

アトピー性皮膚炎患者における角層機能に関与する遺伝子の解析

研究分担者 天谷 雅行 慶應義塾大学医学部皮膚科学教授

研究要旨

近年アトピー性皮膚炎(AD)患者からフィラグリン(FLG)遺伝子の変異が発見され、フィラグリンの減少による皮膚バリア機能の障害が、アトピー性皮膚炎の発症原因の一つとして注目されている。今回、石垣島健診コホート(0-6歳)合計721人に対し、4種のFLG遺伝子変異解析を行ったところ、non AD集団で27/594 (4.5%)、AD集団で10/127(7.9%)にFLG変異を同定した。成人日本人集団と比較してnon AD集団におけるFLG遺伝子変異保持者率が高く、まだ発症に至らない変異保持者が多いためと考えられた。また、かゆみに関連する遺伝子多型を同定するために、かゆみ神経の形成に関与すると考えられるSEMA3Aに関し、連鎖不平衡ブロックを含めたゲノム構造に関する情報を収集し、プロモーター領域を含むexon 1周辺の多型を解析した。

共同研究者

海老原 全 慶應義塾大学医学部皮膚科学講師
佐々木貴史 慶應義塾大学医学部分子生物学助教
工藤 純 慶應義塾大学医学部分子生物学准教授
林 純 九州大学大学院感染環境医学分野教授
古江増隆 九州大学大学院医学研究院皮膚科学教授
玉利真由美 理化学研究所ゲノム医学研究センターチームリーダー
竹内 聡 九州大学大学院医学研究院皮膚科学助教

A. 研究目的

現在までに欧州及びアジアのアトピー性皮膚炎(AD)患者からフィラグリン(FLG)遺伝子の変異が発見されており、さらに日本人AD患者からも、我々のグループが報告した2種のナンセンス変異を含む4種のFLG遺伝子変異が発見されている。これらの事からフィラグリンなどの角層構成蛋白質の減少による皮膚バリア機能障害が、ADの発症の原因の一つであることが示唆されている。今回は、石垣島健診コホート(0-6歳)で収集した721人に対し、4種のFLG遺伝子変異解析を行った。本集団はある地域集団におけるFLG遺伝子変異の保持率をADの有無にかかわらず調査すると言う意味で従来の報告と異なっている。また、かゆみに関連する遺伝子多型を同定するために、かゆみ神経の形成に関与すると考えられるSEMA3A遺伝子の多型を検討した。

B. 研究方法

石垣島健診コホート(0-6歳)で収集したADと診断されていない594人(non AD集団)とADと診断された127人(AD集団)、合計721人を対象として、日本人集団で同定された既知の4種のFLG遺伝子変異を以下の方法で検出した。

- (1) S2554X(7661C>G): PCR後、*Hpy*1処理 変異有→非切断、変異無→切断
 - (2) S2889X(8666-8667CC>GA): PCR後、*Bam* HI処理 変異有→非切断、変異無→切断
 - (3) S3296X(9887C>A): PCR後、*Sau* 3AI処理 変異有→非切断、変異無→切断
 - (4) 3321delA: 蛍光標識プライマーを用いたPCR後、DNAシーケンサーでサイズ確認
- (1)(2)(3)の制限酵素切断で陽性となった試料はすべてシーケンシングも行い、変異を確認した。

SEMA3Aの連鎖不平衡ブロックは、HapMapプロジェクトの結果を参照した(図1)。SEMA3Aプロモーター領域を含むexon 1周辺の配列解析は、exon 1を含む1641bp領域を2セットのPCRプライマーで増幅し、DNA配列を決定した。AD集団15人を解析し、多型の有無を確認した。

(倫理面への配慮)

九州大学大学院医学研究院「ヒトゲノム・遺伝子解析倫理審査専門委員会、慶應義塾大学医学部倫理委員会の承認を得、慶應義塾大学においては匿名化試料の解析を行った。

C. 研究結果

- S2554X 変異: non AD 集団に9人(1.5%)、AD 集団に6人(4.7%)
S2889X 変異: non AD 集団に16人(2.7%)、AD 集団に4人(3.1%)
S3296X 変異: non AD 集団に2人(0.3%)、AD 集団に1人(0.8%)
3321delA 変異: non AD 集団に0人(0%)、AD 集団に0人(0%)
全体: non AD 集団に27人(4.5%)、AD 集団に10人(7.9%; 1名はS2554X/S2889X両方を有していた: 表1)。
SEMA3A exon 1周辺の解析により2つの多型

(SNPs(G/T)及び(T)8/9)を同定した。15人の解析結果から、1例の例外を除き、Gと(T)9、Tと(T)8がそれぞれハプロタイプを形成することが分かった(表3)。

D. 考察

Non AD 集団およびAD 集団におけるFLG 変異を有している人の比率は 4.5%及び 7.9%と差があるが、Fisher exact test でのP値は 0.063と有意差が認められなかった。しかし、他の日本人集団の FLG 遺伝子変異解析(対象の年齢は幼児だけではない)のデータと比較すると non AD 集団に FLG 遺伝子変異を有する人が多いことから、健診時に non AD と診断された FLG 遺伝子変異保持者に対しては、今後も AD 発症に関して注意深く追跡する必要があると考えられた(表2)。

またSEMA3Aは17個のexonからなり、全長が232kbと長く、5つの連鎖不平衡ブロックにわたっていることから、最初から全領域を網羅的に解析するのではなく、発現量に最も影響すると考えられるプロモーター領域を含む exon 1周辺の連鎖不平衡ブロックについて多型解析を行うことにした。AD15人に対する解析の結果、2種類の主要なハプロタイプを同定した。今後は、今回同定した多型を721人を対象に解析し、表現型との相関解析を行う予定である。

E. 結論

石垣島コホート(0-6 歳)721 人に対する4種の既知 FLG 変異解析の結果、non AD 集団で 27/594 (4.5%)、AD 集団で 10/127(7.9%)に FLG 変異を同定した。

HapMapプロジェクトの結果からSEMA3Aの連鎖不平衡ブロックを同定し、プロモーター領域を含むブロックを代表する2種の多型を同定した。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

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

表1 石垣島コホート FLG 変異解析結果

Genotypes *	S2554X		S2889X		S3296X		3321delA		Combined	
	non AD	AD	non AD	AD	non AD	AD	non AD	AD	non AD	AD
AA	585	121	578	123	592	126	594	127	567	117
Aa	9	6	16	4	2	1	0	0	27	9
aa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Total	594	127	594	127	594	127	594	127	594	127
Fisher exact test	$P = .033$		$P = .766$		$P = .441$		NA		$P = .063$	
OR** (95% CI)	3.2 (1.1-9.2)		1.2 (0.3-3.6)		2.4 (0.2-26.0)		NA		1.8 (0.8-3.8)	

* A: wild type, a: mutant

** Odds Ratio

表2 石垣島コホート 他の日本人集団解析との比較

	non AD	AD	Total	S2554X		S2889X	
				non AD	AD	non AD	AD
島	594	127	721	1.5%	4.7%	2.7%	3.1%
北海道*	133	102	235	0.8%	5.9%	1.5%	9.8%
本州(つくば)**	1014	466	1480	0.7%	3.4%		

	S3296X		3321delA		Combined		Total
	non AD	AD	non AD	AD	non AD	AD	
島	0.3%	0.8%	0.0%	0.0%	4.5%	7.9%	5.1%
北海道*	0.0%	2.9%	0.8%	3.9%	3.0%	20.5%	
本州(つくば)**			1.5%	2.6%	2.2%	6.0%***	

*Nomura *et al.* 2007 **Enomoto *et al.* 2008 解析によって検体数が異なる ***S2554Xと3321delAのみ

SEMA3A解析

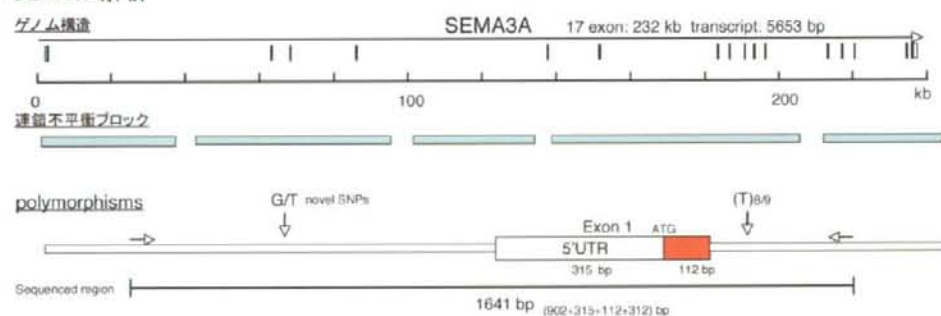


図1 ヒト SEMA3A 遺伝子のゲノム構造解析

ヒト SEMA3A 遺伝子は 17 exon からなり、232kb にわたって存在し、HapMap プロジェクトの結果からこの領域には 5 つ連鎖不平衡ブロックが存在することが予想された。その中で転写調節に大きく寄与すると考えられるプロモーターを含む連鎖不平衡ブロックの解析をおこない、2つの多型サイトを検出した。

表3 石垣島コホート SEMA3A 遺伝子 exon 1 周辺の遺伝子多型解析の結果

Genotype	G/T	(T)8/9	No.
A/A	G/G	9	6
A/B	G/T	8/9/	7
B/B	T/T	8	1
A/?	G/G	8/9	1

痒みと炎症の機序の解明と新しい治療法の開発の模索、アトピー性皮膚炎の疾患感受性遺伝子解析

研究分担者 (氏名) 玉利 真由美

(所属施設名) 理化学研究所ゲノム医科学研究センター、(職名) チームリーダー

研究協力者 (氏名) 広田 朝光、(所属施設名) 同上、(職名) リサーチアソシエイト

(氏名) 原田 通成、(所属施設名) 同上、(職名) 研究員

研究要旨 アトピー性皮膚炎の病態に関連する遺伝子多型の同定を目的とし、主にdanger signal (感染、細胞壊死) に応答する分子、またTh2炎症に関連する分子群について検討し、MDC遺伝子多型とアトピー性皮膚炎との関連を見いだした。

A. 研究目的

近年、ゲノム情報の基盤整備が進み、タイピング技術の向上により遺伝子多型情報が高速に安価に得られるようになった。さらに免疫学の進歩により、様々な引っ掻き行動による組織挫滅や感染等のdanger signalにより炎症が誘導される分子メカニズムが明らかとなってきている。本研究は症例対照相関解析の手法を用い、病態に関連のある遺伝子群を同定し、痒みと炎症の機序を科学的に解明し、新しい治療法の開発へ向けてエビデンスを提示していくことを目的とする。

B. 研究方法

Macrophage-derived chemokines (MDC)はTh2型のサイトカインであり、マクロファージ、樹状細胞、リンパ球やケラチノサイトに発現している。近年アトピー性皮膚炎患者の血清中のMDCレベルが上昇していることが報告されている。本年はこのケモカインに注目しアトピー性皮膚炎患者376名、非アトピー性皮膚炎患者639名について検討を行なった。

(倫理面への配慮)

本研究のヒトのゲノムDNAの解析は、文部科学省、厚生労働省、経済産業省の3省合同で作成された「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に基づいて適正に実施されている。

C. 研究結果

MDC遺伝子周辺に27個の遺伝子多型を見だし、連鎖不平衡を考慮して8個のTagSNPsを選出した。このうち2つのSNPsとアトピー性皮膚炎発症との間に有意な相関を認めた ($P=0.0020$, $P=0.0064$)。MDCのハプロタイプ解析においても有意な相関を認めた ($P=0.0042$)。単球におけるMDC遺伝子発現について検討したところ、MDC遺伝子はLPSにより強く誘導され、その誘導がグルココルチコイドにより抑制されることが明らかとなった。今回アトピー性皮膚炎患者の血清中のMDCと遺伝子多型との間に相関がないか検討したが、有意な相関は確認できなかった。また最も相関の高かったSNPと連鎖不平衡にあるエクソン上のSNP(Ala/Asp)について機能解析

を行なった。293細胞においてそれぞれのアレルを含む遺伝子全長を強制発現し、上清中のMDCを測定した。しかしアレル間において分泌量に有意な差は認めなかった。

D. 考察

近年、アレルギー炎症における樹状細胞をはじめとする自然免疫応答の重要性が注目されている。MDCは未分化の樹状細胞およびマクロファージに高い発現が認められるMDCの遺伝子多型がアトピー性皮膚炎の発症しやすさにかかわることを見いだした。今回の検討ではそれらのSNPsが遺伝子の機能にどのような影響を及ぼすのか示す事はできなかった。今後この他のSNPsについての機能解析を行なう必要がある。さらにMDCおよびTARCはCCR4を発現しているTh2細胞の走化性に関与することからCCR4の遺伝子多型についても検討することが望ましいと思われた。

E. 結論

アトピー性皮膚炎感受性に関連するMDCの遺伝子多型を同定した。単球におけるMDC遺伝子発現はLPSにより強く誘導され、グルココルチコイドにより抑制された。今後はDanger signalに関連する分子につき引き続き多型解析をすすめていく。さらに本年度から収集を開始したサンプルを2nd populationとして、Mantel-Haenszel検定を用いて得られた相関の検証を行う予定である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1) 国内	
口頭発表	10件
原著論文による発表	0件
それ以外(レビュー等)の発表	3件
そのうち主なもの	

口頭発表

1. 玉利真由美、広田朝光、原田通成: 中国地区上気道アレルギー研究会 特別講演 アレルギー疾患と感染症 2008年2月 リーガロイヤルホテル広島

2. 玉利真由美、広田朝光、原田通成: 第26回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会 スポンサードレクチャー 遺伝子多型を用いたアレルギー疾患の病態解析 2008年2月 大阪、ホテル阪神

3. 玉利真由美、広田朝光、原田通成: 日本アレルギー協会 アレルギー研修会2008トピックス アレルギー関連遺伝子研究と創薬 2008年3月 市ヶ谷私学会館

4. 第20回日本アレルギー学会春季臨床大会 2008年6月

(1) シンポジウム3 ウイルス感染とアレルギー TSLP遺伝子多型とウイルス感染による気管支喘息発症への関与機構 原田通成、広田朝光、玉利真由美

(2) シンポジウム9 アレルギー疾患の遺伝子と分子生物学 遺伝子多型を用いた病態解析(気管支喘息を中心に)玉利真由美、原田通成、広田朝光

5. 玉利真由美 原田通成 広田朝光 第8回喘息Early Intervention研究会 遺伝子多型-最近の話題 2008年6月 東京ドームホテル

6. 玉利真由美 原田通成 広田朝光 第73回日本インターフェロン・サイトカイン学会学術集会/第19回日本生体防御学会学術総会/第45回補体シンポジウム シンポジウム6 自然免疫と臨床疾患 II 成人気管支喘息重症度とIL-18遺伝子多型の相関解析 2008年7月 北海道大学学術交流会館

7. 玉利真由美 原田通成 広田朝光 日本薬学会東海支部 特別講演 アレルギー体質の研究 遺伝子多型を用いたアレルギー疾患の病態解析 適切な薬剤選択をめざして 2008年7月 岐阜薬科大学 大学院講義室

8. 第53回日本人類遺伝学会 2008年9月 パシフィコ横浜

一般演題 24. 多型(多因子病)

(1) IL-18遺伝子多型の成人気管支喘息における相関解析

玉利真由美、原田通成、広田朝光、人見祐基

9. 玉利真由美、原田通成、広田朝光、人見祐基 第9回愛宕小児アレルギー研究会 2008年10月 東京慈恵会医科大学 感染症と気管支喘息、遺伝素因との関連

10. 第58回日本アレルギー学会秋季学術大会 2008年

11月 東京国際フォーラム

(1) 教育講演 8 気管支喘息の病態と自然免疫関連遺伝子 玉利真由美、原田通成、広田朝光、人見祐基

(2) 特別シンポジウム アレルギー疾患に関連する遺伝子の解明 SS5-4 遺伝子多型を用いたアレルギー疾患の病態解析 玉利真由美、原田通成、広田朝光、人見祐基

それ以外(レビュー等)の発表

1. 玉利真由美、広田朝光、原田通成: 小児気管支喘息の遺伝子多型. 喘息, 21:35-39, 2008.

2. 玉利真由美 ゲノム医学の進歩とアレルギー疾患の解明 アレルギー免疫, 15:881-883, 2008.

2) 海外

口頭発表 2件

原著論文による発表 8件

それ以外(レビュー等)の発表 2件

そのうち主なもの

口頭発表

23. ATS 2008 The American Thoracic Society's International Conference,

Poster Discussion Session, [C101] GENETIC ASSOCIATION AND NOVEL POLYMORPHISMS IN CHILDHOOD AND ADULT OBSTRUCTIVE LUNG DISEASES.

2008年3月 Metro Toronto Convention Centre

(1) Functional SNP in Promoter of TSLP Gene Is Associated with Susceptibility to Childhood Atopic Asthma, Harada M, Hirota T, Jodo AI, Ziegler SF, Tamari M.

(2) Polymorphisms in the IL-18 Gene Are Associated with Severity of Adult Asthma, Tamari M, Harada M, Hirota T, Miyatake A, Fujita K, Nakanishi K, Yoshimoto T, Nakamura Y.

論文発表

原著論文による発表

1. Wakahara K, Tanaka H, Takahashi G, Tamari M, Nasu R, Toyohara T, Takano H, Saito S, Inagaki N, Shimokata K, Nagai H. Repeated instillations of Dermatophagoides farinae into the airways can induce Th2-dependent airway hyperresponsiveness, eosinophilia and remodeling in mice Effect of intratracheal treatment of fluticasone propionate. Eur J Pharmacol. 2008; 578: 87-96.

2. Hirota T, Harada M, Sakashita M, Doi S, Miyatake A, Fujita K, Enomoto T, Ebisawa M, Yoshihara S, Noguchi

E, Saito H, Nakamura Y, Tamari M. Genetic polymorphism regulating ORM1-like 3 (*Saccharomyces cerevisiae*) expression is associated with childhood atopic asthma in a Japanese population. *J Allergy Clin Immunol*. 2008; 121: 769-770.

3. Hirose I, Tanaka H, Takahashi G, Wakahara K, Tamari M, Sakamoto T, Kojima S, Inagaki N, Nagai H. Immunomodulatory effects of CpG oligodeoxynucleotides on house dust mite-induced airway inflammation in mice. *Int Arch Allergy Immunol*. 2008;147:6-16.

4. Enomoto H, Hirata K, Otsuka K, Kawai T, Takahashi T, Hirota T, Suzuki Y, Tamari M, Otsuka F, Fujieda S, Arinami T, Noguchi E. Filaggrin null mutations are associated with atopic dermatitis and elevated levels of IgE in the Japanese population: a family and case-control study. *J Hum Genet*. 2008;53:615-21.

5. Inoue H, Mashimo Y, Funamizu M, Shimojo N, Hasegawa K, Hirota T, Doi S, Kameda M, Miyatake A, Kohno Y, Okamoto Y, Tamari M, Hata A, Suzuki Y. Association study of the C3 gene with adult and childhood asthma. *J Hum Genet*. 2008;53:728-38.

6. Sakashita M, Yoshimoto T, Hirota T, Harada M, Ohkubo K, Osawa Y, Fujieda S, Nakamura Y, Yasuda K, Nakanishi K, Tamari M. Association of serum IL-33 level and the IL-33 genetic variant with Japanese cedar pollinosis. *Clin Exp Allergy* 2008;38:1875-1881.

7. Harada M, Hirota T, Jodo AI, Doi S, Kameda M, Fujita K, Miyatake A, Enomoto T, Noguchi E, Yoshihara S, Ebisawa M, Saito H, Matsumoto K, Nakamura Y, Ziegler SF, Tamari M. Functional analysis of the polymorphisms of the TSLP gene in human bronchial epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol*. in press

8. Shimokawa N, Nishiyama C, Hirota T, Tamari M, Hara M, Ikeda S, Okumura K, Ogawa H. Functional analysis of a polymorphism in the promoter region of the IL-12/23p40 gene. *Clin Exp Allergy* in press

それ以外(レビュー等)の発表

1. Matsumoto K, Tamari M, Saito H. Involvement of eosinophils in the onset of asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2008; 121: 26-27.

2. Tamari M, Harada M, Hirota T, Nakamura Y. Host defense molecular mechanisms against *Chlamydomonas pneumoniae* and genetic studies of immune-response-related genes in asthma. *Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery* 2009;3:17-25.

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 特になし

研究要旨 日本人のアトピー性皮膚炎の全ゲノム連鎖解析により新規疾患感受性遺伝子を同定することを目的とし、家系および独立した症例対照研究による関連解析を行った。疾患感受性遺伝子としてSMAD3が同定され、マウスモデルにおいても疾患皮膚において発現低下が認められた。アトピー性皮膚炎発症にSMAD3がどのように関与しているかについて今後研究を進める予定である。

A. 研究目的

アトピー性皮膚炎の罹患率は5-10%であり、その病態の解明と治療法の開発は医療および経済的に急務の課題である。本研究では日本人のアトピー性皮膚炎の全ゲノム連鎖解析により新規疾患感受性遺伝子を同定することを目的とする。

B. 研究方法

対象者は筑波大学皮膚科および関連病院のアトピー性皮膚炎患者とその家族で、口頭および文書によりインフォームドコンセントを取得した患者を対象とした。イルミナタイピングシステムを使用した77家系111罹患同胞対287人の全ゲノム連鎖解析により同定された15番連鎖領域についてさらに111家系384人のDNAを使用し遺伝マーカーを115個追加し、デンスマッピングを行った。関連が認められたSNPについてさらに独立した症例対照研究(症例380名、対照744名、理化学研究所玉利真由美先生との共同研究)により関連を検討した。さらにNC/Ngaマウスを用いたアトピー性皮膚炎モデルマウスを用いてSmad3の遺伝子発現について検討した。

(倫理面への配慮)

本研究の検体提供者にはすべて文書および口頭により説明し、書面によるインフォームドコンセントを得られた検体のみ解析に使用した。本研究は当該施設における倫理委員会の承認を得た上で行われている。

C. 研究結果

デンスマッピングで関連が認められた4SNPについて独立した症例対照研究で追認を行ったところSMAD3のイントロンに存在する多型とアトピー性皮膚炎との関連が認められた(P=0.024, Odds ratio 1.41, 95%CI 1.05-1.91)。さらにIgE高値(>250IU/ml)のアトピー性皮膚炎との関連を検討したところさらに強い関連(P=0.008, Odds ratio 1.52, 95%CI 1.11-2.09)が認められた。アトピー性皮膚炎モデルマウスにおいて、病変部位のSmad3の遺伝子発現量はコントロール群と比較して低下しており、ヒトにおけるアトピー性皮膚炎の所見(Gambichler T et al., J Dermatol Sci, 2006)と一致していた。

D. 考察

SMAD3の遺伝子多型とアトピー性皮膚炎発症との関連が認められた。SMAD3はTGF-βシグナルに関連する遺伝子であり、Smad3ノックアウトマウスでは、皮膚の創傷治癒の促進や、表皮細胞の増殖や遊走パターンが変化すると報告がある。現在、関連の認められた多型がSMAD3発現量に与える影響について解析を行っている。

E. 結論

家系および症例対照研究により、SMAD3の遺伝子多型とアトピー性皮膚炎との関連が認められた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Nishioka T, Uchida K, Meno K, Ishii T, Aoki T, Imada Y, Makino Y, Hirata K, Matsumoto Y, Arinami T, Noguchi E: Alpha-1-antitrypsin and complement component C7 are involved in asthma exacerbation. Proteomics Clin Appl 2008, 2:46-54.

Enomoto H, Hirata K, Otsuka K, Kawai T, Takahashi T, Hirota T, Suzuki Y, Tamari M, Otsuka F, Fujieda S, Arinami T, Noguchi E: Filaggrin null mutations are associated with atopic dermatitis and elevated levels of IgE in the Japanese population, family and case-control study. J Hum Genet 2008. J Hum Genet. 2008;53:615-21

Aoki T, Matsumoto Y, Hirata K, Ochiai K, Okada M, Ichikawa K, Shibasaki M, Arinami T, Sumazaki R, Noguchi E: Expression profiling of genes related to asthma exacerbations. Clin Exp Allergy 2009 in press

2. 学会発表

榎本久子, 大塚健太, 河合利春, 広田朝光, 鈴木洋一, 玉利真由美, 藤枝重治, 有波忠雄, 野口恵美子. 日本人アトピー性皮膚炎とフィラグリン遺伝子変異との関連. 第58回日本アレルギー学会秋季学術大会 2008

年11月 東京 2008.

大塚健太, 榎本久子, 広田朝光, 玉利真由美, 有波忠雄, 野口恵美子. 全ゲノム連鎖解析によるアトピー性皮膚炎疾患感受性遺伝子の機能解析 第58回日本アレルギー学会秋季学術大会 2008年11月 東京 2008.

H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得 2. 実用新案登録
該当なし

アトピー性皮膚炎のかゆみの解明と治療の標準化に関する研究

研究分担者 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 竹内 聡(同助教)、城戸真希子(同助教)、江崎仁一¹、吉村映里²(同医員)、藤本 学³(金沢大学皮膚科)、羽白 誠⁴(大阪警察病院皮膚科部長)、秋山一男⁵、中澤卓也⁵(国立病院機構相模原病院臨床研究センター)、幸野 健⁶(関西労災病院皮膚科)、林 純、古庄憲浩(九州大学大学院感染環境医学分野)、玉利真由美、広田朝光、(理化学研究所ゲノム医科学研究センター)、天谷雅行、海老原 全(慶應義塾大学医学部皮膚科学)、工藤 純、佐々木 貴史(慶應義塾大学医学部分子生物学)、佐伯秀久(東京大学医学部皮膚科)、野口恵美子(筑波大学大学院人間総合科学研究科遺伝医学)

アトピー性皮膚炎の治療の標準化と普及のため、1)最新のEBMに基づいた治療法や副作用、合併症等をまとめ、2004年に公表したアトピーのEBM治療のホームページのアップデートを行う。また、臨床で大きな問題となるかゆみと皮膚炎の関連の解明とその制御を目的として、2)アトピーモデルマウスや臨床研究、さらに3)遺伝子解析研究からアトピーのかゆみと皮膚炎発症のメカニズム探索を行う。

A. 研究目的

1)これまで、平成14-16年度(2002-2004年度)の厚生労働省研究班(古江班)「アトピー性皮膚炎の既存治療法のEBMによる評価と有用な治療法の普及」においては、2003年までの国内外の発表論文を基に有効性と安全性を評価されている。そこで今回は、これらの内担当分の「漢方薬」、「合併症」、「シクロスポリン内服療法」、「心身医学療法」、「環境アレルゲン」、「総合的なEBM評価表・評価法」について、2010年度版のアトピー性皮膚炎治療EBMとしてのアップデートを行う目的で2009年9月までに発表された国内外の論文を検索し、検討、評価する。

2)アトピー性皮膚炎の慢性皮膚病変部においては、表皮内知覚神経侵入・伸長とその執拗な痒みとの関連が指摘されている。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。我々はこれまでに、ハプテン誘発性の慢性皮膚炎モデルにおいて、MAPK/ERK kinase1/2 (MEK1/2)阻害剤のひとつであるCX695Sが、FK506と同程度に表皮内神経伸長は抑制する一方、FK506とは異なり搔破行動の抑制はしないことを確認した。そこで、CX695Sの搔破行動に対する効果を、NC/Nga マウスなど別のアトピーモデルを用いて検証したい。

3)アトピー性皮膚炎の有病率は上昇しており、現在、社会問題化している。本疾患の解明は未だ進んでおらず、分子生物学的アプローチを含めた、幅広い視点に立った病因の解明と新規治療薬の開発が切望されている。わが国でもIgE産生能や気道過敏性に関する候補遺伝子や、最近ではフィラグリン遺伝子の点突然変異が高率

に発見されるなどの報告がされつつあるが、未だ疾患を包括的に説明する決定的なものはない。

我々はこれまでに、平成13年度から沖縄県石垣島の乳幼児のコホート研究による集団検診と採血による血液データの解析を開始しているが、初年度は0-6歳(平均3.1歳)の乳幼児565例のアトピー性皮膚炎の頻度と採血によるIgE値を測定し、さらに種々のアンケートを行ってきた。最近、日本人がSNPタイピングにより大きくRyukyuとHondoクラスターの2つに分けられることが判明した。石垣島のコホート研究で得られた成果すなわち様々な臨床的アトピー関連因子や数々の候補遺伝子群やまた将来的にそれらを元にした病因の解明・新規治療などが、日本人に広く応用可能であるかどうかを検討するには、同様の調査、研究を本邦の石垣島地域外に於いても実施し、その有意性を検証する必要がある。本研究では北部九州、東京圏において得られる結果を、石垣スタディの結果と比較・検討したい。

B. 研究方法

1)アトピー性皮膚炎(atopic dermatitis)それぞれの関連キーワードを組み合わせて、2004-2008年のPubMed(Medline)および医学中央雑誌(医中誌)による検索を行い、臨床効果・副作用等に関する論文を原則的にランダム化比較試験、システムティックレビュー、ケースコントロール試験、コホート研究を対照として内容を検討した。また、一部項目で、該当がないか、少ないものに関してはオープン試験やまとまった数の症例報告も参考として取り上げた。

2)NC/Ngaマウスの剃毛した背部と耳に、精製ダニ抗原を週に2回、4週間塗布して皮膚炎を形成させた。また、比較対照として、従来用いていたハプテン(PiCl)を週3回、別のNC/Ngaマウス群に外用した。ともに4週間後に、搔破行動、皮膚炎の状態、組織像等を比較検討した。

3)九州大学病院皮膚科、同総合診療部、慶応義塾大学病院皮膚科、東京大学にてアトピー性皮膚炎患者、健康者各1000人を目標に血液検体、アンケート調査票、ゲノムタイピングの結果を用いて解析する。

(倫理面への配慮)

1)は既に公表された論文報告を基に研究をするため、問題は生じないと考える。2)の動物実験プロトコールは前研究より九大動物実験IRBにて承認済みである。3)は平成20年6月23日付けで九州大学ヒトゲノム・遺伝子解析倫理審査専門委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

1). H20年9月までの論文検索で、a) 合併症:カポジ水痘様発疹症:PubMed(4件)、医中誌(4件)、伝染性軟属腫:PubMed(22件を適否調査中)、医中誌(0件)、細菌感染症:PubMed(151件を調査中)、医中誌(8件)、白内障:PubMed(7件)、医中誌(3件)、b) 漢方療法:ランダム化比較試験が2件、症例集積研究が7件(それぞれ30例、94例、10例、65例、65例、22例、14例規模)、c) シクロスポリン内服療法:ランダム化比較試験1件、後ろ向きコホート(1件)、d) 心身医学療法:ランダム化比較試験(1件)、システマティックレビュー(1件)他、基礎研究(1件)、病態・性格の状態評価(7件)、総説(5件)、e) 環境アレルゲン:該当したクリニカルトライアル29件が該当し、EBMレベルを解析中、f) オックスフォード大 EBM センターのエビデンスレベル分類・評価に準拠している妥当性に関して考察した。

2) NC/Nga マウスでの1ヶ月間の精製ダニ抗原塗布による「皮膚炎の発症率」は、今回の施行では全数(5/5)であった。また、ハブテン塗布による皮膚炎発症はやはり全数で確認された。「搔破行動」では、塗布開始後、第1,2週目まではダニ抗原誘発群とハブテン誘発群とで差はみられなかったが、第3,4週目ではダニ誘発群でより目立ち、第3週では有意に多かった。「耳介腫脹反応」については、第1~4週の全てで有意にダニ抗原誘発群の方が低かった。また、「耳介の痂皮」スコアは開始後第2,3週で有意差が認められたものの、第4週ではハブテン誘発群とほぼ同等となり、有意差はなくなった。第4週後の背部皮膚炎惹起部の組織学的解析では、ダニ抗原誘発群とハブテン誘発群は同等の「炎症細胞浸潤」を示し、いずれも無処置の陰性対照群(C57BL/6マウス)より有意に高かった。また、同様に真皮の「肥満細胞数」に関してもダニ抗原誘発群とハブテン誘発群は同等で、無処置の陰性対照群より有意に高かった。

3) 本研究用に「医師調査票」とISSAC13-14をと総合診療部調査票を元にした「患者アンケート票」を作成した。現在上記施設にて、倫理委員会での承認

申請中、又は調査・血液サンプル取得中である。

D. 考察

1)現在、国内外の報告を収集するため、PubMed、医中誌を中心に、様々な方法で検索されているが、今後のアップデートも考慮すると、具体的な検索式やデータベースの明示、確認が重要になってくるだろう。

2)今回、精製ダニ抗原塗布をもちいてアトピー性皮膚炎モデルのNC/Ngaマウスに皮膚炎を発症させ、ハブテンを用いた同マウスの慢性皮膚炎モデルと比較した。耳介腫脹反応や表面的に観察される皮膚炎に関しては、ハブテン誘発群で弱い傾向にあったものの、搔破行動や組織学的な炎症細胞浸潤に関しては両群で同等であった。耳介腫脹反応は組織学的には真皮の浮腫や、炎症による抗原線維のリモデリングが関係すると考えられ、ハブテン誘発皮膚炎ではこれらを誘導しやすいと考えられた。

3) 現在までに、九州大学病院皮膚科にて58名の調査・サンプル採取が終了したが、予想より遅れている。

E. 結論

1)被検索論文の十分な検討に加え、今後発表の形式も含め、検索対照・方法、日・英語以外の論文対応など(英文抄録による評価)などの明示化を図りたい。

2)搔破行動や関連すると思われる皮膚の炎症細胞浸潤が同程度であることから、精製ダニ抗原を用いたNC/Ngaマウス皮膚炎モデルは、同ハブテン誘発モデルと共に、潜在的抗かゆみ薬剤の試験系として適当であろうと思われた。

3)今後、参加施設の像数や院内での掲示など、より積極的な働きかけをして研究を進めたい。

F. 健康危険情報

1)~3)特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

総説

古江増隆、林田清芽. 皮膚アレルギー疾患としてのアトピー性皮膚炎、アレルギー・免疫 15:492-500,2008

古江増隆、乾癬の治療—ステロイド外用薬—、医薬の門 48:167-171, 2008

服部 瑛、古江増隆、秀 道弘、岩井雅彦、岡田就将、学校におけるアレルギー疾患の管理と支援;今後の具体的な取り組みの方向を探る—皮膚科医の立場から—、日本医師会雑誌 137:45-48,2008

竹内聡、古江増隆. アトピー性皮膚炎の最新治療研究

「アトピー性皮膚炎とかゆみ」. アレルギーの臨床 2008年12月号

竹内聡,古江増隆. 樹状細胞とアレルギー . 2. 樹状細胞はどこから来たか.皮膚アレルギーフロンティア 2008年11月号

竹内聡,古江増隆. アトピー性皮膚炎における適切な治療と患者説明 Updates and Patient Counseling in the Treatment of Atopic Dermatitis PTM 7 (1), 2008

竹内聡,古江増隆. アトピー性皮膚炎のかゆみについて Kyushu Kyohkai News vol. 13, 10-11

内博史. 樹状細胞と接触性皮膚炎 皮膚アレルギーフロンティア 2008;6:177-182.

内博史. 乳幼児アトピー性皮膚炎と食物アレルギーについて インフォアラジ 2008;44:5.

内博史. 乳幼児アトピー性皮膚炎と食物アレルギー 臨床免疫・アレルギー科 2008;49:549-556.

原著

Fukiwake N, Furusyo N, Takeoka H, Toyoda K, Kubo N, Kido M, Hayashida S, Uchi H, Moroi Y, Urabe K, Kinukawa N, Nose Y, Hayashi J, Furue M. Association factors for atopic dermatitis in nursery school children in Ishigaki islands - Kyushu University Ishigaki Atopic Dermatitis Study (KIDS). Eur J Dermatol. 2008 Sep-Oct;18(5):571-574.

Kobayashi H, Ishii M, Takeuchi S, Tanaka Y, Shintani T, Yamatodani A, Kusunoki T, Furue M. Efficacy and Safety of a Traditional Herbal Medicine, Hochu-ekki-to in the Long-term Management of Kikyo (Delicate Constitution) Patients with Atopic Dermatitis: A 6-month, Multicenter, Double-blind, Randomized, Placebo-controlled Study.

Evid Based Complement Alternat Med. 2008 [Epub ahead of print]

Hachisuka J, Takeuchi S, Kido M, Fukiwake N, Furue M. Severity of disease, rather than xerosis, correlates with pruritus in patients with atopic dermatitis. Accepted for publication in Int J Dermatol. 2008

濱田 学, 行徳隆裕, 佐藤さおり, 松田哲男, 松田知子, 絹川直子, 古江増隆, アトピー性皮膚炎患者におけるツバキ油スプレーの安全性及び有用性の検討, 西日本皮膚科 70:213-218,2008

谷岡未樹, 宮地良樹, 相場節也, 菊池克子, 石川 治, 永井弥生, 照井 正, 清水秀直, 伊藤正俊, 関東裕美, 松永佳世子, 矢上昌子, 片山一朗, 乾 重樹, 石井正光, 小林裕美, 加藤敦子, 古江増隆, 吹譯紀子, 今山修平, 鈴木裕美子:アトピー性皮膚炎または接触皮膚炎の既往のある女性を対象とした敏感肌用スキンケア化粧品の使用試験, 皮膚の科学 7:263-273,2008

林田清芽, 細川知聡, 蜂須賀淳一, 城戸真希子, 吹譯紀子, 深川修司, 師井洋一, 古部和敬, 古庄憲浩, 林 純, 古

江増隆. 手足の色素性母斑の有病率と消失率-石垣島での乳幼児追跡調査- 日皮会誌 118:37-42, 2008

大場純奈, 竹内聡, 城戸真希子, 蜂須賀淳一, 細川知聡, 大日輝記, 古江増隆. アトピー性皮膚炎患者はかゆみをどう感じているか? -九州大学病院皮膚科におけるアンケート調査- Accepted for publication in Nishi Nihon Hifuka. 2008

細川知聡, 濱田美奈子, 内博史, 師井洋一, 古江増隆. アトピー性皮膚炎患者におけるボディタオルの使用感についての研究 西日本皮膚科 70 巻 4 号, 442-444

2. 学会発表

Uchi H, Hayashida S, Furusyo N, Hayashi J, Furue M. A Population-based Cohort Study of Childhood AD in Ishigaki Island 5th International Dermato-Epidemiology Association Congress Nottingham, UK, 2008/9/7-9

Uchi H, Furue M. Prevalence of atopic dermatitis and serum IgE in Yusho patients International Conference on Environmental Hormones and Health Effects Taipei, Taiwan, 2008/12/5-6

Uchi H, Furue M. Incidence of childhood AD in Japan 5th George Rejka International Symposium on Atopic Dermatitis Kyoto, 2008/5/11-13

Kido M, Takeuchi S, Furue M. Significance of interleukin-27 in the skin inflammation in MRL/lpr mice International Investigative Dermatology 2008, Kyoto, 2008/5/14-17

Kido M, Takeuchi S, Hayashida S, Furue M. Inhibiting epidermal nerve elongation is not sufficient for controlling itch/scratching in chronic dermatitis using repetitive haptan painting 5th Georg Rajka International Symposium on Atopic Dermatitis, Kyoto, 2008/5/11-13

Hayashida S, Uchi H, moroi Y, Furue M. Analysis of chemokine receptors on peripheral memory CD4+ T cells from patients with eosinophilia. International Investigative Dermatology 2008 Meeting. 2008/5/14-17

Hayashida S, Uchi H, moroi Y, Furue M. Negative correlation between the frequency of IL-17-producing CD4+ T cells and eosinophils in the peripheral blood. 第10回国際樹状細胞学会 2008/10/1-5

市民公開講座 アトピー性皮膚炎と上手に向き合うために, 福岡, 日刊スポーツ新聞社主催, 2008年2月23日

古江増隆. アトピー相談会(福岡市共催) 2008/3/11

古江増隆. ランチョンセミナー 日本皮膚科学会アトピー性皮膚炎診療ガイドラインについて, 日本皮膚科学会第346回福岡地方会, 2008/9/28

古江増隆. アトピー性皮膚炎の経年像とそのインターベンション 日本アレルギー協会東北支部学術講演会

2008/11/15

古江増隆. 教育講演:アトピー性皮膚炎の治療 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会 2008/11/27-29

古江増隆. アトピー性皮膚炎の自然経過 シンポジウム:アレルギー疾患の自然経過 第 58 回日本アレルギー学会秋季学術大会 2008/11/27-29

竹内聡. テーマ:アトピー性皮膚炎の病態と検査値の関わり シスメックスウィンターフォーラム福岡 2008 2008/12/8 福岡国際会議場

竹内聡,古江増隆. かゆみ研究の進歩、アレロック学術講演会 2008/5/30 福岡西鉄グランドホテル

城戸真希子,竹内聡,林田清芽,古江増隆. 表皮内神経伸長の抑制は慢性皮膚炎におけるかゆみのコントロールに十分ではない 第 20 回日本アレルギー学会春季臨床大会、東京、2008/6/12-14

林田清芽,内博史,辻学,蜂須賀淳一,城戸真希子,中原剛,師井洋一,古江増隆. 沖縄県石垣島の保育園児におけるアトピー性皮膚炎の経年的調査-アンケート結果を中心に 第38回日本皮膚アレルギー接触皮膚炎

学会 2008/11/5-7

林田清芽,内博史,師井洋一,古江増隆. 末梢の IL-17 産生 CD4+ T 細胞の比率と末梢の降参球の比率は負の相関がある第38回日本皮膚アレルギー接触皮膚炎学会 2008/11/5-7

細川知聡,古江増隆.アトピー性皮膚炎治療におけるプラセボ効果について 第 16 回小児臨床薬理・アレルギー・免疫研究会

(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

アトピー性皮膚炎のかゆみの解明と治療の標準化に関する研究

(担当)「アトピー性皮膚炎の痒みと炎症の機序の解明とアトピー性皮膚炎の疾患感受性遺伝子解析」

研究分担者 林 純 (九州大学大学院感染環境医学分野)
研究協力者 古庄憲浩 (同感染環境医学分野准教授)、古江増隆 (九州大学大学院医学研究院皮膚科学教授)、竹内聡 (同皮膚科助教)、玉利真由美、広田朝光、(理化学研究所ゲノム医科学研究センター)、天谷雅行、海老原全 (慶應義塾大学医学部皮膚科学)、工藤 純、佐々木貴史 (慶應義塾大学医学部分子生物学)、佐伯秀久 (東京大学医学部皮膚科)、野口恵美子 (筑波大学大学院人間総合科学研究科遺伝医学)

これまでの多大な研究にもかかわらず、アトピー性皮膚炎は増加傾向にあり、その発症や難治化を来す“痒み”の詳細なメカニズムは未だ不明である。様々な遺伝学的方法論を用いた疾患の遺伝子解析では、既存の知見にとられず全く新規の重要な疾患候補遺伝子を同定できる可能性が高いので、全国的に十分なサンプル数を集め、これをすすめたい。

A. 研究目的

アトピー性皮膚炎の有病率は上昇しており、現在、社会問題化している。本疾患の解明は未だ進んでおらず、分子生物学的アプローチを含めた、幅広い視点に立った病因の解明と新規治療薬の開発が切望されている。わが国でも IgE 産生能や気道過敏性に関する候補遺伝子や、最近ではフィラグリン遺伝子の転突然変異が高率に発見されるなどの報告がされつつあるが、未だ疾患を包括的に説明する決定的なものはない。その原因として、本疾患が環境因子に強く左右される面をもち、従来の解析方法がこれを排除できない方法論で、候補遺伝子としては正確性を欠いていたためである。より正確な候補遺伝子の探索のためには、人口移動のなるべく少ない、ある地域に生活する集団全体を対照としたコホート解析を行い、症例・対照研究などのデザインを用いた遺伝子解析を組み合わせてより精度の高い候補遺伝子の選定をする必要がある。

我々はこれまでに、平成13年度から沖縄県石垣島の乳幼児の集団検診と採血による血液データの解析を開始しているが、初年度は0-6歳(平均3.1歳)の乳幼児565例において、アトピー性皮膚炎の頻度と採血によるIgE値を測定し、さらに種々の疾患関連アンケートを行ってきた。この検診は毎年継続されており、石垣島の乳幼児コホートの前向き調

査を可能としている。平成15-16年にかけては、アトピー性皮膚炎の重症度マーカーであるTARCの血清値が、アトピー患児での発症、持続、消退などの自然経過と強く関連することを見いだした。さらに、アトピー疾患関連遺伝子の解明を進めるべくこのコホート群における遺伝子解析を行うため、血液サンプルの採取を行っている。

最近、候補遺伝子の所在の同定に非常に重要となるSNPタイピングにおいて、日本人が大きくRyukyu(琉球)クラスターとHondo(本土)クラスターの2つに分けられることが判明した。報告によると本土に於いても行くのかのサブグループに分かれることも示されている。これは、日本人の遺伝的なバックグラウンドの相違を意味するもので、石垣島のコホート群(Ryukyuクラスターに属すると思われる)における追跡調査、血液検査、遺伝子研究などで得られた成果が、日本人において広く解釈・応用可能であるかどうかについては、同様の採血検査、遺伝子調査を本邦の他地域においても同時に実施し、石垣島コホート研究成果の妥当性・有意性を検証する必要がある。先に述べたフィラグリン遺伝子変異において、先に発表されたヨーロッパ圏でのフィラグリン遺伝子変異が、日本人に於いてはほとんど見つからず、その後ようやくフィラグリンの全く別の箇所の遺伝子変異が複数

箇所同定されたことから、慎重な検討を要することは明らかである。

そこで、これまでに得られている石垣島のサンプルに加え、Hondo クラスターの健常対照群として、これまで解析していた福岡市糟屋郡などで得られる非アトピー性皮膚炎、非喘息（現症、既往除く）の健常対象者からの血液サンプル 1000 人分の採取をめざす。

B. 研究方法

九州大学病院総合診療部では、北部九州地域（福岡市糟屋郡など）で得られる非アトピー性皮膚炎、非喘息（現症、既往除く）の健常対象者からの血液サンプル1000人分の採取し、九州大学病医皮膚科、慶応義塾大学病院皮膚科、東京大学医学部附属病院皮膚科にて得られるアトピー性皮膚炎患者、健常者各1000人からの血液サンプルをゲノムタイピングにて比較し、各種血液検査、アンケート調査票の結果を用いて解析する。ゲノムタイピングに関しては、各施設での匿名化後に理化学研究所ゲノム医科学研究センターに送付して、ゲノムの抽出とタイピングを行い、必要に応じて各施設にて関連因子の解析研究を行う。サイズが巨大で、インベーター法などの通常のゲノムタイピングでは解析が困難なフィラグリン遺伝子の変異解析に関しては、慶応義塾大学医学部分子生物学教室にてシーケンスも含めた詳細な解析を行う予定である。また、筑波大学大学院人間総合科学研究科遺伝医学でのアトピー性皮膚炎の罹患同胞対遺伝子解析により得られた解析結果と、本研究で得られる症例・対照研究による解析結果とを比較・検証して、より精度の高い候補遺伝子選定を目指す。

(倫理面への配慮)

本研究は平成 20 年 6 月 23 日付けで九州大学ヒトゲノム・遺伝子解析倫理審査専門委員会の承認済み。

C. 研究結果

本研究用に「医師調査票」とISSAC13-14をと総合診療部調査票を元にした「患者アンケート票」を九州大学皮膚科と共同で作成した。九州大学総合診療部では既に十分な健常コントロールのサンプルを採取している。また、アトピー性皮膚炎患者の血液サンプルは九州大学皮膚科にて58名、東京大学医学部附属病院皮膚科にて55名採取されている。慶応義塾大学病院皮膚科におけるサンプル採取に関しては、現在当該施設の倫理委員会申請中である。

D. 考察

既に収集している健常コントロールのサンプルに関しては、地域的に年齢帯が比較的高いことから、今後得られるAD患者採血サンプルでの被験者の年齢分布を参照しながら、ある程度の年齢マッチングを考慮する必要が出てくるだろうと思われる。また、疾患アンケートより、明らかなアレルギー症状（既往歴含む）を持つものは除外する必要があり、その意味でも、幼少時の既往歴が不明確になりやすい、明らかな高齢者については、除外を検討する必要が出てくる可能性がある。

E. 結論

アトピー性皮膚炎患者のサンプル採取数が当初の予想よりもスローペースであるため、今後は、参加協力施設の追加や、院内待合室での案内経時など、具体的な対策に向けて、九州大学皮膚科を始めとする各サンプル採取施設とも緊密に連絡を取っていく予定である。

F. 健康危険情報

これまでに得られている特段の健康危険情報はない。

G. 研究発表

1. 論文発表

総説

内博史. 乳幼児アトピー性皮膚炎と食物アレルギーについて インフォアラジー 2008;44:5.

内博史. 乳幼児アトピー性皮膚炎と食物アレルギー 臨床免疫・アレルギー科 2008;49:549-556.

原著

Fukiwake N, Furusyo N, Takeoka H, Toyoda K, Kubo N, Kido M, Hayashida S, Uchi H, Moroi Y, Urabe K, Kinukawa N, Nose Y, Hayashi J, Furue M. Association factors for atopic dermatitis in nursery school children in Ishigaki islands - Kyushu University Ishigaki Atopic Dermatitis Study (KIDS). Eur J Dermatol. 2008 Sep-Oct;18(5):571-574.

林田清芽, 細川知聡, 蜂須賀淳一, 城戸真希子, 吹譯紀子, 深川修司, 師井洋一, 占部和敬, 古庄憲浩, 林 純, 古江増隆. 手足の色素性母斑の有病率と消失率-石垣島での乳幼児追跡調査 - 日皮会誌 118:37-42, 2008

2. 学会発表

Uchi H, Hayashida S, Furusyo N, Hayashi J, Furue M. A Population-based Cohort Study of Childhood AD in Ishigaki Island 5th International Dermato-Epidermiology Association Congress Nottingham, UK, 2008/9/7-9

Uchi H, Furue M. Prevalence of atopic dermatitis and serum IgE in Yusho patients International Conference on Environmental Hormones and Health Effects Taipei, Taiwan, 2008/12/5-6

Uchi H, Furue M. Incidence of childhood AD in Japan 5th George Rejka International Symposium on Atopic Dermatitis Kyoto, 2008/5/11-13

古江増隆. 教育講演：アトピー性皮膚炎の治療 第58回日本アレルギー学会秋季学術大会 2008/11/27-29

古江増隆. アトピー性皮膚炎の自然経過 シンポジウム：アレルギー疾患の自然経過 第58回日本アレルギー学会秋季学術大会

2008/11/27-29

竹内聡. テーマ：アトピー性皮膚炎の病態と検査値の関わり シスメックスウィンターフォーラム福岡 2008 2008/12/8 福岡国際会議場

林田清芽, 内博史, 辻学, 蜂須賀淳一, 城戸真希子, 中原剛, 師井洋一, 古江増隆. 沖縄県石垣島の保育園児におけるアトピー性皮膚炎の経年的調査—アンケート結果を中心に 第38回日本皮膚アレルギー接触皮膚炎学会 2008/11/5-7

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

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

「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
Fukiwake N, Furusyo N, Takeoka H, Toyoda K, Kubo N, Kido M, Hayashida S, Uchi H, Moroi Y, Urabe K, Kinukawa N, Nose Y, Hayashi J, Furue M	Association factors for atopic dermatitis in nursery school children in Ishigaki islands - Kyushu University Ishigaki Atopic Dermatitis Study (KIDS)	Eur J Dermatol	18(5)	571-574	2008
Dainichi T, Ueda S, Imayama S, Furue M	Excellent clinical results with a new preparation for chemical peeling in acne: 30% salicylic acid in polyethylene glycol vehicle	Dermatol Surg	34(7)	891-899	2008
Kobayashi H, Ishii M, Takeuchi S, Tanaka Y, Shintani T, Yamatodani A, Kusunoki T, Furue M	Efficacy and Safety of a Traditional Herbal Medicine, Hochu-ekki-to in the Long-term Management of Kikyo (Delicate Constitution) Patients with Atopic Dermatitis: A 6-month, Multicenter, Double-blind, Randomized, Placebo-controlled Study	eCAM		1-7	2008
古江増隆、佐伯秀久、古川福実、秀道広、大槻マミ太郎、中村敏明、佐々木りか子、須藤一、竹原和彦	日本皮膚科学会アトピー性皮膚炎診療ガイドライン	日本皮膚科学会誌	118(3)	325-342	2008

林田清芽、細川知聡、蜂須賀淳一、城戸真希子、吹譚紀子、深川修司、師井洋一、占部和敬、古庄憲浩、林純、古江増隆	手足の色素性母斑の有病率と消失率—石垣島での乳幼児追跡調査—	日本皮膚科学会誌	118(1)	37-42	2008
竹内聡、古江増隆	アトピー性皮膚炎における適切な治療と患者説明 Updates and Patient Counseling in the Treatment of Atopic Dermatitis	PTM	7(1)		2008
竹内聡、古江増隆	樹状細胞とアレルギー 2. 樹状細胞はどこから来たか	皮膚アレルギーフロンティア	6(3)	15-24	2008
高萩俊輔、秀道広	汗で良くなる?悪くなる?皮膚病 アトピー性皮膚炎(汗が関与したと考えられるもの)	Visual Dermatology	7(9)	1002-1003	2008
Kato T, Tsunemi Y, Saeki H, Shibata S, Sekiya T, Nakamura K, Kakinuma T, Kagami S, Fujita H, Tada Y, Sugaya M, Tamaki K	Interferon-18 gene polymorphism -137 G/C is associated with susceptibility to psoriasis vulgaris but not with atopic dermatitis in Japanese patients.	J Dermatol Sci	53(2)	162-163	2009
Shibata S, Saeki H, Tsunemi Y, Kato T, Nakamura K, Kakinuma T, Kagami S, Fujita H, Tada Y, Sugaya M, Tamaki K	IL-17F single nucleotide polymorphism is not associated with Psoriasis vulgaris or atopic dermatitis in the Japanese population.	J Dermatol Sci	53(2)	163-165	2009
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(8)	2062-2065	2007
Nishi N, Yamamoto S, Ouw, Muro E, Inada Y, Hamasaki Y	Enhanced CCL26 production by IL-4 through IFN-gamma-induced upregulation of type 1 IL-4 receptor in keratinocytes	Biochem Biophys Res Commun	376(1)	234-240	2008

Noriko FUKIWAKE¹
 Norihiro FURUSYO^{2,3}
 Hiroaki TAKEOKA^{2,3}
 Kazuhiro TOYODA^{2,3}
 Norihiko KUBO^{2,3}
 Makiko KIDO³
 Sayaka HAYASHIDA³
 Hiroshi UCHI³
 Yoichi MOROI³
 Kazunori URABE³
 Naoko KINUKAWA⁴
 Yoshiaki NOSE⁵
 Jun HAYASHI^{2,3}
 Masutaka FURUE¹

¹ Department of Dermatology,
 Kyushu University Hospital,
 Maidashi 3-1-1, Higashiku, 812-8582,
 Fukuoka, Japan

² Department of General Medicine,
 Kyushu University Hospital,
 Maidashi 3-1-1, Higashiku, 812-8582,
 Fukuoka, Japan

³ Department of Environmental Medicine
 and Infectious Disease, Faculty of Medical
 Sciences, Kyushu University,
 Maidashi 3-1-1, Higashiku, 812-8582,
 Fukuoka, Japan

⁴ Department of Medical Information
 Science, Kyushu University Hospital,
 Maidashi 3-1-1, Higashiku, 812-8582,
 Fukuoka, Japan

⁵ Department of Medical Information
 Science, Graduate School of Medical
 Science, Kyushu University,
 Maidashi 3-1-1, Higashiku, 812-8582,
 Fukuoka, Japan

Reprints: M. Furue
 <furue@dermatol.med.kyushu-u.ac.jp>

Article accepted on 30/4/2008

Atopic dermatitis (AD) is a common and chronic inflammatory skin disease that is characterized by relapsing itch and eczema [1]. AD is considered to be a multifactorial disease, and both genetic and environmental factors are involved in its etiology [2, 3]. Although the prevalence and risk factors for AD have been the source of many studies, very few population-based epidemiological studies assessing related factors for AD or allergic disorders among children aged 6 years and under have been published [4-8]. We established the prevalence of AD and serum total and specific IgE levels among children in Ishigaki Island, Okinawa, Japan, in 2001 [9, 10]. In the present study, we evaluated the associated factors for AD on the same island by physical examination of the skin and a questionnaire for family and past history.

Abbreviations:

AD atopic dermatitis
 FA food allergy

Association factors for atopic dermatitis in nursery school children in Ishigaki islands – Kyushu University Ishigaki Atopic Dermatitis Study (KIDS)

Atopic dermatitis (AD) is a multifactorial disease that usually decreases the quality of life of affected patients. The purpose of this study was to evaluate the associated factors for atopic dermatitis, asthma, rhinitis, and food allergy by physical examination of the skin and a questionnaire in nursery school children in Ishigaki Island, Okinawa, Japan. Enrolled in this study were 460 children from 0 to 6 years of age. Physical examination of skin symptoms and blood tests were performed. Information on past history and family history of atopic dermatitis, asthma, rhinitis, and food allergy were collected by questionnaire. The prevalence of atopic dermatitis was 12.2% (56/460). The cumulative prevalence of asthma, rhinitis, and food allergy was 19.9% (91/458), 3.3% (15/457), and 5.5% (25/456), respectively. In multivariate analysis, maternal history of rhinitis, atopic dermatitis siblings, past history of asthma and food allergy, and elevation of total IgE were significantly related to atopic dermatitis. A high total IgE level was a strong risk factor specific for atopic dermatitis in this population.

Key words: atopic dermatitis, epidemiology, immunoglobulin E, questionnaire, risk factor

Methods

Study population

We performed physical examinations of children in 11 nursery schools in Ishigaki Island, Okinawa, Japan in 2004. The climate of Ishigaki is subtropical, and the average temperature and humidity are 25.4 °C and 76%, respectively. Enrolled were 460 children aged 6 years or younger. Written informed consent allowing the children to participate in the study was obtained from parents or guardians. Approval for the study was obtained from the Ethics Committee of Kyushu University Hospital as well as from the directors and classroom teachers of the schools.

Physical and laboratory examinations

Medical examinations of all children were carried out by three dermatologists from the Department of Dermatology, Kyushu University Hospital. AD was diagnosed according to the Japanese Dermatological Association criteria [11]. All children were tested for total and specific IgE antibody

ies. Total IgE levels were determined by a radioimmunoassay with a detection limit of 20 IU/mL (Shionoria IgE, Shionogi & Co., Ltd. Osaka, Japan). A total IgE level > 230 IU/mL was considered abnormal for the purpose of statistical analysis. Specific IgE antibodies against aeroallergens, such as house dust, *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, and food allergens, such as chicken egg white and cow's milk, were tested with the Pharmacia Enzyme CAP procedure (Pharmacia CAP System Specific IgE FEIA, Pharmacia Diagnostics AB, Uppsala, Sweden). A level of specific IgE antibodies > 0.34 IU/mL was regarded as abnormal. Family history and the subject's history of AD, asthma, rhinitis and Food allergy (FA) or antibiotic use in infancy were assessed in the questionnaire answered by parents or guardians of the children.

Definition of groups

The AD group consists of those who were diagnosed as having AD at the physical examination. Asthma, rhinitis, and FA groups were comprised of children with a history of these disorders. Pupils who had displayed adverse effects by suspicious food intake were diagnosed as FA.

Statistical analysis

To compare related factors between subjects with and without each allergic disorder, the chi-square test was used. Of the 460 children, data from the 360 who had no missing blood samples and answers on the questionnaires were subjected to multivariate analysis. Stepwise logistic regression analysis adjusting for age was used. P value < 0.05 was considered statistically significant.

Results

Prevalence of AD and other allergic disorders

The prevalence of AD was 12.2% (confidence limits: 9.3-15.5) (56/460). The prevalence of asthma, rhinitis and FA was 19.9% (16.3-23.8) (91/458), 3.3% (1.9-5.4) (15/457), and 5.5% (3.6-8.0) (25/456), respectively.

Associated factors for AD and other allergic disorders

Family history, personal history, and antibiotic use

Univariate analysis by chi-square test revealed that siblings having AD and rhinitis and past history of asthma and FA had association for AD, but parental AD history was not related (table 1).

Total and specific IgE

Serum total IgE and specific IgEs for house dust, *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, and chicken egg white were significantly related to the AD and FA groups, and except chicken egg white in the rhinitis group. However, no relation between IgE levels and asthma was observed (table 2).

Multivariate analysis

Multivariate analysis by stepwise logistic regression analysis revealed that for AD, maternal history of rhinitis, having AD siblings, past history of asthma and FA, and elevation of total IgE were significant associated factors; past history of FA had the highest odds ratio. Maternal and siblings' asthma, past history of AD, and antibiotic use in the first year of life were associated factors for asthma. For rhinitis, only maternal asthma and elevation of specific IgE for

Table 1. Associated factors of atopic dermatitis with family and past history

	AD		p value
	Positive No. (%)		
	+(n = 56)	-(n = 404)	
Family history			
Paternal			
AD	3 (6.4)	12 (3.1)	NS
Asthma	3 (6.4)	24 (6.1)	NS
Rhinitis	9 (19.1)	51 (13.0)	NS
Maternal			
AD	3 (5.4)	19 (4.8)	NS
Asthma	7 (12.5)	32 (8.0)	NS
Rhinitis	13 (23.2)	54 (13.5)	NS
Siblings			
AD	13 (24.1)	22 (5.7)	0.0000
Asthma	10 (18.5)	50 (13.1)	NS
Rhinitis	9 (16.7)	25 (6.5)	0.0197
Personal history			
AD			
AD	25 (44.9)	66 (16.4)	0.0000
Rhinitis	3 (5.4)	12 (3.0)	NS
FA	11 (19.6)	14 (3.5)	0.0000
Antibiotic use			
In first 2 months of life	3 (5.5)	18 (4.7)	NS
In first year of life	27 (48.2)	162 (41.8)	NS

NS: not significant; AD: atopic dermatitis, FA: food allergy.

Table 2. Relation of serum IgE level with atopic dermatitis and other disorders

	AD			Asthma			Rhinitis			FA		
	Positive No. (%)		p value	Positive No. (%)		p value	Positive No. (%)		p value	Positive No. (%)		p value
	+(n = 56)	-(n = 404)		+(n = 91)	-(n = 367)		+(n = 15)	-(n = 442)		+(n = 25)	-(n = 431)	
Serum total IgE	24 (45.3)	67 (17.2)	<0.0001	22 (25.6)	68 (19.1)	NS	8 (57.1)	83 (19.5)	0.0020	11 (44.0)	79 (19.0)	0.0058
Specific IgE												
House dust	28 (52.8)	121 (32.4)	0.0058	34 (41.0)	115 (33.6)	NS	10 (76.9)	139 (33.9)	0.0037	14 (58.3)	134 (33.5)	0.0239
<i>D. pteronyssinus</i>	29 (54.7)	121 (32.4)	0.0025	34 (41.0)	116 (33.9)	NS	10 (76.9)	140 (34.1)	0.0040	14 (58.3)	135 (33.8)	0.0257
<i>D. farinae</i>	27 (50.9)	108 (29.0)	0.0022	32 (38.6)	103 (30.1)	NS	9 (69.2)	126 (30.7)	0.0086	15 (62.5)	119 (29.8)	0.0018
Chicken egg white	26 (49.1)	110 (29.5)	0.0069	24 (28.9)	111 (32.5)	NS	4 (30.8)	131 (32.0)	NS	13 (54.2)	121 (30.3)	0.0263
Cow's milk	14 (26.4)	73 (19.6)	NS	13 (15.7)	74 (21.6)	NS	4 (30.8)	83 (20.2)	NS	6 (25.0)	80 (20.0)	NS

NS: not significant AD: atopic dermatitis, FA: food allergy.

dermatophagoides farinae were associated factors. For FA, paternal and past histories of AD were associated factors, and, interestingly, having AD siblings and antibiotic use in first year of life were negatively related to FA (table 3).

Discussion

In this study, we analyzed the associated factors for AD, asthma, rhinitis and FA in nursery school children in Ishi-

Table 3. Association factors analysed by stepwise logistic regression adjusting for age

	AD	Asthma	Rhinitis	FA
	Odds ratio (95% CI)	Odds ratio (95% CI)	Odds ratio (95% CI)	Odds ratio (95% CI)
1. Gender, Male	NS	NS	NS	NS
2. Age				
0 and 1 y				1.00
2 y				0.00 (not calculated)
3 y	NS in the model	NS in the model	NS in the model	0.300 (0.0604-1.49)
4 y				0.138 (0.0233-0.824)
5 and 6 y				0.348 (0.0508-2.38)
3. Family history				
Paternal				
AD	NS	NS	NS	35.5 (4.89-258)
Asthma	NS	NS	NS	NS
Rhinitis	NS	NS	NS	NS
Maternal				
AD	NS	NS	NS	NS
Asthma	NS	2.93 (1.25-6.84)	8.26 (2.15-31.8)	NS
Rhinitis	2.87 (1.17-7.01)	NS	NS	NS
Siblings				
AD	7.41 (2.69-20.4)	NS	NS	0.00 (not calculated)
Asthma	NS	4.31 (2.11-8.79)	NS	NS
Rhinitis	NS	NS	NS	NS
4. Past history				
AD		3.72 (1.67-8.26)	NS	21.2 (5.63-79.7)
Asthma	4.32 (1.95-9.56)		NS	NS
Rhinitis	NS	NS	NS	NS
FA	10.4 (3.08-35.1)	NS	NS	
5. Antibiotic use				
In the first 2 months of life	NS	NS	NS	NS
In the first year of life	NS	2.23 (1.23-4.04)	NS	0.242 (0.0581-1.01)
6. Serum total IgE	2.90 (1.32-6.36)	NS	NS	NS
7. Specific IgE				
House dust	NS	NS	NS	NS
<i>D. pteronyssinus</i>	NS	NS	NS	NS
<i>D. farinae</i>	NS	NS	6.24 (1.55-25.1)	NS
Chicken egg white	NS	NS	NS	NS
Cow's milk	NS	NS	NS	NS

NS: not significant AD: atopic dermatitis, FA: food allergy.