

との比較を含めての検討が必要であろう。

E. 結論

2% STAT6 decoy ODN 含有軟膏は成人型アトピー性皮膚炎の皮膚症状に対して抗炎症作用を示した。アトピー性皮膚炎の皮膚症状に対して、STAT6 を標的とした遺伝子治療の有効性が明らかになったことは、新たな治療薬の開発においておおきな可能性を切り開くものと考ええる。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sumi K, Yokozeki H, Wu M-H, Satoh T, Kaneda Y, Katayama I, Takeda K, Akira S, Kaneda Y, Nishioka K In Vivo Transfection of a Cis Element “Decoy” against Signal Transducers and Activators of the Transcription 6 (STAT6) Binding Site Ameliorates the response of Contact Hypersensitivity. *Gene Therapy*, 11;1763-1771, 2004
- 2) Yokozeki H, Wu M-H, Sumi K, Awad S, Satoh T, Katayama I, Takeda K, Akira S, Kaneda Y, Nishioka K : In Vivo Transfection of a Cis Element “Decoy” against Signal Transducers and Activators of Transcription 6 (STAT6) Binding Site Ameliorates the IgE Mediated Late Phase Reaction in an Atopic Dermatitis Mouse Model. *Gene Therapy*, 11:1753-1762, 2004
- 3) Igawa K, Matsunaga T, Nishioka K. Involvement of UV-irradiation in pemphigus foliaceus. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2004 Mar;18(2):216-7.
- 4) Wu M.-H., Yokozeki H., Takagawa, S., Yamamoto T., Satoh T., Kaneda F. Nishioka K., Hepatocyte Growth Factor both Prevents and Ameliorates the Symptoms of Dermal Sclerosis in a Mouse Model of Scleroderma, *Gene Therapy*, 11, 170-180, 2004
- 5) Satoh T, Kanai Y, Wu MH, Yokozeki H, Kannagi R, Lowe JB, Nishioka K: Synthesis of $\alpha(1,3)$ fucosyltransferases IV- and VII-dependent eosinophil selectin ligand and recruitment to the skin. *Am J Pathol*. 2005 Sep;167(3):787-96.
- 6) Mukai K, Matsuoka K, Taya C, Suzuki H, Yokozeki H, Nishioka K, Hirokawa K, Etori M, Yamashita M, Kubota T, Minegishi Y, Yonekawa H, Karasuyama H: Basophils play a critical role in the development of IgE-mediated chronic allergic inflammation independently of T cells and mast cells. *Immunity*. 2005 Aug;23(2):191-202.
- 7) Okiyama N, Yamamoto T, Watanabe K,

- Yokozeiki H, Nishioka K: Juvenile dermatomyositis in association with 22q11.2 deletion syndrome. Br J Dermatol. 2005 Jun;152(6):1370-2.
- 8) Oi M, Satoh T, Yokozeiki H, Nishioka K: Infectious urticaria with purpura: a mild subtype of urticarial vasculitis? Acta Derm Venereol. 2005;85(2):167-70.
- 9) Namiki T, Yamagawa S, Izumo T, Ishikawa M, Tachibana M, Kawakami Y, Yokozeiki H, Nishioka K, Kaneko Y. Genomic alteration in primary cutaneous melanoma detected by comparative genomic hybridization with laser capture or manual microdissection: 6p gains may predict poor outcome, Cancer genetics and cytogenetics, 2005 Feb;157(1):1-11.
- 10) 横関博雄: アトピー性皮膚炎の遺伝子療法 STAT6 デコイ ODN による核酸医薬療法. 日本小児皮膚科学会雑誌. 23(2) :183-186, 2004
- 11) 横関博雄: STAT6 デコイによるアレルギー疾患の治療戦略. アレルギー免疫 11(8): 1077-1083, 2005
- 12) 西岡清: STAT6 decoy によるアトピー性皮膚炎の治療. 医学のあゆみ 211(2):198-199, 2005
- 13) 鷺見浩史, 横関博雄, 西岡清: STAT6 decoy ODN による接触か敏捷の抑制
- 臨床免疫 41(6):691-695, 2005
2. 学会発表
- 1) Sumi K, Yokozeiki H et al: In vivo transfection of cis element " decoy" against stat6 binding site ameliorates contact hypersensitivity, The 29 th annual meeting of the JSID, April 14-16, 2004, Kyoto
- 2) Kanai M, Yokozeiki H et al: In vivo transfection of cis element " decoy" against stat6 binding site ameliorates chronic skin inflammation induced in IgE transgenic mice, The 29 th annual meeting of the JSID, April 14-16, 2004, Kyoto
- H. 知的財産権の出願、登録状態
なし



fig.1 臨床経過 (顔面紅斑性病巣)

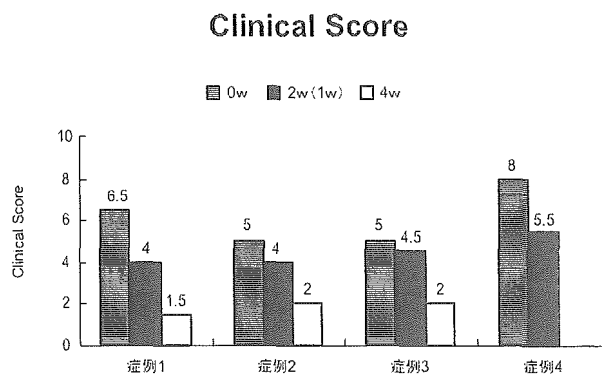


fig.2 Clinical Scoreの変化 (顔面紅斑性病巣)

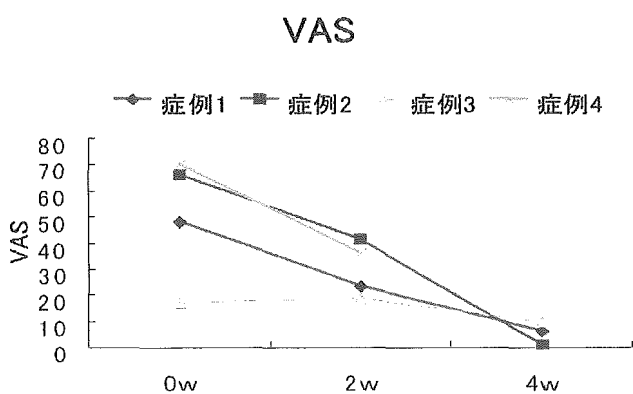


fig.3 顔面紅斑性病巣に対するSTAT6 decoy含有軟膏外用時のVAS Score

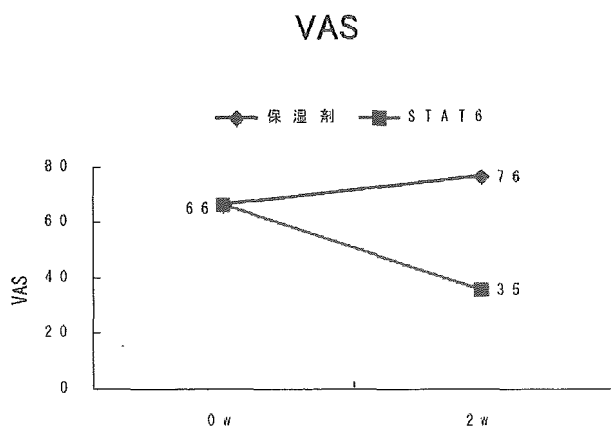


fig.5 体幹紅斑性病巣左右塗り分け比較時のVAS Score

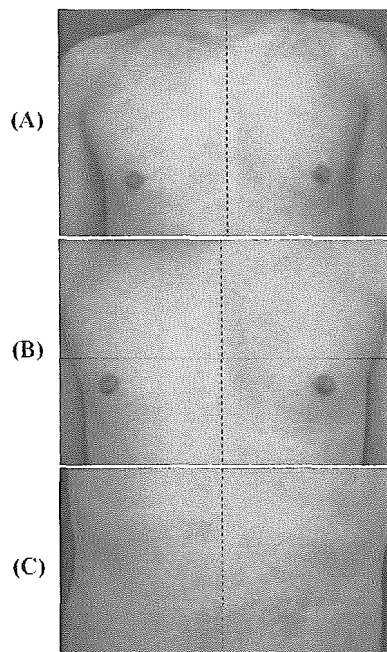


fig.4 体幹紅斑性病巣左右塗り分け比較
 (A) 外用前
 (B) 外用2W後 (胸部)
 (C) 外用2W後 (腹部)
 右: STAT6 decoy含有軟膏
 左: 保湿剤 (ワセリン)

2% STAT6 Decoy ODN含有軟膏

| | |
|-----------------|-------|
| STAT6 decoy ODN | 2.0 % |
| ステアリルアルコール | 5.0 % |
| 白色ワセリン | 93.0% |

STAT6 decoy ODN (M.W.19228.6)

5' -GATCAAGACCTTTTCCCAAGAAATCTAT-3'

3' -CTAGTTCTGGAAAAGGGTTCTTTAGATA-5'

table.1

Clinical Score

| | |
|-------|-------------|
| 紅斑 | 重症度 0・1・2・3 |
| | 面積 % |
| 浸潤・丘疹 | 重症度 0・1・2・3 |
| | 面積 % |
| 糜爛 | 重症度 0・1・2・3 |
| | 面積 % |
| 苔癬化 | 重症度 0・1・2・3 |
| | 面積 % |

重症度: 0:なし, 1:軽症, 2:中等症, 3:重症

面積: 0:なし, 1:10%以下, 2:10-30%, 3:30-50%, 4:50-70%, 5:70-90%, 6:90%以上

- ① 紅斑、浸潤・丘疹、糜爛、苔癬化それぞれについて重症度×面積でScoreを算出する。
- ② Clinical Score = 紅斑Score + 浸潤・丘疹Score + 糜爛Score + 苔癬化Score

table.2

| | 性 | 年齢 | 血清IgE (U/ml) | 好酸球数 (/μl) | Clinical score (外用部位) |
|------|---|----|-----------------|---------------|--------------------------|
| 症例 1 | 女 | 40 | 17871 | 897 | 6.5 |
| 症例 2 | 男 | 35 | 15536 | 520 | 5 |
| 症例 3 | 男 | 34 | 4549 | 207 | 5 |
| 症例 4 | 男 | 34 | 14479 | 1352 | 8 |
| 症例 5 | 男 | 27 | 2201 | 2264 | 7 |

table.3

難治化病態の解明と治療法の開発
「IgE/FcεRI を介する新たな慢性アレルギー炎症誘発機構」

分担研究者 鳥山 一

東京医科歯科大学大学院免疫アレルギー学分野 教授

研究要旨 前年度までの研究で、マスト細胞やT細胞を欠損するマウスにおいても、抗原特異的かつ IgE 依存的に慢性型の皮膚アレルギー炎症反応が惹起されることを明らかにした。細胞移入実験により、この慢性アレルギー炎症反応の誘導には c-kit 陰性 DX5 陽性 FcεRI 陽性の分葉核を有する細胞が必須であり、電子顕微鏡等による解析から、その細胞が好塩基球であることが明らかとなった。皮膚慢性アレルギー炎症巣における浸潤細胞の大部分は好酸球と好中球であり、好塩基球はわずか2%を占めるに過ぎないことから、好塩基球はアレルギー炎症のエフェクターというよりもイニシエーターとして機能していることが示唆された。マウス好塩基球に対するモノクローナル抗体を樹立し、マウスに投与したところ、好塩基球数の劇的な減少とともに、皮膚慢性アレルギー炎症反応が完璧に抑制された。本研究により、好塩基球が主役を演じる新たな慢性アレルギー炎症誘発機構が存在し、好塩基球が慢性アレルギー炎症治療の標的になることが判明した。

A. 研究目的

アトピー性皮膚炎の重症度と患者血中 IgE 値に正の相関が認められる。しかし、アトピー性皮膚炎のような慢性アレルギー疾患の病態形成・遷延化に IgE が本当に関与しているのかどうかについては明快な答えが出されていない。我々は、前年度までの研究で、マスト細胞やT細胞を欠損するマウスにおいても、抗原特異的かつ IgE 依存的に慢性型の皮膚アレルギー炎

症反応が惹起されることを明らかにした。

本年度は、この新たな慢性アレルギー炎症反応に関わる責任細胞を詳細に解析し、それを標的とした慢性アレルギー炎症治療の可能性について検討した。

B. 研究方法

正常ならびに種々の変異マウスをあらかじめ TNP 特異的 IgE で受動感作したのち、耳介に抗原 TNP-OVA を皮内注射し、経時的

に耳介皮膚厚を計測した。さらに、正常マウスの各種細胞分画を変異マウスに細胞移入したのち、同様の実験をおこなうとともに、電子顕微鏡で責任細胞の形態学的解析をおこなった。好塩基球に対するモノクローナル抗体を樹立し、慢性アレルギー炎症反応に対する効果を検討した。

(倫理面への配慮)動物実験はすべて東京医科歯科大学動物実験指針に則り、実験動物委員会の承認を得ておこなった。

C. 研究結果

骨髄細胞分画の移入実験により、IgE/FcεRI を介する新たな慢性アレルギー炎症誘導には c-kit 陰性 DX5 陽性 FcεRI 陽性の分葉核を有する細胞が必須であることが判明した。この細胞を電子顕微鏡で観察したところ、密度の高い典型的な分泌顆粒の存在が確認され、好塩基球であることが証明された (図1)。

最近、好塩基球が Th2 サイトカインの重要な産生細胞であることがいわれている。そこで、皮膚アレルギー炎症巣における IL-4 の発現を調べたところ、好塩基球の浸潤に呼応して IL-4 の発現が確かに亢進してくることが判明し、好塩基球が皮膚組織内で活性化されていることが強く示唆された (図2)。

寄生虫感染させたマウスの骨髄から好塩基球を調製し、ラットに過免疫することにより好塩基球特異的なモノクローナル抗体を樹立することに成功した (図3)。この抗体をマウスに投与したところ、好塩

基球数の劇的な減少 (図4) とともに、皮膚慢性アレルギー炎症反応が完璧に抑制された (図5)。

D. 考察

細胞移入実験ならびに電子顕微鏡解析により、IgE 依存性慢性アレルギー炎症反応の責任細胞が好塩基球であることが明らかとなった。しかし、皮膚慢性アレルギー炎症巣における浸潤細胞の大部分は好酸球と好中球であり、好塩基球はわずか2%を占めるに過ぎない (図2) ことから、好塩基球はアレルギー炎症のエフェクターというよりもイニシエーターとして機能していることが示唆された。

樹立したモノクローナル抗体を用いて生体内から好塩基球を除去することにより、IgE 依存性慢性アレルギー炎症反応を完全に抑制できたことから、好塩基球を標的とした慢性アレルギー炎症に対する創薬の可能性がクローズアップされた。

E. 結論

これまでマスト細胞の陰に隠れて脇役としてしか捉えられていなかった好塩基球が、中心的役割を果たす新たな T 細胞非依存的慢性アレルギー炎症反応誘発機構が存在し、好塩基球があらたな創薬の標的になることが明らかとなった。

G. 研究発表

1. 論文発表

- ① Mukai, K., Matsuoka, K., Taya, C., Suzuki, H., Yokozeki, H., Nishioka, K.,

- Hirokawa, K., Etori, M., Yamashita, M., Kubota, T., Minegishi, Y., Yonekawa, H., and Karasuyama, H.: Basophils play a critical role in the development of IgE-mediated chronic allergic inflammation independently of T cells and mast cells. *Immunity* 23: 191-202, 2005.
- ② Omata N, Ohshima Y, Yasutomi M, Yamada A, Karasuyama H, Mayumi M.: Ovalbumin-specific IgE modulates ovalbumin-specific T-cell response after repetitive oral antigen administration. *J. Allergy Clin. Immunol.* 115: 822-7, 2005.
- ③ Toyama-Sorimachi, N., Omatsu, Y., Onoda, A., Tsujimura, Y., Iyoda, T., Kikuchi-Maki, A., Sorimachi, H., Dohi, T., Taki, S., Inaba, K., Karasuyama, H.: Inhibitory NK receptor Ly49Q is expressed on subsets of dendritic cells in a cellular maturation- and cytokine stimulation-dependent manner. *J. Immunol.* 74: 4621-4629, 2005.
- ④ Kawano, Y., Yoshikawa, S., Minegishi, Y., and Karasuyama, H.: Selection of stereotyped VH81X- μ H chains via preB cell receptor early in ontogeny and their conservation in adults by marginal zone B cells. *Int. Immunol.* 17: 857-867, 2005.
- ⑤ 向井香織、烏山一: 「好塩基球が主役を演じる慢性アレルギー炎症誘発機構」アレルギー科、20 (2): 179-185, 2005
- ① 向井 香織、松岡邦枝、久保田俊之、峯岸克行、米川博通、烏山一; 好塩基球が主役を演じる慢性アレルギー炎症; 第55回日本アレルギー学会秋季学術大会 2005. 10. 20-22. 盛岡
- ② 久保田俊之, 向井香織, 峯岸克行, 烏山一; $\gamma\delta 2$ 型ヒト Fc ϵ RI の発現調節機構の解析; 第55回日本アレルギー学会秋季学術大会 2005. 10. 20-22. 盛岡
- ③ 峯岸克行、齋藤雅子、森尾友宏、水谷修紀、上松一永、野村明彦、原寿郎、金子秀雄、近藤直美、川村信明、有賀正、崎山幸雄、土屋滋、谷内江昭宏、柘植拓也、大石勉、城宏輔、岩田 力、別所文雄、宮脇利男、野々山恵章、烏山一; 常染色体劣性高 IgE 症候群の原因遺伝子の検討; 第35回日本免疫学会総会・学術集会 2005. 12. 13-15. 横浜
- ④ 久保田俊之, 山本直樹, 向井香織, 峯岸克行, 烏山一; $\gamma\delta 2$ 型ヒト Fc ϵ RI の発現調節機構の解析; 第35回日本免疫学会総会・学術集会 2005. 12. 13-15. 横浜
- ⑤ 向井香織、松岡邦枝、餌取真紀、山下誠、久保田利之、峯岸克行、米川博通、烏山一; 好塩基球が中心的な役割を演じる T細胞・マスト細胞非依存性慢性アレルギー炎症; 第35回日本免疫学会総会・学術集会 2005. 12. 13-15. 横浜
- ⑥ 小畑一茂, 向井香織, 小島恵理, 吉川宗一郎, 辻村祐佑, 久保田俊之, 石渡賢治, 渡辺直熙, 小島利之, 佐藤眞悟,

2. 学会発表

峯岸克行, 鳥山一; マウス好塩基球特異的モノクローナル抗体の樹立とその応用; 第35回日本免疫学会総会・学術集会 2005.12.13-15. 横浜

H. 知的財産権の出願・登録の状況

1. 米国特許: Patent No. 6,118,044
"Transgenic animal allergy models and methods for their use"
2. 欧州出願 98309340.2-2105
"Transgenic animal allergy models and methods for their use"
3. 平成9年11月14日特許願
特願平9-313989号
「トランスジェニック動物」
4. 平成10年11月13日国内優先出願
特願平10-32334

FcεRI⁺ cells in the DX5⁺ bone marrow population were identified as basophils

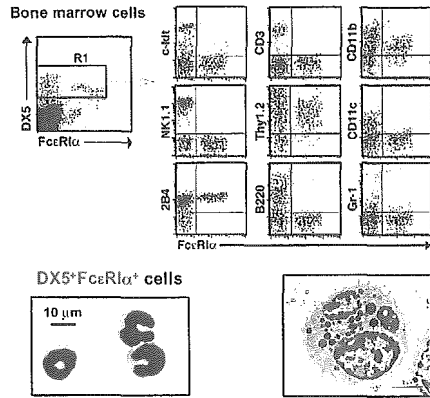


図1. IgE 依存性慢性アレルギー炎症反応の責任細胞は好塩基球である
責任細胞である DX5 陽性 FcεRI 陽性の骨髄細胞は、分葉核を有し、電子顕微鏡像で特徴的な分泌顆粒を有する好塩基球であることが判明した。

Establishment of mAbs specific for mouse basophils

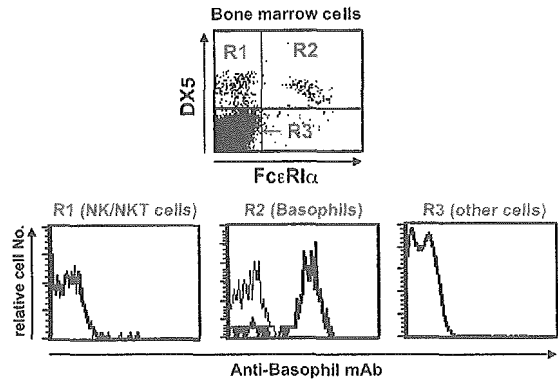


図3. 好塩基球特異的モノクローナル抗体の樹立
寄生虫感染させたマウスの骨髄から好塩基球を調製し、ラットに過免疫することで、好塩基球を特異的に認識するモノクローナル抗体を樹立した。

Basophils constituted a minority of cells infiltrating into the skin lesions

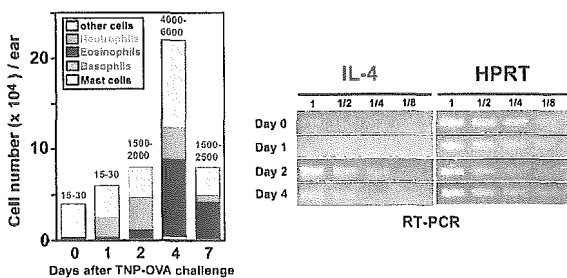


図2. 好塩基球は浸潤細胞の2%を占めるに過ぎない
好塩基球は、慢性アレルギー炎症の責任細胞であるにもかかわらず、浸潤細胞のわずか2%を占めるに過ぎない。好塩基球の浸潤に伴い、病巣における IL-4 の発現亢進が認められた。

Treatment with anti-basophil mAb depletes basophils *in vivo*

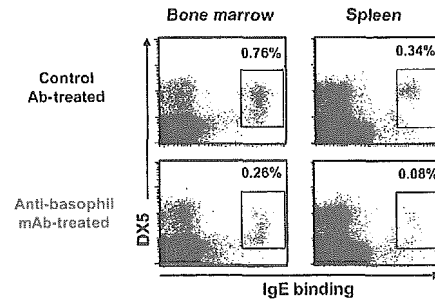


図4. 抗体投与による好塩基球の生体内からの除去
好塩基球特異的モノクローナル抗体をマウスに静脈注射したところ、好塩基球数の劇的減少が観察された。

The Ab treatment abolishes the development of IgE-CAI

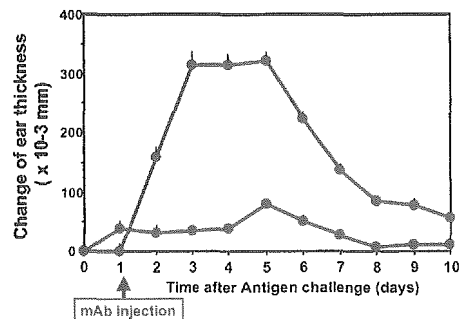


図5. 抗体投与による慢性アレルギー炎症の抑制
好塩基球特異的モノクローナル抗体をマウスに静脈注射したところ、皮膚慢性アレルギー炎症が完璧に抑制された。

厚生労働科学研究費助成金（免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業）
分担研究報告書

Lipid Raft を標的とした新しいアレルギー性疾患治療戦略の検討

分担研究者 片山 一朗 大阪大学大学院医学研究科分子病態医学皮膚科学講座・教授
研究協力者 室田 浩之 大阪大学大学院医学研究科分子病態医学皮膚科学講座

研究要旨 アトピー性皮膚炎(AD)においては皮膚バリア機能の障害やIgE抗体の過剰産生などの免疫異常がその発症、伸展に大きな関与をしている。アレルギー性炎症反応に強く関与するIgE抗体の上昇に際し、IgE抗体による肥満細胞、好塩基球あるいは樹状細胞上に存在する高親和性IgEレセプター(FcεR1)のクロスリンクが即時型・遅発型のアレルギー反応を引き起こすと考えられている。FcεR1を標的とするヒト型抗体の臨床応用が進められているが副作用や医療コストが大きな問題として残されており、作用点が明解かつ安全で確実にしかも選択的にアレルギー性炎症を抑制できる治療戦略の確立が望まれている。われわれはFcεR1が細胞膜の一区画であるlipid raftに局在しないと下流のシグナル伝達が始まれないという挙動に着目し、lipid raftを不活化させる事でIgEを介したアレルギー性疾患の増悪を防げるのではないかと考えた。今回アレルギー炎症増幅機序におけるlipid raftの関与を検討するとともに、lipid raftを標的とした治療薬の開発のため、ヒト末梢血より樹立した樹状細胞におけるFcεR1の局在と下流の遺伝子発現がlipid raftを失活させる試薬でどのような影響を受けるか検討したので報告させていただく。

A. 研究目的

FcεR1を介するシグナルをlipid raftの機能を失活させる事で阻害できるようなアトピー性皮膚炎をはじめとするアレルギー性疾患に対する安全でコストパフォーマンスの高い治療戦略を開発する事を目的とする。

これまでに、Methyl-β-cyclodextrin 処理で末梢血由来樹状細胞のIgE刺激依存的なTARC産生を抑えられることからADに

対するLipid Raftを標的とした治療が現実味を帯びてきた。さらに外来性コレステロール負荷もLipid Raftの不安定化を導く事が知られており、実際過去に魚鱗癬に使用されていたコレステロール軟膏を塗布することでADの皮疹が改善できることがわかった。今回、このコレステロールが何故奏功するのかを中心に検討した。

B. 研究方法

同意の得られた健常人およびアトピー性皮膚炎罹患者(ダニ特異的 IgE が class IV 以上を選出)の末梢血単核球(PBMC)を IL-4 および GM-CSF 存在下で4日間培養する事で樹状細胞を樹立。さらに同患者の血清から IgE をアフィニティーカラムによって抽出。コレステロール(200ug/ml)負荷6時間の前処理ある群とない群それぞれに IgE(10ng/ml)とリコンビナントダニ抗原 Der f1 (200ng/ml)を刺激し24時間後の培養上澄を回収し TARC、IL-10 を ELISA 法で測定するとともに、FceR1 と Lipid Raft の局在をコンフォーカル顕微鏡とスクロース濃度勾配分画法で確認した。さらにクロロホルムに溶解したコレステロール塗布が角質バリア機能に与える影響を検討するためにアセトンで処理した SKH. マウスの角質水分蒸散量 (TEWL) を33時間モニターした。また DNFB で感作したマウスにおける接触過敏反応におけるコレステロールの効果も検討した。

C. 研究結果

健常人およびアトピー性皮膚炎患者由来樹状細胞(monocyte-derived dendritic cell: MoDC)に対する IgE、および IgE と抗原同時添加群で TARC の発現を比較した所、アトピー性皮膚炎群において健常群より強い IgE 誘導性 TARC 産生誘導が認められた。Fig. 1 に示す通りコレステロール負荷はこのような IgE 誘導性 TARC 産生

誘導を有意に抑制した。

次にコレステロール負荷に伴う FceR1 と Lipid Raft の局在をみた所、Fig. 2 に示す通りコレステロール負荷をした樹状細胞では処理後1時間で FceR1 が IgE 刺激前からある一領域に集まるように局在し IgE 刺激でも動くことはなかった。この局在異常によって FceR1 が lipid raft を利用できなくなると考え、スクロース濃度勾配分画法を用いて lipid raft と FceR1 の局在を生化学的に検討した。Fig. 3 に示すとおり、IgE と抗原刺激で見られる FceR1 の lipid raft への局在はコレステロール処理した MoDC では観察されなかった。

次にコレステロール塗布が角質バリア機能に与える影響をアセトン処理後の皮膚の TEWL を33時間モニターし検討した。Fig. 4 に示す通り、アセトン処理後に溶媒であるクロロホルムを塗布した際の TEWL はアセトン処理30分後にピークを迎え、5時間後にはもとに戻る一方、コレステロールを塗布した群では直後より TEWL の著名な改善を認めていた。

コレステロールは Fig. 5 に示す通り DNFB 感作後の接触過敏反応も抑制した。

D. 考察

これまでになかったコレステロールと AD の関係の検討は AD の病態の理解と治療の開発という2つの側面における重要なヒントを提供しているものと考えられた。

実際、「10%コレステロール軟膏」はアトピー性皮膚炎における皮膚炎症状を改善させることができた。今回の検討の結果、この抗炎症効果の一部は FcεR1 の lipid raft を介したシグナルが入らない事でもたらされると説明できる。この FcεR1 不活効果は環境抗原による皮疹の増悪の予防にもつながる可能性を秘めていると言えよう。

さらにコレステロールの塗布は TEWL で評価した際に著しい角質バリア機能回復能を持っていると考えられた。アトピー性皮膚炎治療の選択肢の一つがステロイド外用剤であるが、ステロイドは局所塗布した際に炎症を抑えても局所の皮膚乾燥を導く事が知られている。コレステロール塗布は炎症も角質バリア機能も改善させることができる点でステロイド外用剤よりも優れている。今回の検討ではコレステロールが接触過敏反応における耳介腫脹反応も抑制した。コレステロールは FcεR1 を介した系以外にも何らかの影響を及ぼし炎症を終息させる事ができる潜在能力を持つと考えられる。安全性に関しては、コレステロールの表皮細胞の及ぼす毒性を LDH 放出を測定することで検討している。normal human keratinocyte、HaCaT 細胞に対してコレステロール処理を行っても大きな毒性作用がない事を確認している。

冒頭で MoDC からの IgE 依存的 TARC 産生をコレステロールが抑制する事を示したが、この抑制効果はアトピー性皮膚炎

で健常人よりも低い傾向が認められていた。この事からアトピー性皮膚炎患者ではコレステロールの取り込み、代謝が低下している可能性が考えられた。そこで外来受診アトピー性皮膚炎患者の重症度と血液中の脂質（トリグリセリド、不飽和脂肪酸、総コレステロール、LDL、HDL）と BMI を測定したが皮疹の重症度への相関は認められなかった。しかし PBMC における LDL 受容体は免疫ブロット法で重症度に応じてその発現が低下する傾向が認められた。これらの結果からアトピー性皮膚炎では脂質代謝が何らかの形で低下していると考えられる。

E. 結語

コレステロールはアトピー性皮膚炎治療の潜在能力を持つと考えられた。皮膚恒常性維持機能の破綻とアトピーの発症の関連、その是正が今後の新規治療戦略確立において重要である事は否めない事実であろう。近年のアトピー性皮膚炎の増加は入浴習慣、食生活の変化、清潔志向の向上などライフスタイルが原因とも考えられていることから、本研究の結果をもとにしたライフスタイルとアトピー性皮膚炎に関するフィールドワークを行う事でアトピー性皮膚炎の予防戦略確立にもつながると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 片山一朗: 難治性アトピー性皮膚炎の

- 治療法. アレルギー疾患 専門医にきく最新の臨床, 中川武正、片山一朗、岡本美孝編集, 中外医学社(東京), pp239-241, 2003
- 2) 室田浩之、Bae SangJae、堀内保宏、片山一朗: 線維芽細胞における TLR2, 4 の発現とその意義. 臨床免疫, 40(3): 272-275, 2003
- 3) Murota H, Hamasaki Y, Nakashima T, Yamamoto K, Katayama I, Matsuyama T: Disruption of tumor necrosis factor receptor p55 impairs collagen turnover in experimentally induced sclerodermic skin fibroblasts. Arthritis Rheumatism 48(4): 1117-1125, 2003
- 4) 片山一朗: アトピー性皮膚炎の悪化因子と患者指導. アレルギー疾患 専門医にきく最新の臨床, 中川武正、片山一朗、岡本美孝編集, 中外医学社(東京), pp236-238, 2003
- 5) Bae SJ, Matsunaga Y, Takenaka M, Katayama I, Nishimoto K: The role of keratinocyte on defense system in dermatophyton infection. Proceedings of the 12th Korean-Japan Joint Meeting of Dermatology, 2002 (Nov 8-9, 2001 Tokyo, Japan)
- 6) Eishi K, Lee JB, Bae SJ, Takenaka M, Katayama I: Impaired sweating function in adult atopic dermatitis: results of the quantitative sudomotor axon reflex test. Br J Dermatol, 147: 683-688, 2002
- 7) 片山一朗: 【臨床皮膚科 最近のトピックス Clinical Dermatology 2002】皮膚疾患の病態 アトピー性皮膚炎とリモデリング. 臨床皮膚科, 56(5 増): 39-42, 2002
- 8) Katayama I, Takenaka M, Yamamoto K: Advisory guidelines for the avoidance of exacerbating factors of atopic dermatitis in daily-life. JMAJ (Jpn Med Assoc J), 45(11): 466-471, 2002
- 9) Horiuchi Y, Bae SJ, Katayama I. Overexpression of the suppressor of cytokine signalling 3 (SOCS3) in severe atopic dermatitis. Clin Exp Dermatol. 2006 Jan;31(1):100-4.
- 10) Horiuchi Y, Bae SJ, Katayama I. FK506 (tacrolimus) inhibition of intracellular production and enhancement of interleukin 1alpha through glucocorticoid application to chemically treated human keratinocytes. Skin Pharmacol Physiol. 2005 Sep-Oct;18(5):241-6.
- 11) Horiuchi Y, Bae S, Katayama I. Nerve growth factor (NGF) and epidermal nerve fibers in atopic dermatitis model NC/Nga mice. J Dermatol Sci. 2005 Jul;39(1):56-8.
- 12) Bae SJ, Lee JB, Takenaka M, Tanaka Y, Shimizu K, Katayama I. Topical glucocorticoid augments scratching behaviour in

dinitrofluorobenzene-sensitized
mice by the induction of substance P.
Exp Dermatol. 2004 Dec;13(12):780-5.
13) 室田浩之、中村敏明、片山一朗：ヒ
ト樹状細胞の TRAC 産生におけるヒスタ
ミンの影響と抗ヒスタミン薬、アレルギー
・免疫, Vol 12, No7; 19-26, 2005

2. 学会発表

1) 2005, European Society of
Dermatological Research,

G. 知的所有権の所得状況

なし

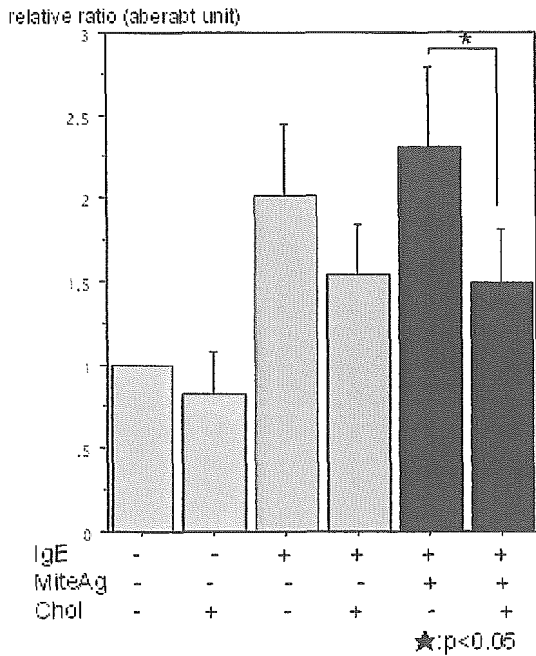


Fig. 1 コレステロールは末梢血単核球由来樹状細胞のIgE依存的TARC生産を抑制する

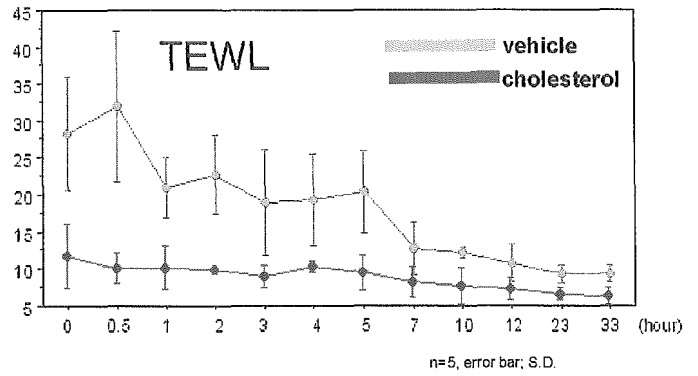


Fig. 4 コレステロール塗布はアセトン処理に伴う角質除去後のTEWLを速やかに改善させる。

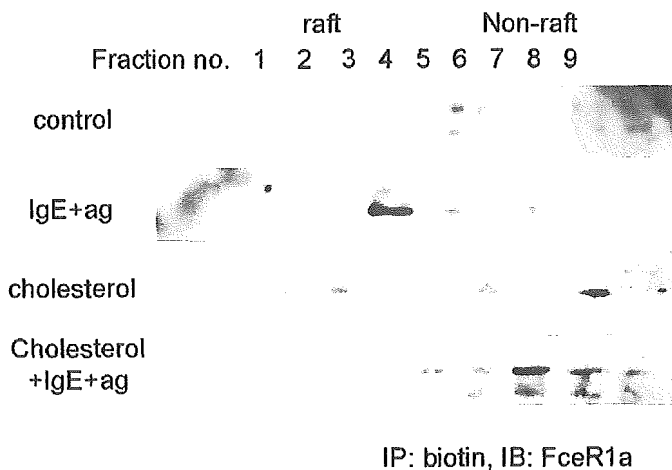


Fig. 3 スクローズ濃度勾配分画法: コレステロールによってFceR1はlipid raftに局在しなくなる。

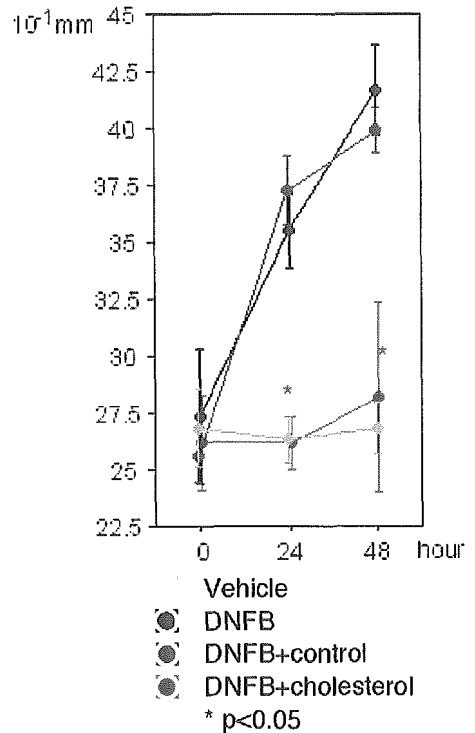


Fig. 5 コレステロール塗布はCH反応における耳介腫脹反応を抑制する。

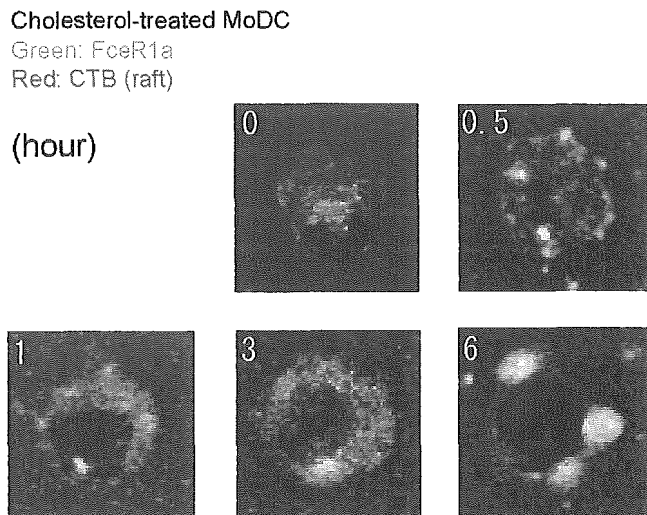


Fig. 2 コレステロールによる FceR1 の局在異常

■アトピー疾患群の増加は入浴習慣・食事・清潔指向などライフスタイルに影響をうけているのではないかとアトピー=ライフスタイル病? フィールドワーク (チベットの乾燥地帯・酪農主体)



Fig. 6 Lipid raftの不安定化を生じさせるコレステロールはADの皮疹を改善させる事ができる

VIII 研究成果の刊行一覧

VIII 研究成果の刊行一覧

1. 論文発表

- 1) Yokozeiki H, Watanabe K, Igawa K, Miyazaki Y, Katayama I, Nishioka K: gd T cells assist ab T cells in the adoptive transfer of contact hypersensitivity to para-phenylenediamine. Clin Exp Immunol,125:351-359, 2001
- 2) Satoh T., Kaneko M., Wu M.-H., Yokozeiki H., Nishioka K.: Contribution of selectin ligands to eosinophil recruitment into the skin of patients with atopic dermatitis., Eur. J. Immunol.,32, 1274-1281, 2002
- 3) Awad S., Yokozeiki H., Miyazaki Y., Igawa K., Minatohara K., Satoh T., Nishioka K.: Glucocorticoids induced the production and gene expression of IL-1a through AP-1 and partially NF-kB activation in murine epidermal cells, J. Med. Dent. Sci., 49, 27-35, 2002
- 4) Yokozeiki H., Wu M.-H., Miyazaki Y., Sumi K., Katayama I., Takeda K., Akira S., Nishioka K., Th2 cytokines, IgE and mast cells play a crucial role in the induction of para-phenylenediamine-induced contact hypersensitivity in mice., Clin. Exp. Immunol., 132, 385-392, 2003
- 5) Sumi K, Yokozeiki H., Wu M-H, Satoh T, Kaneda Y, Katayama I, Takeda K, Akira S, Kaneda Y, Nishioka K: In Vivo Transfection of a Cis Element "Decoy" against Signal Transducers and Activators of the Transcription 6 (STAT6) Binding Site Ameliorates the response of Contact Hypersensitivity. Gene Therapy, 11;1763-1771, 2004
- 6) Yokozeiki H., Wu M-H, Sumi K, Awad S, Satoh T, Katayama I, Takeda K, Akira S, Kaneda Y, Nishioka K : In Vivo Transfection of a Cis Element "Decoy" against Signal Transducers and Activators of Transcription 6 (STAT6) Binding Site Ameliorates the IgE Mediated Late Phase Reaction in an Atopic Dermatitis Mouse Model. Gene Therapy, 11:1753-1762,2004
- 7) Yokozeiki H., Nishioka K: Autoimmune Diseases in Dermatology, JMAJ. 47(6): 1-5, 2004
- 8) Igawa K, Matsunaga T, Nishioka K. Involvement of UV-irradiation in pemphigus foliaceus. J Eur Acad Dermatol Venereol. 18(2):216-7, 2004
- 9) Wu M.-H., Yokozeiki H., Takagawa, S., Yamamoto T., Satoh T., Kaneda F. Nishioka K., Hepatocyte Growth Factor both Prevents and Ameliorates the Symptoms of Dermal Sclerosis in a Mouse Model of Scleroderma, Gene Therapy , 11, 170-180, 2004
- 10) Satoh T, Kanai Y, Wu MH, Yokozeiki H., Kannagi R, Lowe JB, Nishioka K: Synthesis of {alpha}(1,3) fucosyltransferases IV- and VII-dependent eosinophil selectin ligand and recruitment to the skin. Am J Pathol. 167(3):787-96, 2005

- 11) Mukai K, Matsuoka K, Taya C, Suzuki H, Yokozeki H, Nishioka K, Hirokawa K, Etori M, Yamashita M, Kubota T, Minegishi Y, Yonekawa H, Karasuyama H: Basophils play a critical role in the development of IgE-mediated chronic allergic inflammation independently of T cells and mast cells. *Immunity*. 23(2):191-202, 2005
- 12) Okiyama N, Yamamoto T, Watanabe K, Yokozeki H, Nishioka K: Juvenile dermatomyositis in association with 22q11.2 deletion syndrome. *Br J Dermatol*. 152(6):1370-2, 2005
- 13) Oi M, Satoh T, Yokozeki H, Nishioka K: Infectious urticaria with purpura: a mild subtype of urticarial vasculitis? *Acta Derm Venereol*. 85(2):167-70, 2005
- 14) Namiki T, Yamagawa S, Izumo T, Ishikawa M, Tachibana M, Kawakami Y, Yokozeki H, Nishioka K, Kaneko Y. Genomic alteration in primary cutaneous melanoma detected by comparative genomic hybridization with laser capture or manual microdissection: 6p gains may predict poor outcome, *Cancer genetics and cytogenetics*. 157(1):1-11, 2005
- 15) Kubo, S., Nakayama, T., Matsuoka, K., Yonekawa, H., Karasuyama, H.: Long-term maintenance of IgE-mediated memory in mast cells in the absence of detectable serum IgE. *J. Immunol*. 170: 775-780, 2003.
- 16) Sato, E., Hirahara, K., Wada, Y., Yoshitomi, T., Azuma, T., Matsuoka, K., Kubo, Taya, C., Yonekawa, H., Karasuyama, H. and Shiraishi, A.: Chronic inflammation in skin can be induced in IgE transgenic mice by a single challenge of multivalent antigen. *J. Allergy Clin. Immunol*. 111: 143-148, 2003.
- 17) Maezawa, Y., Nakajima, H., Kumano, K., Kubo, S., Karasuyama, H., Iwamoto, I.: Role of IgE in Th2 cell-mediated allergic airway inflammation. *Int Arch Allergy Immunol*. 131 Suppl 1: 2-6, 2003.
- 18) Maezawa, Y., Nakajima, H., Seto, Y., Suto, A., Kumano, K., Kubo, S., Karasuyama, H., Saito, Y., Iwamoto, I.: IgE-dependent enhancement of Th2 cell-mediated allergic inflammation in the airways. *Clin Exp Immunol*. 135: 12-18, 2004.
- 19) Toyama-Sorimachi, N., Tsujimura, Y., Maruya, M., Onoda, A., Kubota, T., Koyasu, S., Inaba, K. and Karasuyama, H.: Ly49Q, a member of Ly49 family that is selectively expressed on myeloid lineage cells and involved in regulation of cytoskeletal architecture. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 101: 1016-1021, 2004.
- 20) Shinohara H, Inoue A, Toyama-Sorimachi N, Nagai Y, Yasuda T, Suzuki H, Horai R, Iwakura Y, Yamamoto T, Karasuyama H, Miyake K, Yamanashi Y.: Dok-1 and Dok-2 are negative regulators of lipopolysaccharide -induced signaling. *J Exp Med*. 201: 333-9, 2005.
- 21) Mukai, K., Matsuoka, K., Taya, C., Suzuki, H., Yokozeki, H., Nishioka, K., Hirokawa, K., Etori, M., Yamashita, M., Kubota, T., Minegishi, Y., Yonekawa, H., and Karasuyama, H.: Basophils play a

- critical role in the development of IgE-mediated chronic allergic inflammation independently of T cells and mast cells. *Immunity* 23: 191-202, 2005.
- 22) Omata N, Ohshima Y, Yasutomi M, Yamada A, Karasuyama H, Mayumi M.: Ovalbumin-specific IgE modulates ovalbumin-specific T-cell response after repetitive oral antigen administration. *J. Allergy Clin. Immunol.* 115: 822-7, 2005.
 - 23) Toyama-Sorimachi, N., Omatsu, Y., Onoda, A., Tsujimura, Y., Iyoda, T., Kikuchi-Maki, A., Sorimachi, H., Dohi, T., Taki, S., Inaba, K., Karasuyama, H.: Inhibitory NK receptor Ly49Q is expressed on subsets of dendritic cells in a cellular maturation- and cytokine stimulation-dependent manner. *J. Immunol.* 74: 4621-4629, 2005.
 - 24) Kawano, Y., Yoshikawa, S., Minegishi, Y., and Karasuyama, H.: Selection of stereotyped VH81X- μ H chains via preB cell receptor early in ontogeny and their conservation in adults by marginal zone B cells. *Int. Immunol.* 17: 857-867, 2005.
 - 25) Katayama I., Bae S-J, Hamasaki Y, Igawa K, Miyazaki Y, Yokozeki H, Nishioka K: Stress Respinse, Tachykinin, and Cutaneous Inflammation. (Symposium Proceeding6), *J. Invest. Dermatol.*, 81-86, 2001
 - 26) Murota H, Hamasaki Y, Nakashima T, Yamamoto K, Katayama I, Matsuyama T: Disruption of tumor necrosis factor receptor p55 impairs collagen turnover in experimentally induced sclerodermic skin fibroblasts. *Arthritis Rheumatism* 48(4): 1117-1125, 2003
 - 27) Bae SJ, Matsunaga Y, Takenaka M, Katayama I, Nishimoto K: The role of keratinocyte on defense system in dermatophyton infection. Proceedings of the 12th Korean-Japan Joint Meeting of Dermatology, 2002 (Nov 8-9, 2001 Tokyo, Japan)
 - 28) Eishi K, Lee JB, Bae SJ, Takenaka M, Katayama I: Impaired sweating function in adult atopic dermatitis: results of the quantitative sudomotor axon reflex test. *Br J Dermatol*, 147: 683-688, 2002
 - 29) Katayama I, Takenaka M, Yamamoto K: Advisory guidelines for the avoidance of exacerbating factors of atopic dermatitis in daily-life. *JMAJ (Jpn Med Assoc J)*, 45(11): 466-471, 2002
 - 30) Bae SJ, Lee JB, Takenaka M, Tanaka Y, Shimizu K, Katayama I: Topical glucocorticoid augments scratching behaviour in dinitrofluorobenzene-sensitized mice by the induction of substance P. *Exp Dermatol.* 13(12):780-5, 2004
 - 31) Horiuchi Y, Bae SJ, Katayama I: FK506 (tacrolimus) inhibition of intracellular production and enhancement of interleukin 1alpha through glucocorticoid application to chemically treated human keratinocytes. *Skin Pharmacol Physiol.* 18(5):241-6, 2005
 - 32) Horiuchi Y, Bae S, Katayama I: Nerve growth factor (NGF) and epidermal nerve fibers in atopic dermatitis model NC/Nga mice. *J Dermatol Sci.* 39(1):56-8, 2005

- 33) Horiuchi Y, Bae SJ, Katayama I: Overexpression of the suppressor of cytokine signalling 3 (SOCS3) in severe atopic dermatitis. Clin Exp Dermatol. 31(1):100-4, 2006
- 34) 横関博雄、呉明花 : STAT6 欠損マウスを用いた IgE 関与遅発型反応の発症機序の解析、臨床免疫,36(4):547-551, 2001
- 35) 横関博雄 : 遅延型アレルギーにおける STAT6 の関与臨床免疫,36 (2) : 260-265,2001
- 36) 横関博雄: アレルギー 性接触皮膚炎の effector 細胞、アレルギー科、13:219-232, 2002
- 37) 横関博雄:アトピー性皮膚炎 : 病態に即した診断へのアプローチ、Modern Phisician,4,417-420, 2002
- 38) 横関博雄: 免疫疾患 アトピー性皮膚炎、医学のあゆみ、512-515. Ver. 2, 2002
- 39) 横関博雄 : 手湿疹と異汗性湿疹、Seminaria Dermatologie,167:32-34,2004
- 40) 横関博雄、西岡 清 : アトピー性皮膚炎の診断のすすめ方 81(3):393-397,2004
- 41) 横関博雄 : 皮膚からみた扁桃摘出術の適応、Johns 20(5):725-728,2004
- 42) 横関博雄 : 花粉症にみられる皮膚症状とその治療、臨床医 30(2):185-187, 2004
- 43) 横関博雄 : スギ花粉皮膚炎、総合臨床、53(4): 1559-1560, 2004
- 44) 横関博雄 : STAT6 デコイによるアレルギー疾患の治療戦略、アレルギー、免疫、11(8),1032-1038, 2004
- 45) 横関博雄 : アトピー性皮膚炎の遺伝子療法 STAT6 デコイ ODN による核酸医薬療法. 日本小児皮膚科学会雑誌. 23(2) :183-186, 2004
- 46) 横関博雄:STAT6 デコイによるアレルギー疾患の治療戦略. アレルギー免疫 11(8): 1077-1083, 2005
- 47) 西岡清 : STAT6 decoy によるアトピー性皮膚炎の治療. 医学のあゆみ 211(2):198-199, 2005
- 48) 鷲見浩史、横関博雄、西岡清 : STAT6 decoy ODN による接触か敏捷の抑制 臨床免疫 41(6):691-695, 2005
- 49) 烏山一 : 「IgE 受容体研究の最近の進歩」 Animus.34:22-25, 2004
- 50) 烏山一 : 「遺伝子改変モデル動物で誘導される新たな慢性アレルギー炎症反応に対するシクロスポリンの作用」 医薬ジャーナル. 40: 183-187,2004
- 51) 向井香織、松岡邦枝、烏山一; 「IgE/FcεRIを介する新たな慢性アレルギー炎症誘発機構」 臨床免疫. 41(2):195-199, 2004
- 52) 向井香織、烏山一 : 「好塩基球が主役を演じる慢性アレルギー炎症誘発機構」アレルギー科、20 (2): 179-185, 2005
- 53) 片山一朗 : 【臨床皮膚科 最近のトピックス Clinical Dermatology 2002】 皮膚疾患の病態 アトピー性皮膚炎とリモデリング. 臨床皮膚科, 56(5 増): 39-42,2002