Morishita R., Kaneda Y., Ogihara T.	Therapeutic Potential of Oligonucleotide-Based Therapy in Cardiovascular Disease.	Bio drugs	17(6)	383-389	2003
森下竜一	皮膚関連疾患に対する遺伝子治療	日本皮膚科学会雑誌	113巻第13号	1940-1942	2003

尚、研究成果刊行一覧表に掲載した内容のうち、各年度の総括・分担報告書で別刷りを印刷した文献については、本報告書では別刷りの印刷を割愛し、リストの掲載にとどめた。

核酸医薬外用剤のアトピー性皮膚炎への臨床応用

Tamai Katsuto
玉井 克人[1)*, 4)]
Kaneda Yasufumi
金田 安史[1)#]
Nakamura Hiroshige
中郡 弘重[2)]
Morishita Ryuichi
森下 竜一[2)#]
Hanada Katsumi
花田 勝美[3)#]
Itami Satoshi
板見 智[4)*]
Katayama Ichiro
片山 一朗[4)#]
[1)]大阪大学大学院医学系研究科遺伝子治療学，[2)]大阪大学大学院医学系研究科臨床遺伝子治療学
[3)]弘前大学医学部皮膚科学，[4)]大阪大学大学院医学系研究科皮膚科学　*助教授　#教授

転写因子NFκBに結合し，その機能を阻害する事により皮膚炎を抑制するNFκBデコイDNA軟膏を開発した。アトピー性皮膚炎モデルマウスであるNC/Ngaマウスにおいて，NFκBデコイDNA軟膏は真皮の浸潤肥満細胞にアポトーシスを誘導し，著明に皮膚炎を抑制した。この結果を基に，成人重症アトピー性皮膚炎患者に対するNFκBデコイDNA軟膏臨床試験を進め，びらんを伴う重症顔面病変に対して極めて有効という結果を得た。しかし，体幹，四肢に対しては著明な効果は認められず，より有効な結果を得るためには吸収効率の改善が必要である。

アトピー性皮膚炎／転写因子／NFκB／核酸医薬

はじめに

アトピー性皮膚炎は，軽症例は一般診療所でも症状のコントロールが可能であるが，重症例は大学病院などの高度機能病院でさえ，治療に苦慮することが少なくない。特に，顔面の重症病変に対しては，ステロイド軟膏や免疫抑制剤軟膏の使用は副作用の点から難しく，新しい有効かつ安全な治療薬の開発が望まれる。本稿では，核酸医薬という新しい概念の治療薬の中で，現在われわれが臨床試験を進めているNFκB (nuclear factor-κB) デコイDNA軟膏開発の現状をまとめる。

I．核酸医薬と遺伝子治療薬の違い

核酸医薬とは，蛋白産生能を持たない核酸，すなわちオリゴDNA/RNAを用いた治療薬の総称である。実際に臨床応用が進められている核酸医薬としては，アンチセンスオリゴDNA/RNA*注1があり[1)]，また将来の臨床応用に向けて開発が進められている核酸医薬としてはリボザイム，RNAiなどがある[2),3)]。最近われわれは，新しい

*注1
細胞内DNAやmRNAと相補的な配列を持ち，これと結合することによりその機能を阻害する。

概念の核酸治療薬であるデコイDNAのアトピー性皮膚炎への臨床応用を進めつつある[4]。「デコイ」とは「おとり」を意味し，デコイDNAは，特定の蛋白質が特異的に認識し，結合するDNA配列を含む二本鎖DNAで，細胞内に投与することにより，おとりとなって標的蛋白をデコイDNA上の塩基配列に結合させ，その機能を抑制する（図1）[5]。

一方，遺伝子治療とは，遺伝子，すなわち蛋白産生機能を有するDNAを生体内に導入することにより特定の臓器・組織を形質転換し，疾患を治療する方法であり，蛋白産生能を持たない核酸医薬とは明確に区別される。遺伝子治療によってもともと存在しない機能遺伝子を生体内に導入することにより，遺伝病など従来治療不可能であった様々な疾患の治療が可能になると期待されている。その一方で，予期せぬ副作用出現の可能性も否定できず，特に治療用遺伝子が生殖細胞の染色体に組み込まれた場合，予期せぬ遺伝子変化が次世代に受け継がれ，胎児奇形や新たな遺伝性疾患を生む可能性があるため，遺伝子治療の適応は厳密な審査の基に管理されている。

Ⅱ．NFκBデコイDNA軟膏の開発

NFκBは，TNF（tumor necrosis factor）-αやIL（interleukin）-1，UVB（ultra violet B）などの炎症誘導性刺激により種々のサイトカイン，ケモカイン，成長因子，接着分子など，炎症関連遺伝子群の発現を誘導し，炎症発症の病態に中心的役割を持つ転写因子の一つである[6]。NFκBデコイDNAは，NFκBと特異的に結合する配列（CCCTAAAGGG）を含むオリゴDNAで，NFκBと結合してその作用を特異的に阻害することにより，種々の炎症関連遺伝子

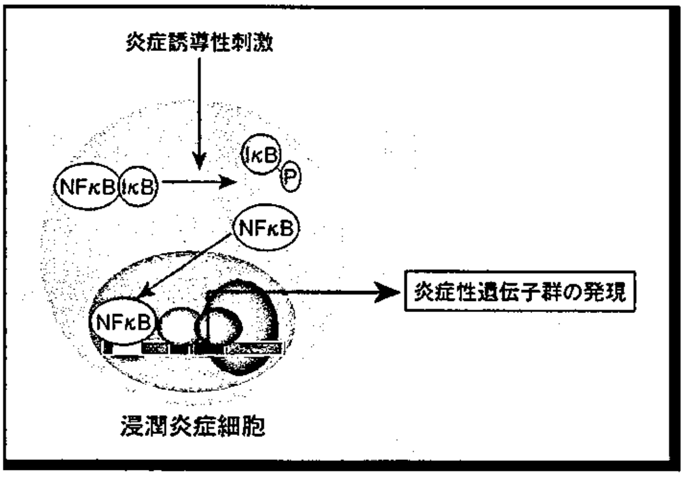


図1　NFκBの作用機序

TNF-αやIL-1などの炎症誘導性刺激によりインヒビターIκBがリン酸化されてNFκBより遊離し，標的遺伝子のプロモーターに結合することにより，炎症性遺伝子の発現が誘導される．

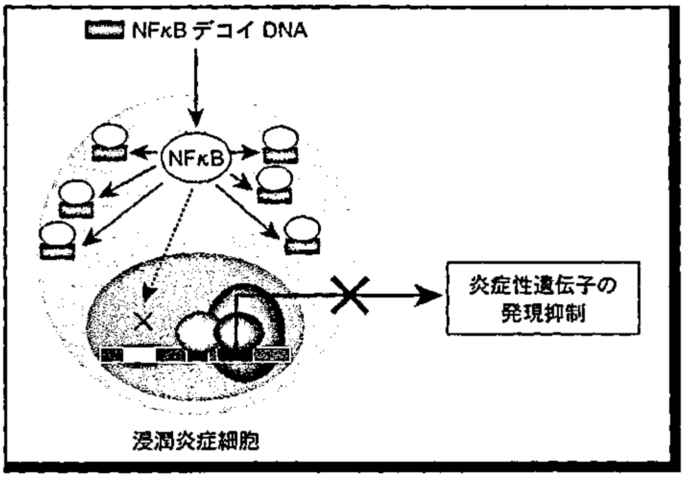


図2　NDONの作用機序
NFκBデコイDNAにNFκBが結合することにより，標的遺伝子の発現が抑制される．

群の発現を抑制して抗炎症作用を発揮する（図2）[5]。われわれは，アトピー性皮膚炎モデルマウスとして知られ，通常環境下で飼育すると皮膚炎を自然発症し，真皮内に著明な肥満細胞浸潤をみるNC/Ngaマウス[7),8)]に対し，ワセリンを基剤とした1.6%NFκBデコイDNA軟膏を塗布し，その抗炎症効果を検討した。NFκBデコイ軟膏塗布群，1.6%スクランブルデコイDNA（ランダムな配列からなる20塩基対DNA）軟膏塗布群，ワセリン塗布群，無投与群の4群に分けて，皮膚炎未発症マウス背部に2週に1回，8週間塗布し，皮膚炎発症予防効果を検討した。また，皮膚炎を既に発症したマウスに対し，NFκBデコイ投与群，スクランブルデコイ投与群の2群に分けて，皮膚炎治療効果を検討した。その結果，発症予防，皮膚炎治療いずれの試験においても，NFκBデコイ投与群はコントロール群に比べて著明な皮膚炎抑制効果を得た。さらに，NFκBデコイDNA塗布群では真皮内に浸潤する肥満細胞数が著明に減少すること，この減少が肥満細胞のアポトーシス[*注2]に起因することが組織化学的検索により明らかとなった[4]。

＊注2
遺伝子機能により誘導される細胞の自殺。これにより生理的に不必要になった細胞が排除されている。

Ⅲ．NFκBデコイDNA軟膏を用いたアトピー性皮膚炎治療

NC/Ngaマウスに対する皮膚炎治療効果を基に，NFκBデコイDNA軟膏のアトピー性皮膚炎治療の臨床試験を行った。弘前大学医学部倫理委員会にプロトコールを提出して承認を得た後，弘前大学附属病院皮膚科を受診した成人アトピー性皮膚炎患者の同意を得た上で，2％NFκBデコイDNA軟膏（基剤は白色ワセリン）の臨床試験を開始した。試験期間は4週間で，1週目は1日1回，3週目は1日2回塗布した。2週目および4週目は保湿剤のみの観察期間とした。その結果，NFκBデコイ

表1 NFκBデコイDNA軟膏の特徴と問題点

1. バリアの破壊された病変で吸収され効果を発揮する
2. 症状の改善後は吸収されないため，連続長期使用可能
3. 緩徐な効果出現と効果の長期持続
4. 治療中止後のリバウンドが無い（?）
5. 吸収効率の改善が必要

DNA軟膏はアトピー性皮膚炎の顔面病変，特に重度のびらんを伴う場合に極めて有効であることが明らかとなった。顔面病変を対象とした7例中6例で皮膚炎の改善が得られ，症状が重篤であるほど強い治療効果が得られた。一方，体幹，四肢の皮膚炎に対しては，顔面で得られたような治療効果は得られなかった。いずれの症例においても，局所性，全身性の副作用は認められなかった。

Ⅳ. NFκBデコイDNA軟膏の有用性と今後の展望

NFκBは，IL-1, IL-8, IL-12, IFN(interferon)-γ，TNF-α等の炎症性サイトカイン，RANTES (regulated upon activation normal T expressed and presumably secreted)，Eotaxin等のケモカイン，GM-CSF (granulocyte macrophage colony stimulating factor)，M-CSF(macrophage colony stimulating factor)等の成長因子，ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1)，VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1)，ELAM-1 (endothelial leukocyte adhesion molecule-1) 等の接着分子，Bcl-2等のアポトーシス抑制遺伝子など，炎症病変形成に関わる多くの遺伝子発現を誘導する転写因子である[6), 9)]。NFκBデコイDNAは，これら炎症関連分子の産生抑制により強い抗炎症効果を発揮するため，アトピー性皮膚炎のみならず，尋常性乾癬，蕁麻疹，接触性皮膚炎，薬疹など，多くの皮膚炎治療に有効であると予想される[6), 10)]。その一方で，NFκBデコイDNAは分子量12,000で，経皮的吸収が可能な分子量(1,000以下)を大幅に超えているため，バリア機能の低下している重症病変部以外で外用による効果を得ることは難しい。しかしこのことは，バリアが回復した後に塗布し続けても吸収されないため長期外用が可能な事を意味し，長期連用による副作用が問題となるステロイド外用剤や免疫抑制剤軟膏に比較して安全な外用薬と言える(表1)。

ステロイド軟膏や免疫抑制剤軟膏と比較して，NFκBデコイDNA軟膏は寛解期間が長い印象が得られた。今回のアトピー性皮膚炎臨床試験でNFκBデコイDNAが著効を示した症例では，臨床試験終了後もしばらくの間，保湿剤を中心とした治療が可能であった。従来の治療薬が，サイトカイン産生抑制など即効的炎症反応抑制を主な薬理作用とするのに対し，NFκBデコイ軟膏は肥満細胞のアポトーシス誘導というユニークな作用点を有する。皮膚病変部から肥満細胞が消失すれば，治療を中止しても長期間の症状改善が期待されるとともに，ステロイドで問題となるリバウンド現象も少ない事が予想される。今後，有効性・安

全性に関する情報を蓄積するとともに，経皮吸収を促進する基剤が開発されることにより，多くの難治性炎症性皮府疾患に対する新しい治療薬として臨床応用されることが期待される。

おわりに

新しい概念の核酸医薬であるNFκBデコイDNAを用いたアトピー性皮府炎治療薬の開発とその臨床応用の現状について述べた。今後，その有効性のさらなる確認と共に，安全性についての慎重な検討が必要であることは言うまでもない。現在，厚生労働省のアレルギー疾患予防・治療研究事業としてNFκBデコイDNA軟膏の有効性・安全性および作用機序の検討を進めている。また，その他の炎症性転写因子に対するデコイDNA軟膏の開発も展開されつつある。今後，NFκBデコイDNA軟膏をはじめとする多くの核酸医薬が開発され，重症皮府炎に苦しむ多くの患者にとって福音となることを期待したい。

文献

1) Jansen B et al : Chemosensitisation of malignant melanoma by BCL2 antisense therapy. Lancet 356 : 1728-1733, 2000
2) Long MB et al : Ribozyme-mediated revision of RNA and DNA. J Clin Invest 112 : 312-318, 2003
3) Hannon GJ : RNA interference. Nature 418 : 244-251, 2002
4) Nakamura H et al : Prevention and regression of atopic dermatitis by ointment containing NF-κB decoy oligodeoxynucleotides in NC/Nga atopic mouse model. Gene Ther 9 : 1221-1229, 2002
5) Morishita R et al : In vivo transfection of cis element "decoy" against nuclear factor-κB binding site prevents *myocardial infarction*. Nat Med 3 : 894-899, 1997
6) Makarov SS : NF-κB as a therapeutic target in chronic inflammation : recent advances. Mol Med Today 6 : 441-448, 2000
7) Matsuda H et al : Development of atopic dermatitis-like skin lesion with IgE hyperproduction in NC/Nga mice. Int Immunol 107 : 461-466, 1997
8) Suto H et al : NC/Nga mice : a mouse model for atoic dermatitis. Arch Immunol Thera Exp 48 : 497-504, 2000
9) Paul HL : Activations and target genes of Rel/NF-κB transcription factors. Oncogene 18 : 6853-6866, 1999
10) Tomita N et al : Trsasncription factor decoy for nuclear factor-κB inhibits tumor necrosis factor-α-induced expression of interleukin-6 and intracellular adhesion molecule-1 in endothelial cells. Hypertens 16 : 993-1000, 1998

重症アトピー性皮膚炎に対する核酸医薬治療
――転写因子 NF-κB を標的としたデコイ DNA 軟膏の臨床応用

Nucleic acid medicine for severe atopic dermatitis――clinical application of NF-κB-targeting decoy DNA ointment

玉井克人[1,3](写真), 金田安史[1], 中村弘重[2], 青木元邦[2], 森下竜一[2], 片山一郎[3], 花田勝美[4]
Katsuto TAMAI, Yasufumi KANEDA, Hiroshige NAKAMURA, Motokuni AOKI, Ryuichi MORISHITA, Ichiro KATAYAMA and Katsumi HANADA
大阪大学大学院医学系研究科遺伝子治療学[1], 同臨床遺伝子治療学[2], 同皮膚科学[3], 弘前大学医学部皮膚科[4]

◎NF-κB は多くの炎症関連遺伝子発現を誘導する転写因子である．最近，著者らは NF-κB 結合配列を含む 20 塩基対の oligodeoxynucleotide (NF-κB decoy oligodeoxynucleotide：NDON) 含有軟膏 (1.6%) を皮膚炎自然発症マウス (NC/Nga マウス) 皮膚に塗布することにより浸潤肥満細胞のアポトーシスを誘導し，皮膚炎症状の改善が得られることを明らかにした．この結果をもとに，弘前大学附属病院皮膚科を受診し，NDON 軟膏治療研究に参加希望した 20 歳以上 65 歳未満の重症アトピー性皮膚炎患者を対象に，2 週間の休薬期間を経た後に 2%NDON 軟膏を 1 日 1 回 1 週間塗布し，再度 1 週間休薬した後，朝夕 2 回 1 週間塗布して治療前後の臨床経過を観察した．その結果，NDON 軟膏は，アトピー性皮膚炎の顔面病変，とくに重度の湿潤局面に対してきわめて有効であることが明らかとなった．現在，NDON の用量効果と安全性をさらに確認するためのあらたなプロトコールを作成して多施設臨床研究を進めている．

Key word：アトピー性皮膚炎，NF-κB，デコイ DNA，核酸医薬，肥満細胞，遺伝子治療

アトピー性皮膚炎は，①皮膚角層バリア機能の低下，②皮膚侵入抗原に対する Th2 優位の特異免疫反応亢進と IgE 産生，③IgE 依存性抗原特異的 I 型アレルギー反応と遅発性IV型アレルギー反応などの病態が関与すると考えられている．これらの病態には，表皮 Langerhans 細胞，リンパ球，肥満細胞，好酸球など多くの免疫担当細胞から産生されるサイトカイン，ケモカインが関与しており，現在アトピー性皮膚炎治療に使用されているステロイド外用薬，免疫抑制剤外用薬，抗アレルギー剤はこれらサイトカインの産生抑制をそのおもな薬理作用とする．皮膚科専門医による適切な治療がなされれば，従来の治療法によりアトピー性皮膚炎のコントロールは可能である．しかし，薬剤の吸収がよい顔面では長期間のステロイドの外用は副作用が問題になることが多く，またびらん局面のある顔面病変への免疫抑制薬外用剤の使用は全身性副作用の出現や感染症の誘発などが問題となる．すなわち，アトピー性皮膚炎の重症顔面病変に対する有効かつ安全な治療薬の開発が期待されている．

最近著者らはこれまでにない新しい概念の皮膚炎治療薬として NF-κB decoy oligodeoxynucleotides (NDON) を用いた外用薬の開発を進め[1]，とくにアトピー性皮膚炎の重症顔面病変に有効な新規治療法として，その臨床研究を進めている．NF-κB は，種々のサイトカイン，ケモカイン，成長因子，接着分子，アポトーシス関連分子遺伝子群の発現を誘導する転写因子である (図 1)[2,3]．TNF-α，IL-1，UVB など種々の炎症性刺激によりインヒビター IκB がリン酸化され，NF-κB が IκB から遊離することにより活性化型となって核移行し，その転写因子としての機能を発揮する (図 1)．NDON は NF-κB と特異的に結合する配列 (CCCTAAAGGG) を含む 20 塩基対の DNA で，NF-κB と結合してその作用を特異的に阻害することにより NF-κB により制御されている多くの遺伝子群の発現を抑制する (図 2)[4,5]．

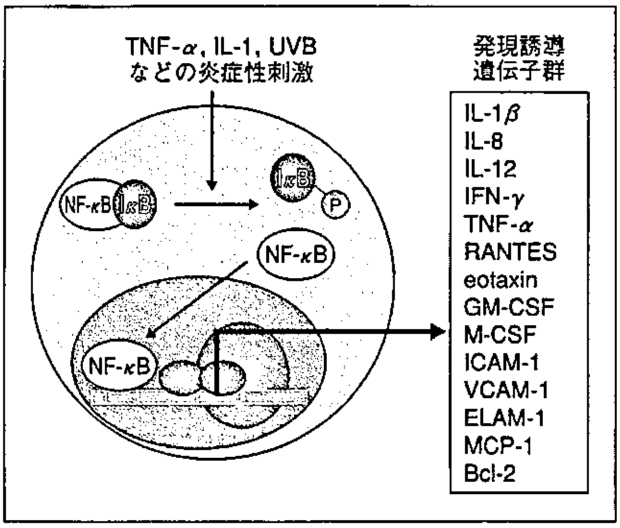


図 1　NF-κB の作用機序
TNF-α や IL-1 などの炎症性刺激により IκB がリン酸化されることにより結合がはずれ，活性化された NF-κB は核内移行して遺伝子プロモーター上の標的配列を認識・結合し，種々の炎症関連遺伝子の転写を活性化する．

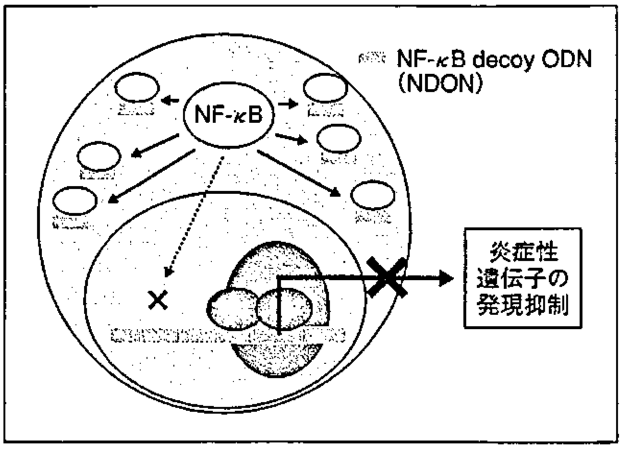


図 2　NDON の作用機序
NDON は NF-κB 結合配列を含む 20 塩基対の DNA で，細胞質内で NF-κB と結合し，その機能を阻害する．その結果，NF-κB により転写調節される種々の炎症関連遺伝子(図 1)の発現が低下し，炎症状態が抑制される．

本稿では NDON 軟膏の特徴と重症アトピー性皮膚炎に対する臨床研究成績について概説する．

NDON 軟膏の動物試験

NC/Nga マウスは通常の飼育により皮膚炎を自然発症し，血清 IgE 値の上昇と真皮への著明な肥満細胞浸潤を認めることから，アトピー性皮膚炎モデルマウスとしての有用性が報告されている[6,7]．NC/Nga マウスの皮膚炎は 8 週齢ごろから頭頸部に発症し，しだいに耳や背部に拡大，約 17 週齢で全身に至る．著者らは NC/Nga マウス皮膚炎の抑制に NDON が有効であるかどうかを検討した．具体的にはワセリンを基剤とした 1.6% NDON 軟膏を作製し，皮膚炎予防効果を検討する目的で 12 週齢の NC/Nga マウス背部皮膚に 2 週に 1 回，計 4 回塗布し，皮膚炎症状および組織学的変化をコントロール群と比較検討した．また，すでに著明な皮膚炎を有する 30 週齢の NC/Nga マウス背部皮膚に対して，NDON 軟膏を週 1 回塗布し，その効果をコントロールと比較検討した．その結果，いずれの試験においてもコントロール群に比較して，NDON 軟膏塗布群は著明な皮膚炎症状の改善を示した[1]．炎症改善後の皮膚を組織学的に検討した結果，コントロール皮膚に比較して過角化や表皮肥厚が改善していた．特筆すべき点として真皮内に浸潤する肥満細胞数がコントロール皮膚に比べて著明に減少していた[1]．アポトーシス染色法である TUNEL 染色と肥満細胞に特異的な c-kit 染色との二重染色により肥満細胞数の減少はアポトーシスに起因することが強く示唆された[1]．すなわち，NDON 軟膏は，従来のステロイド軟膏，免疫抑制剤軟膏と異なり，サイトカイン産生抑制のみならず，浸潤肥満細胞のアポトーシスを誘導するという，きわめてユニークな作用機序をもつことが予想された．

NDON 軟膏の臨床試験

NC/Nga マウス皮膚炎に対する NDON 軟膏の有効性を背景として重症アトピー性皮膚炎患者に対する臨床試験を行った．アメリカの DNA 合成会社に依頼・作製した NF-κB デコイ DNA をもとに，2%NDON 軟膏を作製した．弘前大学倫理委員会により審査，承認を得た後，弘前大学附属病院皮膚科を受診し，参加の同意を得た 20 歳以上 65 歳未満の重症アトピー性皮膚炎患者 10 例に NDON 軟膏臨床試験を開始した．NDON 軟膏外用開始 2 週間前よりアトピー性皮膚炎治療を目的とした外用剤をすべて中止し，基剤(白色ワセリン)のみで加療した．試験第 1 週目は 2%NDON 軟膏を 1 日 1 回連日塗布，2 週目は休薬(白色ワセリン

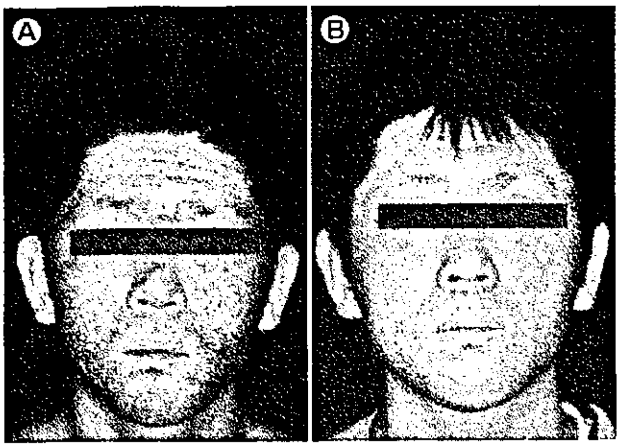


図 3　NDON 外用によるアトピー性皮膚炎治療効果
A：治療開始前，B：治療後.
NDON 外用剤塗布により著明な皮膚炎の改善が得られた. 今回の臨床試験では局所および全身性副作用は認められなかった.

のみ)して臨床効果の推移を観察，3 週目は朝夕 2 回 NDON を塗布，4 週目はふたたび白色ワセリンのみとし，計 1 カ月を NDON 軟膏臨床研究期間とした. 治療開始初日および開始後 1 週ごとに，臨床症状の推移，局所および全身性副作用の有無，末梢血および生化学的変化，total IgE の変動を観察した. その結果，NDON 軟膏は顔面に病変のある 7 例中 6 例で有効であった. とくに，皮膚炎症状が重篤かつ掻破によるびらん局面が多いほど有効であった(図 3). 顔面病変に効果の得られなかった 1 例は臨床試験期間中に重篤な感冒を合併していた. NDON 軟膏塗布終了後の臨床症状の推移を確認し得た症例では NDON 治療による皮膚炎改善効果は塗布終了後数カ月間持続した. 一方，体幹，四肢の病変部では対照の白色ワセリンに比較して有意な治療効果は得られなかった. いずれの症例でも局所および全身の副作用は観察されず，末梢血，生化学，total IgE の大きな変化も認めなかった.

NDON 軟膏の評価と展望

NDON 軟膏は，アトピー性皮膚炎の重症顔面病変，なかでも掻破性びらん局面を有する病変部に対してとくに有効であることが明らかとなった. 通常皮膚の角質バリアは分子量 1,000 を超える分子の通過を著明に制限するため，角質バリア機能が低下しているアトピー性皮膚炎患者でも分子量約 12,000 の NDON は容易に角層を通過し得ない. 今回の臨床研究で得られた NDON の有効性は全身皮膚のなかでもっとも生理的な物質吸収のよい顔面に，掻破によるさらなる角層のバリア破綻が加わったため，NDON が効率よく吸収されて効果を発揮した結果と考えられる. 一方，顔面に比較してバリア機能が数倍～十数倍高いことが知られている四肢や体幹などでは基剤(白色ワセリン)塗布部位と比較して NDON の優位な治療効果は確認し得なかった. 以上の結果は NDON の有効性が局所での吸収性に依存することを強く示唆すると考える. より長期間の NDON 軟膏塗布や密封療法の併用など，より効率のよい NDON 吸収を可能にすることにより顔面以外の病変部にも治療効果が得られる可能性があると思われる.

NF-κB は，IL-1，IL-8，IL-12，IFN-γ，TNF-α などの炎症性サイトカイン，RANTES，eotaxin などのケモカイン，GM-CSF，M-CSF などの成長因子，ICAM-1，VCAM-1，ELAM-1 などの接着分子，Bcl-2 などのアポトーシス抑制遺伝子などの遺伝子発現を誘導する転写因子である(図 1). IL-4 に代表される Th2 誘導性サイトカインに対する NF-κB の関与についてはかならずしも明らかではなく，NDON はアトピー性皮膚炎における Th2 優位の状況を特異的に改善する治療薬ではない. 実際，今回の臨床試験前後で血中 total IgE 値の変動(低下)は認められなかった. NC/Nga マウスを用いた研究により NDON の作用機序には肥満細胞のアポトーシスが強く関与することが示唆された[1]. アポトーシス抑制遺伝子である Bcl-2 が NF-κB により発現制御されており(図 1)，NDON による Bcl-2 発現抑制が肥満細胞のアポトーシス感受性を高めたと予想される. また，NDON は肥満細胞をはじめとする炎症細胞からの TNF-α 分泌抑制とともに ICAM-1 の病変部での発現を抑制することも示されており[1]，肥満細胞のアポトーシスのみならず，炎症細胞浸潤抑制，抗原提示細胞の機能抑制など，種々の抗炎症作用を発揮していることが予想される. サイトカイン産生抑制を主体とした直接的な抗炎症作用が主体である従来の治療薬と比較し，肥満細胞のアポトーシスや炎症細胞浸潤抑制など，局所から炎症

細胞を除去するというユニークな作用点を有することが，治療終了後にリバンウンドをみずに比較的長期間効果が持続した理由と考えられる．

NDONは，尋常性乾癬や接触性皮膚炎など，その他の皮膚炎に対する治療薬としても有効である可能性が期待される．今後，皮膚へのより効果的な核酸・DNA導入法が確立し，NDONがより多くの皮膚疾患に対する優れた抗炎症剤として臨床応用されることを期待したい．

おわりに

NDON外用剤の基礎的・臨床的研究経過についてまとめた．現在，NDON軟膏のアトピー性皮膚炎に対する第2回臨床研究が多施設，複数の用量設定により進められている．今後これらの臨床研究結果が明らかになることによりNODN軟膏のアトピー性皮膚炎に対する有効性・安全性が明確になると思われる．本研究がその他の核酸医薬など，新しいアトピー性皮膚炎治療法開発のきっかけとなることを期待したい．

文献

1) Nakamura, H. et al.：*Gene Ther.*, **9**：1221-1229, 2002.
2) Makarov, S. S.：*Mol. Med. Today*, **6**：441-448, 2000.
3) Paul, H. L.：*Oncogene*, **18**：6853-6866, 1999.
4) Morishita, R. et al.：*Nat. Med.*, **3**：894-899, 1997.
5) Tomita, T. et al.：*Arthritis Rheum.*, **42**：2532-2542, 1999.
6) Matsuda, H. et al.：*Int. Immunol.*, **107**：461-466, 1997.
7) Suto, H. et al.：*Int. Arch. Allergy Immunol.*, **120** (Suppl. 1)：70-75, 1999.

遺伝子治療の現状
おとり型核酸医薬など*

玉井 克人*[1,4]・金田 安史*[1]・中郵 弘重*[2]・森下 竜一*[2]
中野 創*[3]・花田 勝美*[3]・板見 智*[4]・片山 一郎*[4]

要約 NFκBは多くの炎症性遺伝子発現を誘導する転写因子である．最近われわれは，NFκBを標的としたおとり型核酸医薬としてNFκBデコイDNA軟膏を開発し，重症アトピー性皮膚炎に対する臨床応用を進めている．その結果，NFκBデコイDNA軟膏はアトピー性皮膚炎の重症顔面病変に対して特に有効であることが明らかとなりつつある．しかし，四肢・体幹に対する有効性を得るためには，高分子DNAの皮膚への浸透性を高める工夫が必要である．また，難治性遺伝性皮膚疾患に対する遺伝子治療研究も精力的に進められており，近い将来には新しい治療方法が確立されると期待される．

キーワード NFκB，転写因子，デコイDNA，アトピー性皮膚炎，遺伝子治療

玉井克人，他：臨皮 58(5増)：171-174，2004

はじめに

皮膚は生体の最外層に位置するため，安全性，有効性について厳密な管理を要求される遺伝子治療にとって，難治性皮膚疾患の多くが適応疾患としての可能性を持つと考えられる．その一方で，皮膚は生体外からの物質通過を強く制限するバリアー機構を発達させており，高分子DNAからなる遺伝子を外用により皮膚へ導入することは，きわめて困難である．現在われわれは，比較的分子量の小さな核酸分子であるNFκBデコイDNAを用い，アトピー性皮膚炎に対する臨床応用を進めている．本稿では，NFκBデコイDNA軟膏開発の現状をまとめるとともに，皮膚疾患に対する遺伝子治療の可能性を展望する．

遺伝子治療とは

染色体を構成するDNA塩基配列のなかで，蛋白質を産生するための機能領域を遺伝子と呼ぶ．ゲノムプロジェクトが終了し，すべての染色体上に存在する遺伝子の総数は約35,000個であることが明らかとなるとともに，それぞれの遺伝子配列がデータベース上で検索可能となり，必要な遺

* Current situation of gene therapy including decoy deoxy oligonucleotide medicine
*1 Katsuhito TAMAI：大阪大学大学院医学系研究科遺伝子治療学および皮膚科学(主任：片山 一郎教授) Department of Gene Therapy Science and Department of Dermatology, Osaka University School of Medicine, Osaka, Japan (Director：Prof I KATAYAMA)
*2 Hiroshige NAKAMURA and Ryuichi MORISHITA：大阪大学大学院医学研究科臨床遺伝子治療学(主任：森下竜一) Department of Clinical Gene Therapy, Osaka University School of Medicine, Osaka, Japan (Director：Prof R MORISITA)
*3 Hajime NAKANO and Katsumi HANADA：弘前大学医学部皮膚科学(主任：花田 勝美教授) Department of Dermatology, Hirosaki University School of Medicine, Hirosaki, Japan (Director：Prof K HANADA)
*4 Satoshi ITAMI：大阪大学大学院医学研究科皮膚科学(主任：片山 一郎教授) Department of Dermatology, Osaka University Graduate School of Medicine, Osaka, Japan (Director：Prof I KATAYAMA)
〔連絡先〕玉井 克人：大阪大学大学院医学系研究科遺伝子治療学および皮膚科学(〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-2)

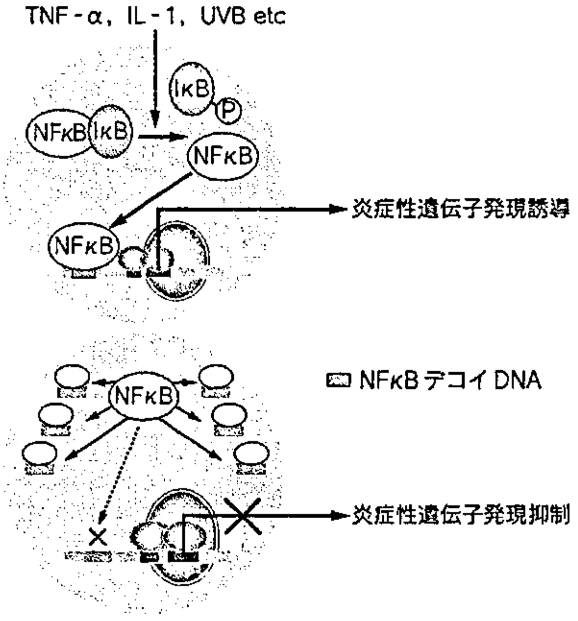


図1 NFκBによる炎症性遺伝子発現誘導とNFκBデコイDNA軟膏による発現抑制

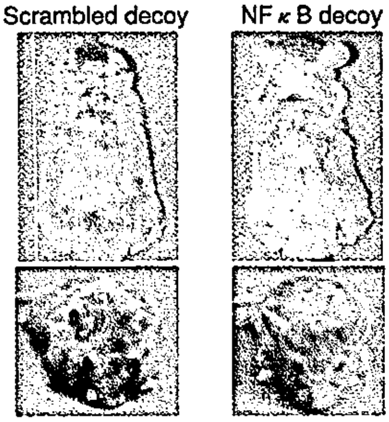


図2 NFκBデコイDNA軟膏によるNC/Ngaマウス皮膚炎の治療効果

伝子情報を容易に研究や医療に応用することが可能となった.

遺伝子治療は，特定の遺伝子DNAを生体内に導入することにより，特定の臓器・組織に必要な蛋白質を供給し，疾患を治療する方法である．データベース上の遺伝子情報を利用することにより，基本的に生体を構成するすべての蛋白質を産生させることが可能であり，特定蛋白質の欠損ないし異常により生じる難病に対し，標的臓器に治療用遺伝子を導入することにより新たな治療の道が開かれると期待される．しかしその一方で，発癌や胎児奇形などの予期せぬ副作用出現の可能性も否定できないため，その適応は厳密に管理されている．一方，核酸医薬は蛋白産生能を持たないオリゴDNA/RNAを用いた治療薬の総称で，蛋白質を産生する遺伝子治療とは区別される．細胞内に導入された核酸医薬は，その塩基配列により特異的に特定のDNA，RNA，蛋白質と結合し，これら標的分子の機能や代謝を制御することにより機能を発揮する．主な核酸医薬としては，アンチセンスオリゴDNA/RNA，リボザイム，RNAiなどがある[1~3]．

おとり型核酸医薬を用いた皮膚炎治療薬の開発

最近われわれは，新しい概念の核酸医薬として，おとり型核酸医薬NFκBデコイDNA軟膏を開発し，アトピー性皮膚炎に対する臨床応用を進めている[4]．NFκBは，サイトカイン，ケモカイン，成長因子，接着分子など，アレルギー・炎症にかかわる多くの遺伝子発現を制御する転写因子である[5]．NFκBデコイDNAは，NFκBと特異的に結合する配列(CCCTAAAGGG)を含む20塩基対のオリゴDNAで，炎症細胞内に導入することにより，“おとり”としてNFκBと結合し，その作用を特異的に阻害する[4,6](図1)．われわれは，皮膚炎を自然発症するNC/Ngaマウス[7,8]を用い，1.6%NFκBデコイDNA軟膏の効果を検討した[4]．具体的には，ワセリンを基剤とした1.6%NFκBデコイDNA軟膏塗布群，1.6%スクランブルデコイDNA(ランダムな配列からなる20塩基対DNA)軟膏塗布群，ワセリン塗布群，無投与群の4群に分けて，皮膚炎未発症(8週齢)マウス背部に2週に1回，8週間塗布し，皮膚炎発症予防効果を検討した．また，NFκBデコイ投与(1.6%)群，スクランブルデコイ投与(1.6%)群の2群につき，皮膚炎をすでに発症したマウス(29週齢)に1回のみ塗布し，皮膚炎治療効果を検討した．その結果，いずれの試験においても，NFκBデコイ投与群はコントロール群に比べて著明な皮膚炎症状の予防あるいは改善が得られた(図2)．さらに，NFκBデコイDNA

塗布群では真皮内に浸潤する肥満細胞数が著明に減少すること，この減少が肥満細胞のアポトーシスに起因することが組織化学的検索により明らかとなった[4]．

アトピー性皮膚炎に対するNFκBデコイDNA軟膏の臨床応用

NC/Ngaマウスに対する皮膚炎治療効果をもとに，NFκBデコイDNA軟膏の臨床試験を行った．弘前大学附属病院皮膚科を受診した成人アトピー性皮膚炎患者を対象とし，同意を得たうえで保湿剤以外の外用治療を2週間中止し，皮膚炎症状が不変ないし悪化した10症例を2%NFκBデコイDNA軟膏の臨床試験にエントリーした．1週目は1日1回塗布，3週目は1日2回塗布，2週目および4週目は休薬して観察期間とした．10症例中7症例は顔面病変，7症例は体幹ないし四肢病変をそれぞれ治療対象部位とした(4症例は顔面および体幹・四肢の両方に塗布)．その結果，NFκBデコイDNA軟膏はアトピー性皮膚炎の顔面病変，特に重度のびらん局面に対してきわめて有効であること，皮膚炎症状が重篤であるほど強い改善傾向が得られることが明らかとなった(図3)．しかし，体幹，四肢の病変部では，著明な改善効果は得られなかった．局所および全身性の副作用は認められなかった．現在これらの結果をもとにして，多施設二重盲検試験を計画している．具体的には，重症顔面病変を有するアトピー性皮膚炎患者40名を対象とし，0.1%，0.5%，1.5%のNFκBデコイ軟膏を計3週間，1日2回連日投与する予定である．第2回臨床試験の結果，NFκBデコイDNA軟膏の顔面重症病変に対する有効性，安全性が確認されれば，将来の治療薬としていっそうの開発推進が可能になると期待される．

皮膚科領域における遺伝子治療の展望

NFκBデコイDNAは，IL-1，IL-8，IL-12，IFN-γ，TNF-αなどの炎症性サイトカイン，RANTES，Eotaxinなどのケモカイン，GM-CSF，M-CSFなどの成長因子，ICAM-1，VCAM-1，ELAM-1などの接着分子，Bcl-2などのアポトーシス抑制遺伝子など，炎症反応にかかわる多くの遺伝子発現を抑制するため，その治療効果はアトピー性皮膚炎に限定されず，その他の多くの皮膚炎にも有効であると予想される[9]．しかし，分子量が12,800と大きく，分子量1,000を超える分子の通過を制限する角層バリアをいかにして通過させるかが今後の課題である．基剤の工夫などによりこの問題を克服できれば，接触性皮膚炎や尋常性乾癬など，その他の湿疹皮膚炎群や炎症性皮膚疾患に対する新たな治療薬として利用可能と考えられる．

いわゆる遺伝子治療については，筆者らは遺伝性皮膚疾患，なかでも先天性表皮水疱症の治療を目標に研究を進めている．表皮幹細胞に対して特異的に遺伝子導入可能な方法論が確立されれば，これら遺伝性水疱症，あるいは遺伝性角化症などの根本的治療が可能にある．最近，ウイルスを用いずに染色体の特定領域に特異的に遺伝子を導入する方法論の開発が進展し，先天性表皮水疱症の遺伝子治療に応用するための研究が進展しつつある[10]．近い将来，これまで治療不可能であった多くの難治性皮膚疾患に対する新たな治療法が開発されることが期待される．

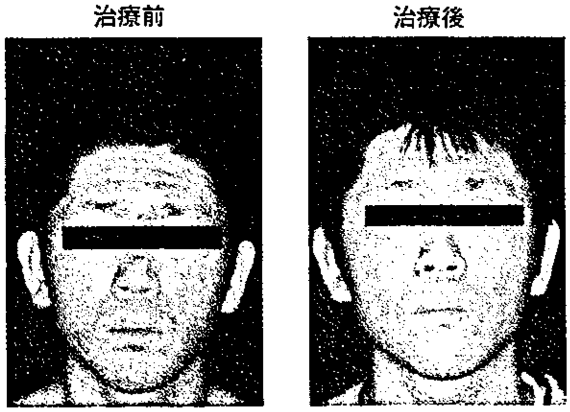


図3　アトピー性皮膚炎顔面病変に対するNFκBデコイDNA軟膏の効果

おわりに

現在世界で初めて臨床応用が進められつつある，NFκBデコイDNAを用いたアトピー性皮膚炎治療薬開発の現状を報告した．今後，多くの新しい核酸医薬，さらには有効な遺伝子治療法の開発が進展すると予想され，皮膚科領域における

新しい治療の可能性が広がることが期待される。しかしその一方で，倫理性や安全性の追求は，今後よりいっそうの慎重な検討が必要であることは言うまでもない。重症アトピー性皮膚炎や稀少難治性皮膚疾患に苦しむ多くの患者さんのために，有効かつ安全な治療法のさらなる開発を進めていかなくてはならない。

文　献

1) Jansen B, et al : Lancet 356 : 1728, 2000
2) Long MB, et al : J Clin Invest 112 : 312, 2003
3) Hannon GJ : Nature 418 : 244, 2002
4) Nakamura H, et al : Gene Ther 9 : 1221, 2002
5) Makarov SS : Recent advances. Mol Med Today 6 : 441, 2000
6) Morishita R, et al : Nat Med 3 : 894, 1997
7) Matsuda H, et al : Int Immunol 107 : 461, 1997
8) Suto H, et al : Arch Immunol Thera Exp 48 : 497, 2000
9) Tomita N, et al : Hypertens 16 : 993, 1998
10) Oritz-Urda, et al : Nature Medicine 8 : 1166, 2002

特集

遺伝子治療

遺伝子の異常による病気を正常な遺伝子を薬として使うことで治療する方法です。現在、難病に対して有効な遺伝子治療技術の開発が進められています。

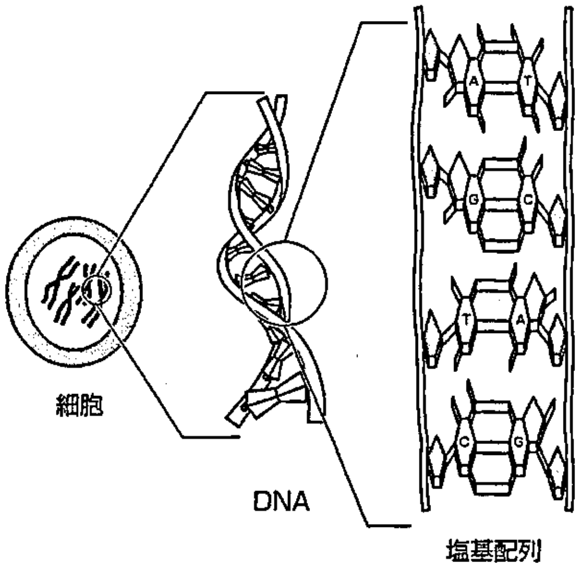
大阪大学大学院医学系研究科
遺伝子治療学助教授
玉井（たまい）　克人（かつと）

遺伝子とは何か

私たちの身体は、両親から受け継いだＤＮＡに書かれた暗号に従って、正確に作られています。ＤＮＡ上にはアデニン（Ａ）、グアニン（Ｇ）、シトシン（Ｃ）、チミン（Ｔ）の４つの塩基と呼ばれる物質からなる暗号が並んでおり（図１）、このＤＮＡ上の塩基配列として書かれた遺伝情報、すなわち命の「設計図」は、父親の精子と母親の卵子によって親から子へ、子から孫へと伝えられていきます。この命の設計図に従って、われわれの身体に必要なすべての部品が正確に作られています。

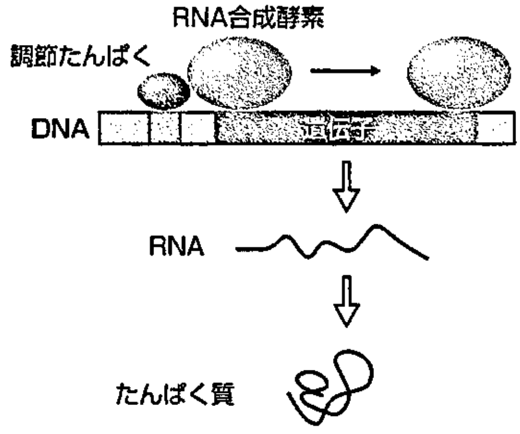
われわれの身体の心臓、肝臓、皮膚などの臓器はすべて細胞の

図1　DNAの構造



DNA上に並ぶ塩基配列は、AとT、GとCが対になって並んでいる。この塩基配列がタンパク質をつくる暗号として働いている。

図2　遺伝子からのたんぱく質合成



DNA上の塩基配列からなる暗号を、RNA合成酵素が読みとりながら移動していく。読みとられた暗号はRNAの形でリボゾーム上に運ばれ、そこでたんぱく質をつくる情報として利用される。RNA合成酵素の働きは、調節たんぱくにより促進、抑制を受ける。調節たんぱくもDNA上の塩基配列を認識してDNA上に結合する。

集合体であり、その一つひとつの細胞内にあるＤＮＡには約30億個の塩基配列が並んでおり、この塩基配列を基にして約3万種類のたんぱく質が作られます。このたんぱく質の一つひとつがわれわれの身体を作る部品として、あるいは糖や脂肪といったその他の部品を作るために必要な酵素として働いています。

1つのたんぱく質を作るために必要なＤＮＡ上の塩基配列の連なりを「遺伝子」と呼びます。ＤＮＡ上のところどころに存在する遺伝子の塩基配列を基にしてＲＮＡ合成酵素がＲＮＡを合成し、このＲＮＡを基にしてリボゾームと呼ばれる物質上でたんぱく質が合成されます(図2)。

この過程は、駅のホームの脇をゆっくりと走る電車をイメージさせます。すなわち、長い線路（ＤＮＡ）上のところどころに駅（遺伝子）があります。この駅の構内の枕木（塩基配列）が敷かれたレールの上を電車（ＲＮＡ合成酵素）がゆっくりと走り、ホームの端で停車した電車から荷物（ＲＮＡ）が降ろされて工場（リボゾーム）に運ばれ、製品（たんぱく質）が作られて必要な場所に出荷されていきます。

遺伝子の異常と病気の関係

これまで述べてきたように、ＤＮＡ上の塩基配列情報は、正確にＲＮＡに写し取られ、このＲＮＡを基にしてたんぱく質が合成されます。もしＤＮＡ上の塩基配列に間違いが生じると、異常なたんぱく質が作られたり、たんぱく質の合成がストップしてしまうため、身体を作る部品に不都合が生じ、病気になってしまいます。

ＤＮＡ塩基配列の異常は、タバコなどに含まれる発がん物質の大量摂取、日光に含まれる紫外線や放射線の大量照射、ある

種のウイルス感染などが原因となります。これらはいずれも細胞が分裂する際に、新たに合成されるＤＮＡ上の塩基配列に変化をきたす原因となり、その結果生じるたんぱく質の異常が、がんをはじめとする多くの病気の原因となります。

さらに、精子や卵子の中のＤＮＡに異常が生じると、その異常は子孫に伝わる（遺伝する）ため、いわゆる遺伝病が発症します。例えば、今回の特集記事の中にある「先天性表皮水疱症」や「角化症」では、皮膚に必要なたんぱく質を暗号している遺伝子の塩基配列異常が原因で皮膚の構造や機能が破綻するために、生まれたときから皮膚に水疱や潰瘍（先天性表皮水疱症）、異常な角化（角化症）が生じます。また、アトピー性皮膚炎や尋常性乾癬は、遺伝的体質に外的要因（食事や環境因子、精神的ストレス）が加わることにより生じると考えられており、このうち遺伝的体質は、遺伝子の塩基配列の違いにより健康な人とは異なるたんぱく質が作られることが原因と考えられています。

このように、がんや遺伝病、さらには生活習慣病を含む多くの疾患に遺伝子の異常が関係していることが明らかになってきています。

遺伝子治療とは

遺伝子治療は、がんや遺伝病といった、明らかに遺伝子の異常によって生じている病気に対して、正常な遺伝子を薬として補うことにより治療する方法として開発されました。とくに重症な遺伝病では、遺伝子の塩基配列異常により正常なたんぱく質がまったく欠損していることが多く、この場合欠損したたんぱく質を作る正常な遺伝子を細胞内に入れることによって必要なたんぱく質が補充されて、治療が可能となります。

例えば、先天性表皮水疱症では皮膚の細胞接着に必要なたんぱく質の遺伝子に異常があるために、皮膚の接着機能が破綻して、日常生活のわずかな作業でも皮膚がはがれて水疱や潰瘍が生じてしまいます。この病気の患者さんの皮膚に、皮膚の接着に必要なたんぱく質を作る遺伝子を入れることができれば、この病気の症状を軽減させることができると考えられます。

遺伝子治療を成功させるためには

遺伝子治療を成功させるためには、いくつかの難しい技術を開発する必要があります。例えば皮膚疾患の遺伝子治療を行うためには、皮膚に遺伝子を入れる方法を開発しなくてはなりません。

皮膚は身体の一番外側にあるために、外界から細菌やウイルス、カビなどの有害な生物や化学物質が侵入することを防ぐためのさまざまなバリアが発達しています。そのため、ＤＮＡのような大きな物質（高分子物質）は、簡単に皮膚の細胞に入れることはできません。現在私たちの研究室では、皮膚に遺伝子を入れる方法の開発を進めています。もし、軟膏やローションで遺伝子を皮膚に入れることができれば、遺伝病や皮膚がんの治療が可能になるかもしれません。

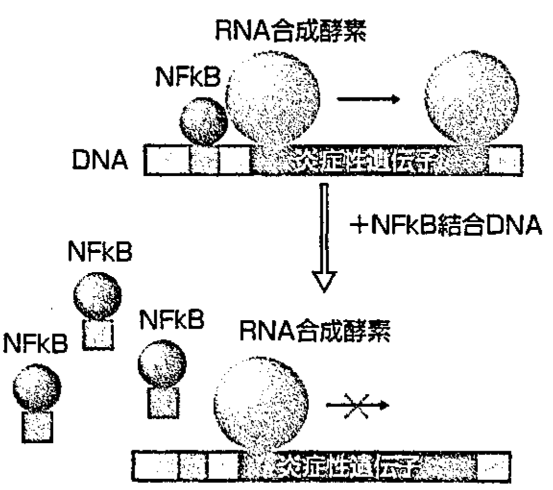
また、遺伝子は、たんぱく質を作るためのさまざまな仕掛けを塩基配列中に含んでいます。例えば、すべての細胞は両親から受け継いだ同じＤＮＡを持っているにもかかわらず、あるたんぱく質は皮膚でのみ作られ、あるたんぱく質は心臓で、あるいは脳でのみ作られます。その結果、皮膚は外敵から身体を守り、心臓は血液のポンプとして働き、脳は神経の機能を制御しています。特定の臓器で特定の

たんぱく質が作られるメカニズムは、現在少しずつ明らかになりつつあります。

遺伝子上の特定の塩基配列を認識して特定のたんぱく質（調節たんぱく）がＤＮＡ上に結合することにより、ＲＮＡ合成酵素の働きを調節します（図２）。皮膚には皮膚の調節たんぱくが、心臓には心臓の調節たんぱくが存在し、それぞれ異なる遺伝子の働きを調節することによって、それぞれの臓器で異なる遺伝子からのたんぱく質産生を誘導しています。この調節たんぱくが結合する塩基配列を遺伝子につなげることにより、特定の臓器でのみたんぱく質を産生する遺伝子を作ることが可能です。この遺伝子を用いて遺伝子治療を行うことにより、異常のある臓器のみで治療効果を発揮（たんぱく質合成）し、他の臓器では作用しない副作用の少ない治療が可能になるかもしれません。

しかし、この調節たんぱくの役割についてはまだまだ不明な点も多く、今後の研究によってより多くの情報を得る必要があります。遺伝子治療で最も難しいことは、治療効果を持続させることです。治療用の遺伝子を患者さんの細胞のＤＮＡ中に組み込むことができれば、効果は長続きします。しかし、ＤＮＡ中の特定の場所に治療用遺伝子を自由に組み込む技術が開発されていないため、治療用遺伝子がＤＮＡ上の大切な遺伝子内に組み込まれると、逆に病気を起こしてしまう可能性が生じます。有効かつ安全な遺伝子治療が可能になるには、ＤＮＡ上のねらった場所に遺伝子を自由に組み込む技術の開発が必要で、世界中の多くの研究者が現在その技術開発を進めています。

図３　調節たんぱく結合DNAを用いたアトピー性皮膚炎治療



NFkBは、炎症を引き起こすたんぱく質を産生する遺伝子の調節たんぱく（転写因子）。NFkBの結合する短いDNAを「おとり」として皮膚に投与すると、このおとりDNAにNFkBが結合してしまう。こうしてNFkBの炎症遺伝子への結合が阻害され、炎症性たんぱく質の産生が抑えられるため、皮膚炎が改善する。

皮膚疾患に対する遺伝子治療の現状と将来の展望

これまで述べてきたように、皮膚への遺伝子治療にはいくつかの解決すべき問題があります。

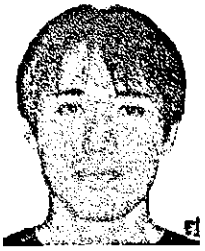
しかし、日本や欧米をはじめとする世界中の多くの研究者が皮膚疾患の遺伝子治療研究を進めており、近い将来には先天性表皮水疱症や遺伝性角化症など遺伝性皮膚疾患、さらには悪性黒色腫や皮膚悪性リンパ腫などの皮膚がんの遺伝子治療法が開発されると思います。

私たちの研究室でも、先天性皮膚疾患や皮膚がんの遺伝子治療法開発を進めています。また、アトピー性皮膚炎に対する新しいＤＮＡ治療法の開発を進め、実際に何人かの患者さんに協力いただいて、臨床応用を進めています（図３）。今後、皮膚への遺伝子導入法が開発され、皮膚での遺伝子発現（たんぱく質産生）調節機構がいっそう理解されれば、難治性の皮膚疾患に悩む多くの患者さんに、新しい治療法が提供されると確信しています。

3 新規アトピー性皮膚炎治療薬の開発
―転写因子NFκBを標的としたODNの臨床応用―

Development of novel drug for treatment of atopic dermatitis ―clinical application of NFκB decoy oligodeoxynucleotides―

1）弘前大学医学部皮膚科
2）大阪大学大学院医学系研究科遺伝子治療学
玉井 克人（たまい かつと）[1,2]，森下 竜一（もりした りゅういち）[2]，
中邨 弘重（なかむら ひろしげ）[2]，千葉 容子（ちば ようこ）[1]，
金田 安史（かねだ やすふみ）[2]，花田 勝美（はなだ かつみ）[1]



玉井 克人
1986年弘前大学医学部卒業。同年同大学医学部皮膚科入局，同時に同大学大学院入学（第2生化学教室），90年同大学医学博士取得，91年米国Jefferson医科大学皮膚科留学，96年弘前大学医学部皮膚科学講師，99年助教授，2002年大阪大学大学院医学系研究科遺伝子治療学内地研究員，現在に至る。研究テーマは皮膚の分子生物学，皮膚疾患の遺伝子治療。趣味はスキューバダイビング。

Key words：アトピー性皮膚炎，NFκB，デコイDNA，核酸医薬，マスト細胞，遺伝子治療

はじめに

本邦における近年の食生活や生活環境の変化，ストレスの増加に呼応するように，種々のアレルギー疾患の発症率が著しく増加傾向を示している。これら激増する難治性アレルギー性疾患のひとつにアトピー性皮膚炎がある。本症の病態は，(1) 皮膚角層バリアー機能の低下，(2) 皮膚侵入抗原に対するTh2優位の特異免疫反応亢進とIgE産生，(3) IgE依存性抗原特異的I型アレルギー反応と遅発性IV型アレルギー反応で，それぞれの過程で表皮ランゲルハンス細胞，表皮角化細胞，浸潤リンパ球，マスト細胞，好酸球，真皮樹状細胞など多くの炎症関連細胞が関与していることは言うまでもない。アトピー性皮膚炎に対する現在の治療はステロイド外用および抗アレルギー剤内服が中心であり，専門医による適切な治療により，皮膚炎のコントロールは可能である。しかしその一方で，これら既存の治療法に抵抗性を示す難治例も少なからず存在し，ステロイド長期使用の問題点が喧伝されている現在，より有効かつ安全な治療法の開発が切望されている。現在われわれは，これまでにない新しい概念の治療薬である核酸医薬（DNAあるいはRNAを用いた医薬），特にNFκB decoy oligodeoxynucleotides (NDON) を用いた外用薬の開発を進め，アトピー性皮膚炎に対する新規治療法としての有用性を検討するとともに，その臨床研究を進めている[1)]。NFκBは，細胞質内ではIκBと結合して不活性型として存在する。TNF-α，IL-1，UVBなど，種々の炎症性刺激によりIκBがリン酸化され，結合が遊離することにより活性化型となって核移行し，図1に示すような種々のサイトカイン，ケモカイン，成長因子，接着分子，アポトーシス関連分子遺伝子群の発現を誘導する（図1）[2,3)]。また，ステロイドやシクロスポリン，FK506と言った免疫抑制薬の作用機構の一つとしてNFκBの不活性化が知られており[4)]，NFκBは免疫応答，炎症反応において重要な役割を演じる転写因子と考えられる。

図1　NFκBの作用機序
細胞質内でNFkBはIκBと結合して不活化状態にあり，IL-1などの炎症性刺激によりIκBがリン酸化されることにより結合がはずれ，活性化される。IκBから遊離したNFκBは核内移行して遺伝子プロモーター上の標的配列を認識・結合し，種々の炎症関連遺伝子の転写を活性化する。

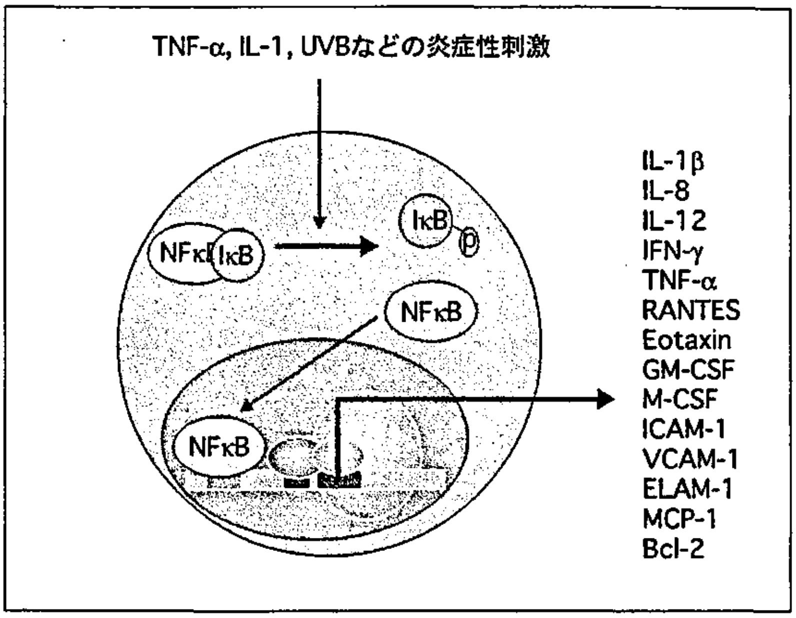
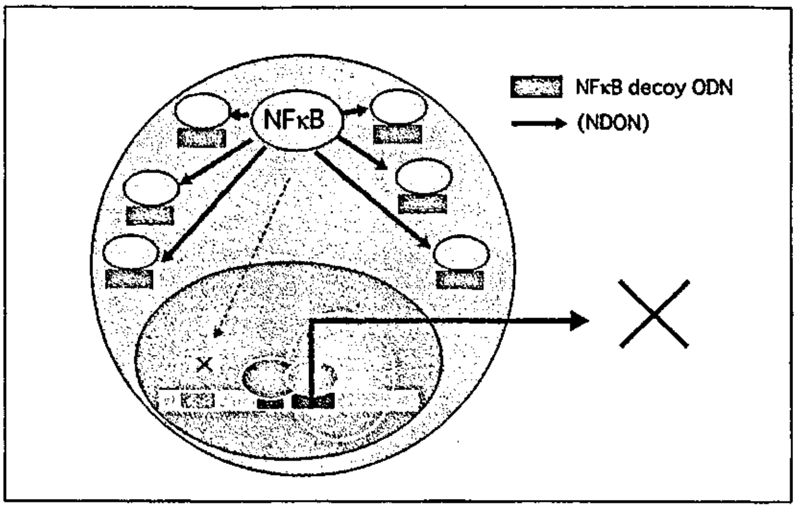


図2　NDONの作用機序
NDONはNFkB結合配列を含む20塩基対のDNAで，細胞質内でNFκBと結合し，その転写活性を阻害する。その結果，NFkBにより転写調節される種々の炎症関連遺伝子（図1参照）の発現が低下し，炎症状態が抑制されると考えられる。



NDONはNFκBと特異的に結合する配列（CCCTAAAGGG）を含む20塩基対のDNAで，NFκBと結合してその作用を特異的に阻害することにより，NFκBにより制御されている多くの遺伝子群の発現を抑制する（図2）[5, 6]。本稿では，現在われわれが進めている，NDON軟膏の開発および重症アトピー性皮膚炎に対する世界初の臨床研究の現状について報告する。

1．NC/Ngaマウスを用いたNDON軟膏の開発

NC/Ngaマウスは，当初愛玩用マウスから系統育成され樹立された。その後，通常飼育により皮膚炎を自然発症することが確認され，さらに血清IgE値の上昇と真皮への著明なマスト細胞浸潤を認めることから，アトピー性皮膚炎モデルマウスとしての有用性が報告された[7, 8]。NC/Ngaマウスは，Specific pathogen free condition (SPF 飼育)では皮膚炎を発症しない