

アトピー性皮膚炎における痒みの制御機構の解析と診療現場における痒み対策指導に関する研究  
分担研究者 秀 道広 広島大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚科学教授

研究要旨

アトピー性皮膚炎治療における悪化因子対策のうち、汗アレルギー対策として有用な方策の開発を試みた。鉄フタロシアニン染色加工した繊維で作製した下着は夏期に着用すると痒みの自覚と皮膚症状のスコアが改善することが示されているが、今回は①無処理の下着、②カチオン化した繊維による下着、③緑色の着色を施した繊維による下着、④鉄フタロシアニン染色加工繊維による下着の4種類をランダムに着用させ、痒みと皮膚症状に対する効果を評価した。その結果、緑色の③と④で痒み軽減効果が得られ、色調によるプラセボ効果と考えられた。また *in vitro* で汗のヒスタミン遊離活性を吸着する成分を含有するスプレー製剤と湯上がり製剤による痒みと皮疹に対する効果を検討したところ、一部の症例で有効性が認められた。いずれの製品も、症例を選べばある程度の有用性が見込まれるものと思われた。

A. 研究目的

アトピー性皮膚炎の治療においてはステロイド外用薬を中心とした薬物治療だけでなく、悪化因子対策とスキンケアの指導も重要である。我々は、これまでにアトピー性皮膚炎に対する悪化因子としての汗アレルギーに着目し、実効的な汗対策の開発を模索してきた。昨年度は、汗抗原を選択的に吸着する作用を持つ鉄フタロシアニン染色加工した繊維で作製した下着（フタロシアニン下着）について、アトピー性皮膚炎患者の痒みに対するオープン試験で効果を検討し、皮疹および痒みの改善効果があることを示した。本年度はその効果が繊維のフタロシアニン染色によるものか、あるいは染色の前処理で繊維に施しているカチオン化によるものかを明らかにするために、4種類の繊維で作製した下着を用いてクロスオーバー試験を行った。また、昨年度に引き続いて汗抗原吸着物質で作製したスプレーおよび湯上がり製剤の痒みに対する効果を確認する臨床試験を行った。

B. 研究方法

試験1：フタロシアニン染色加工下着二重盲検ク

ロスオーバー試験：広島大学皮膚科外来を受診しているアトピー性皮膚炎患者のうち、1ヶ月以上同様の治療で症状が安定している症例を対象に①無処理の繊維（白色）、②カチオン化処理した繊維（白色）、③緑色に着色した繊維（緑色）、④カチオン化後鉄フタロシアニン染色加工した繊維（緑色）、の4種類の繊維で下着を作製し、ランダムな順序で各1ないし2週間ずつ着用させ、各期間の痒みの程度と着心地を評価させた。（これまでの研究で、木綿繊維をカチオン化しただけの繊維が汗抗原を選択的に吸収する作用を持つことは確認している。）

試験2：スプレーおよび湯上がり製剤による試験：試験1と同様の条件の症例を対象に、*in vitro* で汗中のヒスタミン遊離活性を吸着する素材で作製したスプレー剤と湯上がりのかけ湯製剤を作製し、それぞれ日中と湯上がり時に使用させ、使用開始前後での皮疹（潮紅、丘疹、苔癬化、落屑、湿潤）と痒みのスコアを評価した。

試験3：汗に含まれる蛋白質の中から汗抗原を特異的に吸着する素材によるパウダー（SAAP）の臨床的有用性：SAAPは、汗に混和すると非特異的な

蛋白質の吸着は生じることなくヒスタミン遊離活性（汗抗原）のみ吸着除去する性質を持った素材のパウダーであり、発汗の多い時期に皮膚に塗擦すると痒みや皮膚炎を予防する効果が期待された。パウダーコンパクトに SAAP と非 SAAP を充填したものを準備し、左右比較可能なほぼ同等な皮膚所見を示す、肘、首、胸などを対象部位として二重盲検左右比較試験を行った。試験 1、2 と同様の条件の症例を対象に、1 日 2 回、2 週間から 4 週間使用し、痒み、紅斑、丘疹、苔癬化、落屑、湿潤の各項目について評価した。いずれの試験も発汗による皮疹の影響が出やすいと思われる夏期（平成 19 年 6 月から 9 月まで）の期間に行った。（倫理面への配慮）

試験 1、試験 2 および試験 3 の実施にあたっては、患者の個人情報試験実施医師以外に漏れることがないように配慮した。またあらかじめ広島大学医学部倫理委員会に試験の実施についての承認を得た（広島大学医学部倫理委員会 第 537 号、第 613 号および第 704 号）。

### C. 結果

試験 1：16 名の症例をエントリーし、4 種類すべての下着の評価が回収できたのは 8 名であった。痒みに対する効果について「痒みが軽くなった」、「痒みに対する効果はない」、「痒みが悪化した」と答えたのは、フタロシアニン下着はそれぞれ 2 名、5 名、1 名であり、緑色着色繊維下着は 4 名、4 名、0 名、無処理繊維下着とカチオン化繊維下着は 0 名、7 名、1 名であった。着心地について「着心地がよい」、「普通と変わらない」、「着心地が悪い」と答えたのは、フタロシアニン下着と緑色着色繊維下着はそれぞれ 4 名、4 名、0 名であり、カチオン化繊維下着は 4 名、3 名、1 名であり、無処理繊維下着は 3 名、4 名、1 名であった（表 1）。

試験 2：18 名をエントリーし、17 名の結果を解析した。皮疹スコアの総合点は試験開始前後で有意に低下した（図 1、 $p=0.0024$ , Wilcoxon signed rank test）。痒みの自覚症状について、就寝前、就寝中、午前、午後のそれぞれの時間帯に分けて程度を質問したところ、午後の痒みが有意に軽減していた（ $p=0.0469$ ）。この製剤の使用希望について質問したところ、17 名中 2 名が「是非使用してみたい」、4 名が「価格が安ければ使用してみたい」と答えた。

試験 3：7 名のアトピー性皮膚炎患者に使用した結果、痒み、紅斑、丘疹、苔癬化、落屑、湿潤の各項目については左右差がなく、使用感については SAAP 側が良かった症例は 0、非 SAAP 側が良かったものが 2 名、左右同じであったものが 5 名であった。また、2 名においては使用後に痒みが生じ、そのうち 1 名は試験途中で使用を中止した。

### D. 考察

アトピー性皮膚炎患者の痒みに対しては、ステロイド外用薬あるいはタクロリムス外用薬で皮膚の炎症を抑制することが最も重要であるが、薬物治療以外の衣類や入浴などの日常生活動作でのケアで患者への精神的負担も少なく効果的なものが望まれる。今回試用したフタロシアニン下着は、昨年度のオープン試験で痒み軽減効果が示されたが、今年度の試験では、染色加工そのものの痒み軽減効果は確認できず、下着の緑色の色彩によるプラセボ効果が大きく影響した結果と解釈される。着心地に関してもすべての種類で良好な印象が持たれ、下着の素材そのものの効果と考えられた。一方スプレー剤と湯上がり製剤では、一部の症例に限られてはいるが、皮疹と痒みの自覚に関して効果が見られ、継続使用の希望が強い者も見られた。それらの限られた症例では皮疹の客観的な評価においても若干の改善が見られ、症

例によっては有効性が期待できることが示唆された。パウダー製剤については、臨床的には *in vitro* の効果から期待された効果は確認できず、むしろ刺激によると思われる痒みが生じた例もあり、少なくともこの形態ではアトピー性皮膚炎患者の皮疹部位への使用は困難と考えられた。

## E. 結論

アトピー性皮膚炎の痒みに対して、フタロシアニン下着は緑色によるプラセボ効果で、スプレー剤と湯上がり製剤は機序は不明なものの一部の患者に有用性が認められた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 田中稔彦:「アトピー性皮膚炎なのですが、下着などの衣類で注意すべきことは?」、QアンドAでわかるアレルギー疾患 Vol.3 (6): 603- 604, 2007
- 2) 秀 道広、亀好良一、田中稔彦:アトピー性皮膚炎に対するシャワー浴の効果に関する調査、広島医学 60 (12):734-740、2007
- 3) 秀 道広、VII アトピー性皮膚炎 9.汗. 目で見るアレルギー性皮膚疾患. 片山一朗、古川福実 編. pp346-348, 南山堂, 東京, 2007
- 4) 秀 道広、鈴木秀規、田中稔彦. 汗に対するI型アレルギーとアトピー性皮膚炎. 発汗学 14(1): 18-22, 2007

### 2. 学会発表

- 1) 石井 香、田中稔彦、亀好良一、鈴木秀規、秀 道広、汗抗原に対するアトピー性皮膚炎患者リンパ球のIL-4産生とCD4+CD25+T細胞の機能低下. 第19回日本アレルギー学会春季臨床大会、平成19年6月、横浜

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

該当無し

### 2. 実用新案登録

該当無し

### 3.その他

該当無し

表1、フタロシアニン染色繊維下着による痒みの軽減効果

	痒みが軽くなった	効果なし 痒みが悪化した	有効率
白色下着 <sup>1</sup>	0名	16名	0%
緑色下着 <sup>2</sup>	8名	10名	44%

P=0.0082、 $\chi^2$ 検定

- 1: 無処理の下着とカチオン化繊維の下着
- 2: 緑色に着色した繊維の下着とカチオン化後鉄フタロシアニン染色加工した繊維の下着

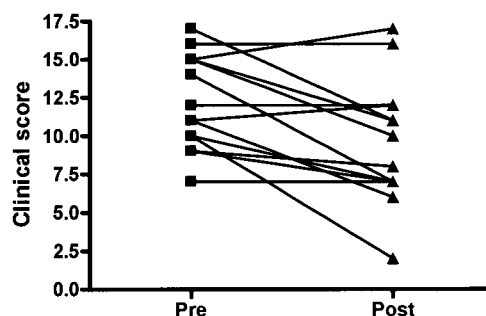


図1、スプレーおよび湯上がり製剤の使用による皮疹の総合スコアの改善 (p=0.0024, Wilcoxon signed rank test)

モデルマウスを用いた皮膚炎の基礎的研究及び光線治療の臨床的評価に関する研究

分担研究者 佐伯秀久 東京大学医学部皮膚科講師

研究要旨 CTACK/CCL27 は皮膚特異的ケモカインと呼ばれており、皮膚表皮の角化細胞のみから産生されている。一方、CTACK の受容体である CCR10 は、皮膚への homing receptor である CLA が陽性の T 細胞で発現している。また、アトピー性皮膚炎 (AD) や乾癬患者では、血清中の CTACK 濃度の上昇が報告されている。今回我々は、皮膚炎症における CTACK の影響を検討するため、表皮の角化細胞に CTACK を過剰発現させた transgenic (Tg) マウスを作成した。CTACK-Tg マウスでは皮膚炎の自然発症はみられなかったため、接触過敏反応 (CHS) の実験を行った。その際、Th1 型反応の感作物質として oxazolone (OX) を、Th2 型反応の感作物質として FITC を用いた。また、単回惹起の acute CHS と反復惹起の chronic CHS の両者を行った (chronic CHS では Th2 型反応に shift することが知られている)。その結果、FITC chronic CHS の実験でのみ、Tg マウスと Non-Tg マウスで耳介腫脹に有意差がみられた。CTACK はそれのみでは炎症を引き起こさないが、一旦炎症が起こると、局所に CCR10 陽性の T 細胞を遊走させ、炎症を増強すると考えられた。その際、肥満細胞数、CCR4 陽性細胞数の増加、耳介皮膚の IL-4 mRNA 発現の増強、末梢血中 IgE 濃度の上昇といった、Th2 型の炎症反応の増強が認められた。以上より、CTACK はアトピー性皮膚炎などの Th2 優位な皮膚疾患の病態に強く関与している可能性が示唆された。また、Th2 ケモカインである TARC/CCL17 を皮膚表皮に過剰発現させたマウス (TARC-Tg) では、Th1 型の CHS が減弱し、Th2 型の CHS が増強することを確認しているが、TARC-Tg では神経ペプチドである NGF (nerve growth factor) や Substans P の血清中濃度が上昇していることが示された。なお、光線治療の臨床的評価に関する研究では、難治性の AD 患者を対象に narrow-band UVB 療法を行っており、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教  
加藤 豊章 東京大学医学部皮膚科  
柴田 彩 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

Cutaneous T cell-attracting chemokine (CTACK) / CCL27 は皮膚特異的ケモカインと呼ばれており、皮膚表皮の角化細胞のみから産生されている。一方、CTACK の受容体である CCR10 は、皮膚への homing receptor である CLA が陽性の T 細胞で発現している。また、アトピー性皮膚炎 (AD) や乾癬患者では、血清中の CTACK 濃度の上昇が報告されている。今回我々は、皮膚炎症における CTACK の影響を検討するため、表皮の角化細胞に CTACK を過剰発現させた transgenic (Tg) マウスを作成した。

B. 研究方法

CTACK-Tg マウスの形質を解析するため、免疫組織染色により皮膚表皮での CTACK 産生を確認した。また、培養表皮角化細胞の上清や血清中の CTACK 濃度を測定した。さらに、培養上清を用いて CCR10 陽性細胞に対する化学遊走試験を行った。Tg マウスと Non-Tg マウスの刺激に対する反応の差を明らかにするため、接触過敏反応 (CHS) の実験を行った。その際、Th1 型反応の感作物質として oxazolone (OX) を、Th2 型反応の感作物質として FITC を用いた。また、単回惹起の acute CHS と反復惹起の chronic CHS の両者を行った (chronic CHS では Th2 型反応に shift することが知られている)。

### C. 研究結果

CTACK-Tg マウスでは Non-Tg マウスに比べて、皮膚表皮で CTACK が強く染色された。培養表皮角化細胞の上清や血清中の CTACK 濃度は、Tg マウスでは Non-Tg マウスに比べて有意に上昇していた。また、Tg マウスの培養表皮角化細胞の上清を用いた化学遊走試験により、過剰産生された CTACK は機能的であることが確かめられた。CTACK-Tg マウスでは皮膚炎の自然発症はみられなかったため、CHS の実験を行った。FITC chronic CHS の実験でのみ、Tg マウスと Non-Tg マウスで耳介腫脹に有意差がみられた(10 日目以降)(図 1)。また組織学的検索の結果、皮膚に浸潤する炎症細胞数、肥満細胞数、CCR10 陽性細胞数、CLA 陽性細胞数、CCR4 陽性細胞数は Tg マウスで増加していた。さらに、Tg マウスでは耳介皮膚の IL-4 mRNA 発現が増強しており、末梢血中 IgE 濃度も Tg マウスで有意に増加していた。

また、Th2 ケモカインである TARC/CCL17 を皮膚表皮に過剰発現させたマウス(TARC-Tg)では、Th1 型の CHS が減弱し、Th2 型の CHS が増強することを確認しているが、TARC-Tg では神経ペプチドである NGF (nerve growth factor) や Substans P (SP) の血清中濃度が上昇していることが示された(図 2)。

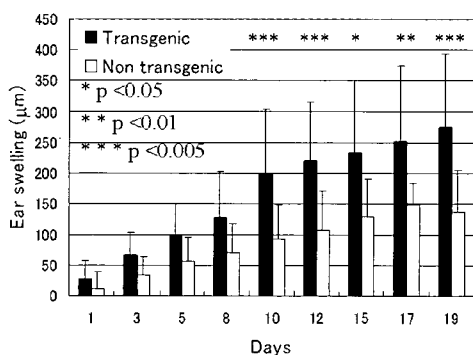


図 1 CTACK-Tg での耳介腫脹

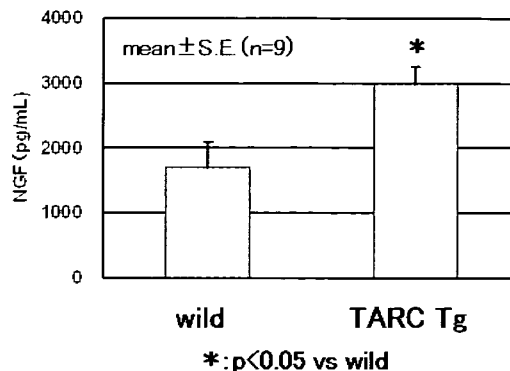


図 2-1 TARC-Tg における血清 NGF 値

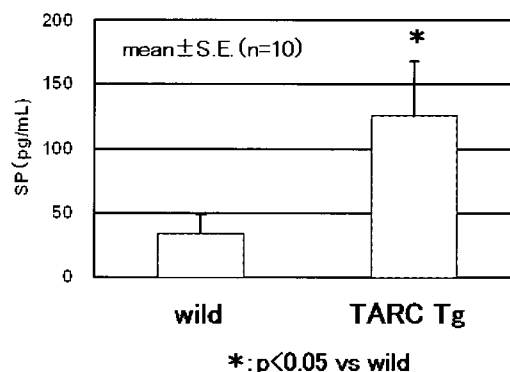


図 2-2 TARC-Tg における血清 SP 値

### D. 考察

CTACK はそれのみでは炎症を引き起こさないが、一旦炎症が起こると、局所に CCR10 陽性の T 細胞を遊走させ、炎症を増強すると考えられた。その際、肥満細胞数、CCR4 陽性細胞数の増加、耳介皮膚の IL-4 mRNA 発現の増強、末梢血中 IgE 濃度の上昇といった、Th2 型の炎症反応の増強が認められた。以上より、CTACK はアトピー性皮膚炎などの Th2 優位な皮膚疾患の病態に強く関与している可能性が示唆された。

また、同様に Th2 型の炎症反応が増強する TARC-Tg において、血清中の NGF や Substans P の濃度が上昇していたことより、アトピー性皮膚炎における痒みの発症機序にこれらの神経ペプチドが深く関与している可能性が示唆された。

なお、光線治療の臨床的評価に関する研究では、難治性のAD患者を対象に narrow-band UVB 療法を行っており、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

CTACK/CCL27 はアトピー性皮膚炎などのTh2 優位な皮膚疾患の病態に強く関与している可能性が示唆された。

#### F. 健康危惧情報 なし

#### G. 研究発表

##### 1. 学会発表

(1) Kagami S, Saeki H, Tsunemi Y, Nakamura K, Nakayama T, Yoshie O, Komine M, Tamaki K: CCL27 transgenic mice showed enhanced contact hypersensitivity reaction to repeated challenges with fluorescein isothiocyanate. 68th Annual Meeting of the SID, Los Angeles, May 9-12, 2007.

##### 2. 論文発表

(1) Kagami S, Saeki H, Tsunemi Y, Nakamura K, Kuwano Y, Komine M, Nakayama T, Yoshie O, Tamaki K: CCL27 transgenic mice showed enhanced contact hypersensitivity reaction to Th2, but not Th1, stimuli. Eur J Immunol, in press.

#### H. 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

#### 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 (最終報告)

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ついて、昨年度、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予備的調査をおこない報告した。これは限られた地区を対象としていたために普遍的な結論とするには問題があると考えた、今年度は全国の都道府県から比較的都市部と考えられる県と比較的地方と考えられる県を選択して同じ調査票をもちいて再度解析をおこなった。その結果は、予備調査とほぼ同様で、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。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、たとえば、ストレスに関して皮膚科医は掻痒に大きな影響を与えていると考えているが小児科医の認識はそれに比較すると低いように、意見が分かれたものもあり、今後検討すべき課題といえる。

#### A. 研究目的

昨年度、アトピー性皮膚炎の痒みに対する支援療法について佐賀県の医師会員のうち小児科標榜医と皮膚科標榜医を対象に、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への対処法として、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予備的調査をおこなった。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との成績を得て報告した。得られた成績を確認するため、調査対象を全国に広げ再解析した。

#### B. 研究方法

昨年度佐賀県の開業医を対象に小児のアトピー性皮膚炎を診療しているとおもわれる皮膚科、小児科標榜医を対象に乳幼児のアトピー性皮膚炎の痒みの補助的療法についての調査票を郵送し予備調査をおこなった。本年度は全国から任意に県を抽出し、皮膚科および小児科専門医 1,585 名 (小児科 516 名、皮膚科 1069 名) に同じ調査票を郵送して回答を得た 801 名 (回収率 46%) の解析をおこなった。

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と皮膚科医の考え方が異なる事項は日焼け、皮膚の感染、食物、ストレス等であった。小児科医は日焼け、皮膚の感染、食物を増悪因子として重要と考えており、皮膚科医は親子のストレス、特に親のストレスを症状の増悪因子として重視していた。

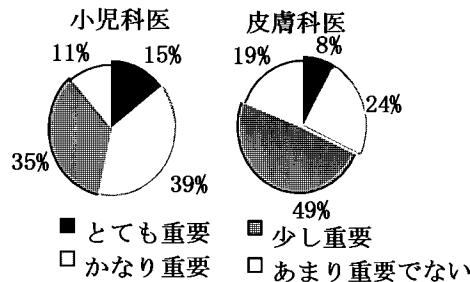


図1 乳幼児アトピー性皮膚炎の痒みに日焼けが増悪因子として重要かどうか

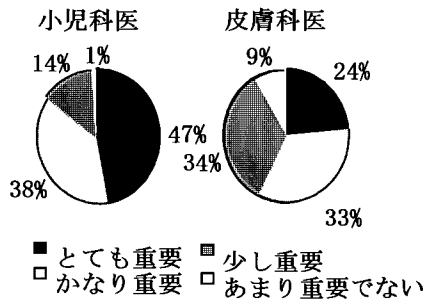


図2 乳幼児アトピー性皮膚炎の痒みに感染が増悪因子として重要かどうか

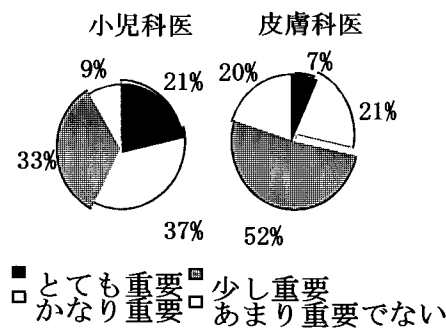


図3 乳幼児アトピー性皮膚炎の痒みに食物が増悪因子として重要かどうか

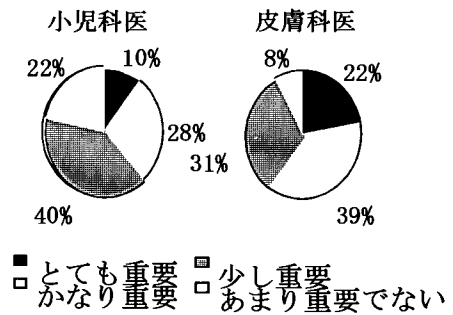


図4 乳幼児アトピー性皮膚炎の痒みに親子のストレスが増悪因子として重要かどうか

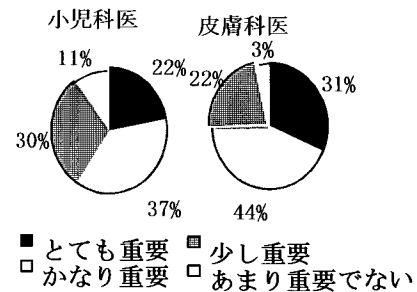


図5 乳幼児アトピー性皮膚炎の痒みに子のストレスが増悪因子として重要かどうか

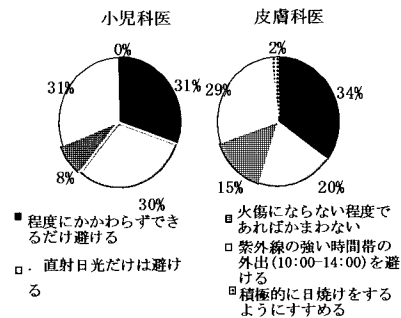


図6 日焼けの指導について

食物制限に関して皮膚科医では基本的に制限が必要でないと考える率は24%と小児科医の7%と比し高いが、過去に指摘されていたほど大きな差はない。



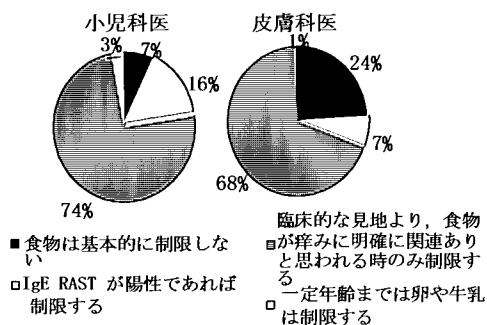


図7 アトピー患児の食物制限

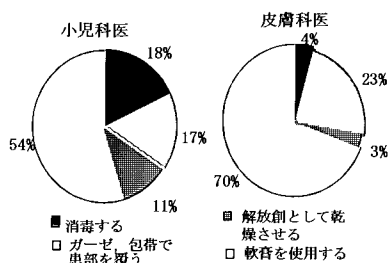


図8 掻破部位の処置

#### D. 考察と結論

予備調査で 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。予備調査では限られた地区を対象としていたために普遍的な結論とするには問題があると考えられた、本年度は全国の都道府県から比較的都市部と考えられる県と比較的地方と考えられる県をまんべんなく選択して同じ調査票をもちいて再度解析をおこなった。その結果は昨年度の中間報告と大きな差はなく、今回の最終報告をもってある程度我が国の現況を表しているものと考えてよいと判断した。

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が高いが、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。しかしながら、ストレス

については皮膚科医は掻痒に大きな影響を与えていると考えているが、小児科医の認識はそれに比較すると低いように、意見が分かれた項目もあり、今後検討すべき課題といえる。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はかる必要がある。

#### F. 研究発表

(論文・著書)

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 (pp222-225 2007)
2. 浜崎雄平:小児の食物アレルギー 今日の治療指針2008 医学書院 東京 (pp1027-1029)

学会発表

1. 西奈津子, 辻功介, 宮崎倫子, 人見知洋, 在津正文, 室英理子, 小林育子, 稲田成安, 山本修一, 市丸智浩, 浜崎雄平, : 皮膚におけるIL-4のCysLT1受容体発現に対する効果 第19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-56: 346, 2007, (横浜) 6.10-6.12
2. 西奈津子, 稲田由紀子, 梁井啓輔, 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: 皮膚KeratinocyteにおけるINF-gammaのIL-4受容体発現に対する効果第57回日本アレルギー学会秋季学術大会 アレルギー-56: 1058 2007, (横浜) 11.1-11.3

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

研究協力者 市丸智浩 佐賀県立病院好生館小児科部長

研究協力者 山本修一 佐賀大学医学部小児科学助教

研究要旨

研究目的：皮膚におけるかゆみのメディエーターとして、アラキドン酸の代謝物であるロイコトリエンLTB<sub>4</sub>やプロスタグランジンPGD<sub>2</sub>が報告されている。本研究では、皮膚ケラチノサイトがこれらのソースとなりうるのかについて、アラキドン酸カスケードに関与する酵素群の発現について検討した。

方法：ヒト正常表皮角化細胞NHEKにおいて各酵素(cPLA<sub>2</sub>, 5-LOX, FLAP, LTA<sub>4</sub>H, LTC<sub>4</sub>S, PHS-1, PHS-2, L-PGDS, H-PGDS, cPGES, mPGES, TXA<sub>2</sub>S)のmRNA発現を半定量的RT-PCR法にて検討した。

結果：constitutiveなmRNA発現を認めたものは以下のとおりである：cPLA<sub>2</sub>, LTA<sub>4</sub>H, LTC<sub>4</sub>S, PHS-1, PHS-2, L-PGDS, cPGES, mPGES。さらにNHEKをIL-13(50ng/ml)またはsubstance P (1 microM)で24時間培養したときにmRNA発現に変化のあったものは以下のとおりである：TXA<sub>2</sub>S, L-PGDS, LTC<sub>4</sub>S。TXA<sub>2</sub>SはIL-13またはsubstance PによりmRNA発現が誘導された。L-PGDSおよびLTC<sub>4</sub>SのmRNA発現はIL-13またはsubstance Pにより抑制された。

考案：今回の検討の結果よりヒト正常角化細胞NHEKは、かゆみのメディエーターと考えられるTXA<sub>2</sub>を条件により産生する可能性がある。一方、かゆみに対し抑制的に作用すると考えられるPGD<sub>2</sub>の発現低下は、かゆみを増強する可能性があると考えられた。

A. 研究目的

アトピー性皮膚炎におけるかゆみに関するヒスタミン以外のメディエーターとして近年、アラキドン酸代謝物すなわち、LTB<sub>4</sub>, TXA<sub>2</sub>, 12-HPETE, PGD<sub>2</sub>などが報告されている。LTB<sub>4</sub>, TXA<sub>2</sub>, 12-HPETEはマウスにおいてかゆみを起こすとされる一方、PGD<sub>2</sub>はかゆみに対し抑制的に作用する可能性が示唆されている。アトピー性皮膚炎の皮膚局所には種々の炎症細胞が浸潤しており、これらを産生する可能性がある。一方、皮膚ケラチノサイトもいろいろなメディエーターを産生しむしろ積極的に皮膚での炎症に関与していることが明らかになってきつつあるので、本研究では皮膚ケラチノサイトがこれらのソースとなる可能性があるかどうかについて検討した。

B. 研究方法

ヒト正常表皮角化細胞 NHEK について検討した。未刺激の NHEK、IL-13 (50ng/ml) または substance P (1 microM) とともに 24 時間培養した NHEK より RNA を抽出し、特異的なプライマーを用い RT-PCR 法にて、アラキドン酸代謝経路にかかわる酵素群の mRNA 発現を半定量的に検討した。internal control として beta actin を用いた。今回検討を行った酵素は以下のとおりである。cytosolic phospholipase A2 (cPLA<sub>2</sub>), 5-lipoxygenase (5-LOX), 5-lipoxygenase activating protein (FLAP), leukotoriene A4 hydrolase (LTA<sub>4</sub>H), leukotoriene C4 synthase (LTC<sub>4</sub>S), prostaglandin H synthase-1 (PHS-1), prostaglandin H synthase-2 (PHS-2), lipocalin-type prostaglandin D synthase (L-PGDS),

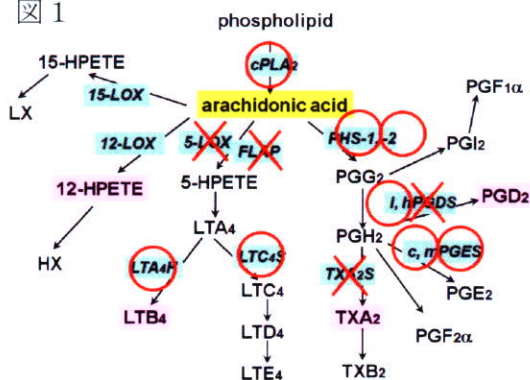
hematopoietic-type prostaglandin D synthase (H-PGDS), cytosolic prostaglandin E synthase (cPGES), membrane-bound prostaglandin E synthase (mPGES), thromboxane A2 synthase (TXA2S).

### C. 結果：

Constitutive な mRNA 発現を認めた酵素は以下のとおりである（図 1）。cPLA<sub>2</sub>, LTA4H, LTC4S, PHS-1, PHS-2, L-PGDS, cPGES, mPGES。

NHEK を IL-13 とともに培養すると、TXA2S の発現は増強され、一方、L-PGDS の発現は抑制された。Substance P との培養でも同様の結果であった（図 2）。LTC4S も IL-13, substance P により発現が抑制された。

図 1



### D. 考察：

今回の検討では、leukotoriene を産生するための key enzyme である 5-LOX の発現を認めず、IL-13, substance P でも発現は誘導されなかった。しかしながら皮膚ケラチノサイトではその他の刺激、たとえばウイルス感染などにより 5-LOX 発現誘導が起こる可能性があり、LTB<sub>4</sub> 産生の可能性は残るものと考えられる。

Th2 サイトカイン IL-13 は TXA2S の mRNA 発現を増強した。アトピー性皮膚炎の皮膚局所では、抗原刺激により Th2 サイトカイン優位の状況が生じることが予想される。すなわち抗原刺激により生じるかゆみの一部に TXA2 が関与し、その機序に TXA2S の発現制御が含まれる可能性がある。Substance P により生じる

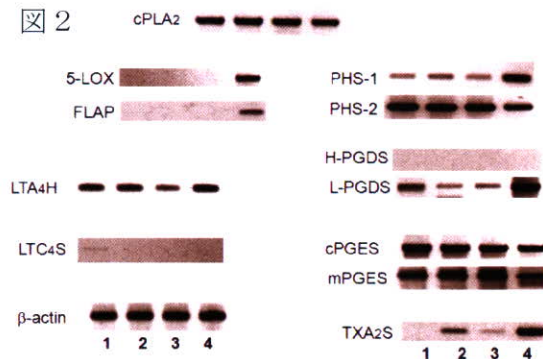
かゆみには LTB<sub>4</sub> が関与することが報告されているが、本検討の結果は TXA2 の関与も示唆するものである。

L-PGDS については TXA2S と逆の反応が認められた。PGD2 はかゆみに対し抑制的に作用することが報告されている。皮膚での抗原刺激により産生される IL-13 は PGDS 発現減少を通じ PGD2 産生を減少させ、結果としてかゆみが増強する可能性がある。

このように、かゆみの原因として、皮膚ケラチノサイトをソースとする leukotoriene, thromboxane, prostaglandin が関与している可能性があり、特にかゆみ誘引物質である LTB<sub>4</sub>, TXA2 とかゆみ抑制物質である PGD2 のバランスがかゆみが関与している可能性がある。

以上の結果は、これらをターゲットにするかゆみの治療の可能性を示唆するものと考えられる。

図 2



1: 無刺激, 2: IL-13 (50 ng/ml), 3: Substance P (1 μM), 4: PBMC

### 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 pp247-258, 2005

2. Nishi N, Hamasaki Y et al. Squamous cell carcinoma-related antigen in children with acute asthma. Ann Allergy Asthma Immunol 94: 391-397, 2005

3. Zaitso M, Hamasaki Y et al. Interleukin18 primes human basophilic KU812 cells for higher leukotriene synthesis. Prostaglandins

Leukotrienes Essential Fatty Acids  
2006;74(1):61-6

4. 蕁麻疹・接触性皮膚炎・アトピー性皮膚炎・気管支喘息. : 免疫学コア講義改訂2版 南山堂 東京 pp222-225 2007

2. 浜崎雄平 : 小児の食物アレルギー 今日の治療指針2008 医学書院 東京 (pp1027-1029)

(学会発表)

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

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)

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)

1. 西奈津子, 辻功介, 宮崎倫子, 人見知洋, 在津正文, 室英理子, 小林育子, 稲田成安, 山本修一, 市丸智浩, 浜崎雄平, : 皮膚におけるIL-4のCysLT1受容体発現に対する効果 第19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56: 346, 2007, (横浜) 6.10-6.12

2. 西奈津子、稲田由紀子、梁井啓輔、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 : 皮膚KeratinocyteにおけるINF-gammaのIL-4受容体発現に対する効果第57回日本アレルギー学会秋季学術大会 アレルギー56 : 1058 2007, (横浜) 11.1-11.3

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

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sprouting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。また、神経原性炎症が引き金となる炎症細胞浸潤がかゆみの増幅因子のひとつと考えられている。本年度、炎症側表皮内に侵入した感覚神経末梢枝の投射元ニューロンである三叉神経節ニューロンにおける細胞内伝達経路を明らかにすることを目的として逆行性トレーサーを用いた免疫組織学的な解析を行った。その結果、ピクリクロライド (PC) 処理したマウスの耳の皮膚に逆行性トレーサーであるフルオロゴールド (FG) を注入することにより標識された小型の三叉神経節ニューロンがサブスタンス P (SP) と p75 を発現していることを明らかにした。また炎症刺激により、FG 標識された小型の三叉神経節ニューロンにおいて p75 の発現が増強することを明らかにした。これらの結果は、炎症により発現増強した NGF が耳の表皮に投射している SP を含有する小型三叉神経節ニューロンの神経線維上に発現増強した p75 を介して作用していることを示唆するものである。以上の事実をふまえると、p75 は表皮内への知覚神経線維の侵入に重要な役割を担っているだけでなく、神経原性炎症を引き起こす誘引のひとつである SP の産生・放出においても、p75 が主要な役割を担っている可能性が考えられた。今後の課題は NGF-p75 結合以後のシグナル経路の解明と p75KO マウスはかゆみを受容しないのかを検討する目的での行動解析等が考えられる。

A. 研究目的

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は表皮の肥厚に伴い感覚神経末梢枝の表皮内 sprouting が著明であり、これが痒みの増強をきたす原因の一つと考えられている。しかしどのような機序で知覚神経末梢枝が増殖するのかは不明である。我々は現在までにアトピー性皮膚炎における組織変化を検討する目的で p75 に注目し研究を続けてきている。初年度はアトピー性皮膚炎モデルマウスを用いてピクリクロライド (PC) により皮膚炎を誘導した皮膚を用いた組織学的検討より、1) 肥厚した皮膚炎症部の表皮角化細胞において NGF, p75 trkA が発現増強する

事、2) 表皮内においてサブスタンス P (SP) 陽性または p75 陽性の知覚神経線維の侵入が認められる事。以上の二点を明らかにした。二年度目は p75KO マウス及びコントロールマウスを用いて PC により皮膚炎を誘導した皮膚を用いた組織学的検討より、PC を塗布したコントロールマウスでは 1) 表皮の肥厚、表皮内の NGF, p75, trkA の発現増強、及び SP 陽性または p75 陽性線維の表皮内 sprouting が認められる事。また PC を塗布した p75KO マウスでは 2) 表皮の肥厚及び、SP 陽性の表皮内知覚神経線維の侵入が抑制される事。以上の二点を明らかにした。

以上の結果は皮膚炎症時に表皮内に侵入する神経突

起は炎症時に誘導される NGF が神経線維上の p75 に作用することにより誘導されている可能性が示された。本年度は耳皮膚炎症時における表皮内神経線維の sprouting は三叉神経節小型 sensory neuron によるものなのかどうか？又そのニューロンは痒みを誘発する SP を含有しているのか？p75 の動態の変化も含めてこの問題について検討した。

## B. 研究方法

### 耳の皮膚に注射している三叉神経節ニューロンにおける p75 及び SP の動態変化の検討

実験動物として C57BL/6 マウスを用いる。C57BL/6 マウス腹部皮膚に PC (アセトン・オリーブオイルに溶解した 5%PC) を塗布し感作を行う。7 日後 1% PC を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 回の塗布を行った。最終塗布の 24 時間後に逆行性トレーサーである FG を耳表皮下にマイクロシリンジで 0.5ul 注入した。48 時間後に灌流固定を行い断頭後、脳を取り出し脳底下の三叉神経節を回収の後、組織学的検索に供与する。PC 非塗布群はアセトン・オリーブオイルのみを同様に塗布する。組織学的検討として三叉神経節における FG 陽性小型ニューロンにおける SP の発現増強の有無の検討 (免疫組織化学)、三叉神経節における FG 陽性小型ニューロンにおける p75 の発現増強の有無の検討 (免疫組織化学)、三叉神経節における FG 陽性小型ニューロンにおけるリン酸化 trkA の発現増強の有無の検討を行う。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

炎症側表皮内に侵入した感覚神経末梢枝の投射元ニューロンである三叉神経節ニューロンにおける細胞内伝達経路を明らかにすることを目的として逆行性トレーサーを用いた免疫組織学的な解析を行った。

FG と SP 抗体による二重染色の結果、PC 刺激していない群、および PC 反復刺激した群の三叉神経節ニューロンともに FG 陽性の三叉神経節小型ニューロンにおいて SP の発現を認めた。次に p75 の動態の変化を検討したところ、PC 刺激していない群、および PC 反復刺激した群の三叉神経節ニューロンともに FG 陽性の三叉神経節小型ニューロンにおいて p75 の発現を認めた。しかし、PC 反復投与による皮膚炎症群において、FG 陽性の三叉神経節小型ニューロンにおける p75 の発現が非炎症群と比較して増加する傾向が認められた。また、trkA のリン酸化特異抗体をもちいた免疫染色の結果、PC 刺激していない群、および PC 反復刺激した群の三叉神経節ニューロンともに FG 陽性の三叉神経節小型ニューロンにおいてリン酸化 trkA の発現は認められなかった。

## D. 考察、

我々はすでに、昨年度までの報告により、1) DNFB 反復塗布により表皮内に p75 陽性および SP 陽性知覚神経線維が侵入すること、2) p75KO マウスではその炎症刺激において表皮の肥厚および表皮内神経線維の伸長が抑制されること報告している。以上のことは p75 が表皮内の神経線維の伸長に重要な機能を担っている可能性を示唆するものである。本年度、我々は PC 処理したマウスの耳の皮膚に逆行性トレーサーである FG を注入することにより標識された小型の三叉神経節ニューロンが SP と p75 を発現していることを明らかにした。また炎症刺激により、FG 標識された小型の三叉神経節ニューロンにおいて p75 の発現が増強することを明らかにした。これらの結果は、炎症により発現増強した NGF が耳の表皮に注射している SP を含有する小型三叉神経節ニューロンの神経線維上に発現増強した p75 を介して作用していることを示唆するものである。最近になって、感覚ニューロン (DRG) において NGF を介した SP の発現増強が p75 及び TrkA を介して制御されていることが報告されている。我々の炎症モデルマウスにおいても、肥厚した炎症表皮ケラチノサイトにおいて NGF が発現増強することを明らかにしている。以上のことより DNFB 反復塗布により刺激されたケラチノサイトから遊離された NGF もまた SP 陽性の知覚神経終末の p75 受容体を介して SP の発現を促進している可能性が考えられる。

SP 自身はヒスタミンなどの起痒物質により知覚神経に活動電位が生じると、逆行性に生じる軸索反射によって神経末端より遊離されることがすでに明らかになっている。遊離した SP は毛細血管の透過性の亢進や拡張、及びマスト細胞の脱顆粒を引き起こすことが報告されており、ニューロキニン受容体を介して様々な細胞に作用して神経原生炎症を惹起し、その結果、誘引される炎症細胞浸潤がかゆみの増強をきたす原因のひとつと考えられている。

以上の事実をふまえると、p75 は表皮内への知覚神経線維の侵入に重要な役割を担っているだけでなく、神経原生炎症を引き起こす誘引のひとつであるサブタンク P の産生・放出においてもまた、p75 が主要な役割を担っている可能性が考えられた。今後、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すなわち痒みを制御する戦略において NGF-p75 結合以後のシグナル経路を解明していくことが重要なキーとなると考えられる。

## E. 結論

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。また、神経原生炎症が引き金となる炎症細胞浸潤がかゆみの増幅因子のひとつと考えられている。我々はすでに

に、昨年度までの報告により、1) DNFB 反復塗布により表皮内に p75 陽性および SP 陽性知覚神経線維が侵入すること、2) p75KO マウスではその炎症刺激において表皮の肥厚および表皮内神経線維の伸長が抑制されること報告してきた。以上のことは p75 が表皮内の神経線維の伸長に重要な機能を担っている可能性を示唆するものである。本年度、我々は PC 処理したマウスの耳の皮膚に逆行性トレーサーである FG を注入することにより標識された小型の三叉神経節ニューロンが SP と p75 を発現していることを明らかにした。また炎症刺激により、FG 標識された小型の三叉神経節ニューロンにおいて p75 の発現が増強することを明らかにした。これらの結果は、炎症により発現増強した NGF が耳の表皮に投射している SP を含有する小型三叉神経節ニューロンの神経線維上に発現増強した p75 を介して作用していることを示唆するものである。以上の事実をふまえると、p75 は表皮内への知覚神経線維の侵入に重要な役割を担っているだけでなく、神経原性炎症を引き起こす誘引のひとつである SP の産生・放出においてもまた、p75 が主要な役割を担っている可能性が考えられた。今後の課題は NGF-p75 結合以後のシグナル経路の解明と p75KO 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。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Taniguchi M., Matsuzaki S., Tohyama M. P75 plays a key role in the induction of the sprouting of sensory nerve fibers in inflamed skin. *J Invest Dermatol.*, 127(2007) 2062-5.

### 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 112 回 日本解剖学会総会 大阪 ポスター発表 平成 19 年 3 月 28 日 (水)

松崎伸介 谷口 学 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 29 回 疼痛学会 東京 ポスター発表 平成 19 年 7 月 7 日 (土)



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

動物モデルを用いた痒みの基礎的解析

分担研究者 稲垣 直樹 岐阜薬科大学 機能分子学大講座 薬理学研究室 教授  
研究協力者 永井 博弐 岐阜薬科大学 学長  
田中 宏幸 岐阜薬科大学 機能分子学大講座 薬理学教室 准教授

histamine H<sub>1</sub> 受容体欠損 (H<sub>1</sub>R-KO) マウス頸背部皮膚への dinitrofluorobenzene (DNFB) 反復塗布、あるいは histamine および compound 48/80 の注射によって誘発される搔破行動に關与する histamine 受容体について解析した。DNFB 反復塗布によって誘発される搔破行動の頻度は H<sub>1</sub>R-KO マウスと野生型マウスとの間で差異はなく、histamine および compound 48/80 によって誘発される搔破行動は H<sub>1</sub>R-KO マウスでわずかに減少した。また、H<sub>1</sub>R-KO マウスに histamine を注射して誘発される搔破行動は histamine H<sub>4</sub> 受容体遮断薬によって抑制された。したがって、重要な搔痒誘発物質である histamine は H<sub>1</sub> 受容体に加え、H<sub>4</sub> 受容体を介しても搔痒を誘発するものと推定される。

tacrolimus (FK506) と同様にカルシニューリンを阻害する cyclosporine A (CyA) の DNFB 反復塗布によるマウス耳殻腫脹および搔破行動に及ぼす影響を検討した。CyA の経口投与は FK506 と同様に、10 日間の連日投与、直前の単回投与のいずれによっても搔破行動を強く抑制した。また、CyA は直前の単回投与によって誘発 6 時間後の耳殻腫脹を強く抑制した。さらに CyA および FK506 は、神経線維の退縮に關わる semaphorin 3A (sema3A) の炎症部位表皮における発現を増強した。両薬物がマウス搔破行動を強く抑制することから、共通の機序が關わっている可能性が示唆される。また、FK506 は表皮内への神経線維の侵入を抑制するが、これに sema3A 発現の増強が關与する可能性が推定される。さらに、sema3A 発現を増強する CyA にも表皮内への神経線維侵入を抑制する効果が期待できるものと推定される。

#### A. 研究目的

搔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は皮膚症状を増悪し、患者 QOL を著しく損なうのみならず、特徴的な皮膚病変の形成に關わる。したがって、搔痒および誘発される搔破行動を制御することはアトピー性皮膚炎治療において極めて重要である。これまでに、アトピー性皮膚炎の病態の特徴を反映する、高頻度の搔破行動を伴うマウス皮膚炎モデルを確立し、tacrolimus (FK506) が搔破行動を抑制し、表皮内神経線維および神経成長因子 (NGF) 量を減少させること、真皮 substance P を枯渇させることを明らかにした。また、内因性 opioid および低親和性 NGF 受容体の搔破行動発現における役割を検討した。本年度は、histamine H<sub>1</sub> 受容体欠損 (H<sub>1</sub>R-KO) マウスを用い、histamine 誘発搔破行動に關与する H<sub>1</sub> 受容体以外の受容体について解析し、また、FK506 類似の薬理作用を有する cyclosporine A (CyA) の搔破行動に及ぼす影響を検討した。

#### B. 研究方法

頸背部皮膚炎は腹部皮膚に 2,4-dinitrofluorobenzene (DNFB) を塗布して感作したマウスの頸背部に DNFB を週 2 回、計 9 回塗布して (図 1)、また、耳殻皮膚炎は DNP 化ブタ回虫抽出物で免疫したマウスの耳殻に DNFB を隔日に 5 回塗布し、2 週間後に再度 DNFB を塗布して (図 2) 誘発した。受身皮膚アナフィラキシー (PCA) はマウス頸背部皮膚に抗 DNP IgE を注射して感作し、DNP-BSA を静脈内注射して誘発した。compound 48/80 および histamine はマウス頸背部皮内に注射した。誘発される搔破行動は自動計測装置 MicroAct を用いて評価した。耳殻に皮膚炎を誘発する場合には、耳殻の厚さを測定して腫脹を評価した。また、semaphorin 3A (sema3A) の局在は免疫染色によって観察した。

(倫理面への配慮)



動物実験は指針にしたがって計画し、大学内の動物実験委員会へ計画書を提出して承認を受け、実施した。

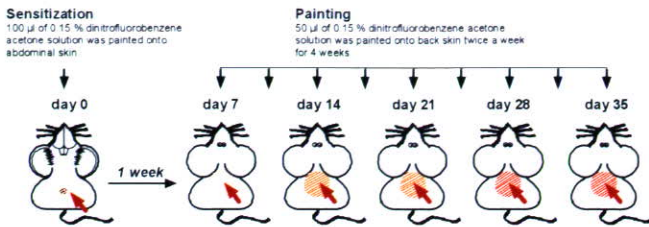


図 1 DNFB 反復塗布によるマウス頸背部皮膚炎の誘発

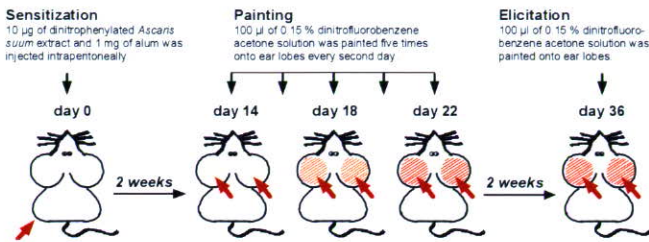


図 2 DNFB 反復塗布によるマウス耳殻皮膚炎の誘発

### C. 研究結果

DNFB を頸背部に反復塗布して誘発した皮膚炎 (図 1) に伴う搔破行動には、H1R-KO マウス、対照の野生型マウス間で差異を認めなかったが、compound 48/80 注射による搔破行動は H1R-KO マウスでわずかに減少した。また、histamine 注射によって誘発される搔破行動も、対照マウスに比し、H1R-KO マウスではわずかに減少するに過ぎず、血管透過性亢進はほとんど生じなかった (図 3)。一方、H1R-KO マウスに histamine を皮内注射して誘発する搔破行動は、dimaprit (H2 agonist)、imetit (H3 agonist) および famotidine (H2 antagonist) によって影響を受けなかったが、clobenpropit (H3 antagonist、H4 agonist) によって増加し、thioperamide (H3 antagonist、H4 antagonist) によって減少した (図 4)。

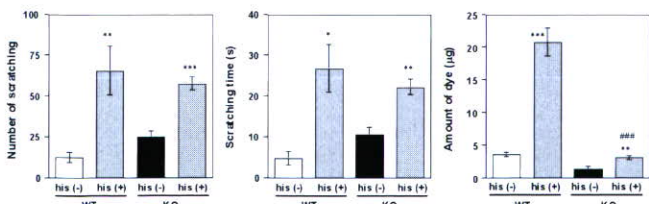


図 3 H1R-KO および野生型 (WT) マウスにおける histamine 誘発搔破行動および血管透過性亢進  
\*p<0.05、\*\*p<0.01、\*\*\*p<0.001、###p<0.001

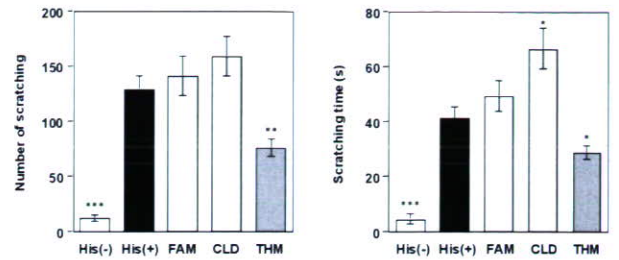


図 4 histamine で誘発する H1R-KO マウスの搔破行動に及ぼす histamine 拮抗薬の影響  
FAM: famotidine、CLO: clobenpropit、THM: thioperamide、\*p<0.05、\*\*p<0.01、\*\*\*p<0.001

DNFB をマウス耳殻に反復塗布して皮膚炎を誘発し (図 2)、出現する搔破行動に及ぼす CyA 経口投与の影響を検討した。30 mg/kg の CyA を最終の DNFB 塗布の 12 時間から 1 時間前に投与した場合には、いずれの投与時期によっても強い搔破行動の抑制が認められ、最大の抑制は 4 時間前投与の場合に見られた (図 5)。誘発 6 時間後の耳殻腫脹は 1 時間前の投与によって最も強く抑制され、2 時間前の投与によっても有意な抑制が認められたが、誘発 24 時間後の腫脹には明らかな抑制は見られなかった。1・100 mg/kg の CyA を最終の DNFB 塗布の 1 時間前に投与した場合には、10・100 mg/kg の用量において搔破行動の抑制が認められ、30 mg/kg では抑制は有意であった。6 時間後の耳殻腫脹は 30 および 100 mg/kg の用量で有意に抑制されたが、24 時間後の腫脹には明らかな抑制は見られなかった。また、誘発前の 10 日間連日 30 mg/kg の CyA を経口投与した場合には、耳殻腫脹には抑制は認められなかったが、搔破行動は強く抑制された。CyA の 10 および 30 mg/kg を誘発 1 時間前に経口投与して PCA による搔破行動および血管透過性亢進に及ぼす影響を検討した。10 mg/kg の CyA は搔破行動および血管透過性亢進には抑制の傾向を示すに過ぎなかったが、30 mg/kg ではいずれも強く抑制した (図 6)。

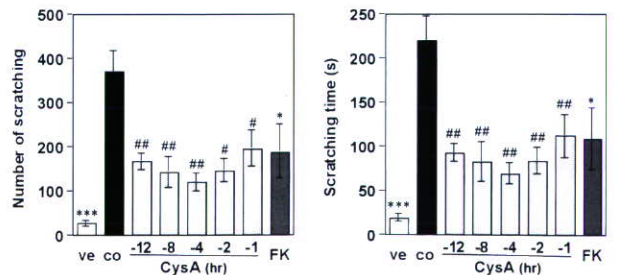


図 5 cyclosporin A (CyA) および FK506 (FK) の DNFB による搔破行動発現に及ぼす影響  
CyA は 30 mg/kg を誘発 12 時間から 1 時間前に経口投与した。FK506 は 0.1% 溶液を 1 時間前に塗布した。  
\*p<0.05、\*\*\*p<0.001、#p<0.05、##p<0.01



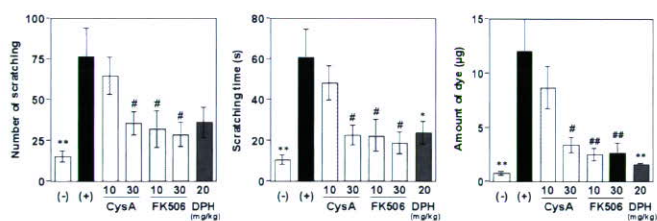


図 6 PCA による搔破行動および血管透過性亢進に及ぼす cyclosporine A (CyA)、FK506 および diphenhydramine (DPH) の影響  
薬物は反応誘発 1 時間前に経口投与した。\* $p < 0.05$ 、\*\* $p < 0.01$ 、# $p < 0.05$ 、## $p < 0.01$

マウス耳殻への最終の DNFB 塗布時における sema3A の表皮における局在は、対照マウスではわずかであったが、FK506 および CyA を 10 日間連日投与したマウスでは増大する傾向が認められた (図 7)。

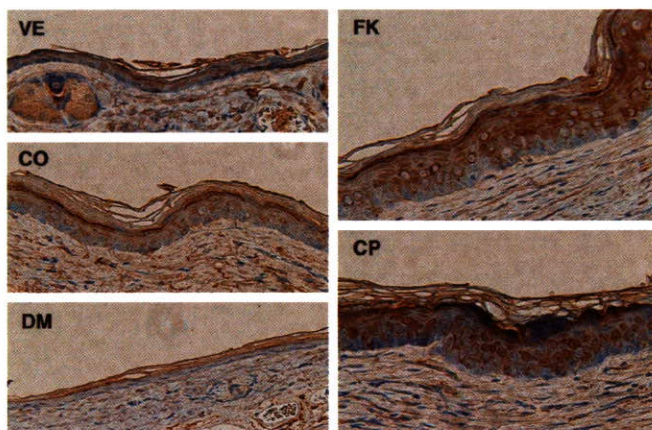


図 7 表皮 semaphorin 3A 発現に及ぼす cyclosporine A (CP)、FK506 (FK) および dexamethasone (DM) の影響  
VE: vehicle、CO: control

#### D. 考察

今回の検討条件下では、DNFB 塗布によって誘発される搔破行動には H<sub>1</sub> 受容体はほとんど関与せず、また、compound 48/80 および histamine によって誘発される搔破行動においても主要な役割を演じないものと考えられるが、histamine によって高頻度の搔破行動を発現しない系統のマウスを使用している点も考慮する必要があると思われる。今回の H<sub>1</sub>R-KO マウスの成績から、histamine は搔痒誘発物質として重要であるが、H<sub>1</sub> 受容体に加え、H<sub>4</sub> 受容体も搔痒誘発に関与するものと推定される。

CyA は FK506 と同様に、直前の単回投与によっても搔破行動を強く抑制することから、両薬物が共通の機序を介して搔破行動抑制する可能性を示唆する。神経線維の退縮を促す sema3A の発現は CyA

および FK506 によって増強された。FK506 は表皮内への神経線維の侵入を抑制するが、表皮の神経成長因子の産生抑制とともに、sema3A 発現の増強が関与する可能性を推定する。さらに、sema3A 発現を増強する CyA にも、表皮内への神経線維侵入を抑制する効果および神経成長因子の産生抑制が期待できるものと推定される

#### E. 結論

histamine は搔痒誘発物質として重要であるが、H<sub>1</sub> 受容体のみならず、H<sub>4</sub> 受容体を介しても搔痒を誘発するものと推定される。CyA は FK506 と同様にマウスの搔破行動を抑制することから、搔痒抑制薬として有用であると思われる。CyA および FK506 の sema3A 発現促進効果は神経線維の慎重抑制を介して搔痒抑制に寄与する可能性を有する。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

1. 稲垣直樹. タクロリムスのマウス搔破行動抑制作用機序の解析. 日本薬学会 第 127 年会, シンポジウム. 2007 年 3 月 28 日 (富山).
2. 稲垣直樹. タクロリムスのマウス搔破行動抑制作用機序の解析. 第 106 回 日本皮膚科学会総会, ランチョンセミナー. 2007 年 4 月 21 日 (横浜).
3. 山下弘高, 他. マウス搔破行動における内因性 opioid の役割. 第 17 回 国際痒みシンポジウム. 2007 年 9 月 15 日 (大阪).
4. 浅井秀星, 他. マウス搔破行動における histamine 受容体の役割. 第 57 回 日本アレルギー学会 秋季学術大会. 2007 年 11 月 2 日 (横浜).
5. 稲垣直樹. アトピー性皮膚炎の痒み- 動物モデルでの検討. 第 44 回 日本小児アレルギー学会, シンポジウム. 2007 年 12 月 8 日 (名古屋).

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

#### 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

## 痒みの臨床的評価と制御

分担研究者 佐々木りか子  
共同研究者 幸田 太、野崎 誠、中村 恭子  
国立成育医療センター第二専門診療部皮膚科

### 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。現在までの結果では、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ているが臨床的重症度と相関関係を示す傾向がみられるかどうかについてまでは、期間が不十分であり結論が出ていない。しかしながら、搔爬行動を量的に捉えることができるので、小児患者のかゆみを客観的に評価するには適した方法であると考えられる。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。最後に、搔痒感を増強させる合併症であるところの伝染性軟属腫の治療について臨床的な試験と検討を加えた。

### A. 研究目的

1. 小児のアトピー性皮膚炎患者を対象として、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、自己表現能力に乏しいために、より評価が難しい。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、客観的な評価を下すことは重要である。

2. また、痒みは、患者とその家族にとり、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、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、患者間の情報交換に役立て、QOL の向上を図る。

3. また、近年、小児のウイルス性皮膚感染症の中で最も頻度の高い疾患に伝染性軟属腫があり、とくにアトピー性皮膚炎の患者に合併しやすいとされる。さらに伝染性軟属腫には軽度の搔痒感を伴うため、患者がこれを搔破することで、しばしば基礎にあるアトピー性皮膚炎の症状の悪化も招くことがある。し

かし、原因となる軟属腫ウイルスに対する抗ウイルス薬は発明されていない。今回、これに対する試薬を用いた治療を行い効果のみ、アトピー性皮膚炎の痒みの制御に役立てたい。

### B. 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VASスケールによる自己評価との相関性を探る。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。

3. 満15歳以下の伝染性軟属腫患者20名に対してケミカルピーリング用に自家調整した10%グリコール酸製剤を外来で塗布し、2週間毎に外来で経過を観察し、4～8週間の後に効果、安全性、および副作用について判定する。

## C. 結果

### 1. 痒みの臨床的評価について

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歳の児は掻爬回数と自己評価に相関性がみられた。しかし、7歳の児は相関性が明確にならなかった。

### 2. 痒みの制御について

220名の保護者および7～17歳の患者24名に対して、痒みを感じやすいときとそのときの対処法についてアンケート調査を行った。その結果では、保護者は、眠いときや風呂上がりなどにかゆがると回答し、患者はつまらないときという心因をあげていることがわかった。また対処法は塗り薬をぬる、冷やす、さするなどが上位の回答であった。

### 3. 10%グリコール酸溶液による伝染性軟属腫の治療

国立成育医療センター皮膚科外来を受診した0歳以上～15歳未満の、伝染性軟属腫の症例20例を対象に8週間にわたって効果を検討した結果、半数以上が有効～治癒した。副作用として軽度の接触皮膚炎が高率にみられたが、短期間の概要療法で治癒したため、安全性は高いと考えられた。

(日本小児皮膚科学会雑誌に投稿予定である)

## D. 考察ならびに結論

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。これらの点を総合的に考えると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られる。アンケート結果から得られたことは、今後最も研究されるべきことは、痒みを制御するには、小児の心因をさらに重要視するべきであるということであった。その他の一般的に自宅で行われている対処の知

恵について、ホームページで発信することは有意義であると考えられた。伝染性軟属腫の治療として、ケミカルピーリング用製剤を用いることは、小児に疼痛を与えない治療として注目されているが、今回の小児を対象とした臨床試験においては有用な治療法であることが実証された。