床, 20: 516-525, 2000.
- 3) 山本昇壯: アトピー性皮膚炎治療ガイドライン. 日臨皮会誌, 65: 205-213, 2000.

## G. 知的所有権の取得状況

なし

表1. 重症度のめやす(2001修正後)

軽 症: 面積に関わらず、軽度の皮疹のみみられる
中等症: 強い炎症を伴う皮疹が体表面積の10% 未満にみられる
重 症: 強い炎症を伴う皮疹が体表面積の10% 以上30% 未満にみられる
最重症: 強い炎症を伴う皮疹が体表面積の30% 以上にみられる

\* 軽度の皮疹: 軽度の紅斑、乾燥、落屑主体の病変(付図1,2,3 参照)

\*\* 強い炎症を伴う皮疹: 紅斑、丘疹、びらん、苔癬化などを伴う病変(付図4,5,6 参照)

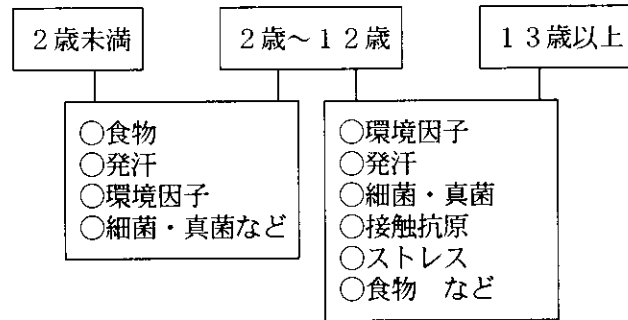


図2. 原因・悪化因子

表2. 保湿を目的とした主な外用薬（医薬品）

一般名	代表的な製品名
ワセリン	
亜鉛華軟膏	
親水軟膏	
尿素含有軟膏	ウレパール軟膏、ケラチナミン軟膏、パスタロンソフト、 パスタロン10ローション、パスタロン20、パスタロン20ソフト
ヘパリン類似物質軟膏	ヒルドイド軟膏、ヒルドイドソフト
アズレン軟膏	アズノール軟膏

平成12年度本治療ガイドライン作成協力者

青木敏之	あおきクリニック
秋山一男	国立相模原病院臨床研究センター
今山修平	九州大学医学部皮膚科
小澤 明	東海大学医学部皮膚科
高路 修	県立広島病院皮膚科
下条直樹	千葉大学医学部小児科
田中洋一	国立療養所川棚病院皮膚科
玉置邦彦	東京大学医学部皮膚科
鳥居新平	愛知学泉大学家政学部
中川秀巳	自治医科大学医学部皮膚科
中山秀夫	中山皮膚科クリニック
古江増隆	九州大学医学部皮膚科
古川福実	和歌山県立医科大学皮膚科
眞弓光文	福井医科大学小児科
溝口昌子	聖マリアンナ医科大学皮膚科
森田栄伸	広島大学医学部皮膚科
山下直美	帝京大学医学部内科
○山本昇壯	広島大学医学部皮膚科（分担研究者）

## 環境抗原からみたアトピー性皮膚炎(AD)の治療法の確立とその評価

### I. *Candida Mn SOD*のアレルゲン活性について

### II. 抗真菌薬によるアトピー性皮膚炎治療前後での菌相の変化

分担研究者 秋山一男 国立相模原病院臨床研究センター部長  
研究協力者 安枝 浩、斉藤明美、谷口正実、川口博史、高橋一夫、蒲原 毅  
(国立相模原病院臨床研究センター)  
末柄信夫、池田達夫、山口英世 (帝京大学細菌学)  
竹迫一任、大西佳美、遠藤政博 (宝酒造バイオ研究所)

#### 研究要旨

I. カンジダ Mn SOD のアレルゲン活性について：粘膜常在真菌である *Candida albicans*(C.a.)と AD 病態との関連についてはこれまでも少なからず検討されているが、抗原分析の視点での研究は必ずしも多くはない。今回は C.a. の不溶性膜画分の抗原タンパクの一つである、manganese superoxide dismutase (MnSOD) のアレルゲン活性について検討した。C.a. の MnSOD はヒトに対するアレルゲンであることが確認され、今回調製した rMnSOD のアレルゲン活性は、nMnSOD の活性とほぼ同等であった。また MnSOD に対する IgE 抗体陽性例は、大半が AD の症状を有していた。

#### II. 抗真菌薬による AD 治療前後での菌相の変化：

ヒト常在酵母様真菌 *Malassezia furfur* (M.f.) 及び C.a. と AD の病態発症機序との関連については、これら常在菌が発症因子として関わるのか、増悪因子として関わるのかについての明確な解答は得られていない。さらに AD 病態において本菌が果たす役割の重要性の程度については未だ不明の点が多い。今回は、AD における M.f. 及び C.a. の関与を検討する目的で、抗真菌療法前後での菌数、菌相の変化を比較した。抗真菌薬の AD 治療における効果については、抗真菌薬を使用することにより明らかに皮表の M.f. の減少は認められたが、効果との関連は不明であり、今後症例を増やして検討することが必要である。

#### A. 研究目的

##### I. *Candida Mn SOD* のアレルゲン活性について

粘膜常在真菌である C.a. と AD 病態との関連についてはこれまでも少なからず検討されているが、抗原分析の視点での研究は必ずしも多くはない。我々はこれまでにその構成成分であるマンナンや酸性プロテアーゼのアレルゲン活性について検討してきた。今回は C.a. の不溶性膜画分の抗原タンパクの一つである、manganese superoxide dismutase (MnSOD) のアレルゲン活性について検討した。

##### II. 抗真菌薬による AD 治療前後での菌相の変化

ヒト常在酵母様真菌である *Malassezia furfur* (M.f.) 及び *Candida albicans* (C.a.) と AD の病態発症機序との関連については、これら常在菌が発症因子として関わるのか、増悪因子として関わるのかについての明確な解答は得られていない。さらに AD 病態において本菌が果たす役割の重要性の程度については未だ不明の点が多い。これまで我々は、AD 患者における M.f. 及び C.a. の常在部位を検索するとともに皮内反応、抗原特異的 IgE、

IgG 抗体を測定し、対照としての気管支喘息 (BA) 患者と比較検討することにより M.f. 及び C.a. の AD 病態機序における役割を検討してきた。今回は、AD における M.f. 及び C.a. の関与を検討する目的で、抗真菌療法前後での菌数、菌相の変化を比較した。

#### B. 研究方法

##### I. *Candida Mn SOD* のアレルゲン活性について

1. 天然の MnSOD (nMnSOD) は C.a. の不溶性膜画分から精製、リコンビナントの MnSOD (rMnSOD) は大腸菌 BL21(DE3)plysS 株の C.a. MnSOD 遺伝子形質転換株より組み換え体として調製した。
2. カンジダ粗抗原は C.a. の培養濾液から調製、マラセチア粗抗原は M.f. の菌体可溶性成分から調製した。
3. カンジダに対する IgE 抗体 (AlaSTAT 法) が陽性の保存血清 17 検体を用いて、nMnSOD と rMnSOD のアレルゲン活性を比較した。
5. アレルギー患者 165 例を対象に、rMnSOD、カンジダ粗抗原、マラセチア粗抗原を用いて皮内テストを実施し、rMnSOD、カンジダ粗抗原、マラセチア

粗抗原いずれかに対する皮内テスト即時型反応陽性の84例を対象に、IgE抗体を測定した。さらに皮内テストの結果とIgE抗体の関係を検討した。

6. rMnSODの皮内テスト陽性例の臨床的背景を検討した。

## II. 抗真菌薬によるAD治療前後での菌相の変化

抗真菌療法は、初めに非吸収性の抗真菌剤を内服してその後吸収性の抗真菌剤に変更し、臨床症状の変化について検討した。真菌の検出は前額部、胸部、背部の病変部、無疹部よりテープを用いて角層表面のM.f.を培養、C.a.は舌と糞便より培養した。

### (倫理面への配慮)

皮膚テスト、皮膚培養実施に際しては、患者さんへの説明及び同意を得、院内倫理委員会での許可を得て実施した。臨床的背景因子の検討に際しては、患者情報の秘密保持に慎重に配慮した。

## C. 研究結果

### I. *Candida Mn SOD*のアレルゲン活性について

1. nMnSODとrMnSODに対するIgE抗体の間には $r=0.910$ と高い相関が認められ、rMnSODはnMnSODとほぼ同等のアレルゲン活性を有していると考えられた。
2. 165例を対象に実施した皮内テストでは、rMnSODに対して8例(4.8%)、カンジダに対して66例(40.0%)、マラセチアに対して38例(23.0%)が即時型反応陽性であった。rMnSODに陽性の8例の内、6例がカンジダに、全例がマラセチアに対しても陽性であった。
3. 84例中rMnSODに対して8例(9.5%)、カンジダに対して18例(21.4%)、マラセチアに対して22例(26.2%)がIgE抗体陽性であった。rMnSODに対して陽性の8例全例がカンジダ、マラセチアに対しても陽性であった。
4. rMnSODとカンジダ粗抗原に対するIgE抗体の間には $r=0.841$ とよい相関が認められた。
5. 皮内テストとRASTの一致率は、rMnSOD 97.6%、カンジダ 31.0%、マラセチア 81.0%であり、rMnSODに対する皮内テストとRASTの結果はよく一致していた。
6. rMnSODに対する皮内テスト陽性の8例のうち、7例がADを合併している症例であった。

## II. 抗真菌薬によるAD治療前後での菌相の変化

M.f.は背部より検出された例が多かったが、菌数は病変部、無疹部において特に一定の傾向はみられなかった。また皮疹の重症度とも有意な関係は認められなかった。舌、便中からのC.a.はほとんど検出されない例が多かった。治療前後で菌数、菌相の検討ができたものは7例あった。抗真菌療法の有効性に関しては有効であると考えられたものが7例中2例、やや有効3例、不変2例であった。治療後の真菌培養の結果は、例数が少ないもののM.f.は総じて菌が減少ないし消失しており、抗真菌薬により、皮表のM.f.が減少したことが示された。しかしながら、抗真菌療法による不変例でも菌数は減少しており、皮膚症状の改善と菌数の減少とは直接的な関連はみられず、さらに検討が必要と思われる。

## D. 考察とE. 結論

C.a.のmanganese superoxide desmutase (MnSOD)はヒトに対するアレルゲンであることが確認され、今回調製したrMnSODのアレルゲン活性は、nMnSODの活性とほぼ同等であった。またMnSODに対するIgE抗体陽性例は、大半がADの症状を有していた。今後はMnSODのAD病態における役割、マラセチアアレルゲンとしてのMnSODの位置づけや他の真菌との交差抗原性についての検討が必要である。

抗真菌薬のAD治療における効果については、抗真菌薬を使用することにより明らかに皮表のM.f.の減少は認められたが、効果との関連は不明であり、今後症例を増やして検討することが必要である。

## F. 研究発表

### 学会発表

斉藤明美他：ヒト常在菌*Candida albicans*由来の精製抗原に対するヒトの感作状態の解析. 第44回日本医真菌学会総会 11.25,26 長崎



## 研究要旨

アトピー性皮膚炎の治療に用いられている既存のステロイド薬ならびに免疫抑制薬の掻痒に対する効果を明らかにする目的で、アトピー性皮膚炎の動物モデルとして注目されているNC系マウスを用いて検討した。NC系マウスは、ダニのいる飼育環境下で飼育すると、徐々に自発的な掻き動作が出現しはじめ、皮膚症状が悪化してくる。実験には、掻き動作が高頻度で出現して出血・脱毛などの明らかな皮膚病変を示すマウスを使用した。Betamethasone 17-valerate (Beta) あるいはFK506を溶媒に懸濁し、1日1回、3週間経口投与した。NCマウスの、①後肢による全身の掻き動作回数の変化(ビデオ撮影)、②皮膚症状の変化(4段階のスコア化)、③背部皮膚神経枝の自発神経活性(麻酔下で活動電位を細胞外記録)、④吻側背部皮膚内の一酸化窒素(NO)濃度(皮膚内マイクロダイヤリシス法)を測定した。溶媒のみを3週間投与した対照群のNCマウスの掻き動作回数は、投与前と変わらなかった。FK506とBeta投与群のマウスは投与1-3週間後において、投与前に比べて有意な掻き動作回数の減少を示した。FK506は、6日間の投与でほぼ最大の抑制効果が得られたが、Betaは10日間の投与を要した。対照群のマウスの皮膚症状は実験期間中、一定していたのに対して、FK506投与群のマウスでは症状の若干の改善が見られた。一方、Beta投与群では改善が見られなかった。また、3週間の薬物投与を終了した後に皮膚枝神経活動を測定すると、対照群のマウスで著明に亢進していた神経活性は、FK506とBeta投与群のマウスにおいて明らかに低下していた。FK506投与群マウスの背部皮内のNO濃度は、対照群と同程度の高値を示していた。以上の成績から、FK506とBetaはアトピー性皮膚炎モデルマウスの掻痒反応を抑制することを明らかにした。その効果発現はFK506の方が早く、両薬物の抑制作用の主な作用部位は、末梢の皮膚レベルであると考えられる。FK506の抗掻痒作用には、内因性の痒み増強物質として働く可能性の高いNO系とは異なる機序が関与する。一方、Betaの抗掻痒作用は皮膚症状の変化とは独立して生じる可能性を示唆する。薬物の外用適用による抗掻痒効果の評価系の確立を含めて、それら薬物の作用機序の解明が今後の課題である。

## A. 研究目的

痒みの発症には、感染や紫外線照射により皮膚で産生される炎症・免疫のメディエーターや皮膚の表層で遊離されるニューロペプチドなどが関与することが推察されているが、その機序については不明な点が多い。アトピー性皮膚炎の治療にはステロイドホルモンや免疫抑制薬が用いられているので、それらの鎮痒効果を評価することは、痒みの発症機序の解明につながる可能性がある。近年、アトピー性皮膚炎の動物モデルとして注目されているNC系マウスは、ダニのいる通常環境下で飼育すると、痒み関連反応としての掻き動作を示すようになる。そこで、このマウスを用いて皮膚炎を伴う痒みに対するステロイドホルモンとタクロリムス(FK506)の作用を検討した。

最近、我々は麻酔下でマウスの背部皮膚神経枝

の神経活動を測定することにより、痒みの客観的な評価系を確立したので、この方法を用いて、薬物の抗掻痒作用部位を調べた。さらに、皮膚内で過剰に産生される一酸化窒素(以下NOと略す)が、痒みの発生・増強に関与する可能性を指摘しているため、NC系マウスの皮膚内のNO濃度に対する薬物の影響も調べた。

## B. 研究方法

雄性のNC系マウスを用いた。マウスは、specific pathogen free (SPF) 環境下で繁殖・飼育した。4週令で離乳後、ダニのいる通常環境に移し(Conv. NC)、16週令で1群8匹の3群あるいは2群に分けて実験に使用した。薬物の連投を開始する2~4日前に次のように群分けを行った。四つに仕切ったアクリルケージ(13×9×24 cm)に1匹ずつ

マウスを入れ、20 分間、直接観察して掻き動作の回数を数えた。これを 3 日間繰り返し、各群におけるマウスの掻き動作数の平均が同様になるように振り分けた。一部の実験では、SPF 環境下で飼育を継続する群のマウス (SPF NC) を用いた。

使用薬物：FK506 と betamethasone 17-valerate (Beta) を使用した。薬物は 0.5% methylcellulose (MC) に懸濁し、1 mg/kg の用量を 3 週間、毎日午前 10:00 に経口投与した。対照群には 0.5% MC を投与した。

掻き動作の測定：投与前日と投与後 1, 6, 10, 17, 20 日目に無人環境下でマウスの行動をビデオカメラで撮影した。ビデオの再生により掻き動作を観察し、後肢によるすべての掻き動作の回数を数えた。

皮膚病変のスコア化 (4 段階)：スコア 0, 毛並みがよく正常の皮膚；スコア 1, 顔面と吻側背部に軽度の毛並みの悪化, 耳や顔面に若干の出血と掻き傷；スコア 2, 毛並みの悪化と脱毛, 耳や顔面の出血や傷に加え吻側背部にも数個の傷や出血；スコア 3, 重度の脱毛や出血で耳の喪失。

背部皮膚神経枝活動電位の測定：マウスをウレタン (1.5 g/kg, i.p.) で麻酔した後、37°C の保温板の上で腹位にして、四肢をセロハンテープで固定した。吻側背部の皮膚を切開して捲り、皮膚神経枝を双極の銀電極にのせた。神経は、乾燥を防ぐために脱脂綿を被せて mineral oil で浸した。皮膚神経枝の電気活動は、双極電極を用いて細胞外記録法により測定し、前置増幅器を介して AC Bioelectric Amplifier (AB-651J; Nihon Kohden) で増幅した。60 分経過した後、high cut (1 kHz) および low cut (150 Hz) のフィルターを通して、DAT data recorder (RD-135T; TEAC 社) に記録した。データは PowerLab/8s (ADInstruments, BRC 社) を用いてコンピューターに取り込み、Chart Software (SHE Extension; AD Instruments) を用いて解析した。60 分間に発生した自発活動電位の総数を計測した。

皮膚内マイクロダイヤリシス法による NO 濃度の測定：マウス吻側背部を除毛し、urethane (1.5 g/kg, i.p.) で麻酔した。麻酔後、背部皮内に透析チューブ (PNF-1700, Asahi Medical, 東京) を通した。この透析チューブをポリエチレンチューブ (EF-250, Eicom) を介して 0.1 mM carboxy-PTIO (NO scavenger) 含有の PBS を入れたマイクロシリンジにつなぎ、二連のマイクロシリンジポンプ (EP-60, Eicom) の一方に連結した。他方のマイクロシリンジ

には Griess 試薬液を入れた。10  $\mu$ L/min の流速で灌流し、透析チューブから流出する溶液と Griess 試薬液を三方活栓を介して混和した。30 分間灌流した後に、5 分毎に 3 回、96 well plate に回収した。回収液はマイクロプレートリーダーを用いて 540 nm の波長で吸光度を測定し、3 つのサンプルの平均値の濃度を算出した。

### C. 研究成果

Conv. NC 系マウスでは、8 週令頃から毛並みの悪化や顔と耳に掻破痕などが観察され、16 週令になると特に吻側背部の皮膚症状が悪化した。SPF NC 系マウスでは毛並みの悪化や掻破痕は見られなかった。実験開始時の Conv. NC 系マウスの掻き動作回数は SPF NC 系マウスに比べて顕著に多かった。対照群の Conv. NC 系マウスの掻き動作回数は、実験期間中で若干の減少はあるものの、投与前と差が無かった (投与前 267 $\pm$ 58 回, 3 週間後 218 $\pm$ 31 回)。FK506 と Beta 投与群のマウスは投与 1-3 週間後において、投与前に比べて有意な掻き動作回数の減少を示した。FK506 は、6 日間の投与でほぼ最大の抑制効果が得られたが (投与前 233 $\pm$ 45 回, 6 日後 140 $\pm$ 19 回), Beta は 10 日間の投与を要した (投与前 266 $\pm$ 21 回, 10 日後 147 $\pm$ 20 回)。対照群のマウスの皮膚症状は実験期間中、スコア 2 前後で一定していたのに対して、FK506 投与群のマウスでは症状の若干の改善が見られた。一方、Beta 投与群では重度の脱毛が観察されるなど、むしろ悪化の傾向にあった。また、対照群の Conv. NC 系マウスの皮膚枝神経の自発活動電位数は、SPF NC 系マウスに比べて著明に増加していた (SPF NC 系マウス 642 $\pm$ 223, Conv. NC 系マウス 10,137 $\pm$ 2,033)。FK506 と Beta の投与群マウスの神経活動電位数は、対照群に比べて明らかに減少していた (FK506 投与群 1,979 $\pm$ 653, Beta 投与群 3,379 $\pm$ 829)。FK506 の連投により掻き動作が抑制されている NC 系マウスの背部皮膚内 NO 濃度を調べた。掻き動作抑制効果の再現性もあわせて検討するため、別の Conv. NC 系マウスを用いて、3 週間 FK506 を経口投与した。対照群のマウス (n = 6) では、60 分間の掻き動作回数が投与前、282 $\pm$ 53 回であり、3 週間後においても 272 $\pm$ 72 回と変化しなかったのに対して、FK506 投与群のマウス (n = 5) では、237 $\pm$ 48 回から 118 $\pm$ 41 回に減少した。これらマウスの吻側背部皮膚の NO 濃度を測定したが、対照群が 11.0 $\pm$ 0.5  $\mu$ M, FK506 投与群が 11.1 $\pm$ 0.5  $\mu$ M であり、全く差が認めら

れなかった。

#### D. 考察

Conv. NC 系マウスの掻き動作回数は SPF NC 系マウスに比べて著明に増加していた。その掻き動作数が FK506 と Beta の 3 週間の投与により減少したことは、両薬物が掻痒反応を抑制する可能性を示唆する。それらの抑制作用は、FK506 が Beta よりも早く発現した。皮膚症状は FK506 投与群において改善傾向が示されたのに対して、Beta 投与群ではむしろ悪化の傾向にあった。Beta 投与群マウスの投与期間中の体重増加の度合いが、他の群と比べて若干抑制されていたので、過量による可能性も含めて、皮膚症状の悪化の原因については更なる検討が必要であろう。吻側背部皮膚を支配する皮膚枝神経の活性は対照群の Conv. NC 系マウスにおいて著明な増加を示していたが、その活性の低下が FK506 投与群のみならず、Beta 投与群においても認められた。このことから、Conv. NC 系マウスにおいて皮膚枝神経活性を亢進する(痒み反応惹起)因子が皮膚症状の悪化に伴って変化する因子とは異なることが推察される。Conv. NC 系マウスの皮膚枝神経の活動が亢進していたことは、皮膚組織側で産生される因子が、常時、自由神経終末の興奮を惹起していることを意味するので、この神経活動を抑制した FK506 と Beta による掻痒反応の抑制作用部位は末梢の皮膚レベルであると考えられる。Conv. NC 系マウスでは、その掻き動作が NO 合成酵素阻害薬の投与で抑制されるのと同様の時間経過で、背部皮膚内で過剰産生される NO 濃度が低下し、神経活動の低下がみられるので、背部皮膚内で産生される過剰の NO が掻痒反応に関与する可能性が高い。そこで、FK506 投与終了後の皮膚内 NO 濃度を測定したが、対照群と同程度の高値を示していたことから、掻痒反応の抑制作用機序に NO 系が関与する可能性は少ない。

#### E. 結論

FK506 と Beta はアトピー性皮膚炎モデルマウスの掻痒反応を抑制することを明らかにした。その効果発現は FK506 の方が早く、両薬物の抑制作用の主な作用部位は、末梢の皮膚レベルであると考えられる。FK506 の抗掻痒作用には、内因性の痒み増強物質として働く可能性が高い NO 系とは異なる機序が関与する。一方、Beta の抗掻痒作用は皮膚症状の変化とは独立して生じる可能性を示唆する。薬物の外用適用による抗掻痒効果の評価系の確立を含め

て、それら薬物の作用機序の解明が今後の課題である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Tohda C., Sugahara H., Kuraishi Y. & Komatsu K.: Inhibitory effect of Byakko-ka-ninjin-to on itch in a mouse model of atopic dermatitis. *Phytother. Res.*, 14: 192-194, 2000.

Tohda C., Kakihara Y., Komatsu K. & Kuraishi Y.: Inhibitory effects of methanol extracts of herbal medicines on substance P-induced itch-scratch response. *Biol. Pharm. Bull.*, 23: 599-601, 2000.

Kuraishi Y., Yamaguchi T. & Miyamoto T.: Itch-scratch responses induced by opioids through central mu opioid receptors in mice. *J. Biomed. Sci.*, 7: 248-252, 2000.

Andoh T. & Kuraishi Y.: Involvement of blockade of leukotriene B<sub>4</sub> action in anti-pruritic effects of cimetidine in mice. *Eur. J. Pharmacol.*, 406: 149-152, 2000.

Maekawa T., Nojima H. & Kuraishi Y.: Itch-associated responses of afferent nerve innervating the murine skin: different effects of histamine and serotonin in ICR and ddY mice. *Jpn. J. Pharmacol.*, 84: 462-466, 2000.

Yamaguchi T., Maekawa T., Nishikawa Y., Nojima H., Kaneko M., Kawakita T., Miyamoto T. & Kuraishi Y.: Characterization of itch-associated responses of NC mice with mite-induced dermatitis. *J. Dermatol. Sci.* 25: 20-28, 2001.

##### 2. 学会発表

倉石 泰: サブスタンス P による痒みの動物モデルとそのメカニズム. 第 10 回国際痒みシンポジウム, 2000, 10, 東京.

前川竜也, 山口朋美, 野島浩史, 倉石 泰: NC マウスの自発的痒み関連行動と皮膚枝神経活動の関連性. 第 98 回日本薬理学会近畿部会, 2000, 10, 岐阜.

#### H. 知的所有権の取得状況

なし

### 研究要旨

アトピー性脊髄炎患者は、ダニ抗原以外にも、黄色ブドウ球菌エンテロトキシンやブタ回虫に対して高 IgE 応答を示すことを明らかにした。このことから、黄色ブドウ球菌から産生されるエンテロトキシンや寄生虫との接触が、アトピー性脊髄炎の発症や増悪に関与している可能性が考えられる。またこれらは治療の標的になる可能性があり、重要と考えられる。

### A. 研究目的

これまでに我々は、アトピー性皮膚炎 (atopic dermatitis; AD) に伴い頸髄炎が発症することや、AD の合併がなくても高 IgE 血症とダニ特異的 IgE 抗体が陽性である脊髄炎の存在を指摘し、アトピー性脊髄炎 (atopic myelitis; AM) という疾患単位を提唱してきた。さらに AM の脊髄病理所見が AD 同様、好酸球性炎症であることも明らかにした。AD は黄色ブドウ球菌が産生するエンテロトキシン (staphylococcal enterotoxin; SE) によって増悪し、AD 患者の約 80% は SE 特異的 IgE が陽性であると報告されている。さらに、名和らは我が国のような先進国では、寄生虫感染がアレルギー性疾患の増悪因子となりうる可能性を指摘している。そこで今回我々は、AM 患者における SE やブタ回虫に対する抗体応答を検討することで、これらの感染性因子が AM の増悪因子として作用している可能性があるか明らかにすることを目的とした。

### B. 研究方法

高 IgE 血症とダニ特異的 IgE 陽性の AM 24 例 (AD 合併 11 例、非合併 13 例)、正 IgE 血症性脊髄炎 12 例、多発性硬化症 28 例、健常対照 34 例を対象に、黄色ブドウ球菌エンテロトキシン A (staphylococcal enterotoxin A; SEA) および B (staphylococcal enterotoxin B; SEB) 特異的 IgE を A1aSTAT 法にて測定した。また AM 23 例、正 IgE 血症性脊髄炎 12 例、多発性硬化症 28 例、健常対照 21 例を対象に、抗ブタ回虫 IgG 抗体を ELISA 法にて、IgE 抗体を A1aSTAT 法にて測定した。

(倫理面への配慮)

各種検査は、患者のインフォームドコンセントを取得した上で行った。

### C. 研究結果

1. AM では、SEA/SEB 特異的 IgE 陽性率は AD 合併の有無にかかわらず、健常対照や他の疾患群に比し有意に高かった (いずれも  $p < 0.01$ )。AM では AD 合併の有無により、SEA/SEB 特異的 IgE 陽性率に有意な差を認めなかった。対象全体では、血清全 IgE 値と SEA/SEB 特異的 IgE 値の間に有意な相関を認め (それぞれ  $r = 0.879$ ,  $p < 0.0001$  および  $r = 0.734$ ,  $p < 0.0001$ )、AD 合併 AM でも同様であったが (それぞれ

$r = 0.991$ ,  $p < 0.001$  および  $r = 0.835$ ,  $p < 0.05$ )、AD 非合併 AM ではいずれも有意な相関を認めなかった (それぞれ  $r = 0.487$ ,  $p = 0.0927$  および  $r = 0.042$ ,  $p = 0.8126$ )。AM ではダニ特異的 IgE 値と SEA/SEB 特異的 IgE 値の間に有意な相関を認めなかった。

2. 抗ブタ回虫 IgG/IgE 抗体陽性率は AM 39.1%/73.6%、正 IgE 血症性脊髄炎 8.3%/0%、多発性硬化症 17.9%/7.1%、健常対照 4.8%/14.3% と、AM のみ健常対照に比し有意に IgG/IgE クラスとも抗体陽性率が高かった ( $p < 0.05$  および  $p < 0.01$ )。

### D. 考察

今回の研究により AM 患者では、ダニ抗原以外にも、黄色ブドウ球菌エンテロトキシンやブタ回虫に対して高い IgE 応答を示すことが明らかとなった。このことから、黄色ブドウ球菌から産生されるエンテロトキシンや寄生虫との接触が、AM の発症や増悪に関与している可能性が考えられた。また黄色ブドウ球菌エンテロトキシンは、従来我々が報告したダニ抗原とは独立した増悪因子であることが示唆された。このような感染性因子が脊髄炎の発症や増悪に関与する機序として、(1) エンテロトキシンのもつスーパー抗原活性により自己反応性 T 細胞が活性化される、(2) エンテロトキシンに対して産生された IgE 抗体が肥満細胞や好塩基球に結合し脱顆粒を誘導することにより、組織障害を引き起こしたり好酸球の遊走を促進する、(3) 浸潤した好酸球が脱顆粒することで更に組織障害が促進する、(4) さらに我が国のような先進国では、寄生虫との接触により Th2 細胞が強力に活性化される結果、複数のアレルギー特異的 IgE 産生が増強し、好酸球や肥満細胞の活性化につながる、などが考えられる。

### E. 結論

AM では様々な感染性因子に対し高い IgE 応答がみられ、感染性因子が脊髄炎の発症や増悪に関与していることが示唆された。これらは AM の治療の標的になる可能性もあり、重要と思われる。