

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

「アトピー性皮膚炎の症状の制御および治療法の普及に関する研究」  
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 千葉県こども病院診療部長  
細谷律子 細谷皮膚科院長  
坂本なほ子 国立成育医療センター研究所成育社会医学研究部成育疫学研究室長  
成田雅美 国立成育医療センター第一専門診療部アレルギー科医員  
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

Riazi Afsane Lecturer Department of Psychology, Royal Holloway, University of London

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、本研究の平成17年度と平成18年度に収集したデータの解析を行い成人版(16歳以上に適応)は9項目から成る尺度JADQOLを作成した。小児版は別の手法により解析中である。JADQOLは4因子9項目からなるQOL質問票で、高い内的信頼性と因子妥当性を示した。その他の信頼性および妥当性については平成19年度にリクルートした別集団にてデータを収集し標準化を試みている。国外で開発された皮膚疾患特異的QOL尺度であるDLQIおよびSKINDEX16との比較では、JADQOLが網羅する4因子(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)のうち、DLQIは第1因子と第3因子および第2因子の一部をカバーし、SKINDEX16は第1因子と第3因子および第4因子の一部をカバーしていることが判明した。JADQOLは最も少ない質問項目でより広範囲のアトピー性皮膚炎患者のQOL因子を網羅する尺度である。

A. 研究目的

成人および学童期後半からのアトピー性皮膚炎は自然治癒することが少なく、痒みやそれに伴う睡眠障害などにより、学業や仕事など日常生活に支障を来す患者も多く、Quality of Life(QOL)の障害が問題となる疾患である。これまで、アトピー性皮膚炎患者に特異的なQOL尺度は我が国に存在せず、我が国の患者のQOLを鋭敏に反映する尺度の開発が望まれている。我々は平成17年度から厚生労働科学研究(免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業)「アトピー性皮膚炎の症状の制御および治療法の普及に関する研究」の分担研究として「アトピー性皮膚炎患者のQOL尺度の開発に関する研究」を行っており、今回の研究はその3年目に当たる。これまでの研究で、我々はアトピー性皮膚炎患者から面接調査および無記名自記式質問調査によりQOLの質問項目を抽出し、無記名選択式調査票を作成し調査を行った。そこで得られたデータをもとにして、不相当項目の削除、項目分析、因子分析、重要分析等の統計心理学的プロセスを経て、「日本人アトピー性皮膚炎患

者疾患特異的QOL評価尺度」を作成し、本年度はその尺度の信頼性と妥当性を検証しQOL尺度の標準化に向けての作業に着手することになった。

B. 研究方法

1. 一次調査および二次調査

これは平成17年度および平成18年度報告書を参照されたい。

3. 解析と3次調査

2次調査の回答数は小児用222名、成人用195名で、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、4回の因子分析を行って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項目からなる質問票を作成した。これを用いて次に示した妥当性研究に着手した。

研究対象：国立成育医療センター、アレルギー科または研究協力者所属施設の外来に通院または入

院している患者で、以下の選択基準に該当し、かつ除外基準に抵触しない患者を継続的に調査対象者とする。

選択基準 ①16歳以上のアトピー性皮膚炎患者で、初診患者もしくは悪化時受診の患者（入院を含む）  
②3ヶ月間以上当該施設にて継続的に通院加療を受ける予定の者  
③本研究への参加の同意が得られた者（ただし対象者が未成年の場合には保護者の同意も得られている者）

除外基準 ①対象者が皮膚疾患以外に、QOLに関わる重大な疾患を有している場合  
②対象者（対象者が未成年の場合には保護者も含む）が重大な心理的問題を持つ、あるいは心理療法を受けている場合  
③対象者（対象者が未成年の場合には保護者も含む）が日本語によるコミュニケーションに支障がある場合  
④医師が本調査の実施が不適切と判断した場合  
インフォームドコンセント：研究者は、対象者（対象者が未成年の場合には保護者も含む）が本調査に参加する前に研究の内容について説明文書を用いて説明し、内容を理解したことを確認した上で同意を得る。

被検者数の設定：本研究において実施する解析の中で、最もサンプル数を必要とするのは基準関連妥当性の検討と考えられる。下記の根拠により数学的には80名が最低必要と計算されるが、多めに見積もり全体で100名とする。研究協力者間で人数を調整の上、合計人数が目標に達したところで、エントリーを中止する。【サンプル設定根拠】基準関連妥当性の検討のために、JADQOLとSF-36、DLQIおよびSCORADとの相関関係を検討する。そのために必要なサンプル数は、仮に $r=0.3$ （弱い相関関係）と低く見積もった場合、有意水準 $\alpha=0.05$ 、両側検定、 $power=0.8$ とすると80となる。相関関係が強ければこれ以下となる。本計算には統計ソフト sample power 2.0を使用した。なお、ウィルコクソン符号付順位検定を有意水準 $\alpha=0.05$ で行うには、6名以上のサンプル数が必要である。

研究期間：2007年8月～2008年3月

評価測定

1) JADQOLと比較するQOL評価尺度としては、日本語版での信頼性・妥当性がすでに検証されている以下のものを使用する。（別紙3参照）

DLQI 日本語版：英国で開発された皮膚疾患特異的QOL尺度

SF-36 日本語版第二版アキュート版：健康状態全体に対するQOL尺度

2) また質問票の反応性を検証するための症状評価としては、アトピー性皮膚炎の症状評価尺度として広く用いられているSCORADを使用し、診察時に医師によるアトピー性皮膚炎の症状評価(SCORAD)を行う。

手順

16歳以上のアトピー性皮膚炎患者本人（対象者が未成年の場合には保護者も含む）に、初診時もしくは症状悪化時の再診時に調査の説明を行い、同意を取得する。診察時に、JADQOL、DLQI、SF-36日本語版第二版アキュート版による調査の説明を行う。診察時に、医師によるSCORADの採点を行い、調査票に記入する。診察終了後、医師が患者に質問票・謝礼とSCORADを記入した調査票を入れた封筒及び返信用封筒入りのJADQOLをわたし、調査参加への同意があれば質問票に回答後に回収箱に提出し、同意しない場合は白紙で回収箱に提出するよう依頼する。また参加同意が得られた場合、2回目のJADQOLは帰宅後速やかに記入し郵送にて返信するよう依頼する。説明の現場で患者から拒否の申し出があれば、質問票は配布しない。質問票に記入して提出してあれば、患者から調査参加への同意があったとみなす。次の受診時にJADQOLへの記入を再度依頼する。医師によるSCORADの採点を行い、JADQOLへ記入する。診察終了後、質問票を回収する。

解析

信頼性の検討

再現性：Test-retest法を用い、初回診察時と帰宅時のデータについての相関関係を検討する。 $\kappa$ 値を算出する。

妥当性の検討

基準関連妥当性：JADQOLとSF-36、DLQIおよびSCORADとの相関関係を検討する。相関係数 $r$ を算出する。

反応性：初回受診時および次回受診時のSCORADの変化とJADQOLの変化の連動性を検討する。SCORADにより2群を設定し、2群間のJADQOLの変化をJADQOLの正規性は担保されていないのでウィルコクソン符号付順位検定する。

（倫理面への配慮）

本研究に際してはヘルシンキ宣言を遵守する。また調査実施に先立ち、倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果

今回の研究で開発したJADQOLは4択式回答（ものすごく、かなり、すこし、まったくない）で下記の9つの質問項目から成っている。

1. あなたはこの1週間、お肌のせいで、やる気がおきないことがありましたか？
2. あなたはこの1週間、お肌のせいで夜眠れないために普段の生活（仕事・学業、余暇活動など）に影響がありましたか？
3. あなたはこの1週間、お肌のせいで掃除や寝具の手入れや洗濯が大変でしたか？
4. あなたはこの1週間、お肌に薬を塗ることが大変

でしたか？

5. あなたはこの1週間、お肌に薬を塗ることが嫌でしたか？
6. あなたはこの1週間、お肌が痒くて困りましたか？
7. あなたはこの1週間、お肌を搔かすにはいられなくて困ったことはありませんでしたか？
8. あなたはこの1週間、お肌が将来、治るかどうか心配になりましたか？
9. あなたはこの1週間、お肌がまたかゆくなったり症状が悪くなったりするのではないかと心配になりましたか？

最尤法プロマックス回転による因子分析で検出された各項目の因子負荷量は①が 0.819、②が 0.629、③が 0.585、④が 0.903、⑤が 0.742、⑥が 0.916、⑦が 0.623、⑧が 0.848、⑨が 0.830 であった。主因子法プロマックス回転の場合は①が 0.819、②が 0.629、③が 0.585、④が 0.903、⑤が 0.742、⑥が 0.916、⑦が 0.623、⑧が 0.848、⑨が 0.730 といずれも高い値を示した。①から③は因子1（生活活動への影響）を構成し、④と⑤は因子2（服薬治療の負担）、⑥と⑦は因子3（痒みによる障害）、⑧と⑨は因子4（将来への不安）を構成しており、各因子の内的整合性 $\alpha$ は因子1が 0.772、因子2が 0.843、因子3が 0.865、因子4が 0.789 と高い内的信頼性を有していた。今回開発した JADQOL と国外で開発された皮膚疾患特異的 QOL 尺度である DLQI および SKINDEX16 の質問項目を構成概念となる因子構造の比較を行ったところ下記のような特徴が判明した。

因子	JADQOL	DLQI	SKINDEX16	
生活活動への影響	Q1	Q3	Q12	
	Q2	Q4	Q13	
	Q3	Q5	Q14	
		Q6	Q15	
		Q7	Q16	
		Q8		
		Q9		
		Q10		
	服薬治療の負担	Q4	Q10	
		Q5		
痒みによる心理的障害	Q6	Q1	Q1	
	Q7	Q2	Q2	
			Q3	
			Q4	
			Q6	
			Q7	
将来への不安	Q8		Q8	
	Q9		Q9	
			Q10	

JADQOL 小児版に関しては、二項分布をする質問項目がきわめて少なく項目分析を行うと約8割の項目が天井効果または床効果を示したため、因子分析を行うことの妥当性が得られず、項目応答理論による Rasch モデルを用いた解析を行うこととした。

#### D. 考察

今回開発を行ったアトピー性皮膚炎疾患特異的 QOL 尺度は9項目という少ない質問で4つの因子を網羅する特徴を備えている。国外で開発された同種の QOL 尺度に含まれた日本人には不適切と思われる質問項目は作成過程で意図的に省くことなく自然消滅もしくは一次調査の段階から検出されなかった。9項目の質問内容が網羅する概念は現在の日本のアトピー性皮膚炎患者が直面している QOL 障害の主要部分を適切に検知しうるとと思われる。日本語版が出版されている DLQI と SKINDEX16 は、前者が皮膚疾患による生活活動への影響の側面を主として検知する性能に特徴があり、SKINDEX16 は痒みによる心理的障害を重点的に検知する特徴がある。今回我々が開発した尺度はわずか9つの質問項目で両因子をカバーし、DLQI と SKINDEX16 がほとんどカバーしていない服薬治療の負担や将来への不安などアトピー性皮膚炎患者の QOL 障害に重要と思われる項目を網羅している。また、DLQI が開発段階で省略した因子的妥当性に関しても計量心理学的プロセスを得て作成したため、高い内的整合性を有している。

#### E. 結論

本研究で開発した QOL 尺度は、現時点では日本の医療現場におけるアトピー性皮膚炎患者の包括的な QOL 測定に最も適した尺度であると思われる。

#### F. 健康危険情報 なし

#### G. 研究発表

(学会発表)

1. 大矢幸弘、窪田泰夫、星岡明、細谷律子、坂本なほ子、小嶋なみ子、宮崎晃子、成田雅美 日本におけるアトピー性皮膚炎疾患特異的 QOL 評価尺度の開発 第57回日本アレルギー学会秋季学術大会 2007.11.1 横浜

2. Yukihiro Ohya, Yasuo Kubota, Akira Hoshioka, Ritsuko Hosoya, Nahoko Sakamoto, Masami Narita, Akiko Miyazaki, Namiko Kojima Impact of atopic dermatitis on the quality of life in Japanese patients. World Allergy Congress 2007.12.5. Bangkok, Thailand.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
出願予定

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

アトピー性皮膚炎の症状の制御および治療法の普及に関する研究に関する研究  
抗ヒスタミン薬の有効性に関する臨床研究  
かゆみに関する広がり、程度、日常生活における支障

分担研究者 中村晃一郎（埼玉医科大学皮膚科教授）

研究要旨

アトピー性皮膚炎(AD)は強い痒みを生じる慢性再発性皮膚炎であり、そう痒のコントロールが治療において重要である。抗ヒスタミン薬の有効性を検討するためにAD患者に対して1週間内服薬を服用した後、掻痒の強さの程度、広がり、時間の変化、日常生活の変化について10段階評価を用いて解析した。その結果、そう痒の強さの程度、そう痒を感じる時間、仕事・勉強などの日常生活の妨げなどに関していずれも減少傾向を示した。また、1年間の内服薬、外用薬の使用量を検討した結果、抗ヒスタミン内服量は、重症群、中等症の症例で多く、内服群で軽症群の皮膚症状の改善が顕著に認められた。抗ヒスタミン薬内服によって短期的、長期的にそう痒、日常生活の支障に対して改善がもたらされることが認められた。

研究協力者 橋本学 埼玉医科大学皮膚科助教  
町野哲 埼玉医科大学皮膚科助教

A. 研究目的

目的：アトピー性皮膚炎(AD)は喘息、アレルギー性鼻炎とともにアレルギー性疾患であり増加傾向を示している。ADの治療は、皮膚の炎症に対する薬物療法、原因・悪化因子の除去、保湿薬を中心としたスキンケアにより行われる。ADでは強いそう痒を伴い、掻痒のコントロールが皮膚炎の改善に有効である。これまで、炎症局所から産生されるケモカインやサイトカインなどの免疫担当細胞由来の因子が皮膚炎の増悪に関与し、抗ヒスタミン薬で改善されることを報告されている。しかし抗ヒスタミン薬服用によってどのような因子が改善できるか、またその使用と重症度の改善との関連は明らかではない。そこで抗ヒスタミン薬の服用前後における、痒みや日常生活の変化について検討した。

B. 研究方法

AD患者に対して、抗ヒスタミン薬を1週間処方し、その治療前後における、掻痒の強さの程度、広がり、時間の変化、日常生活の変化、について10段階評価を用いて検討を行った。ステロイド外用薬は必要のある場合には同じランクのものを継続使用とした。またAD患者で標準治療を受けている患者において、季節ごとの抗ヒスタミン薬の使用量をretrospectiveに解析した。

C 結果：AD患者25名（男11、女14、年齢21歳～43歳）に対して抗ヒスタミン薬を1週間内服しその前後

での症状の変化を10段階評価で検討した。痒みの強さに関してはVASスコアを用いて比較した。その結果、1週間による抗ヒスタミン薬の内服によって、そう痒の強さの程度は、平均して5.7から4.4に、そう痒を感じる時間は3.9より3.4に、仕事、勉強などの日常生活の妨げは4.5から4.2に変化した。昼間のかゆみは4.1から3.7に、夜間のかゆみは6.2から5.0に改善した。そう痒の広がりには4.3から4.1に変化した。さらにADと診断され、2006年1月より2007年7月までに当科外来を受診したAD患者87名について抗ヒスタミン薬の使用量についてretrospectiveに検討を加えた。治療期間内に使用した抗ヒスタミン薬の内服量について、重症度別、季節別（1年を3ヶ月毎4期に分けて）に検討した。ADの重症度は、日本皮膚科学会アトピー性皮膚炎診断基準（2004年改訂版）に準じた。1年間の内服量（錠数）に関しては、重症群で、中等症、軽症、軽微と比較して多く、軽微群では、軽症、中等症と比較して少量であった。季節毎の内服量は、重症群で105錠～147錠/3ヶ月、中等症で96錠～122錠/3ヶ月であった。抗ヒスタミン薬を内服し、一年後に明らかに皮膚症状・掻痒が改善した症例の割合は、重症群41.7%、中等症69.2%、軽症80.0%、軽微群100%であった。

D 考察：抗ヒスタミン薬1週間内服によってそう痒の強さ、夜間の痒みの強さ、持続時間が有意に改善することが明らかとなった。ただしそう痒の範囲、昼間のかゆみの変化については、改善傾向が認められる例も複数存在したが、有意差は認められなかった。以上より、抗ヒスタミン薬の有効性が確認されたが、今後さらに大規模、詳細な調査が必要であると考えられた。また使用量調査では中等症以下の群で治療によって痒みの

コントロールが有効に行われていること、重症群では標準治療より多くの抗ヒスタミンが必要であることが示された。

E 結論：抗ヒスタミン薬の有効性については、とくに掻痒の程度、時間、夜間のかゆみについて、有意に改善することが示された。また抗ヒスタミン薬を含めた薬物療法の1年間の継続によって中等症以下のADで、症状、掻痒が改善している現状が把握でき、抗ヒスタミン薬が中等症以下のADで有効であることが明らかにされた。重症群ではこれらの既存治療のみではコントロールできない群も存在していることが明らかとなり、さらに有効な投与方法プログラムなどの検討が必要であると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 中村晃一郎。救急医療、即時型アレルギーへの対処。即時型アレルギーによる皮膚疾患。日本皮膚科学会雑誌、117(4)、548、2007。
- 2) 中村晃一郎。アトピー性皮膚炎における薬物療法はどこまで可能か？抗ヒスタミン内服療法について。アレルギー、56(3-4)、305、2007。

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

図1. 抗ヒスタミン薬1週間内服におけるそう痒の変化

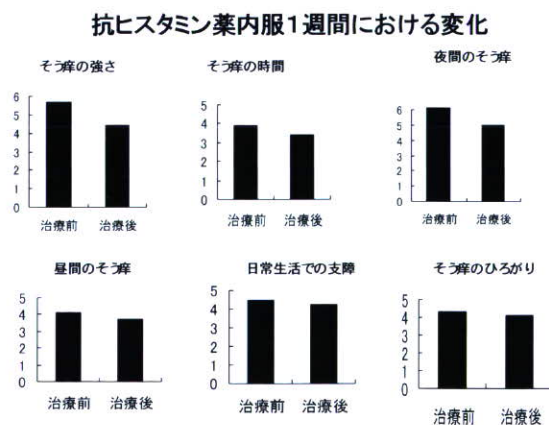


図2. 抗ヒスタミン薬を使用し皮膚症状の改善した割合 (解析症例 87名)

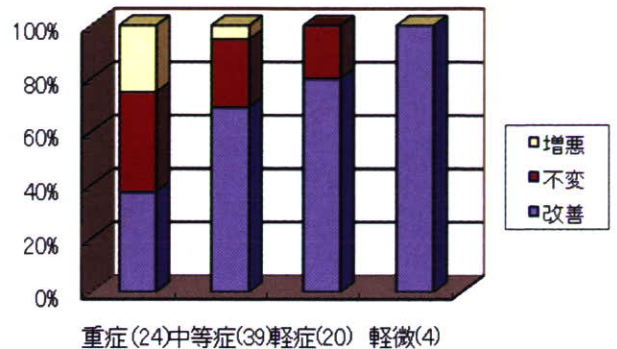


表1. 一年間におけるステロイド外用使用量 (重症度別)

(1年を3ヶ月毎に分類)

ステロイド外用総使用量(g)	1-3月	4-6月	7-9月	10-12月
重症(24)	106.8	165.1	217.2	200.8
中等症(39)	104.2	85.2	61.7	108.3
軽症(20)	50.8	31.3	38.2	21.8
軽微(4)	25.0	25.0	10.0	20.0

表2. 一年間における保湿薬使用量 (重症度別)

保湿薬(g)	1-3月	4-6月	7-9月	10-12月
重症	158.4	205.0	208.1	188.2
中等症	161.8	166.7	124.0	131.9
軽症	52.0	57.5	57.0	41.0
軽微	0	15.0	0	0

## マウス皮膚炎モデルを用いた、種々の抗炎症薬による、皮膚炎・搔破行動・表皮内神経伸長に対する抑制効果に関する研究

分担研究者	古江増隆	九州大学大学院医学研究院皮膚科学教授
研究協力者	野瀬善明	九州大学大学院医学研究院医療情報学教授
	竹内 聡	九州大学大学院医学研究院皮膚科学助教
	城戸真希子	九州大学大学院医学研究院皮膚科学大学院生
	濱田美奈子	厚生労働省リサーチレジデント

### 研究要旨

痒みを伴う慢性皮膚疾患では、神経ペプチドを含有する多数の皮膚末梢知覚神経線維終末が表皮上層まで侵入・伸長していることが示され、その執拗な痒みとの関連が示唆されている。in vitro の実験において神経細胞の神経突起延長には、MEK1/2 シグナル系の関与が報告されていることから、我々は CX659S 慢性皮膚炎において表皮内神経伸長抑制を介して搔破行動を抑制出来るのではないかと仮説を立て、抗炎症効果が確認されている MEK1/2 阻害薬のひとつ(CX659S)を用いて、その抗炎症作用や in vivo での神経伸長抑制効果を既存の皮膚炎治療薬であるタクロリムス(FK506)や副腎皮質ステロイド(ベタメサゾン)と比較した。CX659S と FK506 においてサブスタンス P 陽性知覚神経の表皮内伸長を有意に抑制したにもかかわらず、搔破行動を抑制したのは FK506 のみであった。さらに搔破行動と、1) 耳介腫脹、2) 炎症・肥満細胞数、3) 肥満細胞脱顆粒率、4) 表皮内(総・知覚)神経長との相関解析を行ったが、肥満細胞脱顆粒率と耳介腫脹のみが搔破行動と中程度の相関を示した。以上の結果より、表皮内神経伸長の抑制は慢性皮膚炎のかゆみ抑制に必ずしも十分でないと考えられた。

### A. 研究目的

アトピー性皮膚炎の慢性皮膚病変部においては、通常みられない表皮内への知覚神経侵入・伸長が確認されておりその執拗な痒みへの関連が指摘されている。またマウスの慢性皮膚炎モデルにおいて、アトピー性皮膚炎治療外用薬タクロリムス(FK506)は表皮内神経伸長を抑制し、搔破行動も抑制すると報告され、関連が指摘されている。

我々が用いた CX-659S は、MAPK/ERK kinase1/2 (MEK1/2)シグナル伝達阻害剤のひとつで、マウスの接触過敏性皮膚炎の抑制効果が示された抗炎症薬である。一方、他のいくつかの MEK1/2 阻害薬では、in vitro での神経突起の伸長抑制

効果が確認されている。

そこで、CX659S が(タクロリムスと同様に)表皮内神経線維の伸長を抑制し痒み・搔破行動を抑制するのではないかと仮説を立て、ハプテン(ピクリルクロライド: PiCl)反復塗布によるマウス慢性皮膚炎モデルを用いてこれらを検証した。

### B. 方法

C57BL/6 マウスの背部皮膚に隔日で PiCl を外用し、CX659S、FK506 またはベタメサゾンを同部位に連日塗布した。外用開始より2週間後に、耳介の腫脹の程度、皮膚炎組織像(HE 染色、トルイジンブルー染色)、表皮内の総神経伸長(PGP9.5 染色)、知覚神経伸長(神経ペプチドのサ



スブスタンスPとCGRP染色による)、搔破行動を、1) 基剤外用コントロール群、2) FK-506 外用群、3) ベタメサゾン (BV)外用群、4) CX659S 外用群で比較検討した。搔破行動は MicroAct 社の自動搔破行動測定器を用いて、PiCl 外用後より2時間測定し、一定条件を満たしたものを搔破行動として、コンピューターにより自動的にかつ客観的に定量化した。

#### (倫理への配慮)

本研究内容は、九州大学医学研究院動物実験委員会の承認を得ている。

### C. 結果

耳介皮膚の腫脹： CX659S、FK506、BV の3種類の薬剤はいずれも PiCl 反復塗布により誘発される真皮内炎症細胞浸潤を減少させた。

組織像 (HE 染色、トルイジンブルー染色)： FK506、BV は PiCl 塗布による耳介の腫脹、局所の肥満細胞数も有意に減少させた。CX659S ではそれらの抑制傾向は認めるものの、統計学的に有意な抑制効果は認めなかった。

表皮内神経伸長 (PGP9.5、サブスタンス P、CGRP 染色)： CX659S と FK506 は、表皮への (PGP9.5 陽性) 全神経伸長や、サブスタンス P 陽性知覚神経の表皮内伸長を有意に抑制した。しかし、BV では有意な知覚神経伸長抑制効果を認めなかった。

搔破行動： FK506 のみがマウスの搔破行動を有意に抑制し、同程度の神経伸長抑制作用を持つ CX659S は搔破行動の抑制作用を示さなかった。BV においても搔破行動の抑制作用を示さなかった。

搔破行動と炎症関連因子や表皮内神経長などとの相関解析： 搔破行動と中等度の相関を示したのは、耳介の腫脹と肥満細胞脱顆粒率のみであり、表皮神経伸長とは (全体でも個々の群の解析に於いても) 明らかな相関を示さなかった。

### D. 考察

アトピー性皮膚炎などの慢性掻痒性皮膚疾患において、痒みは搔破行動をもたらし、搔破行動は皮疹を悪化させ、悪化した皮膚はさらなる痒みを生じるという悪循環が成り立ち、病気の難治化、遷延化に働いている。従って痒み (または搔破行動) のコントロールは臨床上非常に重要と言える。アトピー性皮膚炎や結節性痒疹のような痒みを伴う慢性皮膚病変では、組織学的に多数の神経終末が表皮上層まで侵入していることが示されており、これらの皮膚疾患の執拗な痒みと関連していると考えられている。また、最近のアトピー性皮膚炎治療外用薬タクロリムス (FK506) はマウスの慢性皮膚炎モデルにおいて、搔破行動とともに表皮内神経伸長も抑制すると報告されている。

CX659S は MEK1/2 阻害薬のひとつで新しい抗炎症作用薬であるが、ほかのいくつかの MEK1/2 阻害薬において *in vitro* での神経伸長に抑制的に働くと報告がある。これらのことから我々は、CX659S を用いて表皮内神経伸長を抑制すると、(タクロリムスと同様に) 皮膚炎における痒み (搔破行動) もコントロールできるのではないかと考えていた。

しかし、われわれのデータでは、PiCl 誘発によるマウス慢性皮膚炎モデルにおいて搔破行動を有意に抑制したのは、有意な抗炎症作用と神経伸長抑制作用のどちらも有する FK506 のみであった。抗炎症効果が他の2剤と比較するとやや弱い CX659S は有意な表皮内知覚神経伸長抑制効果を認めたにもかかわらず、搔破行動を抑制しなかった。BV は強い抗炎症効果を有するにもかかわらず、搔破行動・表皮内神経伸長抑制効果はなかった。また、相関解析においても搔破行動と関連を示したのは耳介の腫脹や肥満細胞脱顆粒率のみであり表皮内神経伸長との明らかな関連は認められなかった。このことはかゆみの制御には表皮内神経伸長の抑制のみ

では十分でなく、炎症の抑制と神経伸長とのどちらも必要である可能性が示唆された。

## E. 結論

PiCl 誘発によるマウス慢性皮膚炎モデルにおいて搔破行動を有意に抑制したのは、有意な抗炎症作用と神経伸長抑制作用のどちらも有する FK506 のみであり、同程度の神経伸長抑制作用を有する CX659S は搔破行動を抑制しなかった。このことはかゆみの制御には表皮内神経伸長の抑制のみでは十分でなく、炎症の抑制と神経伸長とのどちらも必要である可能性を示唆していると考えた。

また、搔破行動と相関を示したのは耳介の腫脹や肥満細胞脱顆粒率であり、この慢性皮膚炎モデルにおいては皮膚の炎症関連因子(マスト細胞由来因子)のかゆみへの寄与が示唆された。

## F. 研究発表

### 学会発表

Makiko Kido, Satoshi Takeuchi,

Sayaka Hayashida,

Masutaka Furue

CX659S, a MEK1/2 inhibitor,  
diminishes epidermal nerve elongation in chronic dermatitis.

68th Annual

Meeting of the Society for Investigative Dermatology, May 9-12, 2007, Los Angeles, CA, USA

### 第17回 国際痒みシンポジウム

2007年9月15日 (東京)

Makiko Kido, Satoshi Takeuchi, Sayaka Hayashida and Masutaka Furue

Skin inflammation, rather than epidermal nerve elongation, correlates with itch and/or scratching in chronic dermatitis.

## G. 知的財産権の出願・登録状況

### 1.特許取得(出願中)

【発明の名称】 痒みの抑制剤 (CX659S)

知覚神経の伸長を抑制することによる痒みの抑制剤、特にアトピー性皮膚炎における痒みの抑制剤。



## 研究成果の刊行に関する一覧表

「みんなで考えましょう、アトピー性皮膚炎とのおつきあい（市民公開講座）」

<http://www.kyudai-derm.org/atopy/openlec/index.html>

「アトピー性皮膚炎についていっしょに考えましょう」

<http://www.kyudai-derm.org/atopy/>

「アトピー性皮膚炎—よりよい治療のためのEvidence-based medicine (EBM)とデータ集」

[http://www.kyudai-derm.org/atopy\\_ebm/index.html](http://www.kyudai-derm.org/atopy_ebm/index.html)

「アトピー性皮膚炎かゆみをやっつけよう！」

<http://www.dermjapan.org/kayumi/index.html>

### 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Y Miyachi, I Katayama, M Furue	Suplatast/Tacrolimus Combination Therapy for Refractory Facial Erythema in Adult Patients with Atopic Dermatitis-A Meta-Analysis Study-	Allergology International	56(3)	269-275	2007
N Furusyo, H Takeoka, K Toyoda, M Murata, S Maeda, H Ohnishi, N Fukiwake, H Uchi, M Furue, J Hayashi	Thymus and activation regulated chemokines in children with atopic dermatitis: Kyushu University Ishigaki Atopic Dermatitis Study (KIDS)	Eur J Dermatol	17(5)	397-404	2007
S Ogawa, H Uchi, S Fukagawa, S Takeuchi, T Nakahara, M Kato, H Kokuba, M Furue	Development of atopic dermatitis-specific communication tools : Interview form and question and answer brochure	Journal of Dermatology	34	164-171	2007
古江増隆	小児アトピー性皮膚炎への0.03%タクロリムス軟膏の治療	小児科臨床	60 (増刊)	1239-1244	2007
古江増隆	ステロイド軟膏の標準的な使い分け	日本薬剤師会雑誌	59(6)	801-806	2007
古江増隆	7. 抗ヒスタミン薬のEBM 2) ガイドラインなどから	Progress in Medicine	27(8)	1807-1809	2007
古江増隆	アトピー性皮膚炎とステロイド・タクロリムス	MB Derma	133	37-45	2007

大日輝記、古江増隆、室田浩之、片山一朗、神戸直智、宮地良樹、今福信一、寺尾浩	Visual analogue scale (VAS) で評価したベシル酸ベポタスチンによる慢性蕁麻疹の治療効果	皮膚の科学	6(5)	513-518	2007
M Taniguchi, S Matsuzaki, M Tohyama	P75 Plays a Key Role in the Induction of the Sprouting of Sensory Nerve Fibers in Inflamed Skin	Journal of Investigative Dermatology	127	2062-2065	2007
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
秀 道広	VII アトピー性皮膚炎 9. 汗. 目で見えるアレルギー性皮膚疾患	南山堂		346-348	2007
田中稔彦	下着などの衣類で注意すべきことは?	Q&A でわかるアレルギー疾患	3(6)	603-604	2007
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	アトピー性皮膚炎対策特別委員会		105-111	2006
田中稔彦、秀 道広	抗ヒスタミン薬・抗アレルギー薬	アレルギーの臨床	26(9)	34-38	2006
田中稔彦	汗の I 型アレルギー	MEDICO	37(10)	17-20	2006

# Suplatast/Tacrolimus Combination Therapy for Refractory Facial Erythema in Adult Patients with Atopic Dermatitis—A Meta-Analysis Study—

Yoshiki Miyachi<sup>1</sup>, Ichiro Katayama<sup>2</sup> and Masutaka Furue<sup>3</sup>

## ABSTRACT

**Background:** Combination of suplatast tosilate with tacrolimus ointment was reported to reduce the dose of tacrolimus ointment with maintained treatment efficacy for refractory facial erythema in atopic dermatitis (AD), however these were only case-controlled studies and the number of cases was not sufficiently large. Thus, the efficacy of a combination therapy of tacrolimus ointment and suplatast tosilate for treating AD including refractory facial erythema was investigated using a method of meta-analysis on the basis of published papers collected by database search.

**Methods:** We searched the literature on the efficacy of a combination of topical tacrolimus and suplatast tosilate for refractory facial erythema in patients with adult atopic dermatitis, and related data were collected for meta-analysis.

**Results:** Our meta-analysis study showed that suplatast/tacrolimus combination therapy revealed better improvement in skin symptom scores and significantly decreased the dose of tacrolimus compared with topical tacrolimus monotherapy. In addition, a significantly greater number of patients could stop using tacrolimus ointment by using the combination with suplatast tosilate than by tacrolimus monotherapy for refractory facial erythema.

**Conclusions:** The combination therapy with suplatast tosilate decreased the effective dosage of tacrolimus ointment supporting use of the combination therapy for refractory facial erythema.

## KEY WORDS

atopic dermatitis, erythema, meta-analysis, suplatast, tacrolimus

## INTRODUCTION

### EFFICACY AND PROBLEMS ASSOCIATED WITH TOPICAL TACROLIMUS FOR REFRACTORY FACIAL ERYTHEMA

Facial erythema in adult AD, which is called refractory facial erythema or an atopic red face, is a heavy psychological burden for a number of patients because it is chronic and resistant to regular treatment. A number of causes, such as involvement of mites, house dusts, and fungi such as *Candida* and *Malassezia*,<sup>1</sup> long-term topical application of steroids,<sup>2</sup>

and concomitant contact dermatitis due to the use of a variety of topical medicines and cosmetics,<sup>3</sup> have been proposed, however, none of these can explain the pathogenesis alone.

Traditionally, AD has been treated by the regular use of topical corticosteroids, which is not a perfect treatment because sufficient results cannot be provided in a number of cases due to adverse events such as steroid-induced skin atrophy. However, since tacrolimus ointment (Protopic<sup>®</sup>) was launched in 1999, it has brought major changes in the treatment of AD. Tacrolimus ointment exhibits anti-

<sup>1</sup>Department of Dermatology, Graduate School of Medicine, Kyoto University, Kyoto, <sup>2</sup>Department of Dermatology, Osaka University Graduate School of Medicine, Osaka and <sup>3</sup>Department of Dermatology, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Fukuoka, Japan.

Correspondence: Yoshiki Miyachi, Department of Dermatology, Graduate School of Medicine, Kyoto University, 54 Kawahara-

cho, Shogoin, Sakyo-ku, Kyoto 606-8507, Japan.

Email: dermatol@kuhp.kyoto-u.ac.jp

Received 9 November 2006. Accepted for publication 25 January 2007.

©2007 Japanese Society of Allergology

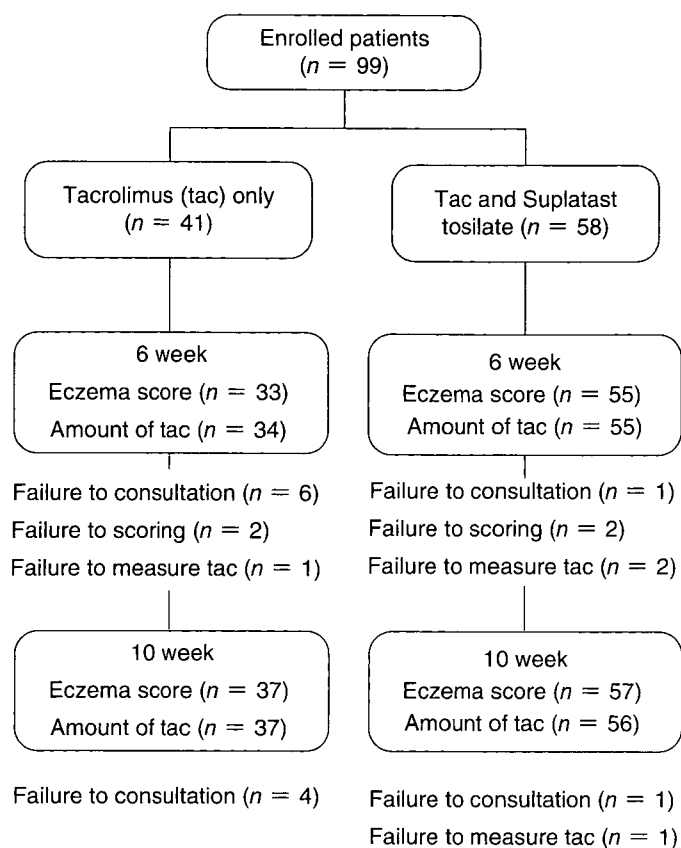


Fig. 1 Study Profile

Table 1 Patient Background. The results were expressed as means  $\pm$  SD.

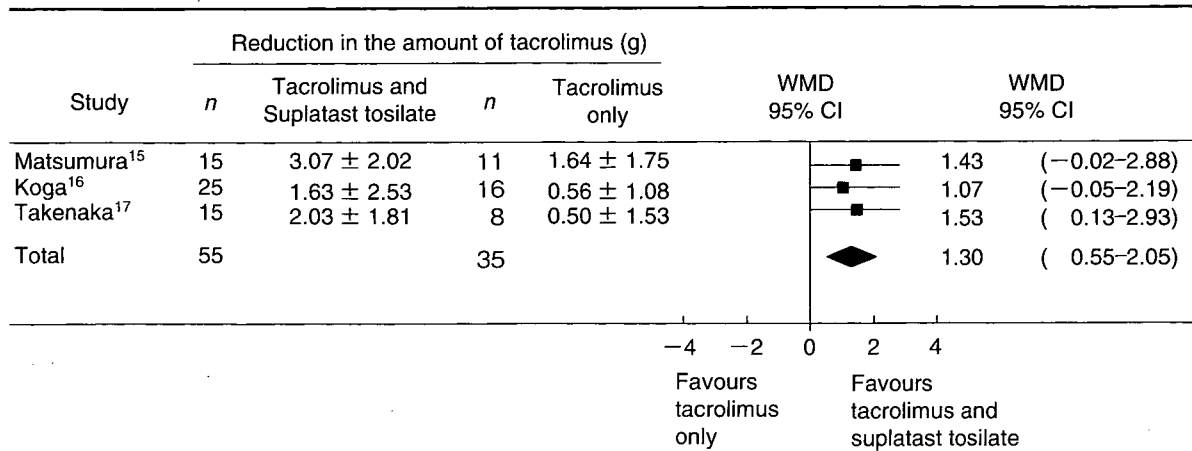
Inventory	Category	Tacrolimus and Suplatast Tosilate Combination	Tacrolimus Alone	Statistics ( <i>p</i> -value)
Number of patients		58	41	
Gender	Male	37	27	0.833 ( $\chi^2$ -test)
	Female	21	14	
Age		27.2 $\pm$ 9.2	27.2 $\pm$ 10.0	0.372 ( <i>t</i> -test)
Eczema scores before treatment	Erythema/edema/acute papule	7.2 $\pm$ 1.7	6.9 $\pm$ 1.8	0.402 ( <i>t</i> -test)
	Chronic papule/nodule/ lichenification	4.7 $\pm$ 2.1	4.0 $\pm$ 2.1	0.097 ( <i>t</i> -test)
	Humectation/erosion/crust	2.1 $\pm$ 2.3	2.3 $\pm$ 1.9	0.677 ( <i>t</i> -test)
	Total	13.9 $\pm$ 3.4	13.1 $\pm$ 2.4	0.196 ( <i>t</i> -test)
Doses of the first tacrolimus ointment	g/week	4.2 $\pm$ 2.8	4.0 $\pm$ 2.5	0.707 ( <i>t</i> -test)

inflammatory properties as effective as strong-class topical corticosteroids, and no local adverse events, such as skin atrophy often observed after the long-term use of corticosteroids, have been reported. Therefore, it has been employed mainly for facial and neck eczema in adult AD patients, and excellent improvements have been reported.<sup>4</sup>

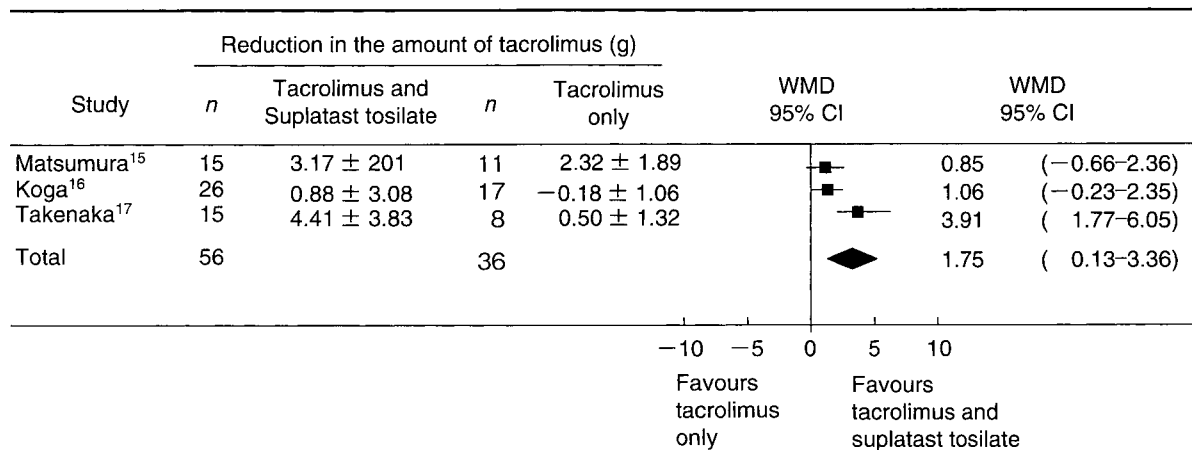
In cases with refractory facial erythema, acute ex-

acerbation associated with edematous erythema is often observed without exudation, papules, or small vesicles. Histologically, accumulation and infiltration of mast cells and eosinophils are often observed in the epidermis. It has been suggested that these symptoms may be caused by eosinophilic inflammation in the dermis due to a late phase allergic reaction.<sup>5</sup> Therefore, the regulation of mast cells, Th2

2-6 week



2-10 week (cases which lack the 10th week values are excepted)

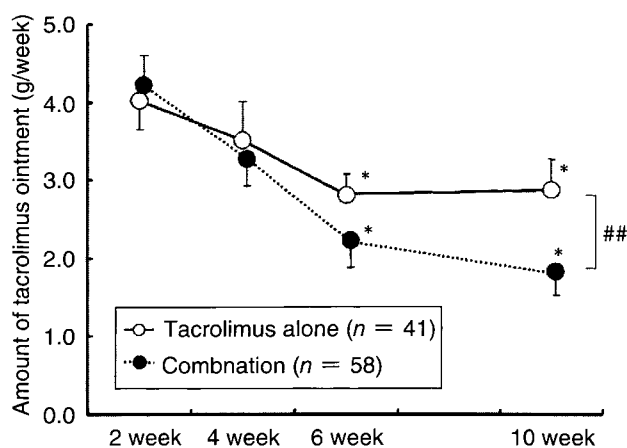


**Fig. 2** Reduction in the Amount of Tacrolimus Ointment by Suplatast Tosilate Combination. Data were pooled according to the random effect model after the test of heterogeneity. Meta-analysis was performed and the results were expressed as means ± SD with the 95% confidence interval and the forest plot was also shown. Differences in the mean value were expressed as weighted mean difference (WMD). Suplatast tosilate was administered 400 mg/day (b.i.d) in the study by Matsumura<sup>15</sup> and Koga,<sup>16</sup> and 300 mg/day (t.i.d) in the study by Takenaka.<sup>17</sup>

type cytokines, and proinflammatory factors from eosinophils that mediate the allergic inflammatory reaction is important. Tacrolimus ointment is often effective for such cases by inhibiting the functions of activated T cell nuclear transcription factors responsible for transcription of a variety of cytokines.<sup>6</sup> On the other hand, tacrolimus ointment causes skin irritation and burning sensation at the beginning of treatment, and infectious skin diseases such as folliculitis, Kaposi's varicelliform eruption, and herpes simplex virus infection have been reported as clinical problems.<sup>7</sup>

**EFFICACY AND PROBLEMS ASSOCIATED WITH SUPLATAST TOSILATE FOR REFRACTORY FACIAL ERYTHEMA**

Suplatast tosilate (IPD®) categorized as a Th2 type cytokine inhibitor suppresses the production of IL-4 and IL-5 in Th2 type cells, and preclinical experiments demonstrated inhibition of eosinophil infiltration and release of chemical mediators.<sup>8</sup> In addition, serum IL-5 levels,<sup>9</sup> peripheral eosinophil counts, and eosinophil cationic protein (ECP) were reduced by the administration of suplatast tosilate in clinical studies.<sup>10</sup> Furthermore, a recent prospective study revealed its efficacy for asthma.<sup>11</sup> Before tacrolimus ointment became commercially available, the efficacy of suplatast tosilate for refractory facial erythema was demonstrated, however it takes a relatively long time



**Fig. 3** Day-to-day Changes in the Amount of Tacrolimus Ointment. Data were pooled according to the random effect model after the test of heterogeneity. Differences in the amount of tacrolimus ointment at weeks 6 and 10 were compared between the two groups by Student's *t*-test. \*: significantly different from baseline. ##: significantly different between two groups. The results were expressed as means  $\pm$  SE.

before the emergence of effects and improvement in skin symptoms and is not as remarkable as topical tacrolimus.<sup>12</sup>

### A COMBINATION THERAPY OF TOPICAL TACROLIMUS AND SUPLATAST TOSILATE

It has been reported that a combination with suplatast tosilate after introduction of remission by tacrolimus ointment can reduce the dose of tacrolimus ointment with maintained treatment efficacy for refractory facial erythema in AD. However, the study was non-randomized and non-comparative, and the number of cases was not sufficiently large. Thus, the efficacy of a combination therapy of tacrolimus ointment and suplatast tosilate for treating AD including refractory facial erythema was investigated on the basis of published papers collected by a database search.

## METHODS

### SEARCH STRATEGY

We systematically searched for published works describing a combination of tacrolimus ointment and suplatast tosilate for AD on MEDLINE and Japana Centra Revuo Medicina (Igaku Chuo Zasshi/Japanese Central Medical Journal) databases. Research designs of papers selected for the present study were randomized comparative trials, comparative clinical trials, and comparative trials. "Tacrolimus, Protopic, or FK506", "Suplatast tosilate or IPD", "AD", and "facial erythema" were used as search terms and all published reports were extracted.

## PARAMETERS FOR EVALUATION

Parameters for evaluation were doses of tacrolimus ointment, eczema scores, and adverse events. Amount of tacrolimus ointment used in a week were measured every week. Degree of "erythema · edema · acute papule", "chronic papule · nodule · lichenification", and "humectation · erosion · crust" were graded from 0 to 3, and the total score was evaluated from 0 to 27 as the eczema score.

## DATA ANALYSIS

Background data were summarized as means  $\pm$  SD in each group, and differences between the groups were analyzed by Student's *t*-test and the  $\chi^2$ -test. Average differences in weekly doses of tacrolimus used at week 2 and week 8–10 after the beginning of treatment were calculated in the combination group with suplatast tosilate and the tacrolimus ointment alone group, which were employed as a marker to evaluate the effect. Meta-analysis was performed with the RevMan Analyses (version 1.0.3 for Windows) software in the Review Manager (RevMan) (version 4.2 for Windows, The Nordic Cochrane Centre, Copenhagen, 2003) provided by the Cochrane Collaboration.<sup>13</sup>

Differences in the reduced average dose of tacrolimus ointment and the average improvement in the eczema score were pooled according to the random effect model after the test of heterogeneity.<sup>14</sup> Since the three studies employed the same eczema score, differences in the mean value were expressed as the weighted mean difference (WMD).

The results were expressed as means  $\pm$  SD with the 95% confidence interval and the forest plot was also shown. After all data were collected, differences in the dose of tacrolimus ointment at weeks 6 and 10 were compared between the two groups by Student's *t*-test and presented in a graph. Termination rates of tacrolimus use in trials were compared by Mantel-Haenszel test. Adverse events were analyzed by  $\chi^2$ -test separately in each category. A *p* value less than 0.05 was considered statistically significant.

## RESULTS

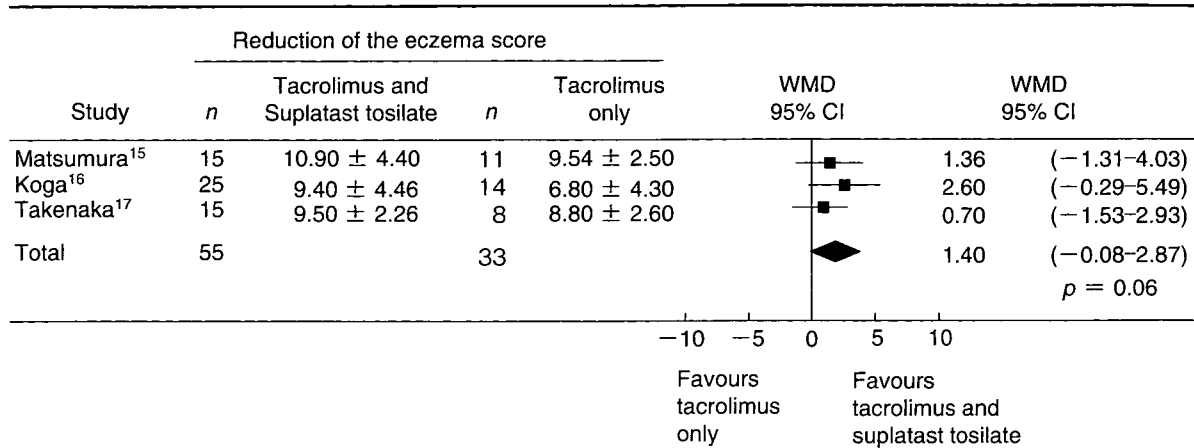
### STUDY SELECTION

Three case-controlled clinical trials published in Japan were verified to be appropriate.<sup>15–17</sup> Data were provided by the researchers that published the trials, which were evaluated as appropriate. Data of individual trials were analyzed and evaluated as follows.

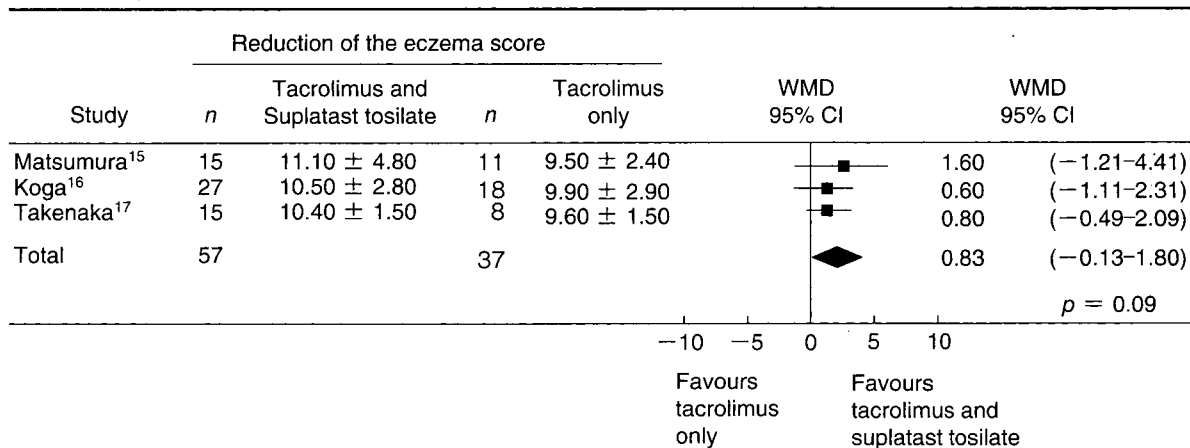
### PATIENT BACKGROUND

The case numbers of the tacrolimus ointment alone group and the suplatast tosilate combination group were 11 and 15 in the first,<sup>15</sup> 20 and 28 in the second,<sup>16</sup> and 10 and 15 in the third study, respectively, and in total these two groups had 41 and 58 registered cases, respectively. Study designs of all studies

0-6 week



0-10 week (cases which lack the 10th week values are excepted)



**Fig. 4** Improvement in the Eczema Score by the Combination of Suplatast Tosilate and Tacrolimus Ointment. Data were pooled according to the random effect model after the test of heterogeneity. Meta-analysis was performed and the results were expressed as means ± SD with the 95% confidence interval and the forest plot was also shown. Differences in the mean value were expressed as weighted mean difference (WMD). Suplatast tosilate was administered 400 mg/day (b.i.d) in the study by Matsumura<sup>15</sup> and Koga,<sup>16</sup> and 300 mg/day (t.i.d) in the study by Takenaka.<sup>17</sup>

are shown in Figure 1. The background in all patients, including gender, age, eczema scores before treatment, and doses of the first tacrolimus ointment were compared between the two groups, but there was no statistically significant bias (Table 1).

### EVALUATION OF EFFICACY

#### Reduction in the Dose of Tacrolimus Ointment

In the three studies comparing the dose of tacrolimus ointment in the tacrolimus ointment alone group and the suplatast tosilate combination group between week 2 and 6 and between week 2 and 10, one study showed a significant reduction but two studies revealed no statistical difference. However, when the results of the three studies were meta-analyzed, the doses of tacrolimus ointment were significantly reduced at week 6 and 10 both compared with week 2 (Fig. 2). The suplatast tosilate combination group

showed a significantly reduced amount of tacrolimus ointment used at week 10 compared with the tacrolimus ointment alone group (Fig. 3).

#### Improvement in the Eczema Score

In the three studies that compared the tacrolimus ointment alone group and the suplatast tosilate combination group, there was no statistical difference in the eczema score at week 0 and 6, or week 0 and 10. However, when the results of the three studies were meta-analyzed, *p* values for the comparison between week 0 and 6 and between week 0 and 10 were 0.06 and 0.09, respectively, which showed a tendency for improvement (Fig. 4).

Use of tacrolimus ointment was stopped by week 10 in 14 of 58 cases (24.1%) in the suplatast tosilate group and in 3 of 41 cases (7.3%) in the monotherapy group, and the combination with suplatast tosilate



**Table 2** Termination Rates of Tacrolimus Ointment Use.

Group	Combination (n = 58)	Tacrolimus Alone (n = 41)	Statistics (Mantel-Haenszel test)
Number of patients who discontinued the use of tacrolimus	14 (24.1%)	3 (7.3%)	P = 0.0023

**Table 3** Adverse Effects

Inventory	Combination (n = 58)	Tacrolimus Alone (n = 41)	p-value ( $\chi^2$ -test)
Irritation	10	7	0.983
Acne or acne-like eruption	2	3	0.387
Secondary infection	1	0	0.398
Drowsiness	1	0	0.398
Burning sensation	0	1	0.232
Herpes simplex	1	0	0.398

could stop the use of tacrolimus ointment at a significantly higher rate ( $p = 0.002$ ) (Table. 2).

There was no statistical difference in the occurrence of adverse events between the two groups (Table 3).

## DISCUSSION

The underlying mechanisms for the efficacy of topical tacrolimus for facial and neck eczema of adult AD have been reported and include the following: inhibition of (1) cytokine production from Th1 and Th2 cells; (2) antigen presentation by Langerhans cells; (3) histamine release from mast cells and basophils; (4) release of cytotoxic substances from eosinophils; and (5) chemokine production for eosinophils by cytokine-stimulated epidermal cells.<sup>7</sup> Among adult AD cases, the following findings have been made: topical tacrolimus has been used in cases such as eczema on the face and neck that often causes local adverse effects from the long-term use of topical corticosteroids; local adverse effects have already appeared due to topical corticosteroids; and contraindication for corticosteroids. Indeed, a number of cases of excellent improvements have been reported.<sup>4</sup>

On the other hand, approximately 80% of patients who used tacrolimus ointment for neck and facial eczema complained of skin irritation symptoms such as burning sensation, pain, and warmth, and some of them, but not many, were forced to stop the use due to severe irritation. Nakagawa *et al.* reported the results of long-term use of topical tacrolimus, and the occurrence rate of skin infection was 20.8%, which comprised of folliculitis at 12.0%, acne or acne-like eruption at 7.4%, Kaposi's varicelliform eruption at 4.2%, and herpes simplex virus infection at 3.3%. These are clinical problems for the application.<sup>7</sup>

Suplatast tosilate inhibits the production of IL-4 and IL-5 by Th2 type cells and exerts anti-allergic proper-

ties by suppressing not only the release of chemical mediators but also IgE antibody production and infiltration of eosinophils. It has been used to treat AD, bronchial asthma, and allergic rhinitis.

The results of the present study revealed that the combination with suplatast tosilate could reduce the dose or even remove the need for the use of tacrolimus ointment. There was no statistical difference in the improvement of eczema between the suplatast tosilate combination group and the tacrolimus ointment alone group. When the results of the three studies were meta-analyzed, the combination therapy showed a tendency of improvement with  $p$  values of 0.06 and 0.09 between week 0 and 6 and between 0 and 10, respectively, although the lower limits of the confidence interval were below zero and  $-0.08$  and  $-0.13$ , respectively. Further accumulation of such cases may eventually indicate a significant improvement by the combination therapy. Because the total number of cases of these studies was small and they were done by case-controlled trials, and there might be a publication bias, analysis further studies are required.

These results suggest that the combination with suplatast tosilate is a useful option for treatment of adult AD. Although the underlying mechanisms that could reduce the amount of tacrolimus ointment remain to be clarified, a combination of steroid inhalation and suplatast tosilate was reported to reduce the amount of inhaled steroids for severe bronchial asthma, similarly to the results in the present study.<sup>10</sup> The similarity implicates the involvement of a certain common mechanism. It is expected that clinical trials with even-higher levels of evidence will verify the results.

## ACKNOWLEDGEMENTS

We sincerely thank Dr. Takeshi Kono, Department of

Dermatology, Kansai Rosai Hospital, Hyogo, for helping with the statistical analysis, and also thank for Taiho pharmaceutical company for financial support.

## REFERENCES

1. Kawano S, Nakagawa H. The correlation between the level of anti-Malassezia furfur IgE antibodies and severities of face and neck dermatitis of patients with atopic dermatitis. *Allergy* 1995;**44**:128-133.
2. Hattori T. [Refractory facial lesion in patients with adult atopic dermatitis.] *Acta Dermatol.* (Kyoto) 1994;**89**:109-113 (in Japanese).
3. Oonuma S, Takekawa K, Okajima M *et al.* [Lanolin ointment induced contact dermatitis: clinical examination of 23 volunteers.] *Jpn. J. Clin. Dermatol.* 1997;**51**:597-601 (in Japanese).
4. Yasuno H, Kishimoto S. Effects of tacrolimus ointment on facial eruption, itch, and scratching in patients with atopic dermatitis. *J. Dermatol.* 2004;**31**:194-199.
5. Kurosawa M, Miyachi Y. [Pathophysiology of a skin disease: allergic inflammation of skin.] *Jpn. J. Clin. Dermatol.* 1995;**49**:54-59 (in Japanese).
6. Schreiber SL, Crabtree GR. The mechanism of action of cyclosporin A and FK506. *Immunol. Today* 1992;**13**:136-142.
7. Nakagawa H. [FK506 (tacrolimus) ointment use guideline over atopic dermatitis.] *Jpn. J. Clin. Dermatol.* 2000;**54**:93-97 (in Japanese).
8. Yamaya H, Basaki Y, Togawa M *et al.* Down-regulation of Th2 cell-mediated murine peritoneal eosinophilia by anti-allergic agents. *Life Sciences* 1995;**56**:1647-1654.
9. Kondo Y, Yazawa H, Jinpo K. [The effect of IPD on serum IL-5 level in atopic dermatitis patients.] *Nishinohon J. Dermatol.* 1999;**61**:84-87 (in Japanese).
10. Suto H, Mitsuishi K, Hira K *et al.* The effect of suplatast tosilate on immunological parameters for the patients with atopic dermatitis. *Allergy* 2000;**49**:1163-1172.
11. Tamaoki J, Kondo K, Sakai N *et al.* Effect of suplatast tosilate, a Th2 cytokine inhibitor, on steroid-dependent asthma: a double-blind randomised study. *Lancet* 2000;**356**:273-278.
12. Amano H, Kanbe N, Higuchi T *et al.* [The clinical effect of suplatast tosilate for refractory facial erythema in patients with adult atopic dermatitis.] *Acta Dermatol.* (Kyoto) 1998;**93**:323-329 (in Japanese).
13. The Cochrane Collaboration, In: RevMan (ed). *4.2 User Guide*, 2005.
14. Petitti DB. *Meta-Analysis, Decision Analysis and Cost-Effectiveness Analysis: Methods for Quantitative Synthesis in Medicine.* London: Oxford University Press, 1994.
15. Matsumura Y, Miyachi Y. [The synergistic effect of suplatast tosilate and tacrolimus hydrate ointment on the "red face" of adult-type atopic dermatitis.] *Skin Research* 2002;**1**:42-46 (in Japanese).
16. Koga T, Terao H, Furue M *et al.* [The combined therapy of tacrolimus ointment and suplatast tosilate to refractory facial erythema in patients with adult atopic dermatitis.] *Nishinohon J. Dermatol.* 2003;**65**:375-380 (in Japanese).
17. Takenaka M, Sato S, Katayama I. [Combination therapy of suplatast tosilate and tacrolimus ointment over refractory facial erythema with adult atopic dermatitis.] *Nishinohon J. Dermatol.* 2005;**67**:247-251 (in Japanese).

Norihiro FURUSYO<sup>1,2</sup>  
 Hiroaki TAKEOKA<sup>2</sup>  
 Kazuhiro TOYODA<sup>2</sup>  
 Masayuki MURATA<sup>1</sup>  
 Shinji MAEDA<sup>2</sup>  
 Hachiro OHNISHI<sup>2</sup>  
 Noriko FUKIWAKE<sup>3</sup>  
 Hiroshi UCHI<sup>3</sup>  
 Masataka FURUE<sup>3</sup>  
 Jun HAYASHI<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Department of General Medicine,  
 Kyushu University Hospital,  
 Higashi-Ku, Fukuoka, 812-8582 Japan  
<sup>2</sup> Department of Environmental Medicine  
 and Infectious Diseases,  
 Faculty of Medical Sciences,  
 Kyushu University, Fukuoka, Japan  
<sup>3</sup> Department of Dermatology,  
 Kyushu University Hospital, Fukuoka,  
 Japan

Reprints: N. Furusyo  
 <furusyo@genmedpr.med.kyushu-u.ac.jp>

Article accepted on 3/5/2007

## Thymus and activation regulated chemokines in children with atopic dermatitis: Kyushu University Ishigaki Atopic Dermatitis Study (KIDS)

The purpose of this population-based study was to investigate the clinical significance of serum thymus and activation-regulated chemokine (TARC) in children with atopic dermatitis (AD). Between 2003 and 2004, 1359 Japanese children aged 5 years and under were prospectively followed. Serum levels of TARC by using an ELISA in each child were monitored throughout the study period. The first tested year, the mean serum level of TARC in children with sustained AD (mean; 691.7 pg/mL) was significantly higher than that of regressed AD children (569.9 pg/mL), newly developed AD children (380.1 pg/mL), and healthy children (506.3 pg/mL). The changes of TARC levels in sustained AD children found no significance between 2003 (691.7 pg/mL) and 2004 (682.0 pg/mL). The mean levels of TARC of both regressed AD and healthy children significantly decreased from 2003 to 2004 (644.2 pg/mL to 448.7 pg/mL and 506.3 pg/mL to 442.1 pg/mL, respectively). The mean TARC level of newly developed AD children significantly increased from 2003 to 2004 (380.1 pg/mL to 491.8 pg/mL). We demonstrated strong associations between TARC levels and the natural course of childhood AD. Monitoring serum TARC levels of AD children may be useful for the biological evaluation of AD.

**Key words:** atopic dermatitis, thymus and activation regulated chemokine, epidemiology

Atopic disorders affect up to 20% of the general populations worldwide and the incidence of allergic diseases and atopic dermatitis (AD) appears to be increasing [1]. AD is a chronic inflammatory and recurrent pruritic eczematous skin disease that involves peripheral blood eosinophilia and high level of serum immunoglobulin E (IgE) [2, 3]. Acute lesional skin of patients with AD is characterized by eosinophil-derived granule deposits and T cell infiltration, which are predominantly T-helper (Th) 2-type cells expressing such cytokines as interleukin (IL)-4, IL-5 and IL-13 [2, 4, 5]. Chemokines have been identified as attractants of different types of leukocytes to the sites of infection and inflammation. They are divided into four subfamilies, CXC, CC, CX3C and C, depending on the position of the first two N-terminal cysteine residues [6]. They are produced locally in the tissues and act on leukocytes through specific receptors. They also function as regulatory molecules in leukocyte maturation, trafficking and homing in the development of lymphoid tissues [7]. Thymus and activation-regulated chemokine (TARC/CCL17) is a member of CC chemokines and is produced by monocyte-derived dendritic cells, endothelial cells, bronchial epithelial cells, and epidermal keratinocytes [8, 9]. In humans with AD, TARC, designated as a Th2 type chemokine, is produced mainly by keratinocytes distributed in lesional skin [10]. The serum TARC

levels are significantly elevated and reflect the disease activity of patients with AD [10, 11]. Numerous studies have been done on the prevalence and incidence of AD [12-16]. To investigate the natural history of AD in children of this age group, a population-based cohort study, the Kyushu University Ishigaki Atopic Dermatitis Study (KIDS), was launched in 2001 [17, 18]. Prior research indicated that more than 70% of children with AD experienced spontaneous regression within 3-year follow-up period, and that *de novo* occurrence of AD in these children was estimated as 3.67%/person-year [17, 18]. In the present study, we investigated the association of the serum TARC levels with the natural course of children with AD by analysis of the stored serum samples of children enrolled in the KIDS trial.

## Materials and methods

### Study populations

The population-based KIDS trial began in 2001 and has been previously described [17, 18]. The candidates of the present study were 1359 children who had received our free physical examinations in 2003 and 2004, when they were aged 0 to 5 years. In the present study, a blood sample was obtained from each child for analysis of the serum TARC level and other values.

Free physical examinations were given to children of 16 nursery schools in Ishigaki City, which has a population of 45,000, in Okinawa Prefecture, Japan. The yearly average temperature and humidity are 25.4 °C and 76%, respectively. The physical and laboratory examinations were done annually in July and August. For the present study, 749 children in 2003 and 610 children in 2004, a total of 1359 children, which represented 33.0% of nursery school children in Ishigaki City, were analyzed. One thousand and nine children were examined only once and 350 were followed for one year.

The study was done in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki and its appendices and was approved by the ethics committee of Kyushu University Hospital as well as by the directors and class teachers of the schools. Written informed consent to allow participation of the children was obtained from the parents or guardians.

### Physical and laboratory examination

The medical examinations for all children were done by two experienced dermatologists from the Department of Dermatology at Kyushu University Hospital. AD was diagnosed according to the Japanese Dermatological Association criteria (*table 1*) [16, 19]. These criteria are very similar to those of Hanifin and Rajka [20]. The difference is that most of the minor features in the Hanifin and Rajka criteria are referred to as diagnostic aids, clinical types or significant complications in Japanese criteria.

The severity of AD was graded as mild, moderate, severe or very severe according to the following criteria [16]: (1) mild, skin involvement of mild eruption only; (2) moderate, under 10% surface area involvement of eruption with severe inflammation (severe eruption); (3) severe, over 10% but under 30% skin involvement of severe eruption; and (4) very severe, over 30% of body involvement of severe eruption.

Serum TARC and total IgE levels were measured and monitored in sera of all the studied children.

### Measurement of serum TARC level

Serum TARC levels were measured by ELISA using a flexible, 96-well polyvinyl chloride plate coated with a murine monoclonal antibody against human TARC (SD-8864, Shionogi & Co., Ltd, Osaka, Japan). The ELISA was performed according to the manufacturers' directions. After addition of 100 µL of assay buffer (50 mmol/L phosphate buffer containing 0.3 mol/L NaCl, 0.5 mL/l Tween 20, 1 g/L BSA, and 0.2 g/L NaN<sub>3</sub>) to each well of the immunoplates, aliquots of human TARC standards (0-8000 pg/mL in assay buffer) or samples (25 µL each) were added to the wells and incubated for 2 hours at 25 °C. Each well was washed three times with PBST, 100 µL of Fab'-HRP (75 ng) in PBS containing 4 g/L BlockAce (Snow Brand, Tokyo, Japan) and 1 g/L Kathon CG (Rohm and Haas, Philadelphia, PA) was added to each well and incubated for 1 hour at 25 °C. Following five-time washing of the assay plates with PBST, the immunoreactivity was visualized by addition of 100 µL/well of substrate solution (ColorBurstBlue; AlerCHEK, Portland, ME) for 15 minutes at 25 °C. The reaction was stopped by the addition of 50 µL of 0.18 mol/L sulfuric acid to each well, and absorbance was measured at 405 nm using an immunoreader MTP-32 (Corona Electric, Ibaragi, Japan). The TARC level was calculated based on the standard curve

**Table 1.** Definition and diagnostic criteria for atopic dermatitis (AD) by the Japanese Dermatological Association

<p><b>Definition</b></p> <p>AD is a pruritic, eczematous dermatitis, the symptoms of which fluctuate chronically with remissions and relapses. Most individuals with AD have atopic diathesis</p> <p>Atopic diathesis: 1) personal or family history (asthma, allergic rhinitis, and/or conjunctivitis and AD), and/or 2) predisposition to overproduction of immunoglobulin E (IgE) antibodies</p> <p><b>Diagnostic criteria for atopic dermatitis</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Pruritus</li> <li>2. Typical morphology and distribution <ol style="list-style-type: none"> <li>(1) Eczematous dermatitis <ol style="list-style-type: none"> <li>(a) acute lesions: erythema, exudation, papules, vesiculopapules, scales, crusts</li> <li>(b) chronic lesions: infiltrated erythema, lichenification, prurigo, scales, crusts</li> </ol> </li> <li>(2) Distribution <ol style="list-style-type: none"> <li>(a) symmetrical: predilection sites: forehead, periorbital area, perioral area, lips, periauricular area, neck, joint areas of limbs, trunk</li> <li>(b) age-related characteristics <p><i>Infantile phase:</i> starts on the scalp and face, often spreads to the trunk and extremities</p> <p><i>Childhood phase:</i> neck, the flexural surfaces of the arms and legs</p> <p><i>Adolescent and adult phase:</i> tendency to be severe on the upper half of body (face, neck, anterior, chest and back)</p> </li> </ol> </li> </ol> </li> <li>3. Chronic or chronically relapsing course (usually coexistence of old and new lesions) <ol style="list-style-type: none"> <li>(1) More than 2 months in infancy</li> <li>(2) More than 6 months in childhood, adolescence and adulthood</li> </ol> </li> </ol> <p>Define diagnosis of AD requires the presence of all three features</p>
---

generated by a curve-fitting program on each assay plate. The minimum detectable dose of TARC was 20 pg/mL. The above method was similar to that previously reported [21].

### Measurement of serum IgE level

Total IgE levels were determined by a radioimmunoassay with a detection limit of 20 IU/mL (Shionoria IgE, Shionogi & Co., Ltd, Japan).

### Statistical analysis

Continuous data were expressed as mean values, mean ± standard deviation (SD), or values ± standard error (SE) of the mean. Statistical differences in the continuous data were determined by paired t-test, unpaired t-test, Mann-Whitney U test, Kruskal-Wallis test, or Wilcoxon test. The differences in the categorical data were compared by chi-square test and Fisher's exact test. A P value less than 0.05 was regarded as statistically significant.

## Results

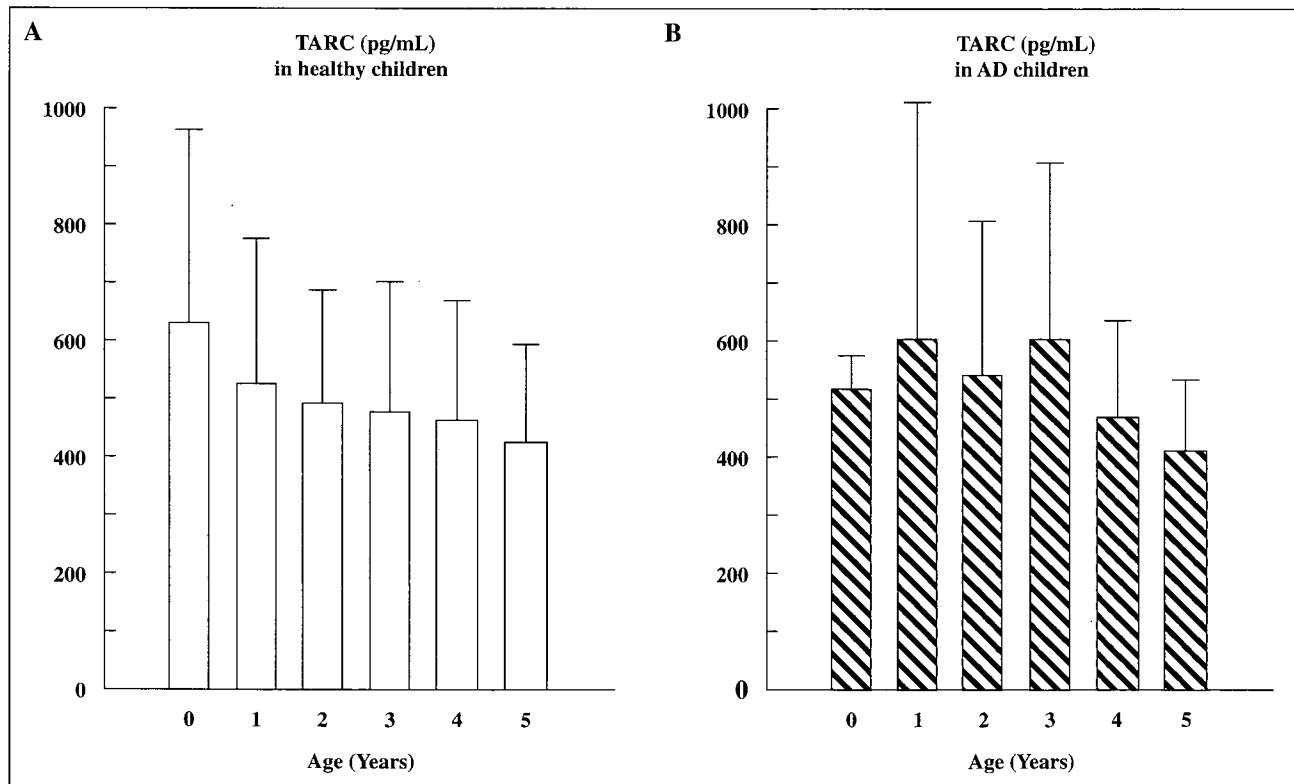
### Correlation between serum levels of TARC and total IgE in children with or without AD

In 2003 and 2004, 883 healthy children and 115 AD children were identified. Because all the children diagnosed as AD had mild activity of the disease, they were not treated with topical or systematic drugs. The mean  $\pm$  SD serum TARC level of the healthy children was  $485.3 \pm 216.3$  pg/mL, with a minimum of 169 pg/mL and a maximum of 2101 pg/mL. No significant difference in the mean  $\pm$  SE serum TARC levels were found between the healthy and AD children ( $485.3 \pm 7.3$  pg/mL vs.  $535.9 \pm 24.9$  pg/mL,  $P = 0.0614$ ). The mean  $\pm$  SE serum total IgE level of the AD children ( $565.4 \pm 131.4$  IU/mL) was significantly higher than that of the healthy children ( $130.9 \pm 12.5$  IU/mL) ( $P < 0.0001$ ). The serum TARC levels of both children with and without AD showed significant correlations with the total IgE levels ( $r = 0.430$ ,  $P < 0.0001$  in children with AD, and  $r = 0.147$ ,  $P < 0.0001$  in the healthy children, data not shown).

Figure 1 shows age-related differences in serum TARC levels. The mean  $\pm$  SD TARC (pg/mL) levels of the healthy children significantly decreased with age:  $630.8 \pm 329.6$  in 24 children aged under one year,  $524.9 \pm 250.7$  in 129 children one year of age,  $494.3 \pm 190.9$  in 229 children two years of age,  $479.0 \pm 224.6$  in 204 children three years of age,  $465.3 \pm 203.7$  in 209 children four years of age, and  $426.0 \pm 165.7$  in 88 children five years of age ( $P < 0.0001$

by Kruskal-Wallis test) (figure 1A). However, the mean  $\pm$  SD TARC levels (pg/mL) of the children with AD did not significantly change in accordance with age ( $P = 0.2465$  by Kruskal-Wallis test):  $515.5 \pm 57.3$  in 2 children under one year,  $604.6 \pm 412.9$  in 8 children one year of age,  $539.2 \pm 270.3$  in 33 children two years of age,  $604.3 \pm 307.3$  in 35 children three years of age,  $467.8 \pm 169.1$  in 28 children four years of age, and  $412.8 \pm 122.3$  in 9 children five years of age (figure 1B). Except for in the three year old age group ( $P = 0.0085$ ), no significant age related differences in the serum TARC level were found between healthy and AD children ( $P = 0.9616$  in children under one year,  $P = 0.8149$  in children one year of age,  $P = 0.7015$  in children two years of age,  $P = 0.6736$  in children four years of age, and  $P = 0.9306$  in children five years of age) by using a Mann-Whitney U test. Based on the definition of a level over a mean value + 2 SD being an elevated TARC abnormality form data of healthy children, the normal and abnormal cut off values were 1290, 1027, 877, 929, 873, and 758 pg/mL in 0, 1, 2, 3, 4, and 5 year-aged children, respectively.

Figure 2 shows age-related differences in serum total IgE levels. The mean  $\pm$  SD levels of the total IgE (IU/mL) of the healthy children significantly increased with age ( $P = 0.0109$  by Kruskal-Wallis test) (figure 2A). However, the mean  $\pm$  SD levels of total IgE (IU/mL) of the AD children did not significantly change in accordance with age ( $P = 0.6641$  by Kruskal-Wallis test) (figure 2B).



**Figure 1.** A) Age-related differences in serum thymus and activation-regulated chemokine (TARC) levels of 883 healthy children without atopic dermatitis (AD). The mean TARC (pg/mL) level of the healthy children decreased with age significantly ( $P < 0.0001$  by Kruskal-Wallis test). Data are shown as means  $\pm$  SD. B) Age-related differences in serum thymus and activation-regulated chemokine (TARC) levels of 115 children with atopic dermatitis (AD). The mean TARC (pg/mL) level of the AD children did not significantly change with age ( $P = 0.2465$  by Kruskal-Wallis test). Data are shown as means  $\pm$  SD.