

## アトピー性皮膚炎の疾患感受性遺伝子解析とタクロリムス外用薬の EBM に関する研究

研究分担者 佐伯秀久 東京大学医学部皮膚科講師

**研究要旨** 2002～2004年度の厚生労働省研究班(古江班)において、2002年(一部2003年を含む)までに発表された国内外の論文を基に、アトピー性皮膚炎(AD)に対するタクロリムス外用療法の有効性と安全性を評価した。今回は、2003年以降に発表された論文を基に再評価を行った。タクロリムスとADとをキーワードにして、医学中央雑誌による検索を行うと421件がヒットし、臨床効果に関する原著論文は20件あった。tacrolimusとatopic dermatitis/atopic eczemaとをキーワードにして、PubMedによる検索を行うと344件がヒットし、Systematic reviewが2件、Meta-analysisが4件、臨床効果に関する原著論文が69件あった。現在までに得られた臨床知見から、タクロリムス外用薬のADにおける短期および長期の有効性は十分に証明されている。本剤を既存の外用薬と比較した場合、0.1%タクロリムス軟膏はストロング・クラスのステロイド外用薬とほぼ同等の効果を示すことが実証されている。タクロリムス外用薬の安全性に関しては、有害事象として一過性の灼熱感がほぼ全ての研究結果により示されているものの、3年以上の長期投与試験の結果からも重篤な全身性有害事象はなく、安全性に大きな問題はないものと考えられる。さらに、皮膚癌やリンパ腫の発生リスクの問題に関しても、タクロリムス軟膏外用を行っても自然発生率を超えるものではないとの報告がみられるようになってきた。ADに対するタクロリムス外用薬の有効性および安全性は、過去の科学的妥当性のある質の高い臨床試験の結果から十分に証明されており、エビデンスのレベルは1、勧告のグレードはAに相当する。また、ADの疾患感受性遺伝子に関する研究に関しては、当施設においてもヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会の承認を得ており、現在、AD患者117名の調査・サンプル採取が終了した。今後も積極的にAD患者からサンプル採取を進めていく。

### 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

### A. 研究目的

(1) アトピー性皮膚炎の疾患感受性遺伝子に関する研究はわが国でも行われており、IgE産生能や気道過敏性に関する候補遺伝子や、最近では皮膚表皮の角化に関与するフィラグリン遺伝子の点突然変異などが報告されつつあるが、未だ疾患を包括的に説明する決定的なものはない。より正確な候補遺伝子の探索のためには、ある地域に生活する集団を全体として解析するコホート解析を用いる必要がある。

九州大学皮膚科では、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行っており、アトピー疾患関連遺伝子の解明も併せて行っている。今までに様々な臨床的アトピー関連因子や、いくつかの疾患感受性候補遺伝子が挙がってきている。また最近、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。石垣島のコホート群における血液検査、遺伝子研究などで得

られた成果が、日本人に広く応用可能であるかどうかを調べるため、全国からの人口流入地域である東京地域においても、同様にアトピー性皮膚炎患者から血液サンプルを集めて疾患感受性遺伝子の解析をし、石垣スタディの結果と比較・検討することにした。

(2) 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」のなかで、タクロリムス外用療法を担当し、2002年(一部2003年を含む)までに発表された国内外の論文を基に、アトピー性皮膚炎(AD)に対するタクロリムス外用療法の有効性と安全性を評価した。そこで今回は、2003年以降に発表された論文を基に、より長期の使用におけるタクロリムス外用療法のADに対する有効性と安全性を再評価した。

### B. 研究方法

(1) まず、東京大学の倫理審査委員会に本研究の倫理審査を申請する。承認を受けた後、東京大学附属病院皮膚科を通院中のアトピー性皮膚炎患者100～200名を目標に、文書で本研究

に対して同意を得た患者から血液検体、アンケート票(「医師調査票」とISSAC13-14を元に作成した「患者アンケート票」)を回収し解析する。血液検体は理化学研究所に送付し、遺伝子解析を行う。

(2) タクロリムス(tacrolimus)とAD(atopic dermatitis / atopic eczema)とをキーワードにして、PubMed および医学中央雑誌による検索を行い(2003年1月～2009年9月)、臨床効果に関する原著論文についてエビデンスのレベルを検討した。

### C. 研究結果

(1) 本研究(受付番号:2138、研究課題:アトピー疾患関連遺伝子に関する疫学的研究)は、平成20年7月29日付けで東京大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会の承認を得た。また平成22年1月5日現在、アトピー性皮膚炎患者117名の調査・サンプル採取が終了した。

(2) タクロリムスとアトピー性皮膚炎(AD)とをキーワードにして、医学中央雑誌による検索を行うと421件がヒットし、臨床効果に関する原著論文は20件あり、この中には5件のランダム化比較試験(RCT)が含まれていた。原著論文のなかには、多施設での小児ADに対する2年以上の長期観察試験の報告があった。また、tacrolimus と atopic dermatitis/ atopic eczema とをキーワードにして、PubMedによる検索を行うと344件がヒットし、Systematic review は2件<sup>1,2)</sup>、Meta-analysis は4件、臨床効果に関する原著論文が69件あり、この中には25件のRCTが含まれていた。原著論文のなかには、有用性に関する欧米での大規模な多施設共同試験が7件、欧米以外の国ごとの多施設共同試験が5件、他剤との比較試験(ステロイド外用薬、ピメクロリムス外用薬など)が12件、ステロイド外用薬との併用療法に関するものが5件、寛解維持療法に関するものが5件、安全性に関するもの(血中濃度、皮膚癌・リンパ腫発生リスク、感染症に関するもの)が13件含まれていた。

<参考文献>

- 1) Garside R, et al: Health Technol Assess 9: 1-230, 2005.
- 2) El-Batawy MM, et al: J Dermatol Sci 54: 76-87, 2009.

### D. 考察

(1) 当科におけるサンプル採取はほぼ予定通りであるが、今後も院内での掲示など、より積極的な働きかけを通じて研究を進めていく。

また、当科での既存サンプルを用いた遺伝子解析研究も併せて行った。アトピー性皮膚炎(基本的にTh2優位の疾患)患者158名、尋常性乾癬(Th1あるいはTh17優位の疾患)患者153名、健常人104名より得られたサンプルを用い、cysteinyl leukotriene receptor 2 (CYSLTR2) 遺伝子の多型(SNP)解析を行った。CYSLTR2 はアトピー性皮膚炎や尋常性乾癬の病態への関与が示唆されている。また、CYSLTR2 遺伝子の-1220A/C SNP は、日本人の喘息患者(Th2優位の疾患)で有意な相関が報告されている。そこで、CYSLTR2 遺伝子の-1220A/C SNPの解析をしたが、アトピー性皮膚炎患者、尋常性乾癬患者ともに有意な相関は認められなかった。

(2) タクロリムス外用薬は発売以来10年が過ぎ、全世界的にAD患者に使用されるようになった。現在までに得られた臨床知見から、タクロリムス外用薬のADにおける短期および長期の有効性は十分に証明されており、さらに本剤を既存の外用薬と比較した場合、0.1%タクロリムス軟膏はミディアム・クラスのステロイド外用薬やピメクロリムス・クリームより効果が高く<sup>3)</sup>、ストロング・クラスのステロイド外用薬とほぼ同等の効果を示すことが実証されている。0.03%タクロリムス軟膏の強さに関しては論文がまだ少ないが、ウィーク・クラスのステロイド外用薬より効果が高く<sup>4)</sup>、ピメクロリムス・クリームとほぼ同等の効果を示すとの報告がみられている。他方、タクロリムス外用薬の安全性に関しては、有害事象として一過性の灼熱感がほぼ全ての研究結果により示されているものの、3年以上の長期投与試験の結果からも重篤な全身性有害事象はなく、安全性に大きな問題はないものと考えられる<sup>5)</sup>。さらに、皮膚癌やリンパ腫の発生リスクの問題に関しても、タクロリムス軟膏外用を行っても自然発生率を超えるものではないとの報告がみられるようになってきた<sup>6,7)</sup>。また、タクロリムスの使用方法に関しては、寛解導入療法のみならず、寛解維持療法としての使い方が欧米のガイドラインで提唱されているが、寛解導入後、週に2-3回のタクロリムス外用を続けることで、症状の再燃を有意に抑えられるとの報告が最近みられている<sup>8,9)</sup>。

<参考文献>

- 3) Fleischer AB Jr, et al: J Dermatolog Treat 18: 151-7, 2007.

- 4) Reitamo S, et al: Br J Dermatol 150: 554-62, 2004.
- 5) Hanifin JM, et al: J Am Acad Dermatol 53: S186-94, 2005.
- 6) Margolis DJ, et al: Dermatology 214: 289-95, 2007.
- 7) Arellano FM, et al: J Invest Dermatol 127: 808-16, 2007.
- 8) Wollenberg A, et al: Allergy 63: 742-50, 2008.
- 9) Breneman D, et al: J Am Acad Dermatol 58: 990-9, 2008.

#### E. 結論

(1) 大規模なアトピー性皮膚炎の疾患感受性遺伝子解析のため、当科においても引き続き、積極的にアトピー性皮膚炎患者からサンプル採取を進めていく。

(2) AD に対するタクロリムス外用薬の有効性および安全性は、過去の科学的妥当性のある質の高い臨床試験の結果から十分に証明されており、エビデンスのレベルは 1、勧告のグレードは A に相当する。

#### F. 健康危険情報 なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- (1) 古江増隆、佐伯秀久、古川福実、秀 道広、大槻マミ太郎、片山一朗、佐々木りか子、須藤一、竹原和彦:日本皮膚科学会ガイドライン:アトピー性皮膚炎診療ガイドライン. 日皮会誌 119: 1515-34, 2009.
- (2) 佐伯秀久:タクロリムス軟膏を用いたアトピー性皮膚炎の長期管理-日本皮膚科学会アトピー性皮膚炎診療ガイドラインから-. PTM 7 (2) DEC, 2009.
- (2) Saeki H, Furue M, Furukawa F, Hide M, Ohtsuki M, Katayama I, Sasaki R, Suto H, Takehara K: Guidelines for management of atopic dermatitis. J Dermatol 36: 563-77, 2009.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

研究要旨

皮膚の炎症時に見られる表皮肥厚の分子機序についての解明を行った。新規セリンプロテアーゼneuropsin(ヒトではKLK8)は表皮keratinocytesに発現し、炎症時に著しく増加する。neuropsinKOマウスではこのような表皮の肥厚は見られず、表皮ではAP2 $\alpha$ 発現の増加、その下流のkeratinocyte 増殖分化因子ケラチン10発現の低下が見られる。以上の事実は炎症表皮ではneuropsin発現の増加がAP2 $\alpha$ 発現の減少、ケラチン10発現の増加を介して表皮の肥厚を引き起こすと考えられる。

A. 研究目的

炎症時の皮膚において表皮の機構が起きる事は良く知られている。表皮ケラチノサイトの増殖、分化は外部環境より体の恒常性を守る反応である。表皮の存在する事が知られるようになった neuropsin は脳に特異的なセリンプロテアーゼとして塩坂らにより単離された新規因子で kallikrein(KLK)様構造をとり、脳では学習記憶に関連する因子として注目を浴びている。ヒトホモログも同一グループによりクローニングされヒト表皮に mRNA, 蛋白の両者が存在する。KLK は現在まで 15 種同定され、neuropsin、とりわけヒト neuropsin は KLK 8 と呼ばれるようになった。neuropsin KO マウス表皮、とりわけ有棘細胞層と顆粒細胞層に局在し炎症刺激で発現上昇する。またヒト表皮にも KLK8 は存在し皮膚疾患での発現上昇が報告されている。これらの事実は neuropsin/KLK8 が炎症刺激により表皮肥厚を示す可能性が推察されるがその本体は明らかではない。

本研究ではneuropsin/KLK8が炎症刺激による表皮肥厚に直接関与するのか、関与するとすればどのような分子機序を介して関与するかを明らかにする事を試みた。

B. 研究方法

neuropsin knock-out (KO) マウス : C57BL/6J マウスを用いて作製した。

炎症刺激 : Sodium lauryl sulphate (SLS) 刺激を neuropsin KO マウス、野生型 C57BL/6J マウスの背部皮膚に行った。

Differential Display (DD) 法: neuropsin KO マウス表皮で発現変化する因子の探索を行った。

細胞培養: ヒト keratinocytes, HaCaT 細胞をもちいた。

RNA ノックダウン: siRNA 法によった。

その他: RNA 抽出, PR-PCR, in situ hybridization, 免疫組織化学などは情報に従った。

(倫理面への配慮)

特に必要無し

C. 研究結果

(1) SLS の正常マウス皮膚への塗布により皮膚表皮 neuropsin 発現は上昇した。

PT-PCR, 免疫組織化学, in situ hybridization により検討し同様の結果を得た。すなわち、SLS 塗布後 24-72 時間で著しい表皮肥厚、とりわけ有棘層の肥厚が著明で塗布後 48 時間をピークとした。正常マウス表皮での neuropsin 発現は低いが、SLS 塗布により発現上昇が塗布後 48 時間をピークとして有棘層に見られた (図 1)。

(2) Neuropsin KO マウスでは SLS 刺激による表皮肥厚が阻害された。

野生型マウスと異なり neuropsin KO マウスでは SLS 塗布による表皮肥厚が著しく阻害された。当然の事ながら皮膚に塗布しても neuropsin の発現は認められなかった。

(3) AP2 $\alpha$  が neuropsin KO マウス表皮で発現上昇する

DD 法を用いて野生型マウス、SLS 塗布野生型マウス、neuropsin KO マウス、neuropsin KO/SLS 塗布マウス間で発現変動を示す因子の探索を行った。変動を示す因子として 20 因子が同定できたがその中で変動が最も著明でかつ表皮細胞の分化や増殖に関連する AP2 $\alpha$  を引き続き解析に供した。野生型表皮では AP2 $\alpha$  の発現は著明ではなく、SLS 塗布でやや発現上昇した。Neuropsin KO マウスでは野生型マウスに比べて AP2 $\alpha$  の発現は高い傾向にあった。SLS を塗布すると著しい発現上昇が見られた (図 2)。これらの in vivo の結果を in vitro で HaCaT 細胞を用いて検討した。KLK8 ノックダウンした HaCaT 細胞では AP2 $\alpha$  の発現上昇が確認できた。

(4) neuropsin /KLK8 はケラチン 10 発現を制御する

AP2 $\alpha$  は表皮増殖因子として知られるケラチン 10 発現を抑制する事が知られており、かつ本研究で neuropsin が AP2 $\alpha$  発現を抑制する事が示された

め、neuropsin がケラチン10発現を制御するか否かを検討した。野生型マウスではSLSを塗布すると表皮内ケラチン10発現は上昇するが、neuropsin KO mausuni SLSを塗布してもケラチン10発現の変化は見られなかった。また分化したHaCaT細胞のKLK8をノックダウンするとケラチン10発現が抑制された。他の増殖因子の発現変動には変化がなかった (図3)。

#### D. 考察

炎症刺激を加えると表皮肥厚がおき表皮内のneuropsin 発現上昇が認められる。しかしながらneuropsin KO マウスでは炎症時の表皮肥厚が著しく抑制される。これらの事実はneuropsin /KLK8 が炎症時の表皮肥厚機序に重要な役割を果たしている事を示す。Neuropsin KO マウスではAP2 $\alpha$  発現が上昇し、ケラチン 10 発現が抑制された。これらの事実はneuropsin-AP2 $\alpha$ -ケラチン 10 経路が炎症時での表皮肥厚に重要な役割を果たしている事を示す。また我々は成長因子 NGF が p75 受容体を介して炎症時の表皮肥厚、神経 sprouting を制御している事を示した。この事実は NGF を介する表皮肥厚系とneuropsin を介する表皮肥厚系との間にクロストークがある事を示唆する。

#### E. 結論

炎症表皮では neuropsin 発現の増加が AP2 $\alpha$  発現の減少、ケラチン 10 発現の増加を介して表皮の肥厚を引き起こすと考えられる。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Shinngaki et al., Molecular pathway of kallikrein-related peptidase 8/neuropsin-induced hyperkeratosis in inflamed skin,

In revision

##### 2. 学会発表

2009/12/4~6 日本研究皮膚科学会

Molecular cascade of

Kallikrein-8/neuropsin-induced hyperkeratosis in inflamed skin

新垣健太、松崎伸介、谷口学、塩坂貞夫、遠山正彌

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

##### 1. 特許取得

特になし

##### 2. 実用新案登録

特になし

##### 3. その他

特になし

Fig 1

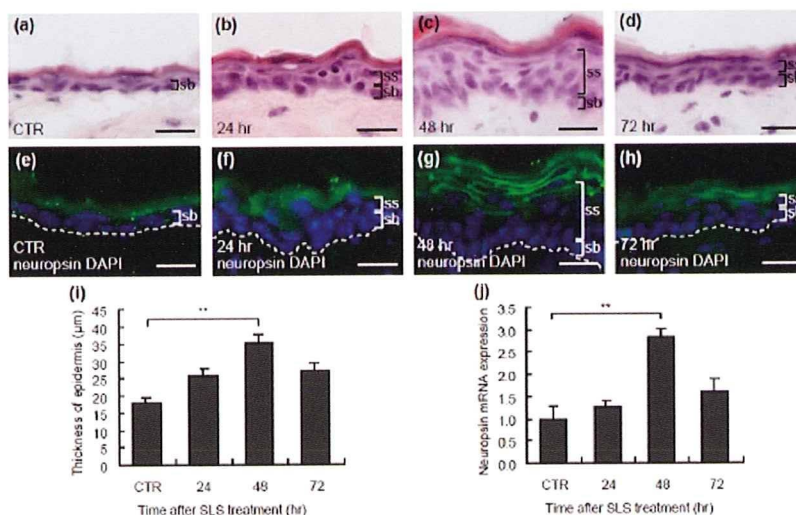


図1 マウス背部皮膚に SLS 塗布後 48 時間で表皮肥厚、neuropsin 発現がピークに達する。

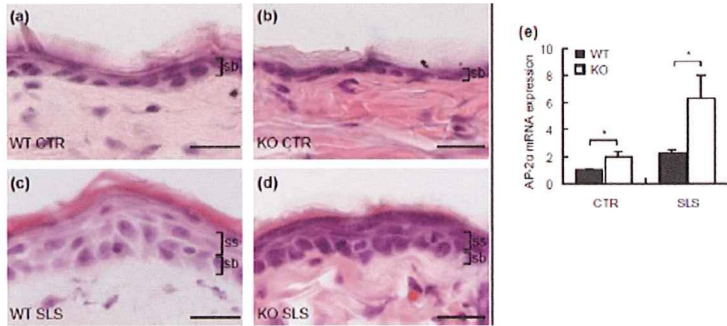


図2 neuropsinKO マウスでは SLS 塗布後の表皮肥厚が正常マウスに比して著明でない。a : 正常マウス b: 正常 KO マウス c : SLS 塗布正常マウス d.SLS 塗布 KO マウス。 KO マウスでは SLS 塗布後 AP2α の著しい発現が見られる。

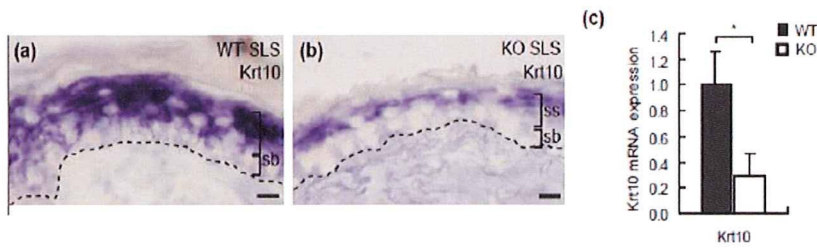


図3 SLS 塗布後正常マウス (WT)では著しいケラチン 10 (Krt10)発現が認められるが (a,c), KO マウスでは見られない(b,c).

## マウスモデルを用いた掻痒発現機序の解析と天然物を対象とした掻痒抑制物質の探索

研究分担者 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 田中 宏幸 岐阜薬科大学機能分子学大講座薬理学研究室 准教授

研究協力者 山下 弘高 岐阜薬科大学機能分子学大講座薬理学研究室 助教

### 研究要旨

前年度の検討により、NC/Nga マウス耳殻にダニ (*Dermatophagoides farinae*) 排泄物から調製した抽出物 (FAg) を反復塗布することにより、高頻度の掻破行動を伴う強い皮膚炎が発現することを確認した。FAg には大量の lipopolysaccharide (LPS) が含まれるため、今回は LPS の皮膚炎誘発における役割を、LPS 除去した FAg を用いて検討した。LPS 除去した FAg の溶液を NC/Nga マウス耳殻に週 2 回、計 9 回、4 週間にわたって繰り返し塗布して皮膚炎を誘発した。LPS 除去は耳殻腫脹を僅かながら増強し、掻破行動を増加させた。したがって、FAg 中に混在する大量の LPS は耳殻腫脹の誘発および掻破行動の発現を制御するものと考えられる。

これまで dinitrofluorobenzene (DNFB) を反復塗布して誘発する BALB/c マウスの皮膚炎モデルを用い、tacrolimus の掻破行動抑制機序を解析してきた。本年度は、tacrolimus の掻破行動抑制機序をさらに検討し、cyclosporin A の作用と比較した。両薬物は DNFB 塗布による掻破行動を著明に抑制した。また、表皮内への申請線維の伸長を抑制し、神経成長因子 NGF の mRNA 発現を抑制する傾向を示した。また、substance P の前駆体である preprotachykinin mRNA 発現を抑制し、分解酵素である neutral endopeptidase mRNA 発現を上昇させる傾向を示した。したがって、tacrolimus、cyclosporine A はいずれも神経線維の表皮内への侵入を抑制し、皮膚 substance P 量を減少させるものと考えられ、これらが両薬物による掻破行動抑制に寄与するものと推定される。

### A. 研究目的

掻痒はアトピー性皮膚炎のもっとも重要な症状であり、誘発される掻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関わる。したがって、掻痒および誘発される掻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。一方、ダニ抗原がアトピー性皮膚炎の発症に関わるとされるため、ダニ *D. farinae* の抽出物を NC/Nga マウス耳殻へ反復塗布して皮膚炎モデルの作製を試みてきた。前年度の検討により、ダニ排泄物から調製した抽出物の NC/Nga マウス耳殻への反復塗布が高頻度の掻破行動を伴う強い耳殻腫脹を誘発することを見いだした。また、これまでに、ハプテン反復塗布による、高頻度の掻破行動を伴うマウス皮膚炎モデルを確立し、tacrolimus の掻破行動抑制機序を解析してきた。dexamethasone はハプテン反復塗布による皮膚炎を強く抑制するが、掻破行動には抑制作用を示さない。本研究では、ダニ排泄物抗原による皮膚炎モデルを用い、抗原中に大量に含まれる lipopolysaccharide (LPS) の皮膚炎誘発における役割を検討した。また、ハプテン反復塗布による皮膚炎モデルを用い、tacrolimus の掻破行動抑制機序を

さらに検討し、類似の作用機序を有する cyclosporine A の効果と比較した。

### B. 研究方法

*D. farinae* を培養し、培地中に蓄積した排泄物から可溶性成分を抽出、濃縮して排泄物抗原 FAg を調製した。NC/Nga マウスの両耳殻に FAg あるいは LPS を除去した FAg の PBS 溶液を週 2 回、計 9 回塗布して皮膚炎を誘発した。3 回目の抗原溶液塗布までは、塗布 1 時間前にテープストリッピングを行った (図 1)。

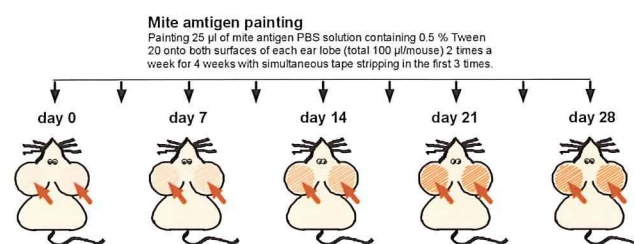


図 1. FAg による皮膚炎誘発のプロトコール

抗原溶液塗布の前後に耳殻の厚さを測定して耳殻腫脹を評価した。また、1、3、5、7 および 9 回目の抗原溶液塗布後に 1 時間掻破行動を観察した。

BALB/c マウスの腹腔内に DNP 化したブタ回虫抽出物と alum を注射して免疫し、2 週間後から両耳殻の表裏へ 0.15% dinitrofluorobenzene (DNFB) の acetone 溶液を隔日に 5 回塗布した。2 週間後にさらに DNFB 溶液を耳殻へ塗布して皮膚炎を誘発した (図 2)。誘発前後の神経線維の表皮内分布を免疫染色によって検討し、また、誘発後の種々の因子の mRNA 発現を検討した。誘発前の 10 日間、tacrolimus は 0.1% ethanol 溶液を耳殻へ塗布し、cyclosporin A は 30 mg/kg を経口投与した。

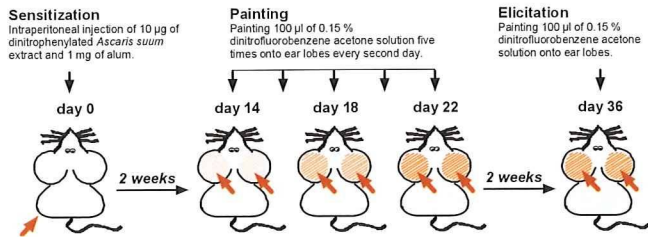


図 2. DNFB による皮膚炎誘発のプロトコール

(倫理面への配慮)

動物実験はすべて岐阜薬科大学における動物実験の実施に関する規程にしたがい、委員会の承認を受けて実施した。

### C. 研究結果

#### (1) FAg 反復塗布皮膚炎における LPS の役割

10 mg/ml の FAg あるいは LPS 除去 FAg を反復塗布して誘発した耳殻腫脹の推移を図 3 に、AUC で比較した成績を図 4 に示す。FAg 塗布によって誘発される強い腫脹は、LPS 除去によって増強される傾向を示した。

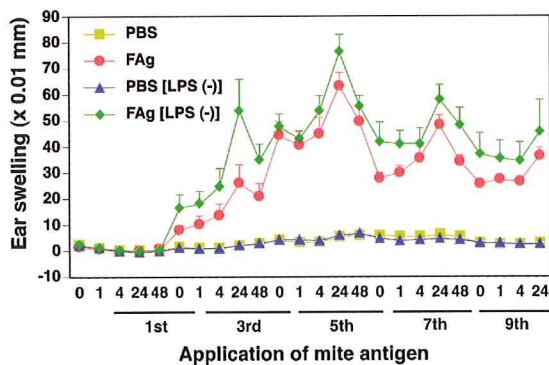


図 3. FAg 塗布による耳殻腫脹の経時変化

FAg あるいは LPS 除去 FAg を塗布して誘発した搔破行動の成績を図 5 に示す。LPS の除去は 5、7 および 9 回目の抗原塗布後の搔破行動を有意に増加させた。

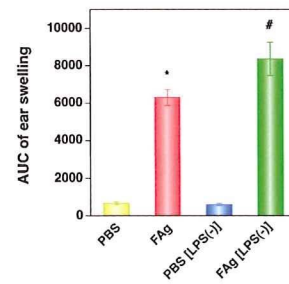


図 4. 耳殻腫脹の AUC による比較

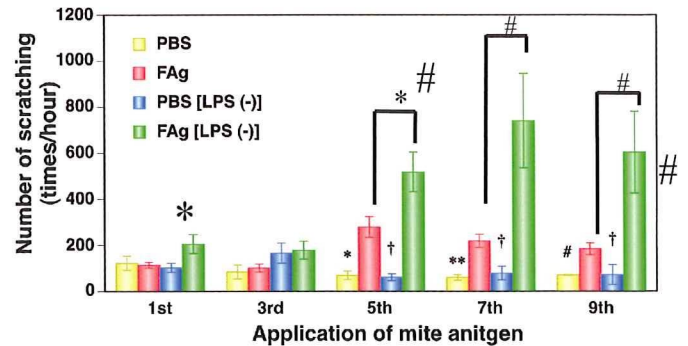


図 5. FAg 塗布による搔破行動

#### (2) tacrolimus および cyclosporine A の搔破行動抑制機序の検討

DNFB 反復塗布による皮膚炎モデルを用いて tacrolimus および cyclosporine A の搔破行動抑制機序を検討した。

両薬物の投与は皮膚炎誘発によって出現する搔破行動を著明に抑制した。

反応誘発前後に耳殻を採取し、表皮内神経線維を免疫染色して評価した成績を図 6 に示す。薬物投与の 10 日間で表皮内神経線維はやや減少したが、誘発によって著しく増加した。両薬物は投薬期間中での減少を促進する傾向を示し、誘発による増加を強く抑制した。

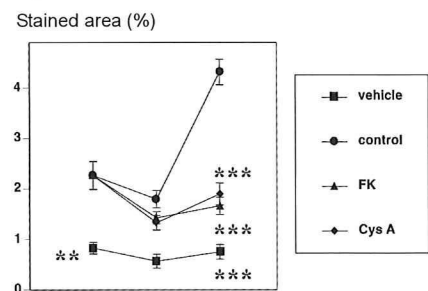


図 6. 表皮内神経線維の分布に及ぼす影響

誘発 4 時間後の耳殻における神経成長因子 (NGF) mRNA 発現を検討した成績を図 7 に示す。いずれの薬物も誘発による NGF mRNA 発現の増強を抑制する傾向を示した。substance P (SP) 前駆体 preprotachykinin (PPT) mRNA 発現および SP 分解酵素 neutral endopeptidase (NEP) mRNA 発現を検討した成績を図 8 に示す。両薬物は誘発によ



る PPT mRNA 発現の増強を有意に抑制し、誘発によって減少した NEP mRNA 発現を回復する傾向を示した。

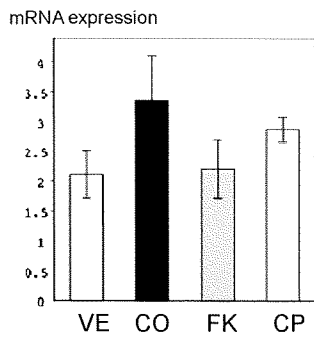


図 7. NGF mRNA 発現に及ぼす影響

VE: vehicle, CO: control, FK: tacrolimus, CP: cyclosporine A

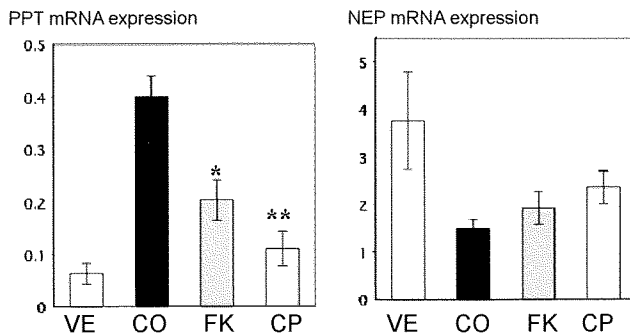


図 8. PPT および NEP mRNA 発現に及ぼす影響

#### D. 考察

NC/Nga マウスはヒョウヒダニアレルゲンに対して強い皮膚反応を発現し、しばしば皮膚炎モデルの作製に用いられてきたが、ダニ抗原反復塗布によって高頻度の搔破行動が誘発されるモデルはほとんど知られていない。したがって、排泄物抗原を反復塗布して誘発する高頻度の搔破行動を伴う皮膚炎モデルは興味深いと思われるが、ダニ排泄物抗原に大量に含まれる LPS が皮膚炎誘発あるいはその強度に影響を及ぼす可能性が考えられる。そこで、LPS を除去して皮膚炎誘発を検討した。その結果、LPS 除去によって皮膚炎の程度はわずかながら増強し、搔破行動も増加した。したがって、混在する LPS は皮膚炎の制御に関わっていると考えられる。今後は LPS 除去したダニ抗原に再度 LPS を添加し、LPS の影響を確認する。

これまでの検討の結果、tacrolimus は表皮 NGF 発現を抑制し、semaphorin 3A 発現を促進することによって表皮内への神経線維の侵入を抑制し、皮膚 SP を減少させることを示した。これらの作用が tacrolimus の搔破行動抑制に寄与するものと推定される。cyclosporin A も類似の搔破行動抑制作用を示し、semaphorin 3A 発現を促進する。今回の検

討では、両薬物が表皮内への神経線維の伸長を抑制し、NGF mRNA 発現を低下させる傾向を示すことを確認した。また、両薬物が PPT mRNA 発現を抑制し、NEP mRNA 発現を高める傾向を示したことから、表皮内神経線維の減少とともに、皮膚 SP の減少が両薬物の搔破行動抑制に関わる可能性を示す。

#### E. 結論

大量の LPS は皮膚炎を制御する役割を演じる可能性が推定される。tacrolimus および cyclosporine A は類似の機序でマウス搔破行動を抑制すると考えられる。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

印刷 1 件 [Inagaki N, et al.: Depletion of substance P, a mechanism for inhibition of mouse scratching behavior by tacrolimus. *Eur J Pharmacol* 626: 283-289, 2010.]

投稿中 1 件 [Yamashita H, et al.: Comparison of the efficacy of tacrolimus and cyclosporine A in a murine model of dinitrofluorobenzene-induced atopic dermatitis.]

##### 2. 学会発表

加藤秀雄, 他: マウス搔破行動に及ぼすタクロリムスの抑制メカニズム. 第82回日本薬理学会年会, 横浜, 2009.3.16-18.

Yamashita H, et al.: The difference in efficacy of Kampo medicines in atopic dermatitis-like models using mice. 第90回日本東洋医学会, 東京, 2009.6.19-21.

小室優美, 他: ダニ抗原反復塗布によるマウスアトピー性皮膚炎モデルの作成. 第55回日本薬学会東海支部大会, 名古屋, 2009.7.11.

稲垣直樹: アレルギー治療薬の現状と新しい治療薬の開発. 第4回健康・長寿を支える食・薬・医の研究会, 名古屋, 2009.9.11.

Inagaki N: Inhibition of mouse scratching behavior by tacrolimus and its mechanisms. #5 International Workshop for the Study of Itch, Tokyo, 2009.10.25-28.

小室優美, 他: Effects of LPS on allergic dermatitis caused by repeated application of mite fecal antigen in NC/Nga mice. 第19回痒みシンポジウム, 大阪, 2009.10.31.

加藤秀雄, 他: カルシニューリン阻害薬の搔破行動抑制作用機序. 第116回日本薬理学会近畿部会, 大津, 2009.11.13.

稲垣直樹: アトピー性皮膚炎の病態モデルの作製と応用. 日本実験動物学会維持会員懇談会シンポジウム, 東京, 2009.11.18.

稲垣直樹: タクロリムスによるマウス搔破行動の抑制とその作用機序. 岐阜薬科大学・富山大学学術交流セミナー, 岐阜, 2009.12.13.

稲垣直樹: アトピー性皮膚炎の病態モデルの作成と応用. 先端創薬医療シンポジウム, 岐阜, 2009.12.19.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

特になし

## アトピー性皮膚炎の既存治療におけるステロイド外用薬の EBM 評価及び痒み制御に関する臨床研究

研究分担者 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 二村昌樹 (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)  
成田雅美 (同上 医員)  
津村由紀 (同上 レジデント)  
福家辰樹 (同上 臨床研究員 浜松医科大学小児科)

### 研究要旨

アトピー性皮膚炎の標準治療薬であるステロイド外用薬に関するEvidenceについて2003年以降の文献を網羅的に検索した。新しい剤型や長期の間欠維持療法に関する効果や安全性に関する報告を中心に29報のRCTs論文が見つかった。また、筆者らが入院加療した重症患者の予後を2年に亘って調べた結果、Proactiveな治療を行った25名はReactiveな治療の20名に比べて著明にIgE抗体価が減少しSCORADも有意に低下していた。

### A. 研究目的

I. アトピー性皮膚炎の治療薬としてのステロイド外用剤の有効性と安全性について、2003年までの文献を収録した前回のEBM集の掲載に間に合わなかった文献と以後発表された文献についてランダム化比較試験を基本として網羅的な検索を行った。

II. また、分担研究者の施設で経験した重症アトピー性皮膚炎患者のステロイド外用薬の使用法に関して医師が意図しているProactive法と一般的な治療法であるReactive法について予後の比較を行った。

### B. 研究方法

I. ステロイド外用薬のEBM評価に関しては、本研究班が2003年までの文献を網羅したエビデンス集に収録されていない文献を中心に網羅的な検索を行った。使用したデータベースはEMBASE、MIDLINE及び医学中央雑誌で、2003年から2009年9月30日までに収録された文献を対象とした。EMBASE, PubMed(Medline)でキーワードは「eczema」,「besniers prurigo」,「neurodermatitis」,「childhood eczema」,「infantile eczema」,「atopic dermatitis」,「atopic eczema」で、統制語は[Clinical Trial] OR [Meta-Analysis] OR [Randomized Controlled Trial] でHumanのLimitをかけ、英語および日本語以外の言語で記載され内容が正確に把握できないものは除外した。医学中央雑誌では「glucocorticoids」AND「皮膚炎・アトピー性」の検索式に、「メタアナリシス、ランダム化比較試験、準ランダム化比較試験、比較研究、診療ガイドライン」の限定を加えて検索した。

II. ステロイド外用薬に関する臨床研究では、入院患者を対象にレトロスペクティブコホートおよびケースコントロールスタディを行った。即ち、2004年1月から2006年7月までの約2年半の間に入院した重症アトピー性皮膚炎の患者135名のなかから退院後1年以上経過した時点で、血清IgE抗体価の測定記録があるもの53名を電子カルテから

抽出し、入院時測定値が100IU/mlを超えていた45名を対象に後方視的に2年間の追跡調査を行った。総IgE値および食物特異的IgE値の推移について比較した

### C. 研究結果

I. PubMed およびEmbase から上記の検索式により得られた文献151件、医学中央雑誌49件のなかから、Abstractの内容で明らかに除外できるもの以外を取り寄せて検討した結果29文献が適合した。しかし、1文献の中に複数のRCTが含まれているものもあり、33研究が適合した。

#### 1. ステロイド外用剤とプラセボの比較

①Breneman D et al, J Drug Dermatol 3:330-6,2005.  
②Matheson R et al, J Drug Dermatol 3:266-71,2008.  
③Herbert AA et al, J Am Acad Dermatol 59:334-40, 2008. ④Kimball AB et al, J Am Acad Dermatol 59: 448 - 54,2008. ⑤Herbert AA et al, J Drug Dermatol 2:175-81,2007. ⑥Einchenfield LE et al, J Am Acad Dermatol 54:715-7,2006.

この領域は2003年の検討では古い文献が多く質の低いRCTが多かったが、今回は対象数の多いRCTが散見されるようになった。ただし、新しいステロイド外用薬の開発研究はほとんどなく、従来から存在するステロイド外用薬にクリーム剤やローション剤など新しい剤型の効果を調べるものが多かった。エビデンスのレベルは1が多いが脱落数が不明のものはエビデンスレベル2とした。Einchenilelの論文にはFluticasone propionate lotion 0.05%を使用した2つのRCTが記載されている。いずれも皮膚状態の2週間後の有意な改善と4週間後までの安全性と有効性について記述している。症例数も110例と111例と多く、ITT (Intention to treat)解析がしてあるものの脱落数が不明である。

#### 2. ステロイド外用剤同士の比較

⑦Breneman D et al, J Drug Dermatol 3:330-6, 2005.  
Clobetasol propionate 0.05% lotion と その基材または

clobetasol propionate cream との RCT で、Clobetasol propionate 0.05% lotion が他の 2 剤よりも 2 週間後の皮膚状態が有意に改善し、中止後の悪化までの期間も最も長かった。

### 3. ステロイド外用剤にその他の薬剤を添加したものとステロイド外用剤単独使用との比較

⑧Draeos ZD, *Cutis* 81:87-91,2008. ⑨Larsen FS et al, *Acta Derm Venereol* 87:62-8, 2007. ⑩Sandstrom Falk MH et al, *Acta Derm Venereol*, 86: 372-3, 2006. ⑪Torok HM et al, *Cutis* 72:161-6, 2003. ⑫Ravenscroft JC et al, *Br J Dermatol* 148:1010-7,2003. ⑬Msika P et al, *Pediatr Dermatol* 25:606-12,2008. ⑭Szczepanowska J et al, *Pediatr Allergy Immunol* 19:614-8,2008. ⑮Gong JQ et al, *Br J Dermatol* 155:680-7,2006. ⑯Schttelaar MLA et al, *JEADV* 22:1076-82,2008. ⑰Pellanda C et al, *Dermatology* 211:338-340,2005.

この領域はステロイド外用薬の効果というよりも添加物の効果に関するものである。

ステロイド外用剤単独の場合よりもセラミド含有の液体石鹸、セラミド含有の保湿クリーム、Sunflower oil Oleodistillaeなどの保湿薬を添加した場合に短期的な治療効果が高かった。Hydrocortisone butyrate とmupirocinを毎朝塗布する群とhydrocortisone butyrateとmupirocinの基剤を毎朝塗布する群のRCTでは1週間後の皮疹の改善は前者が若干よかったが2週後と4週後には差がなかった。Tetracyclineをtriamcinolone acetonide に加えた群とtriamcinolone acetonide単剤塗布群のRCTでは、寛解導入期2週間、維持期6週間を通じて皮疹の改善効果に差はなかった。ただし、皮膚感染症などの有害事象は前者の方が少なかった。天然の植物成分からなる外用薬から弱いステロイドであるtriamcinoloneが検出され、その外用薬の治療効果が天然成分によるものか、添加されたtriamcinoloneによるものかをRCTにて検証した論文が発表され、1週後、2週後、4週後の評価を経て植物成分には全く治療効果がなく、triamcinoloneによる効果であることを証明した。

### 4. ステロイド外用剤と他の薬剤との比較

⑱Paller AS et al, *J Am Acad Dermatol* 48:569-77, 2003. ⑲Bieber T et al, *Allergy* 62:184-9, 2007. ⑳Josefin G et al, *Pediatr Dermatol* 25:269-70, 2008. ㉑Craig N et al, *International J Dermatol* 43:215-9, 2004.

この領域には、タクロリムスとの比較を行った研究が多いが本稿では、ステロイド外用薬の機能に関係する内容の論文に絞って掲載した。治療群は flucinolone acetonide 0.01% in peanut oil、基剤群は peanut oil vehicle で、1日2回2週間全身塗布、次の2週間は両群とも湿疹部位に治療薬、最後の2週間は両群とも基剤のみ使用し治療群が基剤群に比べて皮膚の重症度も医師による改善度評価も有意に優れていた。MPA 群:0.1% methylprednisolone aceponate を1日1回、タクロリムス群:0.03% tacrolimus を1日2回塗布し、2-3週間後に評価、治療成功率は両群に差はなかったが、痒みと睡眠のVASおよび医療費はステロ

イドの方が有意に低かった。ステロイドとプロトピックの塗布によるブリックテストによるヒスタミンの膨疹径の減少をみた研究ではステロイドのほうが減少が多かった。tacrolimus と0.1%hydrocortisone butyrate の左右比較ではステロイドのほうが患者満足度が高かった。

### 5. ステロイド外用剤にウェットラップ法を用いた場合の効果

㉒Foelster-Holst R et al, *Dermatology* 212:66-9, 2006.

㉓Hindley D et al, *Arch Dis Child* 91:164-8, 2006.

これまでにRCTを行っているものが5報あるが、2002年までの3報はウェットラップ法と非ウェットラップ法との比較ではなく実質的にはウェットラップと組み合わせたステロイド外用剤の前後比較試験である。2006年に報告された2報は、非ウェットラップ法と比較してウェットラップ法は有意にSCORADが改善したという左右比較の報告と、有意差は認められなかったという同時対照比較の報告である。ウェットラップ法の効果がうかがえる一方で、後者の報告では抗生剤の使用が増加する、ウェットラップ装着による煩雑も述べている。

### 6. ステロイド外用剤の1日の塗布頻度による効果の違い

㉔Msika P et al, *Pediatr Dermatol* 25:606-12, 2008.

㉕Schlessinger J et al, *Arch Dermatol* 142:1568-72,2006.

これまでに5報のRCTsがあり、今回追加した、0.5% desonide、0.1%fluocinonide cream ではいずれも1日のステロイド外用薬塗布回数による改善度に有意差を検出できなかったが、ステロイド単剤よりはステロイドと保湿剤を併用したほうがより改善する傾向が示された。

### 7. ステロイド外用剤の長期投与に関する効果と副作用

㉖Glazenburg EJ et al, *Pediatr Allergy Immunol*

20:59-66,2008. ㉗Kirkup ME et al, *J Dermatolog Treat*

14:141-8, 2003. ㉘Berth-Jones J et al, *BMJ* 326:1367-72,

2003. ㉙Peserico A et al, *Br J Dermatol* 158:801-7,2008.

今回追加された論文は4報であるが、2つのスタディを含むものがあるため計5スタディである。ここ数年アトピー性皮膚炎の治療で注目されているものの一つに、ステロイドをはじめとした外用剤による寛解維持療法(Proactive Therapy)がある。急性期の治療で改善した皮膚に、週2日程度の外用剤間欠塗布により再発を予防しようというものである。対象が小児・成人を問わず、いずれの論文もステロイドの寛解維持療法が有効であると報告しており、この治療を推奨している。副作用に関しては、初期の寛解導入時における連日塗布期間での毛包炎や血管拡張の報告があるが、寛解維持期における重篤な副作用はなく、間欠塗布による長期使用の安全性が示された。

### 8. その他

㉚Hebert AA et al, *J Pediatr* 149:378-82,2006

㉛Eichenfield LF et al, *Pediatr Dermatol* 24:289-95,2007

いずれもRCTではないがステロイド外用薬による副腎機能への影響を調べているので掲載した。

0.05% fluticasone propionate (FP) ローションを1日2回使用して皮疹が治癒するまで治療、3歳未満は週120mlまで、3歳以上は180mlまで使用、治療開始時と終了時にCST

(コートロシン®)刺激によりHPA系機能を4週間後に評価、全員が副腎下垂体機能系は正常であった。0.05% desonide hydrogelを1日2回塗布、投与開始前と4週間後に cosyntropin 静注による副腎機能測定し、全員が正常の反応を示した。

## II. ステロイド外用薬の臨床研究: Proactive therapy と Reactive therapyの比較

入院時には全員がステロイド外用薬の連日塗布を行い、皮疹の消失後に週2日から3日程度の間欠塗布で皮疹および掻痒がほぼゼロという状態で退院している。そして、皮疹ゼロを維持しながら、ステロイド外用薬を使用する日の間隔を増やしていくというProactiveな方法を原則として指導した。しかしながら、患者・養育者の判断で皮疹が消失している間は保湿剤もしくは無塗布とし皮疹が生じたときだけステロイド外用薬を塗布するReactiveな方法に切り替えてしまうものの割合が外来通院中には増えてきた。退院2年後の時点でのProactiveな方法を維持した患者は45名中25名(54.4%)でReactiveな方法になってしまった患者は20名(45.6%)であった。入院時の平均年齢はそれぞれ4.2歳(SD=3.7 range:0-14)、4.8歳(SD=4.3, range: 0-13)、男女比は17:8と16:4、総IgE値は平均6910IU/ml(SD=9513)、6861IU/ml(SD=109699)、SCORADは78.3(SD=13.6)、76.6(SD=18.1)であり、両群に治療開始時の有意差はなかった。

2年間のステロイド外用薬の平均使用量はProactive群が0.15g/kg/dayで、Reactive群が0.14g/kg/dayと有意差はなく、Proactive群のステロイド外用薬使用頻度は週3日が1名(4%)、週2日が12名(48%)、週1日が9名(36%)、保湿剤のみが3名(12%)であった。また、身長増加速度標準偏差(HVSDS)はProactive群が1.30(SD=2.25)、Reactive群が0.46(SD=2.51)と前者のほうが身長の伸びがよかった。また2年後の総IgE値はProactive群は1687IU/ml(SD=1993)、Reactive群は3186IU/ml(3546)で有意にProactive群の方が低下していた( $p<0.01$ )。また2年間に経験した悪化時のSCORADに関してもProactive群は8.0(SD=7.3)で、Reactive群は37.2(SD=16.6)と明らかにProactive群の方が症状は軽かった( $p<0.001$ )。さらに乳幼児に多い食物抗原陽性者に関して調べたところ、卵白特異的IgE抗体価はProactive群(17名)が平均60.0から36.6へと有意に低下したのに対し、Reactive群(13名)は平均38.6から26.8と低下率が著名ではなかった( $p=0.25$ )。牛乳特異的IgE抗体価に関してもProactive群(13名)は平均54.3から34.3へと低下( $p=0.016$ )したが、Reactive群(7名)は平均38.2から34.2と低下( $p=0.81$ )しただけであった。

## D. 考察

ステロイド外用剤の有効性に関する文献では、純粋な新薬の開発研究はほとんどなく、従来から使用されている薬剤について新たな剤型を開発し、その効果を検討したものが多かったが、塗布しやすい剤型が開発

されたことは、アドヒアランスの向上には望ましい影響を与えるものと思われる。また、ステロイド外用薬の1日1回塗布が2回塗布と同じ効果であるとの主張が目立ったが、保湿剤の1日2回塗布を併用したほうが効果的であることも示されており、スキンケア1回と2回が同じという意味でないことに注意する必要がある。

筆者らは従来からProactiveは治療を心掛けてきたが、患者まかせにすれば必ずReactiveな治療になってしまう。そもそも患者はできる限り薬を使いたくないと思うものであり、それがまして副作用の懸念が喧伝されているステロイドであればなおさらのことである。自然寛解が期待できる軽症患者であれば、それでもよいと思われるが、入院加療を必要としたほどの重症患者ではProactiveな対策をとらなくては完全な寛解状態を維持することは困難である。Reactiveな方法をとっていたのではいつまでたってもステロイド外用薬を減量し離脱する見通しは立たない。今回筆者らが経験した重症アトピー性皮膚炎の患者の予後調査ではProactive therapyを行った患者のうち約半数に相当する12名(48%)が2年以内に週1日のステロイド外用薬使用もしくは保湿剤のみのステップにまで減量が可能となっている。そして悪化時のSCORADも明らかにReactive群に比べて低く、悪化時の皮疹の程度が軽いことを示している。さらに総IgEの著明な低下はもちろんであるが、卵白特異的IgE抗体価や牛乳特異的IgE抗体価もProactive群は著明な低下を示しており、食物アレルギーへの対策としてもProactiveな治療法が優れていることを示した。

## E. 結論

ステロイド外用薬はアトピー性皮膚炎の治療には非常に効果的であり、数週間以内の連続使用だけでなく、長期の間欠塗布でも副作用もほとんどなく、使用感がよい。また、Proactiveな治療法はReactiveな治療法よりも優れており、今後はさらに効果的で安全な使用法の普及が望まれる。

## F. 健康危険情報 なし

## G. 研究発表(学会発表)

- 1) T. Fukuie, I. Nomura, K. Horimukai, T. Oishi, A. Manki, M. Narita, A. Akasawa, Y. Ohya; Proactive Treatment Decreased Serum IgE Titer Significantly in Patients with Severe Atopic Dermatitis (AD). Annual meeting of American Academy of Allergy Asthma and Immunology 2009 3. 14. Washington DC, USA.
- 2) Yukihiro Ohya Behavioral intervention based on functional analysis for habitual scratching of patients with atopic dermatitis. 35<sup>th</sup> Annual convention, association for behavioral analysis international. 2009. 5. 25. Phoenix, AZ, USA

# アトピー性皮膚炎の痒みと炎症の機序の解析と食物アレルギー除去療法の EBM に関する研究 その 1 「かゆみ」のある小児患者の保護者における治療行動の調査

研究分担者 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

「かゆみ」を持つ小児アトピー性皮膚炎患者の保護者の受診行動を明らかにするために乳児健診受診者を対象としたアンケート調査を行った。患者は高率に医療機関を受診し、医師に対する信頼は高い。反面、情報をインターネットから得た者は少なく、当研究班がインターネット上に開設しているホームページ「アトピー性皮膚炎、かゆみをやっつけよう！」の利用を推進するための方策が必要であることが分かった。

### A. 研究目的

「かゆみ」で困っている小児アトピー性皮膚炎患者に対し疾患の正しい認識、治療法を啓蒙するためには、患児の保護者がそれに対しどのように対応、行動するかを明らかにする必要がある。さらに、現在当研究班がインターネット上に開設しているホームページ「アトピー性皮膚炎、かゆみをやっつけよう！」が実際にどの程度活用されているのか、その活用を促進するためにはどのような方法があるのか、についても検討する。

### B. 研究方法

佐賀市で実施している1歳児（1歳半）および3歳児（3歳半）健診を受診した小児の保護者に対し、匿名のアンケート調査を行った。アンケートには14個の設問があり、「かゆみ」に対する受診行動、情報の取得源、HPを知っているかどうかの質問を含む。アンケートは佐賀大学倫理委員会で倫理上の問題について審査され実施を承認された。アンケートの実施に関しては、佐賀市健康増進課に協力を要請した。

### C. 研究結果

2009年10月より、佐賀市1歳児および3歳児健診に随伴しアンケート調査を開始した。現時点で、1歳児健診を受診した60

人、3歳児健診の107人、計167人に対するアンケートが回収されたので、それについて検討した。

これまでに医師からADの診断を受けた者は、1歳児が1.5%、3歳児は7.4%と差を認めた（図1）。「かゆみ」に困ったことがある者は全体の46%であり、その内89%が医療機関を受診していた。時々またはよくインターネットを利用する者は全体の71%であったが、「かゆみ」治療の情報源として利用した者は14%であった（図2）。これに対し医師から情報を得たと答えたものは87%だった。当研究班が開設しているHPを知っていた者は1名であり、医療関係者から勧められたと答えた。この1名のHPに対する意見は肯定的なものであった。HPを知らないと答えた者のうち56%はこのHPを見てみたいと回答した。

図1 医師から診断された病名  
白：1歳、黒：3歳

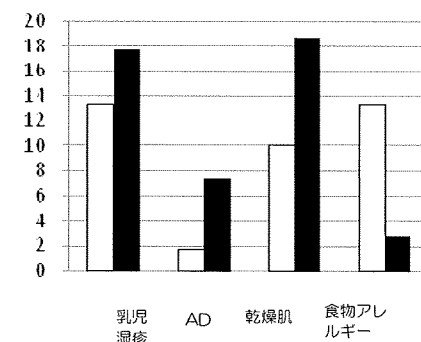
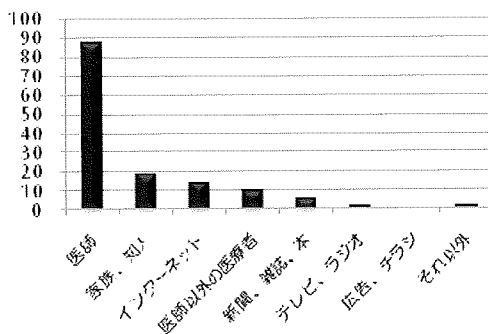


図2 どこから治療の情報を得たか (%)



#### D. 考察

医師からADの診断を受けている者が1歳児の1.5%であったことは、医師（主に小児科医と思われる）にAD診断を躊躇する姿勢があると考えられ、この時点での診断の困難性を示唆する。かゆみの患者の約9割が医療機関を受診し、医療情報も医師から得た者が多く、医師に対する強い信頼がうかがわれる。インターネットは十分普及しているが、それが医療情報を得る手段としては結びついていないと考えられ、当研究班が開設しているHPが周知されていない原因と考えられた。他方、情報を与えればHPの閲覧は増えることが予想され、どのようにHPの存在の情報を患者に与えるかが問題である。HPを知っていた1名は医師からこの情報を得ており、特に小児科医に対しHPの存在を知らしめる努力が必要ではないかと考えられた。

#### E. 結論

「かゆみ」のある小児は高率に医療機関を受診しており、保護者の多くが疾患や治療の情報を医師から得ていた。インターネットは普及しているが、それが医療情報獲得手段には必ずしもつながらないことが分かり、当研究班のHPが周知されていない原因であると考えられた。患者のHP利用促進のためには、まず医師、特に小児科医に対しHPの周知を図り、医師から患児の保護者に知らせることが早道であると考えられる。

アトピー性皮膚炎の痒みと炎症の機序の解析と食物アレルギー除去療法の EBM に関する研究  
その 2 食物アレルギー除去療法の EBM に関する研究

研究分担者 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

アトピー性皮膚炎(AD)における食物アレルギー除去療法、および微生物製剤などの使用を含む食事療法についての RCT (randomized controlled trial) を中心とした論文の評価をおこなった。これらの除去療法を含む食事療法は主に二つの目的、すなわち 1) 既存の AD に対する治療として、2) AD 発症予防を目的として、行われていた。1) においては、ミルクアレルギーを伴う AD におけるミルク除去および代替ミルクの有効性が示された。一方、微生物製剤などの AD に対する治療効果のエビデンスは確立されないと考えられた。2) 発症予防においては、アレルギー疾患発症ハイリスク児におけるミルク、鶏卵などの除去は AD 発症を予防することができることが示された。AD 発症予防に対する微生物製剤の効果は現時点では否定的である。

A. 研究目的

乳児期のアトピー性皮膚炎 (AD) の 70% に食物アレルギーを合併しており、少なくとも乳児 AD における食物アレルギーの関与は明らかであるが、成人を含む幼児以上の年齢の AD における関与は明らかとは言えない。一方では、AD に対するアレルギー除去食による治療効果の評価は困難な場合が多いにもかかわらず、乳児 AD の治療として経験的な食物アレルギー除去療法は広く行われている。栄養学的な観点から小児に対する食物除去は慎重に行われるべきであり、食物アレルギー除去療法の AD 治療に対するエビデンスを十分に検討する必要があると考えられる。

本研究の目的は、食物アレルギー除去食療法を含む食事療法の、AD の治療および発症予防に対する効果のエビデンスを評価し、同療法の適正な施行を推進することである。

B. 研究方法

AD 治療における食物アレルギー除去食療法、または食事療法に関する文献を、和文は医学中央雑誌 Web、英文は PubMed の 2 個のデータベースについて、2004 年 1 月 1

日から 2009 年 11 月 15 日までに収録された文献を対象とした。

C. 研究結果

(医学中央雑誌 Web)

検索された論文数は 119 件でありすべて症例検討または対照のない臨床研究であった。今回のエビデンスの評価の対象とはならないと考えられた。

(PubMed)

抽出された論文は、その内容から以下のように分類し検討することが妥当であると考えられた。

1) 既存の AD に対する食事療法

検索された 116 件中、タイトル、要旨から適当と思われる 19 件を抽出した。その内 RCT 9 件を評価の対象とした。これら 9 件はさらに、①アレルギー除去の効果を検討したもの(3 件)、②probiotics などの微生物製剤の効果を検討したもの(6 件)に大別された。

① 3 件中 2 件においてミルクアレルギーを伴う AD 児における除去食の有用性が示された。一方、ミルクアレルギーの診断の



ない小児に対するミルク除去、アミノ酸乳の効果は示されなかった。

② AD 症状を持つ診断の確定したミルクアレルギー児に対する probiotics の効果を検討したものの内 3 件で効果なし、1 件で効果ありという結果であった。prebiotics と synbiotics の AD に対する効果は認められなかった。成人 AD に対する docosahexaenoic acid (DHA) は治療効果を認めた。

## 2) AD 発症予防を目的とした食事療法

検索された 51 件中、タイトル、要旨から適当と思われる 12 件が抽出された。このうち 11 件が RCT でありこれを評価の対象とした。これら 11 件は①アレルギー除去の効果を検討したもの(4 件)、②probiotics などの微生物製剤の効果を検討したもの(7 件)に大別された。

① 4 件において、アレルギー疾患発症ハイリスク児における厳格な食物制限は AD 発症を抑制すると報告された。

② アレルギー疾患発症ハイリスクの新生児に対する probiotics、prebiotics の AD 発症予防効果を検討したものが 7 件見られた。probiotics を検討した 5 件では、1 件が予防効果あり、3 件で効果なし、1 件では菌種により効果を認めた。prebiotics を検討した 2 件では相反する結果が報告された。

## D. 考察

### 1) 既存の AD に対する食事療法

食物アレルギーの関与する乳児 AD の皮膚症状に対する食物アレルギー除去療法のエビデンスは、前回までの検討により、すでに確立していると考えられる。今回の検討はそれを補完するものであった。一方、食物アレルギーの診断のない AD 児におけるミルク除去、あるいはアミノ酸乳の使用は皮膚症状改善の効果がないことが示され、食物除去を行う場合、その食物に対するアレルギーの診断が必要であることを示唆していると考えられる。

今回の検討では、AD の症状に対する probiotics の効果については、一定の結論を導くことはできない。成人 AD に対する DHA の効果は期待できるが、いずれも今後の研究を待ちたい。

### 2) AD 発症予防を目的とした食事療法

アレルギー疾患発症ハイリスク児およびその母乳を与える母親における、牛乳、鶏卵を含む多数の食物の厳格な食物制限は、AD 発症を抑制する可能性は高い。しかしながら、現実にはこのように厳格な食物制限を実施するのは困難であると思われ、制限品目の削減などの検討が必要であると考えられる。

probiotics の AD 発症予防効果については意見が分かれるものの、否定的な報告が多く見られた。prebiotics の効果についても、使用した prebiotics の違いもあり、現時点では結論を導くことはできない。

## E. 結論

今回の検討において、既存の AD に対する除去食（代替食）療法の効果については多くがミルクアレルギー児を対象としたものであり、ミルクアレルギーの存在が証明された症例での有用性は認められる。probiotics の AD 治療に対する治療効果のエビデンスは、現時点では不十分である。AD 発症予防を目的とした、アレルギー疾患発症ハイリスク児に対する適切な除去食療法は推奨される。AD 発症に対する probiotics の効果は否定的である。

## アトピー性皮膚炎のかゆみに関する病態解明と実態調査に関する研究

研究分担者 中村晃一郎（埼玉医科大学皮膚科教授）

研究協力者 佐伯 秀久（東京大学皮膚科講師）

滝口光次郎（埼玉医科大学皮膚科助教）

アトピー性皮膚炎(AD)の標準治療はステロイド外用療法を中心とした薬物療法であり、診療ガイドラインで抗ヒスタミン薬はその補助療法として有効性が明らかにされている。抗ヒスタミン薬のかゆみに対する効果を明らかにすることを目的とし、抗ヒスタミン薬服用による痒みの変化について検討し、さらに血清サイトカインレベルの変化を検索した。抗ヒスタミン薬 4 週間服用によって SCORAD の改善、血清 TARC 値の減少を認めた。また AD の病態には Th2 サイトカイン異常など獲得免疫異常が存在する。サイトカイン遺伝子多型頻度解析からみた免疫異常について検索し、AD の病態におけるサイトカインの関与について検討した。

### A. 研究目的

- ① 日本皮膚科学会アトピー性皮膚炎(AD)診療ガイドライン(2009)において、ステロイド外用療法が標準的な治療として推奨され、抗ヒスタミン薬使用が補助療法として推奨されている。さらに抗ヒスタミン薬の継続治療による有効性が示されている。抗ヒスタミン薬の服用による有効性、ステロイド外用使用量との関連、血清サイトカインの変動を明らかにする。
- ② AD の病態において獲得免疫の異常が指摘されており、サイトカインの機能異常に関連する遺伝子背景を明らかにするため、IL-7R $\alpha$ , IL-8 遺伝子多型解析を施行する。

### B. 研究方法

- ① AD 患者(13 名)でステロイド外用薬の治療による治療で十分なコントロールができない患者に対して、抗ヒスタミン薬（ロラタジン 10mg/日）を追加投与し、投与前、投与時、投与後 4 週間で、重症度(SCORAD スコア)、

かゆみ VAS 値、血清サイトカイン濃度(TARC)、ステロイド外用使用量の推移を検討する。

- ② 遺伝子多型解析：AD 患者の IL-7R $\alpha$  (-1085, -449), IL-8 遺伝子多型(-353, -845, -738)頻度について解析する。

### C. 研究結果

- ① 抗ヒスタミン薬（ロラタジン）治療開始前での平均 SCORAD 値は 35.4、投与開始時の平均 SCORAD 値は 40.9 であった。抗ヒスタミン薬 4 週間服用し、平均 SCORAD 値は 34.9 に減少した(図 1)。かゆみ VAS 値は、2 週間前 41.1、治療開始時 VAS 値は 51.4 であり、4 週間後に平均 VAS 値 42.8 に減少した(図 2)。ステロイド外用量（ストロングクラス以上）使用量は 30.83g/4 週より 30.7g/4 週に変動した。治療期間における Very strong 以上のクラスの外用薬の使用の割合は、開始時に 80.2%であったものが、開始後 4 週間では 78.4%に減少した。血清 TARC 値は、平均 1638pg/ml より 1605pg/ml に推移した(図 3)。

② AD患者のIL-7R $\alpha$  (-1085, -449), IL-8 遺伝子多型(-353, -845, -738)について遺伝子解析を施行した。ADと健常人での頻度との間に有意差は認めなかった(図4、5)。

#### D. 考察

① 今回ステロイド外用に抵抗性のAD患者に対して、抗ヒスタミン薬を追加することによって、かゆみ、重症度の推移について検討した。抗ヒスタミン薬4週間服用によって、痒みを軽減しさらに重症度の改善に有効であることが示された。また継続使用によりケモカインなどの炎症惹起物質の抑制作用が示された。さらにステロイド外用薬のランクを下げることが示された。抗ヒスタミン薬の使用はステロイド外用量の減少につながる可能性があると考えられる。

② アトピー性皮膚炎におけるIL-7R $\alpha$ , IL-8 遺伝子多型頻度解析の結果、これらの遺伝子多型頻度からみたIL-7R $\alpha$ , IL-8の関与は少ないと考えた。今後症例数を追加して検討する必要があるが、今回の結果に関して今後免疫学的な機能変化についても検討する必要がある、また臨床症状との相関などについても検討する必要があると考えられた。

#### E. 結論

抗ヒスタミン薬による治療上の有効性が明らかにされた。今後は他のサイトカインの作用についても検討する予定である。

#### 参考文献

1. 日本皮膚科学会アトピー性皮膚炎診療ガイドライン作成委員会：日皮会誌 119(8)：1515-1534, 2009

F.健康危険情報：なし

#### G. 研究発表

1. 論文発表
1. Shibata S, Saeki H, Tsunemi Y, Nakamura K, et al. IL-17F single nucleotide polymorphism is not associated with Psoriasis vulgaris or atopic dermatitis in the Japanese population. J Dermatol Sci. 53(2):163-5, 2009.
2. Kato T, Tsunemi Y, Saeki H, Kakinuma T, et al. 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):162-3, 2009.
3. 中村晃一郎。皮膚症状を示す小児疾患と免疫抑制薬。小児皮膚疾患におけるシクロスポリンの適応と使い方。小児皮膚科学会雑誌。28(2): 139-143, 2009.
4. 中村晃一郎。知っておきたい皮膚病の常識・非常識。ヒスタミンの作用とヒスタミン受容体の最近の知見。Monthly Book Derma.160:66-69, 2009.
5. 中村晃一郎。専門医のためのアレルギー学講座 アレルギー疾患治療のエンドポイント。アトピー性皮膚炎治療のエンドポイント。アレルギー58 (10) ,1386-1392, 2009.
6. 中村晃一郎。外来でみる子どもの皮膚疾患診療のポイント：蕁麻疹・食餌依存性運動誘発アナフィラキシー・アナフィラキシーの皮膚症状と治療。Monthly Book Derma, 157: 15-19, 2009.
7. 中村晃一郎。アトピー性皮膚炎：診断 Update：アトピー性皮膚炎の病勢血中マ

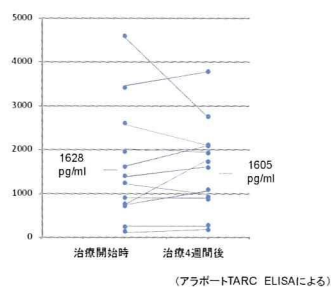
カー。医学のあゆみ. 228 (1), 41-46, 2009.

2. 学会発表

1. 中村晃一郎. 一般医のためのアトピー性皮膚炎診療の基礎知識. アレルギーの臨床. 29 (12), 1110, 2009.

2. 中村晃一郎. アトピー性皮膚炎のメカニズムと治療. 遺伝か環境か. 日本臨床皮膚科医会雑誌. 26(2), 188, 2009.

血清TARC値の推移



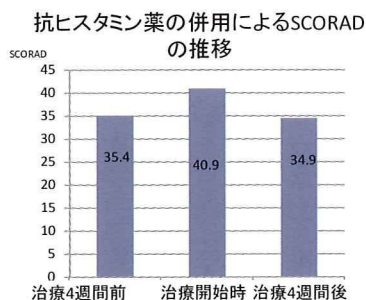
☒

4.

H. 知的財産権の出願、登録状況

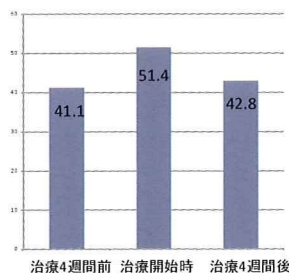
1. 新生登録状況：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

☒ 1.



☒ 2.

治療期間におけるかゆみVAS値の推移



☒ 3.

IL-8遺伝子多型解析(-845,-738,-353)

-845	健康人(n=45)	AD(n=58)
TT	45 (100%)	58 (100%)
TC	0 (0%)	0 (0%)
CC	0 (0%)	0 (0%)

-738	健康人(n=45)	AD(n=58)
TT	45 (100%)	58 (100%)
TA	0 (0%)	0 (0%)
AA	0 (0%)	0 (0%)

-353	健康人(n=87)	AD(n=53)
TT	54 (62%)	26 (49%)
TA	28 (32%)	24 (45%)
AA	5 (5.7%)	3 (5.6%)

(-353: genotype: p=0.28)  
(-353: allele: p=0.22)

☒ 5.

IL-7Rα遺伝子多型(-1085)頻度

Genotype頻度	-1085	健康人 (40)	アトピー性皮膚炎 (62)
T/T		34	42
G/T		6	20
G/G		0	0

Allele頻度	-1085	健康人 (40)	アトピー性皮膚炎 (62)
T		74	104
G		6	20

(genotype: control vs AD: p=0.05)  
(allele: control vs AD: p=0.07)