

研究要旨 CCL17/TARCはTh2ケモカインで、CCR4を発現しているTh2細胞を炎症局所へ遊走させる。アトピー性皮膚炎(AD)では、炎症の起きている皮膚局所で、keratinocyte(KC)を中心にCCL17の発現が亢進し、血清中CCL17も増加している。我々は、keratin(K)14プロモーター下に表皮のKCにCCL17を強発現させたtransgenicマウス(Tg)を作製した。Contact hypersensitivity (CHS)で、繰り返し塗布(惹起)を行なうと、Th2型の炎症を起こすことが知られている。CCL17-Tgに繰り返し惹起のCHSを行なうと、耳介腫脹が亢進する。そこでCCL17-TgでTh2型の炎症が亢進していることを確かめるため、別のTh2型ケモカインであるCCL22/MDCの血清中の値を調べた。その結果、CCL17-Tgでは無刺激および繰り返し惹起CHSの状態、血清CCL22は上昇していた。CCL17-Tgでは血清中のCCL17やIgEだけでなく、CCL22も高値を示すことから、ADなどのTh2型皮膚炎のよいモデルになることが確かめられた。臨床的研究としては、難治性のAD患者を対象にnarrow-band UVB (NB-UVB)療法を行い、皮疹改善度とともに、掻痒の改善とQOLの改善に関する評価を行なった。現在4例が照射を終了しており、全て外来患者で、週1回で計20回照射した。皮膚症状の改善に関しては、症例1では軽度、症例2-4では中等度改善が認められた。特に症例3では痒疹型皮疹の改善が顕著に認められた。掻痒の程度に関しては、症例1では変化なかったが、症例2では軽度、症例3,4では中等度改善がみられた。QOLに関しては、症例1では軽度、症例2では著明に、症例3,4では中等度改善が認められた。まだ症例数が少ないが、NB-UVB療法は難治性のADに対して、皮膚症状や掻痒の程度、QOLの改善に有用である可能性が示唆された。

#### 研究協力者

常深祐一郎 東京大学医学部皮膚科助手

加藤 豊章 東京大学医学部皮膚科

藤本 盛揮 東京大学医学部皮膚科

#### A. 研究目的

##### (1) 基礎的研究

CCL17/TARCはTh2ケモカインで、CCR4を発現しているTh2細胞を炎症局所へ遊走させる。アトピー性皮膚炎(AD)では、炎症の起きている皮膚局所で、keratinocyte(KC)を中心にCCL17の発現が亢進し、血清中CCL17も増加している。また皮膚炎局所へのCCR4陽性細胞の浸潤も増加しており、CCL17が皮膚炎形成に重要な役割を果していると考えられている。我々は、keratin(K)14プロモーター下に表皮のKCにCCL17を強発現させたtransgenic(Tg)マウスを作製した。このTgマウスでは皮膚における炎症でTh2優位な状態になっており、血清IgEも上昇することを示した。Contact hypersensitivity (CHS)で、繰り返し塗布(惹起)を行なうと、Th2型の炎症を起こすことが知られている。CCL17-Tgマウスに、oxazolone(OX)およびFITCによる繰り返し惹起のCHSを行なうと、non-Tgマウスと比較して耳介腫脹が亢進する。このため、ADなどのTh2型皮膚炎のよいモデルになると考えられる。

そこで、CCL17-TgマウスにおいてTh2型の炎症が亢進していることをさらに確かめるために、

別のTh2型ケモカインであるCCL22/MDCの血清中の値を調べることにした。

##### (2) 臨床的研究

難治性のADの治療として、PUVA療法やbroad-band UVB (BB-UVB)療法などの光線治療の有用性が報告されている。最近では、narrow-band UVB (NB-UVB)療法に関する報告も少しずつみられるようになってきており、痒みに対しても有効との報告が散見される。

そこで、難治性のAD患者を対象にNB-UVB療法を行い、皮疹改善度の評価とともに、痒みの改善とQOLの改善に関する評価を行うことにした。

#### B. 研究方法

##### (1) 基礎的研究

CCL17-Tgマウスの無刺激の状態、およびOXやFITCを耳や腹部に繰り返し塗布した状態で、血清中のCCL22濃度を測定した。

##### (2) 臨床的研究

通常の治療に抵抗する成人のAD患者から文書で同意を得た後、NB-UVB療法を入院あるいは外来で週に1-5回行う(計20回)。それまで行っていた治療は原則として継続する。初回照射量は0.1Jとし、毎回0.1Jずつ増量していき、ひりつきがない照射量を最大照射量(維持量)と

した。照射前および照射終了後に modified SCORAD (mSCORAD) を測定し、皮膚症状の評価を行う。また掻痒の程度の判定基準 (臨皮 56: 692, 2002) を用いて痒みの評価を、Skindex-16 を用いて QOL の評価を行う。さらに、照射前および照射終了後に採血し、好酸球数、LDH、IgE、CCL17 値などを測定する。

### C. 研究結果

#### (1) 基礎的研究

無刺激の状態、OX の繰り返し塗布(chronic)、および FITC を腹部に繰り返し塗布した状態で、CCL17-Tg マウスの血清中 CCL22 値は、non-Tg マウスに比べて有意に高かった(図 1)。

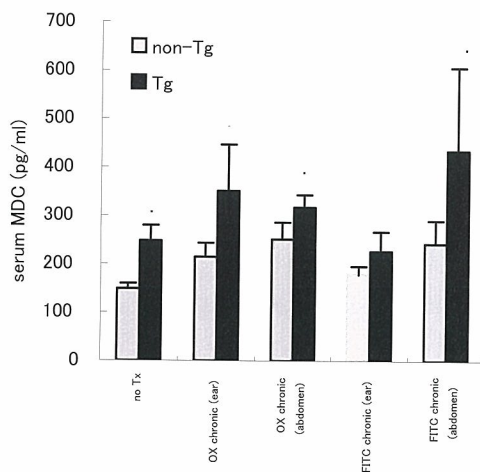


図 1 CCL17-Tg における血清 CCL22 値

#### (2) 臨床的研究

現在、4 例が照射を終了した。全て外来患者で、週 1 回で計 20 回照射した。

症例 1 は 27 歳・女性で総照射量は 11.2J。照射前および照射終了後の mSCORAD は 54.5→47.5、痒みの評価は 4→4、Skindex-16 は 39→28、好酸球数は 12.9%→11.5%、LDH は 320→319、IgE は 30000→34000、CCL17 は 9579→10540 であった。

症例 2 は 37 歳・男性で総照射量は 14.2J。照射前および照射終了後の mSCORAD は 31.5→22.5、痒みの評価は 2→1、Skindex-16 は 56→19、好酸球数は 10.3%→8.9%、LDH は 207→172

、IgE は 6900→4800、CCL17 は 1211→974 であった。

症例 3 は 21 歳・男性で総照射量は 17.3J。照射前および照射終了後の mSCORAD は 44.5→28.5、痒みの評価は 6→4、Skindex-16 は 68→41、好酸球数は 5.8%→10.9%、LDH は 232→254、IgE は 2600→2100、CCL17 は 516→811 であった。

症例 4 は 33 歳・男性で総照射量は 18.1J。照射前および照射終了後の mSCORAD は 46.5→30.5、痒みの評価は 7→4、Skindex-16 は 69→43、好酸球数は 19.6%→16.7%、LDH は 293→239、IgE は 810→1200、CCL17 は 5503→2265 であった。

図 2 に 4 症例の照射前後の mSCORAD の変化、図 3 に痒みの評価の変化、図 4 に Skindex-16 の変化を示す。

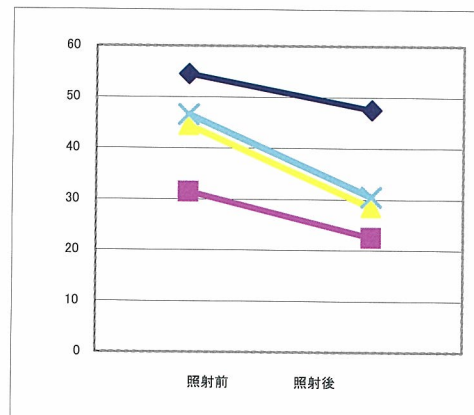


図 2 照射前後の mSCORAD の変化

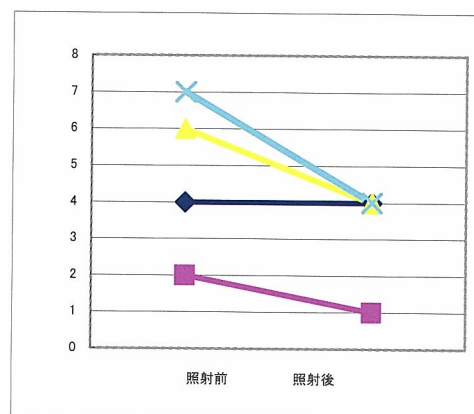


図 3 照射前後の痒みの評価の変化

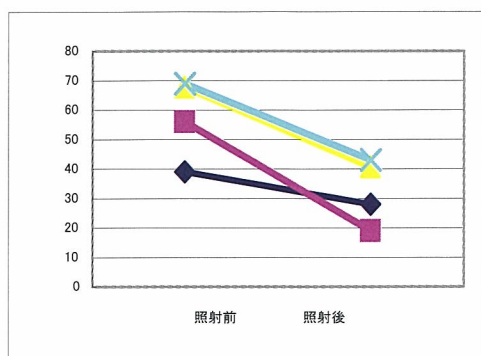


図4 照射前後の Skindex-16 の変化

#### D. 考察

##### (1) 基礎的研究

CCL17-Tg マウスでは血清中の CCL17 値や IgE 値だけでなく、別の Th2 型ケモカインである CCL22 も高値を示すことが示された。従って、CCL17-Tg マウスは AD などの Th2 型皮膚炎のよいモデルになることが確かめられた。今後は、CCL17-Tg マウスにおいて血清中の CCL22 が上昇する機序や、リンパ節における CCL17 や CCL22 産生などについて検討していく予定である。

##### (2) 臨床的研究

皮膚症状の改善に関しては、症例 1 では軽度、症例 2-4 では中等度改善が認められた。特に症例 3 では痒疹型皮膚の改善が顕著に認められた。掻痒の程度に関しては、症例 1 では変化なかったが、症例 2 では軽度、症例 3,4 では中等度改善がみられた。QOL に関しては、症例 1 では軽度、症例 2 では著明に、症例 3,4 では中等度改善が認められた。検査データに関しては、症例や検査項目によってばらつきがあるが、概して症状の改善に伴い検査データも改善する傾向がみられた。まだ症例数が少ないが、NB-UVB 療法は難治性の AD に対して、皮膚症状や掻痒の程度、QOL の改善に有用である可能性が示唆された。

#### E. 結論

CCL17-Tg マウスでは血清中の CCL22 も上昇しており、AD などの Th2 型皮膚炎のよいモデルになることが確かめられた。

NB-UVB 療法は難治性の AD に対して、皮膚症状や掻痒の程度、QOL の改善に有用である可能性が示唆された。

#### F. 研究発表

##### 1. 学会発表

(1) 佐伯秀久、常深祐一郎、玉置邦彦 : TARC/CCL17 トランスジェニックマウスの解析. 第 20 回表皮細胞研究会、静岡、2006 年 10 月 28 日

(2) Tsunemi Y, Saeki H, Nakamura K, Nagakubo D, Nakayama T, Yoshie O, Kagami S, Shimazu K, Kadono T, Sugaya M, Komine M, Matsushima K, Tamaki K: CCL17 transgenic mice show enhanced Th2-type response to both allergic and non-allergic stimuli. 67th Annual Meeting of the SID, Philadelphia, May 3-6, 2006.

##### 2. 論文発表

(1) Tsunemi Y, Saeki H, Nakamura K, Nagakubo D, Nakayama T, Yoshie O, Kagami S, Shimazu K, Kadono T, Sugaya M, Komine M, Matsushima K, Tamaki K: CCL17 transgenic mice show enhanced Th2-type response to both allergic and non-allergic stimuli. Eur J Immunol 36: 2116-27, 2006.

#### G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

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

皮膚ケラチノサイトからのケモカイン産生に及ぼすロイコトリエンの作用と  
痒みとの関連についての研究

分担研究者 浜崎雄平 佐賀大学医学部小児科学教授

研究要旨

皮膚ケラチノサイトは **Leukotriene(LT)B4** 受容体 **BLT1** を発現しており、マウスでは **BLT2** の発現も報告されている。**LTB4** は皮膚の痒みを起こすことが知られており、アトピー性皮膚炎の病態にも関与していると考えられている。一方、**Cysteinyl Leukotriene (cys-LTs)** の関与については明らかではない。皮膚ケラチノサイトにおいて、**CysLTs** 受容体、**CysLT1R** および **CysLT2R** 発現について検討し、さらにケモカイン産生に対する作用についても検討した。正常ヒト表皮角化細胞 (NHEK) は **CysLT1R mRNA** および蛋白を **constitutive** に発現した。**IL-4** は **CysLT1R mRNA** 発現を増強する傾向が認められた。一方 **CysLT2** 発現はほとんど認められなかった。**LTD4** 単独では、**MCP-1, eotaxin-3, RANTES** 産生は誘導されなかったが、**IL-4** で誘導される **RANTES** 産生は **LTD4** で有意に増強した。以上の結果よりヒトのケラチノサイトにおいて、**cysLTs** は **CysLT1R** を介してからのケモカイン産生を修飾し、アトピー性炎症を増強し、痒みの発現に関与していることが考えられた。

A. 研究目的

アトピー性皮膚炎治療上の最大の課題のひとつが痒みの制御であることは異論がない。ところで、皮膚ケラチノサイトは **Leukotriene(LT)B4** 受容体 **BLT1R** を発現しており、マウスでは **BLT2R** の発現も報告されている。**LTB4** は皮膚の痒みを起こすことが知られており、アトピー性皮膚炎の病態にも関与していると考えられている。一方、肥満細胞や好酸球から 1 型アレルギー反応に関与して合成・放出され、気管支喘息やアレルギー性鼻炎におけるアレルギー性炎症の重要なメディエーターである **Cysteinyl Leukotriene (cys-LTs)** のアトピー性皮膚炎での役割は明らかではない。皮膚の痒みの現場である皮膚ケラチノ

サイトにおいて、この炎症性メディエーター **CysLTs** の受容体である **CysLT1R** および **CysLT2R** 発現を測定し、さらに **cys-LTs** のケモカイン産生に対する役割についても検討し、痒み発現への関与について考察を行なった。

B. 研究方法

ヒト正常表皮角化細胞(NHEK)を **KGM-2** 培養液中で **37°C 5%CO2** 下に培養した。これらの細胞表面の **CysLT1R, CysLT2R** の mRNA 発現を定量的 RT-PCR 法で、蛋白分子の発現を **Westernblot** 法にて検討した。**NHEK** のケモカイン産生に関しては **MCP-1, eotaxin-3, RANTES** について mRNA の発現を定量的 RT-PCR 法で、

産生量を ELISA 法にて測定した。また、CysLTs の中心的活性物質である LTD4 が CysLT1R を介して、ケモカイン産生に影響を与えているか否かについても検討した。

結果：

NHEK は CysLT1R mRNA およびその蛋白分子を constitutive に発現した。INF  $\gamma$ , LTD4 は CysLT1R mRNA およびその蛋白分子の発現に影響を及ぼさなかったが、IL-4 は CysLT1 RmRNA 発現を増強する傾向が認められた (図 1)。一方 CysLT2R の発現はほとんど認められなかった。NHEK はケモカイン MCP-1, RANTES を産生し、eotaxin-3 は IL-4 で産生が誘導された。RANTES および eotaxin-3 の産生は IL-4 に LTD4 を同時に加えることで有意に増加した (図 2, 3, 4)。

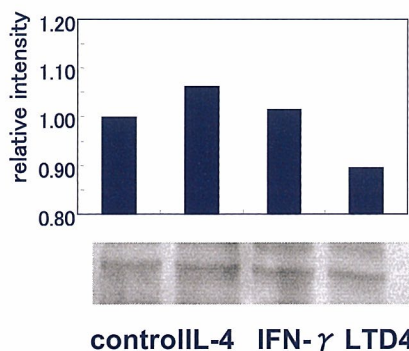


図 1 NHEK における cysLT1R 発現と IL-4, INF  $\gamma$  LTD4 の作用

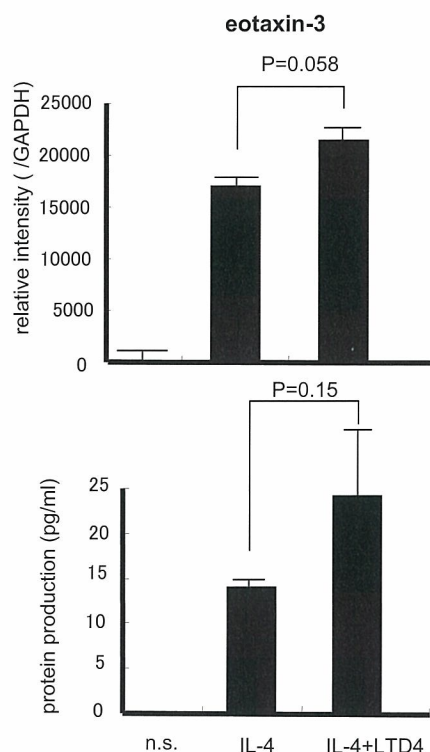


図 2 NHEK における eotaxin3 の発現におよぼす IL-4, LTD4 の作用 (上:mRNA, 下:protein)

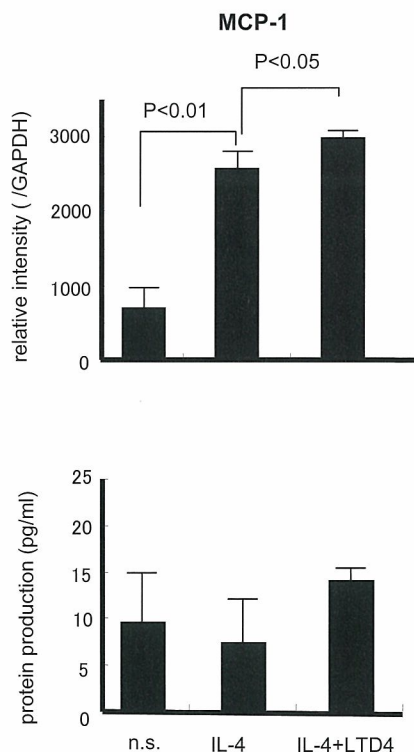


図 3 NHEK における MCP-1 の発現におよぼす IL-4, LTD4 の作用 (上:mRNA, 下:protein)

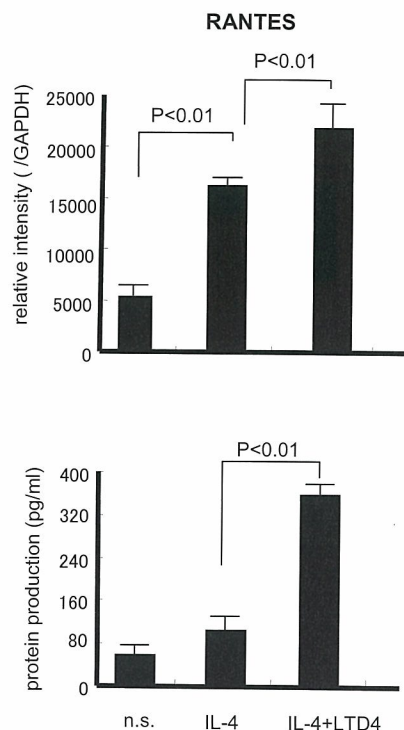


図4 NHEKにおけるRANTESの発現におよぼすIL-4, LTD4の作用(上:mRNA, 下:protein)

#### 考察と結論：正常ヒト角化細胞

(NHEK)には CysLT1R が constitutive に発現していることが判明した。また cys-LTs は CysLT1R を介してケラチノサイトから Th2 サイトカイン(IL-4)により誘導されるケモカイン産生を増強していることも明らかとなった。これらの結果は、cysLTs がケモカインの産生増強作用を介して好酸球を主とする炎症細胞の浸潤を増強し、炎症を増悪させ皮膚の痒みを増悪させている可能性があることを示唆する。文献的には、cys-LTs 受容体拮抗薬(LTRA)のアトピー性皮膚炎に対する効果は一定ではないものの、有効であるとの報告も散見される。アトピー患者では

Th2 サイトカインが活性化され CysLT1R の発現が増強している可能性が考えられるため、cys-LTs が重要な役割をはたしている可能性がある。cys-LTs および cys-LTs により産生が修飾されるケモカインのかゆみへの関与を検討することは治療を進める上でも重要であり、次年度も引き続き検討課題としたい

#### F. 研究発表

(論文発表)

1. 蕁麻疹・接触性皮膚炎・アトピー性皮膚炎・気管支喘息. : 免疫学コア講義 南山堂 東京 (2007 印刷中)
2. 浜崎雄平: Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) Up to Date, アレルギーと神経ペプチド3: (2007 3月 in press)
3. Zaito M, Yamasaki F, Ishii E, Midoro-Horiuti T, Goldblum RM, Hamasaki Y. Interleukin-18 primes human basophilic KU812 cells for higher leukotriene synthesis. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2006;74(1):61-6

#### 2. 学会発表

Yuhei Hamasaki : Genistein, a soybean derived isoflavonoid, inhibits leukotriene C4 synthesis in Rat Basophilic Leukemia-2H3 cells. Asia Pacific Association and Clinical Immunology, Respiratory and Immunology Jakarta 2006 April 21-23, (Abstract 61)

浜崎雄平, 市丸智浩, 西奈津子, 宮崎倫子, 辻功介, 人見知洋, 在津正文, 山本修一, 室英理子, 小林育子, 稲田成安: 乳幼児のアトピー性皮膚炎(AD)の痒みに対する医師の認識と対処法についての調査 第18回日本アレルギー学会春期臨床大会 東京 2006.5.30-6.1 アレルギー55: 455, 2006

西奈津子, 辻功介, 宮崎倫子, 人見知洋, 在津正文, 室英理子, 稲田成安, 小林育子, 山本修一, 市丸智浩, 浜崎雄平: KeratinocyteはCysLT1受容体を発現する。第56回日本アレルギー学会秋季学術大会 2006.11.2-11.4 (東京)

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

乳幼児アトピー性皮膚炎患児における痒みに対する支援療法についての  
調査研究 (中間報告)

分担研究者 浜崎雄平 佐賀大学医学部小児科学教授

研究要旨

乳幼児のアトピー性皮膚炎 (AD) の痒みに対する医師の対応には差があり、患者の混乱を招いていることが指摘されている。痒みに対する実地医家の支援療法の違いを明らかにすることを目的に、第一線で乳幼児のADの治療を担当している開業医を対象にして調査をおこなった。佐賀県の全医師会員のうち、小児のADを診療している可能性の高い皮膚科、小児科を標榜している開業医に対して痒みの支援療法についての調査票を郵送し、回答を得た64名の結果を解析した。その結果掻痒の増悪因子として小児科医は日焼け、皮膚の感染、食物が重要と考えており、皮膚科医は親子のストレスを重視していることが判明した。掻痒に対する支持療法の考え方の差は大きいとはいえないが、意見が分かれたものもあり、患者家族に混乱を引き起こす原因となる可能性がある。調査対象を拡大し再検討の予定である。

A. 研究目的

平成 17 年度の本研究班の調査で乳幼児のアトピー性皮膚炎を治療している実地医家 (皮膚科, 小児科, 内科医) を対象として乳幼児のアトピー性皮膚炎患児の痒みに対する意識と対処法について検討した。その結果, 外用剤タクロリムスに関しては意見が集約されていないことが覗かれたものの, 主要な治療については大きな差はないことが確認できた。しかし, 支援療法と位置づけられる痒みの増悪因子に対する対処法・指示に関しては, 意見の差が認められ患者側の混乱を惹き起こしている可能性が推測された。平成 18 年度は食後の口周囲の処置, 屋外での活動時の注意, 発汗時の処置など, 日常生活で増悪因子と考えられる身近な事柄に対処する際に, 実地医家がどのように考え, 患者家族に説明・指示をおこなっているのかについて実情調査を行い, 問題点を明らかにすることを試みた。

B. 研究方法

佐賀県の全医師会員のうち、小児のアトピー性皮膚炎を診療している可能性の高い皮膚科、小児科を標榜している開業医に対して痒みの補助的療法についての調査票を郵送し、回答を得た 62 名(回収率 44%)の結果を解析した

調査票の主要な項目を以下に示す。

発汗の対処 (指導), 日焼けの対処 (指導), 日焼け止め (サン・スクリーン) の対処 (指導), 運動後 (発汗や多少のよごれを伴う程度の運動) の対処 (指導), 乳幼児の食事後の皮膚の汚れの対処 (指導), 痒みを訴える乳幼児アトピー性皮膚炎患児に食物制限, 痒みで掻破し, 浸出液・血液が漏れ出ている部位の処置について, かきむしり (掻破) を少なくするために有効と考えられる対処法について

### C. 結果

掻痒の増悪因子として小児科医は日焼け、皮膚の感染、食物が重要と考えており、皮膚科医は親子のストレスを重視していた。食物制限に関しては皮膚科よりも小児科にやや制限が必要と考える率が高いが、予想されたほど大きな差はない。急性の湿潤病変に対する処置、軟膏の使用法についても診療科間での大きな相違は少なかった。しかし、各医師間での考えの相違は大きいことが判明した。

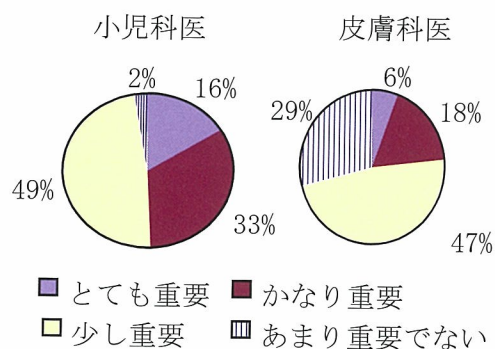


図 1 乳幼児アトピー性皮膚炎の痒みに日焼けが増悪因子として重要かどうか

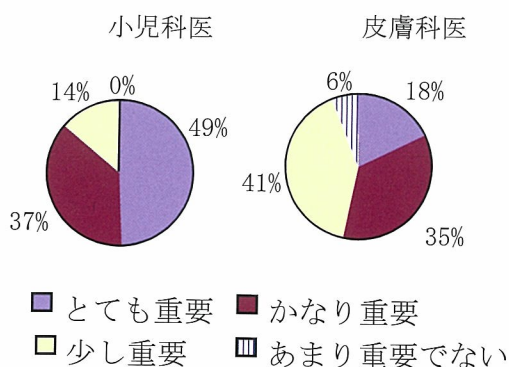


図 2 乳幼児アトピー性皮膚炎の痒みに感染が増悪因子として重要かどうか

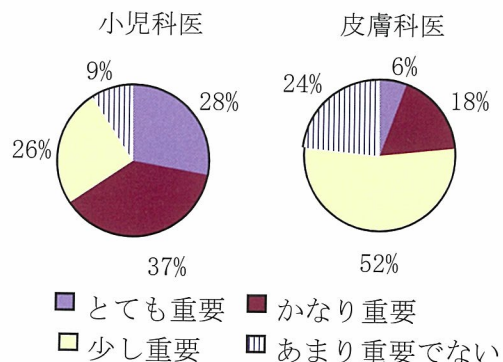


図 3 乳幼児アトピー性皮膚炎の痒みに食物が増悪因子として重要かどうか

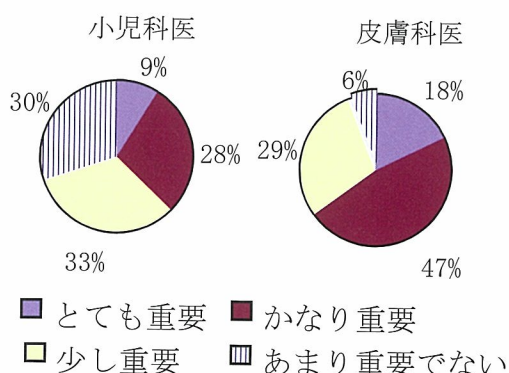


図 4 乳幼児アトピー性皮膚炎の痒みに親子のストレスが増悪因子として重要かどうか



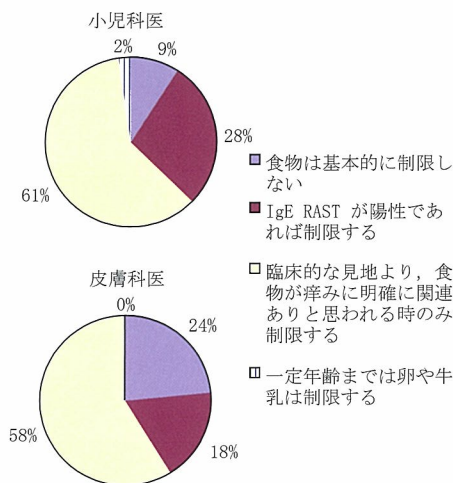


図 5 痒みを訴える乳幼児アトピー性皮膚炎患児に食物制限を行なうか

#### D. 考察と結論

今回の調査で 掻痒の増悪因子として小児科医は日焼け、皮膚の感染、食物が重要と考えており、皮膚科医は親子のストレスを重視していることが判明した。

食物制限に関しては皮膚科よりも小児科にやや制限が必要と考える率は高いが、予想されるほど大きな差はないことが判明した。掻破傷に対して小児科医は皮膚科医より抗生剤を多く使う傾向にある。掻痒に対する支持療法の考え方の差は大きいとはいえないが、意見が分かれたものもあり、患者家族に混乱を引き起こす原因となる可能性があるデータを積み重ねて医師側の意見の統一を図らなければ患者に無用の混乱をひき起こす原因になることが予想される。今回の解析数は限定されたものであるため次年度は母集団を増やしの再解析を予定している。

#### F. 研究発表

(論文発表)

##### 1. 蕁麻疹・接触性皮膚炎・アトピー性皮

膚炎・気管支喘息.: 免疫学コア講義 南山堂 東京 (2007 印刷中)

2. 浜崎雄平: Vasoactive Intestinal Peptide (VIP) Up to Date, アレルギーと神経ペプチド3: (2007 3月 in press)

3. Zaitso M, Yamasaki F, Ishii E, Midoro-Horiuti T, Goldblum RM, Hamasaki Y. Interleukin-18 primes human basophilic KU812 cells for higher leukotriene synthesis. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2006;74(1):61-6

##### 2. 学会発表

Yuhei Hamasaki: Genistein, a soybean derived isoflavonoid, inhibits leukotriene C4 synthesis in Rat Basophilic Leukemia-2H3 cells. Asia Pacific Association and Clinical Immunology, Respiriology and Immunology Jakarta 2006 April 21-23, (Abstract 61)

浜崎雄平, 市丸智浩, 西奈津子, 宮崎倫子, 辻功介, 人見知洋, 在津正文, 山本修一, 室英理子, 小林育子, 稲田成安: 乳幼児のアトピー性皮膚炎(AD)の痒みに対する医師の認識と対処法についての調査 第18回日本アレルギー学会春期臨床大会 東京 2006.5.30-6.1 アレルギー55: 455, 2006

西奈津子, 辻功介, 宮崎倫子, 人見知洋, 在津正文, 室英理子, 稲田成安, 小林育子, 山本修一, 市丸智浩, 浜崎雄平: Keratinocyte はCysLT1受容体を発現する。第56回日本アレルギー学会秋季学術大会 2006.11.2-11.4 (東京)

アトピー性皮膚炎モデルマウスにおける表皮の肥厚及び表皮内神経線維侵入の機序における  
P75 の役割について

分担研究者氏名

遠山正彌  
大阪大学大学院医学系研究科神経機能形態学講座教授

共同研究者

松崎伸介  
大阪大学大学院医学系研究科神経機能形態学講座助手

谷口 学  
大阪大学大学院医学系研究科神経機能形態学講座技官

研究要旨

アトピー性皮膚炎をはじめとする難治性の掻痒を伴う皮膚疾患では、表皮の肥厚に伴って感覚神経末梢枝の表皮内スプラウティングが著明であり、そのことが痒みの増強をきたす原因のひとつと考えられている。しかしながら、どのような機序で感覚神経末梢枝のスプラウティングが起こるのかは全く不明である。本研究では p75 KO マウスにピクリルクロライド(PC)塗布後、コントロールマウス(背景マウスである C57BL/6 マウス)と比べて表皮の増殖、感覚神経末梢枝のスプラウティングが抑制されるか否かを検討した。その結果、PCを塗布したコントロールマウスでは表皮の増殖、表皮内の NGF 発現の増強、p75 陽性線維の表皮内スプラウティングが認められた。さらに表皮ケラチノサイトは p75、TrkA を発現していた。しかしながら TrkA 陽性神経線維は認められなかった。一方、PCを塗布した p75 KO マウスでは表皮の増殖が抑制されており、感覚線維のスプラウティングは観察されなかった。以上の結果より、NGF-p75 経路が炎症時の表皮増殖、感覚神経末梢枝のスプラウティングのキー経路であることを明らかにした。今後の課題は NGF-p75 結合以後のシグナル伝達経路の解明即ち、知覚神経線維の表皮内侵入の分子機序を確立することをゴールとする。

A. 研究目的

通常ヒト表皮内にはごく少数の感覚神経末梢枝しかみられない。しかしかゆみ時にはこれら感覚神経末梢枝が表皮内に伸長し、さらに末梢枝の著しい発達すなわち末梢枝のスプラウティングが観察される。このことがかゆみ症の増強につながると考えられている。しかしながら、どのような機序で感覚神経末梢枝のスプラウティングが起こるのかは全く不明である。我々はこの機序の解明のため、かゆみ時には 1) 表皮ケラチノサイトでの神経成長因子(NGF)の発現増強が見られる、2) NGF は神経突起伸展作用を有する、という 2 点に着目した。即ちかゆみを伴う炎症時に表皮内で発現増強した NGF が感覚神経末梢枝のスプラウティングを引き起こすと想定した。もし我々の想定が正しいのなら表皮内で NGF の受容体である p75 受容体或いは TrkA 受容体が炎症時に発現増強していなければならない。

我々は、昨年度の報告で示したようにすでに以下の二点の事実をアトピー性皮膚炎モデルマウス NC/Nga マウスを用いて確認している。すなわちこのマウスを用いてピクリルクロライド(PC)を耳介に塗布すると表皮の著しい肥厚と表皮ケラチノサイトでの NGF の著しい発現増強が見られた。一方、NGF の受容体である p75 受容体或いは TrkA 受容体も NGF 同様表皮ケラチノサイトにおいて PC 塗布後、発現増強を示した。さらに PC 塗布マウスでは肥厚した表皮内に p75 陽性感覚神経末梢枝が正常と比べて極めて多数観察された。以上の事実はかゆみ時に表皮ケラチノサイトにおいて発現上昇した NGF が p75 受容体を介してそれぞれ表皮の増殖と感覚神経末梢枝のスプラウティングを起こす可能性を示す。本研究はこの可能性を確立することを目指す。もし我々の仮説が正しければ表皮ケラチノサイトが p75 を欠損していればかゆみ時でも表皮の増殖は起こらない、又は

有意に抑制されるはずである。もし、感覚神経末梢枝が p75 を欠損していればかゆみ時でも表皮内における感覚神経末梢枝のスプラウティングは起こらないはずである。これらの解析において最適なモデル動物は p75 KO マウスであると考え、本研究では p75 KO マウスに PC 塗布後、コントロールマウス (C57BL/6 マウス) と比べて、表皮の増殖、感覚神経末梢枝のスプラウティングが抑制されるか否かを検討し NGF-p75 経路が炎症時の表皮増殖、感覚神経末梢枝のスプラウティングのキー経路であることの確立を目指す。

## B. 研究方法

### NGF-p75 経路がかゆみ・炎症時における表皮増殖および感覚神経末梢枝スプラウティングのキーであることの証明に関する研究

実験動物としては p75 KO マウス及びその背景マウスである C57BL/6 マウス (p75 KO マウスに対するコントロールとして使用) を用いた。感作 1 2 時間前にマウスの腹部の毛をバリカンにて剃り、その後マウスの皮膚に炎症がないことを確認した後、マウスの感作を行った。感作は p75 KO マウスおよび C57BL/6 マウスの腹部皮膚に 100ul のピクリルクロライド (PC) (アセトン・オリーブオイルに溶解した 5%PC) を塗布することで行った。感作期間を一週間として、感作終了後に、マウスの耳の両サイドの皮膚に 15ul の 1%PC を反復塗布することにより皮膚炎を惹起した。反復惹起は以下の頻度、即ち、マウスの耳介皮膚に一週間に一回の頻度で 4 回塗布、その後一週間に三回の頻度で行い、合計 10 回の惹起を行った。最終塗布の翌日 (12 時間後) に 4%パラホルムアルデヒド固定液にてこれらのマウスの灌流固定を行い耳介切片を作製した後、以後の組織学的検討をおこなった。また、PC 非塗布群すなわちアセトン・オリーブオイルのみを同様に塗布したものを対照群として用いた。組織学的検討としてまず最初に H-E 染色法を用いて表皮が増殖しているか否かについてその検討を行った。また表皮での NGF, p75, TrkA の発現増強の有無の検討 (免疫組織化学)、表皮内 p75, TrkA 陽性線維の増加の有無の検討 (免疫組織化学) を行った。また、表皮内神経線維の変化をサブスタンス P (SP) および PGP9.5 をマーカーとして、いずれも免疫組織学的手法を用いて行った。なお p75, trkA は NGF の受容体である。本実験は全て、大阪大学医学部動物実験施設指針に基づいて実施した。

## C. 研究結果

表皮の肥厚及び感覚神経末梢枝の表皮内スプラウティングの分子機序を明らかにするその第一歩として C57BL/6 マウスを用いて PC を反復投与することにより、アレルギー性接触性慢性皮膚炎モデルマウスの

作製を行った。我々が昨年度、アトピー性皮膚炎モデルマウスである NC/Nga マウスを用いて示した結果と同様に、以下の結果が得られた。すなわち C57BL/6 マウス皮膚に PC を反復塗布すると皮膚の炎症が誘発され、表皮の増殖及び皮下組織の肥厚、表皮内の NGF 発現の増強、p75 陽性の表皮内スプラウティングが認められた。さらに表皮ケラチノサイトは p75, TrkA を発現していた。しかしながら TrkA 陽性神経神経線維は認められなかった。加えて皮膚炎を発症した耳の表皮において PGP9.5 陽性及び SP 陽性を示す感覚神経線維が多数表皮内に侵入しているのを確認した。以上、C57BL/6 マウスに PC を反復塗布することにより認められたアレルギー性接触性慢性皮膚炎は、アトピー性皮膚炎モデルマウス (NC/Nga マウス) で認められた結果と同じ結果を示した。

さらに我々は p75 KO マウスを用いた解析により、PC を反復塗布することにより誘発される皮膚炎症部における表皮の肥厚が抑制されること、さらにその肥厚した表皮内において知覚神経繊維の侵入が認められないことを明らかにした。以上の結果は、NGF が感覚神経線維上に発現する NGF 受容体である p75 を介して、神経線維のスプラウティングを制御していること、また表皮の肥厚は表皮ケラチノサイトより分泌された NGF がケラチノサイトに発現する p75 を介して Autocrine および paracrine 的な機構を介して制御されている可能性を示唆するものである。

## D. 考察

アトピー性皮膚炎では、hypoerkeratosis (ケラチノサイトの増殖)、acanthosis (表皮の増殖) や parakeratosis (不全角化) に伴い、表皮内への知覚神経の侵入及び侵長が観察される。アトピー性皮膚炎では、その炎症表皮において発現増強する NGF が表皮内への知覚神経の伸長に重要な役割を担っているとされるが現在までその作用機序は不明である。最近ではアトピー性皮膚炎の発症にはその発症過程においてアレルギー性接触性皮膚炎が憎悪因子になることが多く報告されている。これらのアレルギー性接触性皮膚炎は慢性に皮膚に抗原が作用することで慢性接触性皮膚炎となり、I g E 産生を伴う T h 2 細胞優位型のアトピー性皮膚炎様症状に反応が移行するといわれている。

本実験において、我々は C57BL/6 マウスを用いて PC を反復塗布することによりアレルギー性接触性慢性皮膚炎を誘発した慢性皮膚炎のモデルマウスを構築した。加えてこのマウスが示した結果、すなわち、1) 表皮ならびに皮下組織の著しい増殖、2) 表皮ケラチノサイトでの NGF の発現増強及び p75, TrkA の発現、3) p75 陽性線維の表皮内への侵入、4) PGP9.5 陽性及び SP 陽性感覚神経線維の表皮内侵入、という一連の組織学的な検討結果において、前年度我々が

報告したアトピー性皮膚炎モデルマウス (NC/Nga マウス) で認められた結果と全く同じ結果を示した。以上の結果より本研究により確立した PC 誘発型アレルギー性慢性皮膚炎はアトピー性皮膚炎の病態解明においても有意なモデルであると思われる。

次に我々はこの C57BL/6 マウスを背景マウスとする p75 KO マウスを用いた解析を行った。すなわち、p75 KO マウスに PC 反復塗布後、コントロールマウス (C57BL/6 マウス) と比べて表皮の増殖、感覚神経末梢枝の表皮内スプラウティングが抑制されるか否かを検討した。その結果、PC を反復塗布した p75 KO マウスでは、C57BL/6 マウスと比較して表皮の増殖が有意に抑制されていた。しかしながら、表皮内の NGF の発現増強は認められた。以上の結果は、PC 処理はケラチノサイトにおける NGF の発現増強を引き起こすが、表皮ケラチノサイトに p75 の発現がなければ表皮の増殖が起こりにくいことを意味しており、皮膚炎症部で誘導される NGF は p75 を介して、ケラチノサイトの増殖に積極的に関与している可能性が示唆された。しかしながら、NGF が autoreceptor のごとく同一細胞に作用するか否かについては今後の検討が必要である。さらに PC を反復塗布した C57BL/6 マウスの炎症部における表皮ケラチノサイトにおいては p75 だけでなく、TrkA の発現も認められた。以上の事実は TrkA もまた表皮の増殖において何らかの機能を担っている可能性を示唆するものである。この問題を解決するには TrkA KO マウスを用いた解析が今後の課題となると思われる。

次に、PC 処理した p75 KO マウスの表皮内には、知覚神経繊維のスプラウティングが認められなかったこと、また PC を反復塗布した C57BL/6 マウスの肥厚した表皮内には p75 陽性の神経線維の表皮内への侵入が多数認められたが、TrkA 陽性の神経線維は認められなかったこと、以上の三点より、PC 塗布により、皮膚炎症時に表皮内に侵入してくる神経突起は炎症時に誘導される NGF が神経繊維上の p75 受容体に作用することにより誘導されている可能性が示唆された。

以上、これまでの一連の結果より、NGF-p75 経路がかゆみ・炎症時の表皮増殖、感覚神経末梢枝のスプラウティングのキー経路であることを確立した。

今後の課題は NGF-p75 結合以後のシグナル伝達経路の解明と p75 KO マウスはかゆみを受容しないのかという行動解析である。特に炎症時に認められる表皮内神経線維伸長における NGF-p75 結合以後のシグナル伝達経路の解明に焦点を当て今後の最重要課題として位置づける。すでに我々は、小脳の培養ニューロンを用いて NGF の p75 への結合が protein

kinase A の活性化を介して p75 のリン酸化を誘導すること、また軸索の伸長を誘導すると Rho-GTP の不活性化が起こることを証明している (*EMBO J.* 2003, 樋口ら)。本研究により我々が慢性皮膚炎モデルマウスにおいて認めた感覚神経末梢枝の表皮内スプラウティングが Rho-GTP の不活性化が引き金になっているか否かは興味深いところであり、今後は NGF-p75 結合以後のシグナル伝達経路の解明、即ち知覚神経線維の表皮内侵入の分子機序を確立することによりアトピー性皮膚炎の病態解明及びかゆみの情報伝達機序の解明につなげたい。

## E. 結論

アトピー性皮膚炎をはじめとする難治性の搔痒を伴う皮膚疾患では、表皮の肥厚に伴って感覚神経末梢枝の表皮内スプラウティングが著明であり、そのことが痒みの増強をきたす原因のひとつと考えられている。しかしながら、どのような機序で感覚神経末梢枝のスプラウティングが起こるのかは全く不明である。本研究では p75 KO マウスに PC 塗布後、コントロールマウス (背景マウスである C57BL/6 マウス) と比べて表皮の増殖、感覚神経末梢枝のスプラウティングが抑制されるか否かを検討した。その結果、PC を塗布したコントロールマウスでは表皮の増殖、表皮内の NGF 発現の増強、p75 陽性線維の表皮内スプラウティングが認められた。さらに表皮ケラチノサイトは p75、TrkA を発現していた。しかしながら TrkA 陽性神経線維は認められなかった。一方 PC を塗布した p75 KO マウスでは表皮の増殖が抑制されており、感覚線維のスプラウティングは観察されなかった。以上の結果より、NGF-p75 経路が炎症時の表皮増殖、感覚神経末梢枝のスプラウティングのキー経路であることを明らかにした。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Manabu Taniguchi, Shinsuke Matsuzaki and Masaya Tohyama

P75 plays a key role in the induction of the sprouting of sensory nerve fibers in inflamed skin

The journal of investigative dermatology

### 2. 学会発表

谷口 学、松崎伸介、遠山正彌. アトピー性皮膚炎モデルマウスにおける表皮の肥厚及び表皮内神経線維侵入の機序における p75 の役割について. 第 16 回国際痒みシンポジウム, 東京, 2006 年 11 月

## 動物モデルを用いた痒みの基礎的解析

分担研究者 永井 博弼 岐阜薬科大学 臨床薬理学研究室 教授  
研究協力者 稲垣 直樹 岐阜薬科大学 薬理学教室 教授  
研究協力者 田中 宏幸 岐阜薬科大学 薬理学教室 助教授

### 研究要旨

マウス頸背部皮膚に dinitrofluorobenzene (DNFB) を反復塗布して皮膚炎を誘発し、誘発される炎症および搔破行動におけるオピオイド受容体および神経成長因子低親和性受容体 p75 の役割を検討した。 $\mu$ 、 $\delta$  および  $\kappa$  オピオイド受容体作動薬および拮抗薬を用いた検討から、 $\mu$  受容体作動薬は DNFB 塗布による搔破行動を増加させ、 $\mu$  受容体拮抗薬は抑制した。 $\kappa$  受容体作動薬は搔破行動を抑制したが、拮抗薬は影響を及ぼさなかった。また、 $\delta$  受容体作動薬、拮抗薬はいずれも影響を及ぼさなかった。DNFB を反復塗布したマウス脊髄中では  $\beta$ -endorphin が増加し、dynorphin-A は減少した。したがって、 $\mu$  受容体は搔破行動の誘発に、 $\kappa$  受容体は制御に関与するものと推定され、DNFB 反復塗布による炎症の持続は脊髄内に  $\beta$ -endorphin の増加と dynorphin-A の減少を生じ、搔破行動が誘発されやすい状況を形成するものと推定される。DNFB 塗布は WT マウスには高頻度の搔破行動を誘発したが、p75-KO マウスではほとんど搔破行動は認められなかった。p75-KO マウス皮膚は WT マウスに比して薄く、DNFB 反復塗布による炎症も軽度であった。また、p75-KO マウス表皮中へ伸長した PGP9.5 陽性神経線維は、WT マウスに比して明らかに少なく、1/3 程度であった。したがって、p75 は神経突起の伸長に重要な役割を演じるものと推定されるが、突起伸長には他の受容体あるいは機序も関与するものと考えられる。一方、搔破行動の発現は p75 に大きく依存する可能性が示唆される。

### A. 研究目的

掻痒はアトピー性皮膚炎のもっとも重要な症状であり、誘発される搔破行動によって皮膚症状が増悪し、特徴的な皮膚病変が形成されることが知られている。また、掻痒あるいはこれによって誘発される搔破行動を制御することによって皮膚症状が著明に改善することも臨床的に経験されている。掻痒に対する特徴的、代表的薬物として抗ヒスタミン薬が挙げられ、種々の疾患に伴う掻痒に繁用されているが、重症アトピー性皮膚炎の激しい掻痒には十分な止痒効果を発揮しない。そこで、本研究では、重症アトピー性皮膚炎の激しい掻痒の制御に用いる掻痒治療薬の創製を目標に、高頻度の搔破行動を伴うマウスの皮膚炎モデルを確立し、出現する搔破行動を指標に (1) 掻痒の発現機序の解明、(2) 薬物の止痒効果の評価、(3) 掻痒抑制物質の検索を行う。本年は、ハプテン 2,4-dinitrofluorobenzene (DNFB) 反復塗布によって誘発する皮膚炎モデルを用い、炎症および搔破行動におけるオピオイド受容体および神経成長因子低親和性受容体 p75 の役割について検討した。

### B. 研究方法

マウス皮膚炎は、除毛した腹部皮膚に 0.15 % DNFB acetone 溶液 100  $\mu$ l を塗布して感作し、1 週間後から、除毛した頸背部皮膚に、週 2 回、計 9 回 (4 週間)、0.15 % DNFB acetone 溶液を 50  $\mu$ l ずつ塗布して誘発した (図 1)。

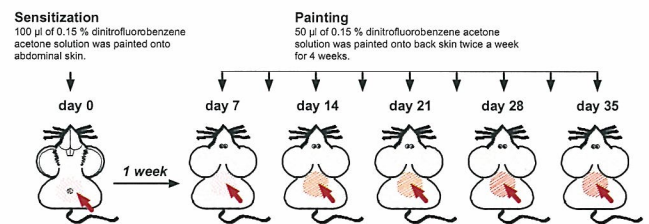


図 1. 頸背部皮膚炎の誘発方法

組織学的検討では、常法に従って作製した皮膚組織切片を hematoxylin-eosin を用いて染色し、あるいは抗 PGP9.5 抗体を用いて免疫染色を行い、それぞれ炎症像および神経線維を観察した。

オピオイド受容体の役割の解析には、BALB/c 系

マウスを用い、morphine ( $\mu$  受容体作動薬)、naltrexone ( $\mu$  受容体拮抗薬)、SNC 80 ( $\delta$  受容体作動薬)、naltrindole ( $\delta$  受容体拮抗薬)、U50488 ( $\kappa$  受容体作動薬) および nor-binaltorphimine ( $\kappa$  受容体拮抗薬) を用いて薬理的に検討した。薬物は各 DNFB 塗布の 15 分前に静脈内へ投与した。搔破行動は 9 回目の DNFB 塗布後の 2 時間観察した。また、9 回目の DNFB 塗布時に血液、皮膚および脊髄を採取し、 $\beta$ -endorphin および dynorphin-A 含有量を ELISA キットを用いて測定した。

p75 の役割の検討には p75-KO マウスおよび対照の WT マウスを使用した。

(倫理面への配慮)

マウスの飼育管理および取り扱いには日本実験動物学会の指針 (1987) および学内の指針に従って行い、学内の委員会による実験計画の承認を受けた後に実験を実施した。

### C. 研究結果

BALB/c 系マウスに DNFB を反復塗布し、オピオイド受容体作動薬および拮抗薬の影響を検討した。

$\mu$  受容体作動薬の morphine は 0.1-1 mg/kg の用量で DNFB 塗布によって誘発される搔破行動を増加あるいは増加させる傾向を示し、拮抗薬である naltrexone は 1-10 mg/kg で搔破行動を用量依存的に有意に抑制した。また、naltrexone は histamine および compound 48/80 によって誘発される搔破行動に対しても有意な抑制効果を示した。

$\delta$  受容体作動薬である SNC 80 は 0.1-10 mg/kg の用量で搔破行動には影響を及ぼさなかった。また、拮抗薬の naltrindole も同じ用量で影響を及ぼさなかった。

$\kappa$  受容体作動薬 U50488 は 1-10 mg/kg で用量に依存して搔破行動を強く抑制した。U50488 は histamine および compound 48/80 によって誘発される搔破行動に対しても有意な抑制作用を示した。一方、拮抗薬の nor-binaltorphimine は 0.1-10 mg/kg の用量では搔破行動に影響を及ぼさなかった。

$\mu$ 、 $\delta$  および  $\kappa$  受容体作動薬および拮抗薬の成績のまとめを表 1 に示す。

naltrexone および U50488 を投与したマウスの 9 回目の DNFB 塗布後の組織像を観察した。両薬物は搔破行動を強く抑制したが、表皮の肥厚、真皮の腫脹、炎症性細胞の浸潤などの炎症の兆候に対しては明らかな抑制作用を示さなかった。

9 回目の DNFB 塗布時に血液、皮膚および脊髄を採取して  $\beta$ -endorphin および dynorphin-A 含有量を測定した。 $\beta$ -endorphin はいずれの部位においても増加したが、血液中および脊髄中では増加は明らかであった (図 2)。一方、dynorphin-A 量は血液中で

は DNFB 反復塗布による影響は認められなかったが、皮膚では著しく増加し、脊髄では明らかに減少した (図 3)。

表 1 オピオイド受容体作動薬および拮抗薬のマウス搔破行動に及ぼす影響

$\mu$ receptor	agonist	morphine	▲
	antagonist	naltrexone	▼*
$\delta$ receptor	agonist	SNC80	—
	antagonist	naltrindole	—
$\kappa$ receptor	agonist	U-50488	▼*
	antagonist	nor-binaltorphimine	—

\* also inhibits histamine- and compound 48/80-induced scratching behavior

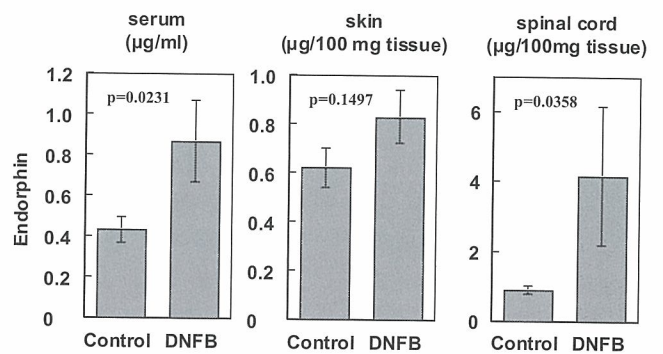


図 2 血液、皮膚および脊髄中の  $\beta$ -endorphin 量

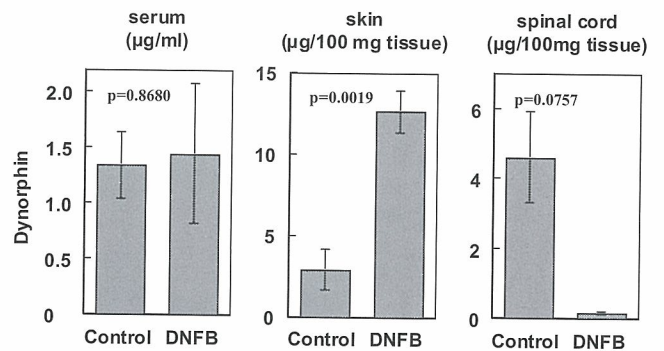


図 3 血液、皮膚および脊髄中の dynorphin-A 量

神経成長因子低親和性受容体 p75 遺伝子を欠損する p75-KO マウスを用いて搔破行動を検討した。

$10^{-4}$  g/ml の histamine 20  $\mu\text{l}$  をマウス頸背部皮膚に皮内注射すると、WT、KO のいずれのマウスにおいてもほぼ同等の明らかな血管透過性亢進が誘発されたが、いずれのマウスにも搔破行動は誘発されなかった。一方、 $10^{-4}$  g/ml の serotonin は両マウスに明らかな血管透過性亢進を誘発し、WT マウスには注射後 2 時間に約 90 回の搔破行動を誘発したが、KO マウスでは搔破行動は誘発されなかった。

p75-KO マウスおよび WT マウスの頸背部皮膚に DNFB を反復塗布して皮膚炎を誘発し、9 回目

の塗布後 2 時間の搔破行動を比較した。図 4 に示すように、WT マウスでは約 500 回の搔破行動が認められたが、KO マウスではほとんど搔破行動は誘発されなかった。

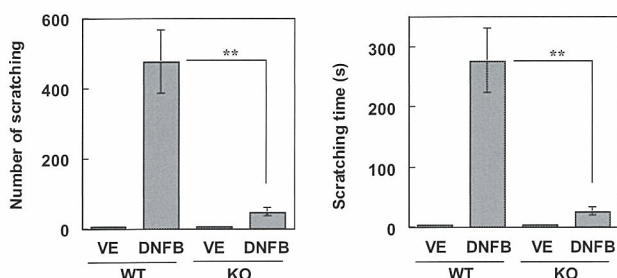


図 4 DNFB 塗布による p75-KO および WT マウスの搔破行動

9 回目の DNFB 塗布後に皮膚を採取し、組織切片を hematoxylin-eosin 染色して観察した。vehicle を塗布した KO マウスの皮膚は WT マウスの皮膚に比して著しく薄く、DNFB 反復塗布後においても、炎症発現は WT マウスに比して軽度であった。

9 回目の DNFB 塗布後に皮膚を採取し、表皮内へ伸長した神経線維を抗 PGP9.5 抗体を用いて免疫染色して評価した。WT マウスでは、DNFB 反復塗布によって肥厚した表皮内に多数の神経線維の侵入が認められた。これに対し、KO マウスでは表皮内 PGP9.5 陽性神経線維は少なく、数値化した場合には WT マウスの 1/2-1/3 であった (図 5)。

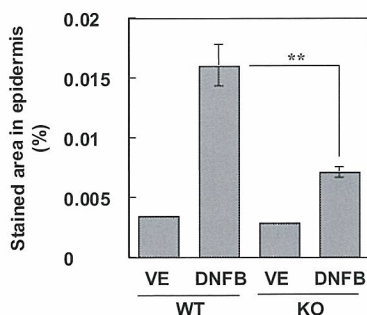


図 5 表皮内 PGP9.5 陽性神経線維

#### D. 考察

$\mu$  受容体拮抗薬が DNFB 塗布による搔破行動を抑制し、 $\kappa$  受容体作動薬が搔破行動を抑制したことから、 $\mu$  受容体は搔破行動の誘発に、 $\kappa$  受容体は制御に関与するものと推定されるが、 $\kappa$  受容体拮抗薬が影響を及ぼさなかったことから、DNFB 反復塗布したマウスでは、 $\kappa$  受容体による制御は大きな役割を演じないものと推定される。また、DNFB を反復塗布したマウス脊髄中では  $\beta$ -endorphin が増加し、

dynorphin-A は減少したことから、DNFB 反復塗布によって搔破行動が誘発されやすい状況が形成されるものと考えられる。また、p75-KO マウスでは DNFB 塗布による搔破行動はほとんど消失し、表皮内神経線維の増多も強く抑制される。したがって、p75 は神経線維の増生にも関与するが、搔破行動の発現には主要な役割を演じるものと推定される

#### E. 結論

オピオイド受容体はマウス搔破行動の発現に調節的な役割を演じ、 $\mu$  受容体拮抗薬および  $\kappa$  受容体作動薬は搔破行動の制御に有用であると考えられる。また、神経成長因子低親和性受容体 p75 は搔破行動の発現および神経線維の伸長に役割を演じるため、搔破行動制御のための標的分子として有用であると考えられる。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Inagaki N, et al., Inhibition of scratching behavior associated with allergic dermatitis in mice by tacrolimus, but not by dexamethasone. *Eur J Pharmacol* 546: 189-196, 2006.

##### 2. 学会発表

1. 浅井秀星, 他. 日本薬学会東海支部大会. 2006 年 7 月 1 日 (静岡).
2. 稲垣直樹. 第 50 回 東海小児アレルギー談話会. 2006 年 10 月 7 日 (岐阜).
3. 浅井秀星, 他. 第 56 回日本アレルギー学会 秋季学術大会. 2006 年 11 月 2-4 日 (東京).
4. 下内鮎美, 他. 第 56 回日本アレルギー学会 秋季学術大会. 2006 年 11 月 2-4 日 (東京).
5. 浅井秀星, 他. 第 16 回 国際痒みシンポジウム. 2006 年 11 月 18 日 (東京).

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

## かゆみの臨床的評価と制御に関する研究

分担研究者	佐々木りか子	国立成育医療センター皮膚科医長
研究協力者	幸田 太	国立成育医療センター皮膚科医員
研究協力者	野崎 誠	国立成育医療センター皮膚科研修医
主任研究者	古江 増隆	九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野

### 研究要旨

アトピー性皮膚炎の小児患者を対象に、かゆみの臨床的評価法を研究し、また、小児患者とその家族に対して、どういふときにかゆみを感じやすいか、あるいはどのような対処法が有効であるかを質問形式のアンケートにより調査した。また手首に装着する体動計を用いて夜間の搔爬行動量は測定したところ、臨床的重症度や本人が感じているかゆみの程度との間に相関関係を示す傾向がみられた。また、母親よりも本人の自己評価に信頼性が高いことも示された。しかしながら、この方法は、10歳以下の小児には向かない傾向があると考えられた。かゆみのアンケート調査結果からは多くの患者は共通して入浴後、夜間に痒痒感を強く感じたり、またつまらないときやストレスでかゆみを感じやすいこともわかった。家庭的な対処法としては、外用薬を塗布することと、患部をたたくことや冷やすことが有効と考えている養育者が多い傾向がみられた。

### A. 研究目的

小児のアトピー性皮膚炎患者を対象（0～満18歳）として、痒痒感を臨床的かつ客観的に評価し、またその臨床的な制御方法を研究することを目的とする。痒みは主観的な感覚であるため、客観的に評価することは非常に困難である。とくに小児患者においては、自己表現能力の未熟さのために、よりその評価が難しい。しかしながら、重症度、病勢の把握、治療効果の判定および病因を探る意味において、客観的評価を下すことは重要である。また、痒みは、患者とその家族にとり、彼らの QOL を低下させる最大の要因である。そのため各家庭では、医療者が行う治療以外に、各自で行われている様々な対処法がある。それを調査して解析した上で、効果的な対処法をまとめ、ホームページに掲載して患者相互の情報交換および QOL の向上に役立てるようにする。

### B. 研究方法

#### 1. 痒みの臨床的評価

アトピー性皮膚炎の小児患者に、夜間就寝時、手首に体動計を装着させ、搔爬回数を記録する。連日使用させ、2週間毎に診察した上で、SCORAD による臨床的な重症度、VAS スケールによる自己評価、外用薬の使用量との相関性を探る。観察期間は、一人の患者について6か月以上とする。

#### 2. 痒みの制御

学童期以上（文字が識別できる）の患者本人、および患者の保護者に対してアンケート調査を行い、各家庭で行っている、急な痒みに対する対処法について、調査する。

1. 2の調査は、保護者および15歳以上の本人の文書による同意を得て施行される。

### C. 研究結果

#### 1. 痒みの臨床的評価

夜間の搔爬行動量は、手首に体動計（アクチトラック）を装着することで、手首が振動する回数を、内臓センサーで感知して計測する。

当初5名の患者が参加したが、家族が機器の取り扱いができなかったり、患者が機器をいじってしまう、受診しないなどの理由から3名が脱落し、最終的に11歳と7歳の2名の患者で6か月以上の継続的記録がとれた。

個々の患者の記録をグラフに示したところ、共通して就寝後からしばらくの間と夜間睡眠中にいくつかの山を描くように、搔爬行動によると考えられる手首の激しい運動が繰り返されていることがわかった。

現在までのところ、このように個々の患者においては、だいたい搔爬しやすい時間帯が把握できた。

そして、搔爬量が多いときには、臨床的重症度が増し、また逆もしかりであることがわかった。

また、11歳の患者では搔爬回数とかゆみの程度についての自己評価（VASスケール）において、相関性がみられ、また母親の評価よりも相関性が高かった。7歳の児は途中でVASスケールの記録に信頼性を欠き、結果的



に搔爬回数との相関性をさぐるができなかった。

## 2. 痒みの制御

かゆみが増強するときとその対処法のアンケートは、小児アトピー性皮膚炎患者220名の保護者に対してと、患者本人24名：7～17歳に対して行った。結果は回答の多かった順に5位まで記載する。

### 【保護者のアンケート結果】

#### I 患者がかゆがるときはどういときか

1. 眠いとき (62. 1%)
2. 風呂上がり(40. 64%)
3. 夜中(40. 18%)
4. 衣服をぬいだとき(28. 77%)
5. つまらないとき(23. 29%)

#### II 患者のかゆみに対してどのような対処をするか

1. ぬり薬をぬる(80. 82%)
2. さする(41. 10%)
3. 冷やす(31. 51%)
4. たたく(24. 2%)
5. かいてやる(14. 61%)

### 【本人のアンケート結果】

#### I かゆみを感じるときはどういときか

1. つまらないとき(68. 00%)
2. 風呂上がり(56. 00%)
3. 夜中(40. 18%)
4. 就寝前(36%)
5. 風呂に入っているとき(32%)

#### II 自分でどうい対処をするか

1. ぬり薬をぬる(72%)
2. かく(68%)
3. 冷やす(44%)
4. さする(32%)
5. たたく(32%)

## D. 考察

1. 試験を開始した5名の患者のうち6か月以上の経過を継続的に測定できたのは11歳と7歳の2名だけであった。その2名の患者について調査を行い、結果を解析した。また患者の母親にも患者のかゆみの程度を判断してもらい調査したので、その結果も合わせて比較検討した。患者2名のうち、11歳の児は搔爬回数と自己評価に相関性がみられた。また搔爬回数は、児の母親が評価した本人のかゆみの程度よりも、本人の自己評価との間の相関性が高かった。しかし一方、7歳の児はVASスケールの意味を理解できなかったためか記録に信頼性を欠いたため、相関性が明確にならなかった。これは10歳以下の小児にとり、VASスケールの評価の方法や目的を十分に理解させることは難しい場合があることを示したと考える。

## 2. アンケート結果から

かゆみを強く感じるときについて 質問したところ、アトピー性皮膚炎のかゆみが、入浴後や夜間に強くなることはよく知られた事実である。

しかしながら、今回24名とまだ少ない人数ではあるものの患者本人のうち68%の患者が、入浴前や夜中よりもつまらないときに一番かゆみを感じやすいという結果が得られたことは予想を上回っていた。勉強しているときと答えた患者も28%いる。一方、患者がつまらないときに搔くと答えた保護者は23. 29%、勉強しているときと答えた保護者は8. 22%であり、患者本人よりも保護者はそれほど心因的な要素で搔くとは感じていない傾向があると言える。その他、このアンケートからは興味ある回答と傾向が多くみられるため、今後も継続して行ったり、質問を増やしていきたいと考える。

次に、かゆみに対する対処法として、保護者、患者双方ともに多くあげた答えは、塗り薬をぬるという答えであった。これは、当科で処方している外用薬(主としてステロイド薬か保湿薬)である。これは処方しているわれわれ医師は定期的に外用するよう指導している外用薬の使用法とは異なるものであることを認識させられた。これについて、かゆみを感じたときに応急手当として塗る外用薬として、たとえば抗ヒスタミン薬やメントール入りの外用薬などを別に処方することも効果を高められる可能性があることがわかった。また対処法としては、患者本人は搔いてしまうようであるが、保護者、患者ともにさする、たたく、冷やすことをしていることが多いことがわかった。今後は、さらに抗ヒスタミン薬の外用薬の効果や、冷やすことの効果を裏付ける臨床試験などを考えたい。

## E. 結論

小児アトピー性皮膚炎患者の搔爬行動を体動計を用いて、客観的に捉えることで、臨床的重症度評価法その相関関係を調べる程度までできた。痒みの評価法として、今回体動計とVASスケールを用いた評価法を試みた。10歳以上の小児では痒みの評価ができたと考える。しかし10歳以下の小児では自己評価が難しいと考えられた。また、養育者という介在者の存在が必要であり、体動計の管理や計測を継続できるかどうか問題が多かった。しかしながら、母親が本人のかゆみの程度を評価したものよりも、本人の自己評価によるかゆみの程度の法が、実際の搔爬回数との間に相関性が高くみられたことは、この評価法がかゆみの程度を正しく把握するのに適していることも示唆している。しかし総合的に考えると、実践上の問題点も多いため、一般的に小児患者のかゆみを客観的に評価する方法には、さらに小児の特性を考えた方法を研究することが必要であると考える。小児患者とその保護者に対するアンケート調査では、患者のかゆみに、予想以上の心因的な要素が強く関係していることが伺えた。また、そのことを保護者には、そう

いうことを理解できていない傾向があることもわかった。また、家庭で行うかゆみの対処法として、頻繁に外用薬が使用されていることがわかり、そのほかは患部にいわゆる「手当」をすることが家庭間で共通して行われ効果を出していることもわかった。こういった結果や情報を保護者に対するアドバイスとしてホームページ上で発信す

ることは有意義であると考えられた。

## アトピー性皮膚炎患者のQOL尺度の開発に関する研究

分担研究者 大矢幸弘 国立成育医療センター第一専門診療部アレルギー科医長  
研究協力者 窪田泰夫 香川大学医学部皮膚科教授  
星岡明 千葉県こども病院アレルギー科主任医長  
益子育代 群馬県立県民健康科学大学看護学部講師  
坂本なほ子 順天堂大学医学部公衆衛生学教室助手  
小嶋なみ子 国立成育医療センター第一専門診療部アレルギー科心理士  
宮崎晃子 同上  
細谷律子 細谷皮膚科

### 研究要旨

日本のアトピー性皮膚炎患者に特異的な健康関連QOL尺度の開発を目的とし、小児193名、成人111名から一次データを収集、それに基づき、内容妥当性および表面妥当性を検討し、専門家による合議を経て、小児63項目、成人69項目からなる2次調査票を作成し二次調査を行った。小児用222名、成人用195名から回答を得、成人用の項目分析を行い天井効果や床効果のある質問項目を除外し30問の項目に絞り込んで因子分析を行った。因子負荷量が低い項目や相関の高い項目を除外し、4回の因子分析を繰り返して4因子9項目からなるQOL質問票を作成した。

### A. 研究目的

アトピー性皮膚炎患者に用いられるQOL尺度としては、英国で開発されたDLQI、CDLQI、IDQOLやSkindex16などの皮膚疾患特異的QOL尺度がある。また最近では欧米数カ国で開発されたOoLIADなどがあるが、QOL尺度はその国の文化の影響を強く受けるものであり、外来のQOL尺度にはやや違和感があった。そこで、今回新規に日本人のアトピー性皮膚炎患者に特化した疾患特異的QOL尺度の開発研究に着手することになった。QOL尺度の性格としては弁別的なもの、予測的なもの、評価的なものがあると言われるが、この尺度開発では弁別的または評価的な性格を重視している。ただし、医学的な重症度と相関することは必ずしも目標とはせず、あくまでアトピー性皮膚炎を有することによって生ずるQOLの影響を網羅的に把握できるような尺度を目指している。

### B. 研究方法

#### 1. 一次調査

これは平成17年度に行った研究課程なので簡潔に記載する。まず、アトピー性皮膚炎患者のQOLの実態を把握するために、基礎的情報収集のための無記名自記式調査用紙を成人用と小児用の2種類用意し、アトピー性皮膚炎のQOLに関連する情報収集を行った。対象は、分担研究者や研究協力者の施設

に通院中のアトピー性皮膚炎患者とし、小児用は6歳以上18歳未満、成人用は18歳以上を対象としたが、小学校1年生は親が記入を手伝うケースが多く除外し、最終的に小児158名、成人111名のデータを解析した。

#### 2. 2次調査

一次調査で収集されたデータを整理して得られた小児版の211項目は内容別に27のカテゴリーに、成人版の180項目は31のカテゴリーに分類した。これらの項目をカテゴリー別に内容的妥当性および表面妥当性についてアトピー性皮膚炎治療の専門家である分担研究者と研究協力者が会議をひらいて検討した。そして、2次調査票に採用する質問項目の作成について、これらの項目を基に表現の適正化や内容の明確化および集約化などを経て、小児用63項目、成人用69項目からなる2次調査票を作成した。回答は各項目とも共通で、1.ものすごく、2.かなり、3.すこし、4.まったくないの4択とし、?わからない、を選択枝に追加した。この2次調査票を研究者が所属する各施設に通院中の患者に渡し、無記名郵送による回収を行った。

#### 3. 3次調査

2次調査の結果を基に重要度分析や内容妥当性および表面的妥当性を検討し、因子分析によって得られた

データをもとに因子の構成概念妥当性が成立するよう項目減数を行う。このようにして作成された3次調査票を初診・再診の患者に適応し、重症度評価や治療経過との相関や再現信頼性などの評価を行い最終版の開発を行う。

(倫理面への配慮)

QOL尺度が構成する項目には一般的にプライバシーに関する内容が含まれることが多く、性的な側面や経済的な側面については、面接調査をおこなったときに日本人の場合は欧米人ほどオープンには語らないことが多い。また、倫理的な側面からも個人の特定ができないような工夫をすることが望ましい。そのため、1次データ収集のための記録用紙には無記名で回答を依頼し、回収は病院スタッフへの手渡しではなく、回収ボックスへの自主的な投函とした。また、2次調査までは無記名とするが、3次調査では個人が特定できるカルテ情報を扱うため3時調査票の内容を含め、施設ごとの倫理委員会にて審査を依頼し承認を受けて調査を実施する。

### C. 研究結果

2次調査の回答数は小児用222名、成人用195名であった。各質問項目について項目分析を行い、初診患者のなかで4件式リッカート式スケールでの回答（0点から1点刻みで最大3点）に対して天井効果や床効果のある回答を除外し、平均±標準偏差が0から3未満におさまる項目のみを採用した。成人版では68問中38問を除いた30問で1回目の因子分析を主因子法プロマックス回転を用いて行ったところ4因子が検出された。30問中因子負荷量が0.40以下の4問を除いた26問で再度因子分析(主因子法プロマックス回転)を行い、因子負荷量の低い項目とほぼ重複すると思われる内容の項目を除き15問に対して3度目の因子分析を行った。この因子分析では主因子法プロマックス回転でも最尤法プロマックス回転でも全ての項目の因子負荷量は0.40以上あり最初の4因子構造は保たれていた。また各因子を構成する問いの数は3項目から5項目で内的整合性の信頼性係数 $\alpha$ は全て0.80以上と良好であった。そこで、臨床現場での利便性を考えてさらに項目数の削減を試みた。各因子内の項目で相関が高いものと最も因子負荷量が低い項目を除いた4因子9項目で4度目の因子分析を行ったところ、主因子法プロマックス回転でも最尤法プロマックス回転でも4因子構造は保たれていた。各因子が示す構成概念は1. 生活活動への影響、2. 服薬の負担、3. 痒みによる障害、4. 将来への不安の4つであり、それぞれの因子を構成する質問項目と内的整合性Cronbachの $\alpha$ を表3に示した。

小児版に関しては現在解析の途中である。

表1 最尤法プロマックス回転によるパターン行列

問	因子負荷量			
	因子1	因子2	因子3	因子4
1	.819			
2	.629			
3	.585			
4		.903		
5		.742		
6			.916	
7			.623	
8				.848
9				.730

表2 主因子法プロマックス回転によるパターン行列

問	因子負荷量			
	因子1	因子2	因子3	因子4
1	.819			
2	.629			
3	.585			
4		.903		
5		.742		
6			.916	
7			.623	
8				.848
9				.730

### D. 考察 および E. 結論

調査フィールドの施設は比較的重症患者が多く、成人の自由記述の内容には過去のつらい経験を綴っているケースが目立った。また、小児は治るかどうかの不安や親への気遣いなどが目に付いた。外国のQOL調査票によく見られる性生活への支障に関する記述は無記名であったにも関わらずほとんどなく、QOLには文化的な差異が反映されること、また小児と成人とは異なることを改めて認識した。DLQIやCDLQIでは尺度の構成概念を構成する因子について計量心理学的な検討を行わず、内容から因子分けをしているが、異なる内容の質問項目であっても患者の重症度や治療に伴って同じような変化をする項目であれば別の因子として扱う必要はなく記述する患者の負担を増やすのみである。そこで、このQOL尺度開発では因子分析による因子構造を明らかにした上で項目の削減を試みた。その結果、英国で開発された尺度のような不安定な因子構造（因子分析の種類やデータソースの違いで2因子になったり3因子になったりする）ではなく安定した4因子構造からなる尺度を9項目で構成することができた。次年度は小児版を同様のプロセスで作成し、また小児版・成人版ともに大規模調査による妥当性と信頼性の検証を予定している。