

アトピー性皮膚炎の EBM からみた民間療法の評価に関する研究

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 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)における民間療法の RCT 臨床研究を中心とした論文の評価を施行した。報告の多くは症例報告、症例集積報告による臨床研究が多く認められた。RCT 臨床研究などで有効性を検討した報告は国内海外を含めて 13 例であったが、国内報告例の多くは対照群のない研究であった。海外報告では probiotics による報告などが多く認められた。いっぽう民間療法においていわゆる不適切治療は数多く報告されている。今回の検討でも 2003 年以降 35 例が認められ、これまでの 74 報告例と合わせて約 100 例の報告例が認められた。これらの不適切治療の多くはステロイド外用薬使用を禁止しているものが多く、不適切治療による皮疹が悪化する症例であった。民間療法の有用性の評価に関しては今後対照群を含めた RCT 検証が必要である。また不適切治療に関しては今後も注意が必要である。

A. 研究目的

民間療法は、地域において伝承されるような治療法であり、最近では医療機関によって行われることも多い。筆者はこれまで、民間療法における臨床的研究について、RCT を組み入れた高いエビデンスを示す報告例が少ないことを報告してきた。このように民間療法は、AD 患者で幅広く施行されているにも関わらず、プラセボなどの対照群を含めた RCT 臨床研究によって高いエビデンスを示した報告は少ないと考えられる。いっぽうで症例報告のなかに民間療法による、いわゆる不適切な治療報告例が多く見出された。今回、これまで報告した症例に加えて、2003 年以降で報告された不適切治療の報告例について検索する。

B. 研究方法

今回の臨床研究で、医学中央雑誌、PubMed による検索を行った。検索した用語として、代替療法、民間療法、副作用、成長障害を選択

した。AD との組み合わせで、代替療法 314 件、民間療法 37 件、副作用・治療 810 件、成長障害 54 件、温泉 113 件が認められた。また PubMed で AD と alternative therapy を検索し、それらを検討した。

C. 研究結果

国内の民間療法の有効性を示す報告として一例報告が多く、プラセボなどの対照群を組み入れた RCT 比較試験は少ない。民間療法に関してわれわれは、以前 JMEDICINE の文献 4,644,966 件をもとに民間療法で RCT 検討を行ったところ、シジュウム含有塗布剤、クリーム外用薬、入浴薬によるものなどを報告している。これらは、いずれも、コントロール群を設置しているが、少人数規模の調査であり、施設も限られていた。今回、2003 年以降の民間療法の臨床研究について追加検討した。本邦報告例では医学中央雑誌で 6 例の報告が認められ、この内訳は、外用薬、香料、厳格

な食事療法、鍼治療、ドルフィン療法などであった。いずれも皮膚症状の改善を認めたが、対照群のない研究が多く、非 RCT 臨床研究であった。海外での PubMed をもとに検索した臨床研究報告では、外用薬、ホメオパシー、鍼治療と漢方の併用療法、probiotics であった。これらは RCT 比較試験であり、対照群を有し、左右比較試験、クロスオーバー試験など、エビデンスレベル 2 ないし 3 が認められた。これらの PubMed をとした海外の報告では probiotics の臨床研究が多く認められ、皮膚症状が有効であった研究が認められたが、一方、同じ治療でも有効性の認められない報告も認められた。これらの臨床研究を見ると ITT がいない研究、脱落例の記載のない研究、また外用療法などの併用療法の記述のない研究が認められた。

D. 考案

民間療法の種類として、これまでの報告では、健康食品、独自の軟膏や内服薬、エステティックサロン、水、温泉水などを用いた療法、化粧品・入浴剤などに分類されているが、今回の検討でも、食餌、皮膚への塗布剤、生活リズムや生活環境に関する治療法、物理的施術などによるものが報告されており、鍼治療などの施術、probiotics などの内服薬による RCT 研究が認められ、評価されている。いっぽう過去における AD 患者の民間療法の実態調査では、「半数近く (41.9%) が効果があったと回答したが、30 人以上試みた療法について検討したところ、特異的に高い有効性を持つものは存在しなかった」としている。また他の研究でも、「民間療法の種類にかかわらずその有効性が 10-20% 程度であり、これらの治療効果がプラセボ効果である」ことを示

していると結論づけている。

今回の検討では、民間療法の RCT 臨床研究のなかで国内の報告では、対照群のない研究、ランダム化のない報告が大部分であり、したがってエビデンスの評価として高いものは認められなかった。同じ治療でも有効性が認められない研究や、その他併用療法の記載のないもの、脱落例の記載のないもの、また施設が限定されているなどの報告研究が多く存在しており、条件によって大きく左右される可能性を示している。今後、これらを含めた評価が必要であると考えられる。

医学中央雑誌による民間療法を施行した症例報告で、皮膚炎が悪化し、民間療法を中止している症例が多数報告されていた。民間療法における不適切治療に関しては、多数報告されており、われわれはこれまでの研究班で報告で検討している。これらの不適切治療による悪化事例に関しては、①ウイルス感染症（カポジ水痘様発疹症）や接触皮膚炎などの皮膚症状の合併症・悪化を生じたもの、②民間療法によって全身の機能異常を生じたもの（厳格な食事療法による栄養障害・成長不全など）、③民間療法で使用した薬剤、あるいは混入した物質によって副作用を生じたもの（肝機能異常、腎機能異常など）などを明らかにしている。今回の臨床研究でも同様の結果が認められた。

これらの報告例の多くはステロイド外用薬を使用しない治療法が多く、不適切治療による皮膚炎の悪化事例が合計 35 例認められた。これらの不適切治療の多くは、AD の標準治療より逸脱した症例が多く認められた。不適切な治療に関しては、今後も注意深い検討が必要であり、再認識する必要があると考えられる。

E. 結論

民間療法はエビデンスによる評価という観点からは評価しにくいのが現状であり、RCT 臨床研究も、調べ得た範囲では数少ないという現状が示された。今後対照群を導入したり、一般の薬効評価と同様に多施設レベルでの検討なども必要と考えられる。また、民間療法に際して併用療法の内容、使用状況などについても、十分検証すべきであると考えられる。また、症例報告の中にはステロイド外用療法を禁止することによって、さまざまな皮膚症状の悪化を生じる場合が数多く報告されているため、不適切治療に対する検証も必要である。

参考文献

1. 秀道広、山村有美、森田栄伸、高路修、山本昇壯。アトピー性皮膚炎に対する民間療法の実態調査。西日皮膚 62 : 83-88, 2000.
2. AD Forum: 川島眞、宮地良樹、中川秀己、飯塚一、伊藤雅章、塩原哲夫ほか。アトピー性皮膚炎の診療に対する患者の認識についてのアンケート調査 第1報, 臨皮. 55: 113-119, 2001.
3. AD Forum: 川島眞、宮地良樹、中川秀己、飯塚一、伊藤雅章、塩原哲夫ほか。アトピー性皮膚炎の診療に対する患者の認識についてのアンケート調査(第2報), 臨皮 56 : 304-306, 2002.
4. アトピー性皮膚炎不適切治療健康被害実態委員会: 竹原和彦、飯塚一、伊藤雅章、玉置邦彦、川島眞、塩原哲夫、瀧川雅浩、ほか。アトピー性皮膚炎における不適切治療による健康被害の実態調査. 日皮会誌 110 : 1095-1098, 2000.
5. 金子史男、中村晃一郎、古川裕利。よりよい治療のための EBM 集。10. 民間療法。編集: 古江増隆。p58-61、p158-159、中山書店、2005.

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.

H.知的財産権の出願、登録状況

1. 特許状況: 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

表皮で発現し、表皮内かゆみ神経伸張の抑制に関与すると考えられるセマフォリン3A (SEMA3A)遺伝子についてプロモーター領域の多型とアトピー性皮膚炎(AD)の発症、あるいは総IgE値との相関について検討した。石垣島健診コホート(0-6歳)でADと診断された127人を含む722人を対象に解析を行ったところ、SEMA3Aプロモーター領域の多型とAD発症、あるいは総IgE値との有意な相関は認められなかった。

共同研究者

海老原 全 慶應義塾大学医学部皮膚科学講師

工藤 純 慶應義塾大学医学部生命情報学センター
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科学研究センター
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

アトピー性皮膚炎(以下AD)は、かゆみを伴う湿疹病変である。ADにおける表皮内神経伸張とかゆみにはセマフォリン3Aも関与すると言われており、さらに最近セマフォリン3Aをアトピー性皮膚炎マウスの皮膚へ投与することにより、皮膚炎が改善し搔破回数も低下するという報告もされている。我々は今回、かゆみ神経の形成に関与すると考えられるセマフォリン3A (SEMA3A)遺伝子について発現量に最も影響すると考えられるプロモーター領域の多型とアトピー性皮膚炎の発症、あるいは総IgE値との相関について検討した。

B. 研究方法

SEMA3Aは17個のexonが232kbにわたって存在し、5つの連鎖不平衡ブロックから構成されている(HapMapプロジェクトの結果を参照した)。昨年度、これらの連鎖不平衡ブロックの中で、最も発現量に影響すると予測されるプロモーター領域を含む exon1 周辺の連鎖不平衡ブロックについてAD患者15人に対し塩基配列解析を行った結果、2種類の多型を同定した。転写開始点から345bp上流のSNP(-345G/T)及びイントロン1の(C)8/9である。1例の例外を除き、-345Gと(C)9、-345Tと(C)8がそれぞれハプロタイプを形成していた(図1)。そこで今年度は、各ハプロタイプを代表する-345G/Tについてのみ、石垣島コホート(0-6歳)でADと診断されていない595人(non AD群)とADと診断された127人(AD

群)、合計722人を対象にPCR直接シーケンシング法で解析した。

(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

SEMA3A -345G/T多型のアレル頻度では、-345GアレルがAD群に176アレル(69.3%)、non AD群に846アレル(71.1%)、-345TアレルはAD群に78アレル(30.7%)、non AD群に344アレル(28.9%)となり、AD群とnon AD群の間に差はまったく認められなかった。

一方、遺伝子型については、AD群127人ではG/G 67人(52.8%)、G/T 42人(33.1%)、T/T 18人(14.2%)に対し、non AD群595人では、G/G 304人(51.1%)、G/T 238人(40.0%)、T/T 53人(8.9%)であった(表1)。遺伝子型T/Tについては、non AD群よりもAD群で5.3%(14.2%対8.9%)高かったが、Fisher exact test法により有意差検定を行った結果、 $P=0.110$ で有意差は認められなかった(表1)。

また、総IgE値とSEMA3A -345G/T多型との関連解析のために、過去に示した最高の総IgE値(最高値)とSEMA3A -345G/T遺伝子型の相関解析を行った(表2)。その結果、 $P=0.450$ で有意差は認められなかった。

さらに、総IgE値(最高値)によって分類し、各群におけるAD発症とSEMA3A -345G/T多型との相関を検討した。総IgE値(最高値)が1000 IU/ml以上(総IgE値が非常に高い群)、250 IU/ml以上(総IgE値が高い群)、及び250 IU/ml未満(総IgE値が正常の群)に分類し、SEMA3A -345G/T遺伝子型とAD発症の相関解析を行った(表3)。その結果、 $P=0.171-0.388$ と有意差は認められなかった。

D. 考察

SEMA3Aのプロモーター領域の多型とAD発症あるいは総IgE値との相関は石垣島コホート(0-6歳)では認められなかった。ただし、我々の昨年度の解析では、AD

の発症に寄与すると言われ、欧米や他の日本人集団（対象の年齢は幼児だけではない）の解析ではAD群に有意に頻度が高いフィラグリン（FLG）遺伝子変異の保持率が、石垣島コホートではAD群で7.9%、non AD群で4.5%となり、Fisher exact testでのP値は0.063と有意差が認められなかったことから、健診時にnon ADと診断された中に未発症のAD保因者が含まれていると推定され、今回の結果はSEMA3A遺伝子の多型とAD発症との相関を完全に否定するものではない。石垣島コホートについては、今後もAD発症に関して追跡する必要があると考えられた。

また、-345G/T多型について遺伝子型T/TのAD群とnonAD群における頻度には、有意差は認められなかったものの、5.3%（14.2%対8.9%）の差が見られた。多因子疾患では、1つ1つの因子の寄与度が高くない場合、小規模群での解析では、有意差を検出することはできない。本班が目標とする1000人規模のAD群の解析を行えば、相関の有無についてより明確になるであろう。

E. 結論

SEMA3A遺伝子プロモーター領域の多型とAD発症あるいは総IgE値との相関は石垣島コホート(0-6歳)では

認められなかった。

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

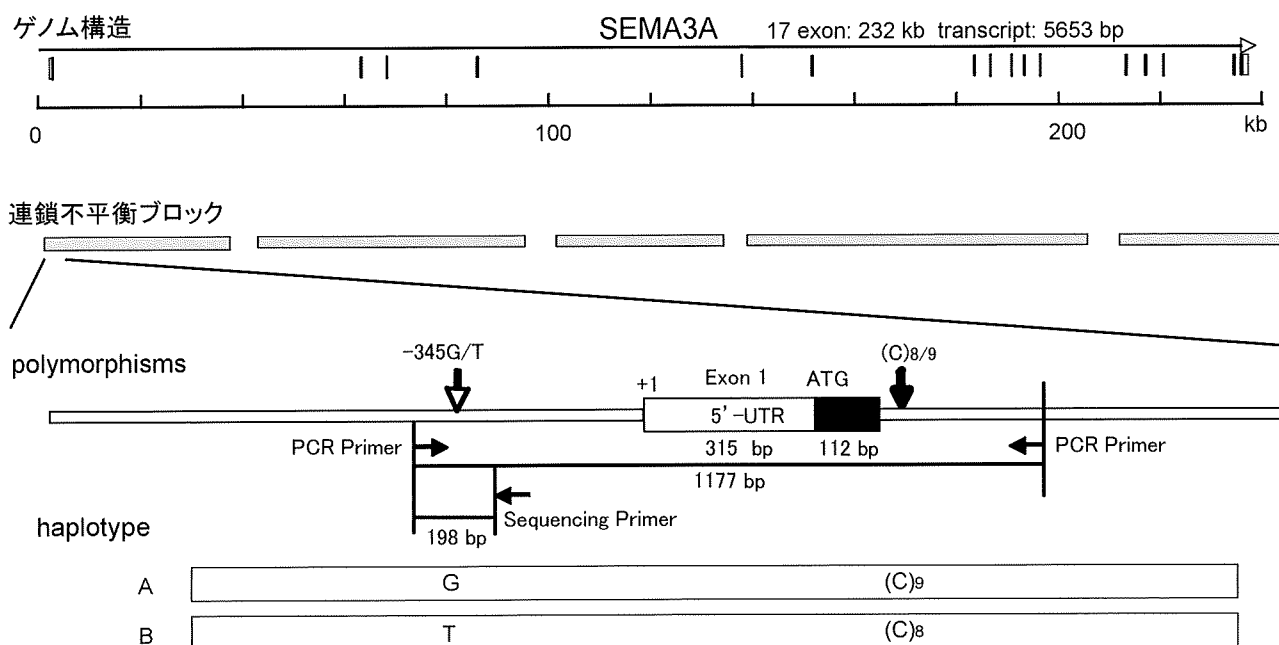


図1 ヒトSEMA3A遺伝子のゲノム構造解析

ヒトSEMA3A遺伝子は17exon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つの連鎖不平衡ブロックが存在する。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exon 1近傍の塩基配列解析をおこない、2つの多型、-345G/Tと(C)8/9を検出した。平成20年度の我々の解析から-345Gと(C)9、-345Tと(C)8は、それぞれハプロタイプを形成していた。そこで今回は-345G/Tについてのみ塩基配列を決定した。

表1 石垣島コホートにおける SEMA3A-345G/T 遺伝子型と AD 発症の相関解析

-345G/T	non-AD	AD
G/G	304	67
G/T	238	42
T/T	53	18
Total	595	127
Fisher exact test	$P=.122$	

表2 石垣島コホートにおける-345G/T 遺伝子型と 総 IgE 値(最高値)との相関解析

-345G/T	*IgE 250<	IgE <250
G/G	81	289
G/T	73	207
T/T	17	54
Total	171	550
Fisher exact test	$P=.450$	

*総IgE値単位: IU/ml

表3 石垣島コホートにおける総 IgE 値(最高値)の超高値、高値、正常値群毎の -345G/T 遺伝子型と AD 発症との相関解析

-345G/T	*IgE 1000<		IgE 250<		IgE <250	
	non-AD	AD	non-AD	AD	non-AD	AD
G/G	17	11	52	29	251	38
G/T	18	11	51	22	187	20
T/T	1	4	9	8	44	10
Total	36	26	112	59	482	68
Fisher exact test	$P=.227$		$P=.388$		$P=.171$	

*総IgE値単位: IU/ml

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 玉利真由美 理化学研究所 ゲノム医科学研究センター チームリーダー
研究協力者 広田朝光 理化学研究所 ゲノム医科学研究センター リサーチアソシエイト

研究要旨 独立に収集した2つのアトピー性皮膚炎症例-対照群を用いて相関解析を行なった。Th2型のサイトカイン、CCL-22 (MDC)の遺伝子多型とアトピー性皮膚炎の発症との間に強い相関を認めた(P=0.000035, Mantel-Haenszel検定)。機能解析を行なったところ、相関を認めた多型(リスクアレル)はCCL-22の発現をより増強させる方向に働く可能性が示された。またTh17細胞より分泌されるIL-22の遺伝子多型を解析したところ、アトピー性皮膚炎との相関は認めなかったが、乾癬発症との間に強い相関(P=0.00042)を認めた。

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、細胞壊死や感染などの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た。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、痒みとアレルギー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

独立に収集した2集団、第1集団(アトピー性皮膚炎患者561名、非アトピー性皮膚炎患者1009名)、第2集団(アトピー性皮膚炎患者999名、非アトピー性皮膚炎患者1002名)について検討を行なった。アトピー性皮膚炎の対照疾患としてTh1 diseaseである乾癬(138名)についても検討を行なった。遺伝子型タイピングは、日本人集団のHapMap databaseより抽出した遺伝子のTag SNPを対象にTaqMan法を用いて実施した。有意な関連を示したSNPについては周辺の新規SNPを探索し、その結果発症への影響が予想されるSNPについて機能解析を実施した。

(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」(平成16年12月)に基づいて倫理委員会の承認のもと実施している。

C. 研究結果 CCL-22 (MDC)はTh2型のサイトカインであり、近年アトピー性皮膚炎患者の血清中のCCL-22レベルが上昇していることが報告されている。CCL-22遺伝子領域より7個のTagSNPsを選出した。このうち第1集団において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ため、第2集団において相関の検証を行なったところ、第2集団においても強い相関を認

めた(P=0.000035, Mantel-Haenszel検定)。LPS刺激による単球におけるCCL-22遺伝子発現量と遺伝子型との関連を検討したところ、アトピー性皮膚炎のリスクアレルを持つ単球においてCCL-22mRNAはより強く誘導され、アレル特異的mRNA定量解析(AAllele-specific transcript quantification; ASTQ)においてもリスクアレルの発現増加の傾向を認めた。現在、サンプル数を増やし結果の検証を行なっている。

IL-22はIL-23により成熟増殖したTh17細胞よりIL-17とともに分泌され、アトピー性皮膚炎の炎症局所で発現が亢進、乾癬患者の血清や皮疹においても高発現していることが報告されている。我々はIL-22遺伝子の8個のTagSNPsのタイピングを行なった。アトピー性皮膚炎との相関は認めなかったが、乾癬(138名)と多型との強い相関を認めた(P=0.00042)。

D. 考察

CCL-22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。近年、IgEにより好塩基球から特異抗原非存在下でもCCL-22が分泌されることが報告されている。機能亢進に働くCCL-22の遺伝子多型がCCL-22分泌亢進に働く可能性がある。乾癬に関連するIL-22遺伝子多型に関しては現在、周辺のSNPの検索を行ない、最も強い相関を示すSNPの探索を行なっている。機能の変化が予測される場合、その機能解析を行なう。

E. 結論

アトピー性皮膚炎感受性に関連するCCL-22の遺伝子多型を同定した。この多型はその発現量に影響を与え(Gain of function)、アトピー性皮膚炎発症に関与する可能性が示唆された。

今後もDanger signals関連分子につき多型解析をすすめ、さらに本研究班で収集したサンプルを3rd populationとしてアトピー性皮膚炎関連遺伝子解析を進めていく予定である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

論文

Imada Y, Fujimoto M, Hirata K, Hirota T, Suzuki Y, Saito H, Matsumoto K, Akazawa A, Katsunuma T, Yoshihara S, Ebisawa M, Shibasaki M, Arinami T, Tamari M, Noguchi E. Large scale genotyping study for asthma in the Japanese population. *BMC Res Notes*. 2009 Mar 31;2:54.

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;3:17-35

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*. 2009;40:368-74

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* 2009;39:228-235

Otsuka K, Takeshita S, Enomoto H, Takahashi T, Hirota T, Tamari M, Ebe K, Otsuka F, Shibasaki M, Arinami T, Noguchi E. SMAD3 as an atopic dermatitis susceptibility gene in the Japanese population. *J Dermatol Sci*. 2009 Sep;55(3):200-2.

Kawai T, Takeshita S, Imoto Y, Matsumoto Y, Sakashita M, Suzuki D, Shibasaki M, Tamari M, Hirota T, Arinami T, Fujieda S, Noguchi E. Associations between decay-accelerating factor polymorphisms and allergic respiratory diseases. *Clin Exp Allergy*. 2009 Oct;39(10):1508-14.

Sakashita M, Hirota T, Harada M, Nakamichia R, Tsunoda T, Osawa Y, Kojima A, Okamoto M, Suzuki D, Kubo S, Imoto Y, Nakamura Y, Tamari M, Fujieda S. Prevalence of Allergic Rhinitis and Sensitization to Common Aeroallergens in a Japanese Population *Int Arch Allergy Immunol*.

2009 Sep 29;151(3):255-261

Hitomi Y, Ebisawa M, Tomikawa M, Imai T, Komata T, Hirota T, Harada M, Sakashita M, Suzuki Y, Shimojo N, Kohno Y, Fujita K, Miyatake A, Doi S, Enomoto T, Taniguchi M, Higashi N, Nakamura Y, Tamari M. Associations of functional NLRP3 polymorphisms with susceptibility to food-induced anaphylaxis and aspirin-induced asthma *J Allergy Clin Immunol*. 2009 Oct 124(4):779-85.

Harada M, Obara K, Hirota T, Yoshimoto T, Hitomi Y, Sakashita M, Doi S, Miyatake A, Fujita K, Enomoto T, Taniguchi M, Higashi N, Fukutomi Y, Nakanishi K, Nakamura Y, Tamari M. A functional polymorphism in IL-18 is associated with severity of bronchial asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009 Dec 1;180(11):1048-55.

日本語総説

玉利真由美、原田通成、広田朝光、人見祐基: アレルギー疾患関連遺伝子の全ゲノム解析. *最新医学*, 64:894-898, 2009

人見祐基、原田通成、広田朝光、玉利真由美: 成人喘息の関連遺伝子. *アレルギーの臨床*, 29:216-220, 2009

原田通成、広田朝光、人見祐基、玉利真由美: 遺伝とアレルギー. *小児科診療*, 72:123-1243, 2009

広田朝光、原田通成、人見祐基、坂下雅文、玉利真由美: 日本人における気管支喘息関連遺伝子. *呼吸*, 28:603-608, 2009

広田朝光、原田通成、人見祐基、玉利真由美: 小児呼吸器疾患とゲノム解析 *小児科*, 50:861-866, 2009

玉利真由美、原田通成、広田朝光、人見祐基、気管支喘息の病態と自然免疫関連遺伝子 *アレルギー*. 58:766-771, 2009

増山敬祐、玉利真由美、藤枝重治: アレルギー疾患の遺伝子多型、鼻アレルギーフロンティア. 9:7-14, 2009

原田通成、広田朝光、人見祐基、玉利真由美 小児気管支喘息と遺伝子多型 *喘息*. 22:154-158, 2009

原田通成、広田朝光、人見祐基、玉利真由美 *アレルギーの遺伝要因 実験医学 羊土社 (2009年*

原田通成、広田朝光、玉利真由美 気管支喘息と自然免疫関連遺伝子 感染炎症免疫 (2009 年 in press)

口頭発表

第 8 回 Kinki Hokuriku Airway disease Conference (KIHAC) 2009 年 4 月 リーガロイヤルホテル大阪 上気道・下気道リレーショナルシップ わかりやすい遺伝子研究の最先端 感染とアレルギーの謎に迫る 玉利真由美 原田通成 広田朝光 人見祐基

独立行政法人理化学研究所「ゲノム医科学研究センター」/文部科学省「オーダーメイド医療実現化プロジェクト」SNP から疾患遺伝子解明へ 2009 年 4 月 品川インターシティーホール 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

第 21 回 日本アレルギー学会春季臨床大会 2009 年 6 月 岐阜都ホテル

(1) シンポジウム 7 アレルギー免疫における分子生物学

分子遺伝学の臨床応用 Translational Research TSLP とアレルギー疾患 玉利真由美 原田通成 広田朝光 人見祐基

(2) 一般演題 花粉症 2 142 アレルギー性鼻炎と IL-33 との関連について 坂下雅文、広田朝光、大澤陽子、人見祐基、原田通成、善本知広、中西憲司、玉利真由美、藤枝重治

第 8 回愛知免疫アレルギーを語る会 2009 年 7 月 ホテルキャッスルプラザ

特別講演 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

第 54 回大分耳鼻咽喉科臨床研究会 2009 年 9 月 大分東洋ホテル

特別講演 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

日本人類遺伝学会第 54 回大会 2009 年 9 月高輪プリンスホテル

(1) 一般演題 口演 12 免疫遺伝学 OC102 IL-13 遺伝子多型と成人気管支喘息発症との関連解析 玉利真由美 原田通成 広田朝光 人見祐基

(2) 一般演題 口演 12 免疫遺伝学 C115 Inflammasome 形成に關与する NLR family 遺伝子多型と食物アナフィラキシーとの関連解析 人見祐基、海老澤元宏、広田朝光、原田通成、鈴木洋一、中村

祐輔、玉利真由美

(3) ポスター発表 PA148 MMP-13 遺伝子と喘息発症との相関 真下陽一、佐藤正子、下条直樹、広田朝光、土居悟、宮武明彦、岡本美孝、河野陽一、玉利真由美、羽田明、鈴木洋一

(4) ポスター発表 PA055 17q21 locus の遺伝子多型とスギ花粉症の相関解析 広田朝光、原田通成、人見祐基、玉利真由美、坂下雅文、藤枝重治

水戸地区耳鼻科医会 2009 年 10 月 ホテル テラス ザガーデン水戸

特別講演 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

The 59th Annual Meeting of The American Society of Human Genetics 2009 年 10 月 The Hawaii Convention Center,

(1) Poster Board #512 Genetic association studies of IL-13 gene in adult asthma in Japanese populations

Mayumi Tamari, Tomomitsu Hirota, Michishige Harada, Yuki Hitomi, Akihiko Miyatake, Yoichi Suzuki, and Yusuke Nakamura.

(2) Poster Board #518 Associations of functional polymorphisms in NLR genes with susceptibility to food-induced anaphylaxis Yuki Hitomi, Motohiro Ebisawa, Tomomitsu Hirota, Michishige Harada, Yoichi Suzuki, Yusuke Nakamura, Mayumi Tamari

第 59 回日本アレルギー学会秋季学術大会 2009 年 10 月秋田ビューホテル

(1) Poster 教育セミナー10 ウイルス感染による喘息増悪の機序と SFC の作用 遺伝子研究の立場から 玉利真由美 原田通成 広田朝光 人見祐基

(2) Poster ワークショップ12 アレルギー病態解析のジェノミクスとサイトミクス

W12-2 ジェノミクス 各論-遺伝子多型を用いたアレルギー疾患の解析 原田通成 広田朝光 人見祐基 玉利真由美

(3) Poster MS-4-12 初診の咳喘息患者および気管支喘息患者の背景因子の比較検討 藤田きみゑ、宮武明彦、中野直子、大月道夫、笠山宗正、玉利真由美

(4) Poster MS-10-7 IL-13 遺伝子多型と気管支喘息との関連解析 城道絢、広田朝光、原田通成、人見祐基、宮武明彦、土居悟、中村豊、井上洋西、玉利真由美

(5) MS-10-9 MMP13 遺伝子の気管支喘息との相関と気道上皮における役割

鈴木洋一、真下陽一、佐藤正子、下条直樹、広田朝光、土居悟、宮武明彦、岡本美孝、河野陽一、玉利真由美、羽田明

(6) MS-21-16 日本人集団におけるアトピー性皮膚

炎と乾癬のGWASの検証

広田朝光、原田通成、人見祐基、玉利真由美、江部康二、土居悟、宮武明彦、佐伯秀久、常深祐一郎、古江増隆

(7) MS31-8 気管支喘息患者における IL-13 遺伝子多型と気道リモデリング

長島広相、中村豊、鹿内俊樹、佐々木信人、佐藤温子、似内郊雄、菅野祐幸、澤井高志、玉利真由美、広田朝光、出原賢治、山内広平、井上洋西

(8) MS39-#5 NLR family 遺伝子多型と食物アナフィラキシーとの関連解析 人見祐基、海老澤元宏、富川盛光、今井孝成、小俣貴嗣、広田朝光、原田通成、鈴木洋一、下条直樹、河野陽一、玉利真由美

第54回山口アレルギー疾患研究会 2009年11月 宇部全日空ホテル

特別講演1 気管支喘息とCOPDの病因病態について 疾患遺伝子の観点より 玉利真由美 原田通成 広田朝光 人見祐基

アスピリン不耐症・難治性喘息研究会 2009 2009年11月ベルサール西新宿

II. シンポジウム：喘息の難治化機序を考える 2) 喘息難治化に関与する遺伝子 玉利真由美 原田通成 広田朝光 人見祐基

アレルギー・気道上皮細胞研究会 第13回学術大会 2009年12月 シェーンバッハ・サボー
特別講演 気管支喘息の遺伝子解析-SNP解析と発現解析、気道上皮細胞を中心に 玉利真由美 原田通成 広田朝光

The 17th Symposium of Asthma in Tokyo 2009年12月 千代田放送会館 2階ホール

プレナリーシンポジウム「喘息サブタイプ」 1. 喘息サブタイプと遺伝子多型 玉利真由美 原田通成 広田朝光

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得

NLRP3遺伝子の多型に基づくアレルギー疾患劇症化の検査方法

玉利真由美、中村祐輔、人見祐基、広田朝光
2009-173252(平成21年7月24日出願)

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

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 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准教授

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い、新規疾患感受性遺伝子としてSMAD3が同定された。現在Smad3ノックアウトマウスを使用した研究を行うためにSpeed congenic法によるバッククロスを行っている。

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同定されたSMAD3を分子標的として、その作用機序について検討を行う。

B. 研究方法

昨年度までのヒト臨床データより、SMAD3の発現低下がアトピー性皮膚炎の改善につながる可能性が示唆されたために、Smad3ノックアウトマウスを使用したアトピー性皮膚炎モデルマウスを作製し、詳細な研究を行う。Smad3ノックアウトマウスはC57BL/6のバックグラウンドを持つ。C57BL/6マウスはアトピー性疾患抵抗性であることが知られている。アトピー性皮膚炎に対する疾患感受性を有するstrainであるNc/Ngaにバックグラウンドを変更するために本年度はSpeed congenic法によるバッククロス用のマーカーを同定し、バッククロスを行った。

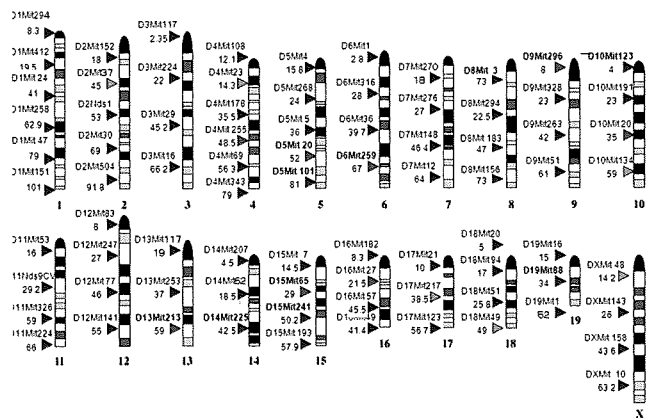
(倫理面への配慮)

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。また動物実験についても筑波大学の審査を経て動物実験の適正な実施に向けたガイドラインに沿って行った。

C. 研究結果

現在までにNc/NgaとC57BL/6についてのSpeed congenic法についての報告はなく、適切なマーカーの選択から開始した。平成22年2月1日の時点でNc/NgaとC57BL/6を識別するための78マーカーが同定された。このマーカーは10-20cMで配置されているため、各染色体においてよりNc/Ngaのゲノムを有する個体を識別するのに有用である。現在第二世代の雄10匹のタイピングを行っている。

図 C57BL/6とNc/Nga識別のためのマイクロサテライトマーカー



D. 考察

マウス実験において適切なバックグラウンドを有するマウスを使用することは不可欠であるが、通常の方法によるバックグラウンドの変更には約10世代が必要となるためその期間も3年程度と長期間にわたる。本研究で使用するSpeed congenic法では適切なマーカーの選択により約5世代、1年半程度でバックグラウンドの変更が可能である。現在までにNc/NgaとC57BL/6についてのSpeed congenic法についての報告はなく、これらのデー

タはアレルギー疾患のモデルマウス実験において有用なデータになると考えられる。研究期間の終了時までには、Nc/Ngaバックグラウンドを有するSmad3マウスの解析を行う予定である。

E. 結論

アトピー性皮膚炎の新規疾患感受性遺伝子であるSmad3のノックアウトマウス解析のために、Speed congenic法によりNc/NgaとC57BL/6を識別するための78マーカーを同定し、バッククロスを行った。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. Imoto Y, Enomoto H, Fujieda S, Okamoto M, Sakashita M, Susuki D, Okada M, Hirota T, Tamari M, Ebe K, Arinami T, Noguchi E: S2554X mutation in the flaggrin gene is associated with allergen sensitization in the Japanese population. J Allergy Clin Immunol 2010 in press
2. Otsuka K, Takeshita S, Enomoto H, Takahashi T, Hirota T, Tamari M, Ebe K, Otsuka F, Shibasaki M, Arinami T, Noguchi E: SMAD3 as an atopic dermatitis susceptibility gene in the Japanese population. J Dermatol Sci 55:200-2 2009.
3. 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 thymic stromal lymphopoietin variants in human bronchial epithelial cells. Am J Respir Cell Mol Biol 40:368-74 2009.
4. Kawai T, Takeshita S, Imoto Y, Matsumoto Y, Sakashita M, Suzuki D, Shibasaki M, Tamari M, Hirota T, Arinami T, Fujieda S, Noguchi E: Associations between decay-accelerating factor polymorphisms and allergic respiratory diseases. Clin Exp Allergy 2009.

2009.

5. Imada Y, Fujimoto M, Hirata K, Hirota T, Suzuki Y, Saito H, Matsumoto K, Akazawa A, Katsunuma T, Yoshihara S, Ebisawa M, Shibasaki M, Arinami T, Tamari M, Noguchi E: Large scale genotyping study for asthma in the Japanese population. BMC Res Notes 2:54 2009.
6. 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 39:213-21 2009.

2. 学会発表

1. Noguchi E: Genetic approach to identify susceptibility genes for allergic diseases. World Allergy Congress, Buenos Aires, Argentina 2009.
2. 野口恵美子: 遺伝子とアレルギー疾患の性差. シンポジウム2 第46回日本小児アレルギー学会 12月 福岡シンポジウム2 2009.

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 古庄憲浩 九州大学大学院環境感染医学 准教授

研究要旨

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。一般住民において、アトピー性皮膚炎の調査を行い、遺伝子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た。沖縄県石垣市一般住民3892例（男性1590例、女性2302例）の協力を得て、遺伝子検体採取と問診によりアレルギー性疾患（アトピー性皮膚炎、気管支喘息、薬剤性皮膚炎、花粉症など）保有者 117例と非保有者3775例を判別できた。非アレルギー疾患3775例は、20才から96才までの集団であり、アトピー性皮膚炎患者と性・年齢などをマッチさせて抽出し、遺伝子解析を行う必要がある。今後、さらに解析を行い、アトピー関連遺伝子の探索を行う。

研究協力者：

澤山泰典 九州大学病院 総合診療科
村田昌之 九州大学病院 総合診療科
貝沼茂三郎 九州大学大学院 感染環境医学
岡田享子 九州大学病院 総合診療科
谷合啓明 九州大学病院 総合診療科
大西八郎 九州大学大学院 感染環境医学
迎 はる 九州大学大学院 感染環境医学
古賀恒久 九州大学大学院 感染環境医学
海野麻美 九州大学大学院 感染環境医学
永楽訓三 九州大学大学院 感染環境医学
居原 毅 九州大学大学院 感染環境医学

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。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。

我々はこれまでに、平成13年度から沖縄県石垣市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。この検診は毎年継続されており、石垣市の乳幼児コホートの前向き調査を可能としている。H15-16年にかけてはアトピー性皮膚炎の重症度マーカー、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、日本人がSNPタイピングにより大きくRyukyuu(琉球)-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。従って、石垣島のコホート群における追跡調査、血液検査、遺伝子研究などで得られた成果が日本人に広く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実施し、妥当性・有意性を検証する必要がある。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科(感染環境医学)、同皮膚科、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、健常者各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。2009年6月から同年8月の沖縄県石垣市の住民健診において遺伝子研究への参加を募り、同意を得ることができた一般住民の血液遺伝子採取と問診によるアレルギー

性疾患調査を行う。

(倫理面への配慮)

すでに九州大学病院倫理委員会の審査許可を得ている(承認番号162番)。

C. 研究結果

沖縄県石垣市一般住民3892例(男性1590例、女性2302例)の協力を得て、遺伝子検体採取と問診によりアレルギー性疾患(アトピー性皮膚炎、気管支喘息、薬剤性皮膚炎、花粉症など)保有者 117例と非保有者3775例を判別できた。

D. 考察

非アレルギー疾患3775例は、20才から96才までの集団であり、アトピー性皮膚炎患者と性・年齢などをマッチさせて抽出し、遺伝子解析を行う必要がある。

今後、さらに解析を行い、アトピー関連遺伝子の探索を行う。

E. 結論

アレルギー性疾患(アトピー性皮膚炎、気管支喘息、薬剤性皮膚炎、花粉症など)保有者 117例と非保有者3775例を判別できたので、今後、さらに解析を行い、アトピー関連遺伝子の探索を行う。

F. 健康危険情報
なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Maeda S, Sawayama Y, **Furusyo N**, Shigematsu M, Hayashi J. The association between fatal vascular events and risk factors for carotid atherosclerosis in patients on maintenance hemodialysis: Plaque number of dialytic atherosclerosis study. *Atherosclerosis*. 2009;204:549-555.
- 2) 林 純、澤山泰典、貝沼茂三郎、村田昌之、金本陽子、**古庄憲浩**. 食後高脂血症に対するエゼチミブの効果 — 食事負荷試験(クッキーテスト)を用いて—. *臨牀と研究* 2009;86:1556-1559
- 3) Sawayama Y, Kikuchi K, Tatsukawa M, Hayashi S, Taira Y, **Furusyo N**, Hayashi J. Association of chlamydia pneumoniae DNA in Peripheral Blood Mononuclear Cells and IgA Antibody with Atherosclerotic Diseases. *Fukuoka Acta Med*. 2009;100:305-312
- 4) Ogawa E, **Furusyo N**, Toyoda K, Takeoka H, Maeda S, Hayashi J. The longitudinal quantitative assessment by transient elastography of chronic hepatitis C patients treated with pegylated interferon alpha-2b and ribavirin. *Antiviral Research*. 2009;83:127-134
- 5) 林 純、**古庄憲浩**. C型慢性肝炎に対するグリチルリチン注射剤の有効性とその後発品の功罪. *消化器病ネットワーク たんじゅうさん* 2009;8:12
- 6) 林 純、**古庄憲浩**、澤山泰典. HCV患者の変遷と疫学. *医学と薬学* 2009;62:365-371
- 7) 林 純、**古庄憲浩**、梶原英二、中牟田誠、丸山俊博、高橋和弘、佐藤丈顕、野村秀幸、田邊雄一、古藤和浩. C型慢性肝炎に対するペグインターフェロン α -2bとリバビリン併用療法の臨床成績. *消化器科* 2009;49:95-104
2. 学会発表
- 1) Sawayama Y, Okada K, Maeda S, Ohnishi H, **Furusyo N**, Hayashi J: Hepatitis C virus is related to the progression of carotid atherosclerosis in patients undergoing lipid lowering therapy, HepDart 2009, Hawaii, 2009
- 2) 豊田一弘、**古庄憲浩**、村田昌之、武岡宏明、大西八郎、澤山泰典、林 純: 沖縄県石垣市一般住民におけるヘリコバクター・ピロリ感染の血清ペプシノゲンと上部消化器病変の検討、第79回日本感染症学会西日本地方会学術集会、福岡、2009
- 3) 澤山泰典、菊地健介、達川政文、**古庄憲浩**、林 純: PBMC 中の Chlamydia pneumonia DNA と Chlamydia pneumoniae 抗体との関連、第79回日本感染症学会西日本地方会学術集会、福岡、2009
- 4) Koga T, **Furusyo N**, Ai M, Otokozawa S, Mukae H, Ohnishi H, Maeda S, Sawayama Y, Asztalos B, Schaefer E, Hayashi J: Small dense LD cholesterol levels predict subclinical atherosclerosis in a Japanese general population: A Kyushu and Okinawa Population Study (KOPS), XV International Symposium on Atherosclerosis, Boston, 2009
- 5) Ohnishi H, Sawayama Y, Maeda S, Koga T, Mukae H, **Furusyo N**, Hayashi J: Association of peripheral atherosclerosis disease and carotid atherosclerosis: A Kyushu and Okinawa Population Study (KOPS), XV International Symposium on Atherosclerosis, Boston, 2009
- 6) Sawayama Y, Maeda S, Ohnishi H, **Furusyo N**, Hayashi J: Impact of lifestyle modification on cardiovascular event in a suburban Japanese population: A Kyushu and Okinawa Population Study (KOPS), XV International Symposium on Atherosclerosis, Boston, 2009
- 7) **Furusyo N**, Koga T, Ai M, Otokozawa S, Mukae H, Maeda S, Sawayama Y, Asztalos B, Schaefer E, Hayashi J: Chronic Helicobacter pylori infection affects lipid metabolism by elevating LDL and small dense LDL: A Kyushu and Okinawa Study (KOPS), XV International Symposium on Atherosclerosis, Boston, 2009
- 8) Hayashi J, **Furusyo N**, Sawayama Y: Atherosclerosis and chronic infection as cardiovascular risk factors in the general population of Japan from the Kyushu and Okinawa Population Study (KOPS), XV International Symposium on Atherosclerosis, Boston, 2009
- 9) 澤山泰典、前田晋至、大西八朗、**古庄憲浩**、林 純: 冠動脈疾患における高ホモシスチン血症と

肺炎クラミジア感染との関連、第 83 回日本感染症学会、東京、2009

- 10) 古賀恒久、古庄憲浩、永樂訓三、迎はる、大西八郎、小川栄一、前田晋至、豊田一弘、谷合啓明、大田黒滋、貝沼茂三郎、村田昌之、澤山泰典、林 純: small dense low-density lipoprotein-cholesterol と動脈硬化の関連について、第 17 回日本総合診療医学会学術集会、福岡、2009
- 11) 大西八郎、澤山泰典、前田晋至、豊田一弘、小川栄一、村田昌之、古庄憲浩、林 純: 一般住民検診における Form PWV/ABI による末梢動脈疾患の疫学調査、第 17 回日本総合診療医学会学術集会、福岡、2009
- 12) 前田晋至、古庄憲浩、大西八郎、武岡宏明、豊田一弘、永樂訓三、迎はる、古賀恒久、海野麻美、貝沼茂三郎、村田昌之、澤山泰典、林 純: 総死亡および脳心血管系死亡における 頸動脈

プラークによる指標と慢性腎臓病(CKD)について—4 年間の前向きコホート研究 (Kyushu Okinawa Population Study: KOPS) からの解析—、第 17 回日本総合診療医学会学術集会、福岡、2009

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

1. マウス皮膚炎モデルを用いた、皮膚炎・搔破行動・表皮内神経伸長に関連に関する研究

研究分担者 竹内聡 九州大学病院皮膚科 助教

研究協力者 江崎仁一 九州大学大学院医学研究院皮膚科学教室 大学院生

研究要旨

かゆみと炎症の関連に関して、1)かゆみや搔破行動に与える免疫関連因子の探索とその影響を確認する。タクロリムスや副腎皮質ステロイド軟膏などの既存アトピー性皮膚炎の治療薬と比較して、我々が新規開発した新しい抗炎症薬であるMEK1/2シグナル阻害薬の皮膚炎や搔破行動に対する影響を慢性皮膚炎マウスモデルにて検証する。

A. 研究目的

1)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CX659S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。またアトピー性皮膚炎などの湿疹病変への使用では著明な抗かゆみ効果を示すステロイドも同様に同モデルでの搔破行動を抑制しなかった。搔破行動の抑制効果に関しては、マウス種や皮膚炎の惹起方法にてその抑制効果に差があるとの報告もあったため、ハプテン誘発モデル以外での検証も考慮すべきであると思われた。そこで、CX695Sの搔破行動に対する抑制効果を、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。今回は予備実験としてダニ精製抗原塗布を用いたアトピー性皮膚炎モデルのNC/Ngaマウスの皮膚炎発症率、皮膚炎・搔破の程度、表皮内神経伸長、FK506の至適濃度などを検討した。

B. 研究方法

試薬の適正濃度、マウス搔破行動の抑制効果の評価モデルの作成のためNC/Ngaマウスの剃毛した背部と耳に、安定した市販の精製ダニ抗原であるピオスタADを週に2回、4週間塗布して皮膚炎を形成させた。外用薬としてハプテン誘発モデルで搔破行動の抑制効果を示したFK506を用い、濃度を2%(急性皮膚炎の抑制効果で標準となるステロイド薬(ベタメタゾン0.2%との比較で検討した)と0.2%(より臨床で使用される濃度に近い濃度)で比較した。いずれも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。

(倫理面への配慮)

本動物実験プロトコールは九州大学の動物実験に関する倫理委員会にて審議、認定されているプロトコールを用いて実験を行っている。

C. 研究結果

全例でダニ抗原塗布群には皮膚炎を発症したが、「耳介腫脹反応」および「皮膚炎スコア」については、第1～4週の全てで有意差はみられなかった。「搔破行動」では、塗布開始後第1週目まではすべての群で差はみられなかったが、第2、3、4週目ではダニ抗原誘発群(陽性対照群)でより目立ち、FK群では搔破行動が抑制される傾向にあったが、有意差は見られなかった。第4週後の背部皮膚炎惹起部の組織学的解析では、ダニ抗原誘発群では無処置の陰性対照群より有意に浸潤している「炎症細胞数」は多く、真皮の「肥満細胞数」に関してもダニ抗原誘発群で無処置の陰性対照群より有意に多かった。「IL-4陽性細胞」および「IL-17陽性細胞」についても同様であったが、「IFN- γ 陽性細胞」に関しては有意差は認められなかった。また、FK群ではダニ抗原誘発群(陽性対照群)で見られた炎症細胞および肥満細胞を有意に抑制しており、「IL-4陽性細胞」および「IL-17陽性細胞」についても同様に浸潤を抑制していた。「PGP9.5」による表皮内神経伸長は、FK群と比較してダニ抗原塗布群で表皮浅層まで見られる傾向にあった。

D. 考察

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、使用するFK506の至適濃度について比較検討した。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に抑制していた。表皮内神経伸長についても、両群ともに抑制する傾向にあった。

問題点:ビオスタ AD によるダニ抗原誘発性の皮膚炎の惹起率がこれまでの報告より低い傾向にあったため、充分な数の皮膚炎マウスを用意するために予定よりも多くのマウスを必要とした。

E. 結論

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に抑制されていることから、精製ダニ抗原を用いたNC/Ngaマウス皮膚炎モデルに対する外用薬としてのFK506の濃度は2%を用いずとも、0.2%で適当であろうと思われた。ビオスタADによる誘発皮膚炎の惹起利率に関しては、前処置であるSDSによる皮膚バリア抑制時間を長めにとるなどの改善が必要と思われた。

F. 健康危険情報

とくになし。

G. 研究発表

- 論文発表
- 竹内聡、古江増隆 アレルギーの臨床:この20年の進歩と今後の展望 アレルギー性皮膚疾患:今後の展望 アレルギーの臨床(総説)2010
- Takeuchi S, Yasukawa F, Furue M, Katz SI. Collared mice: A model to assess the effects of scratching. J Dermatol Sci. 2010 Jan;57(1):44-50.
- 竹内聡、古江増隆. 痒みのメカニズムと制御に迫る。痒みの制御とその可能性 一痒み治療の新展開—アレルギーの臨床 2009年9月号(総説)
- Chen SY, Takeuchi S, Moroi Y, Kido M, Hayashida S, Qian Y, Tomoeda H, Uenotsuchi T, Urabe K, Furue M, Tu YT. Significance of cyclin D1-, product of retinoblastoma (pRb), p53, p63 and p73 expression in eccrine poroma and eccrine porocarcinoma. J Dermatol Sci. 2009 Oct;56(1):69-72.
- Hosokawa C, Takeuchi S, Furue M. Severity scores, itch scores and plasma substance P levels in atopic dermatitis treated with standard topical therapy with oral olopatadine hydrochloride. J Dermatol. 2009 Apr;36(4):185-90.
- Hachisuka J, Takeuchi S, Kido M, Fukiwake N, Furue M. Severity of disease, rather than xerosis, correlates with pruritus in patients with atopic dermatitis. Int J Dermatol. 2009 Apr;48(4):374-8.

- Chen SY, Takeuchi S, Moroi Y, Hayashida S, Kido M, Tomoeda H, Uenotsuchi T, Tu YT, Furue M and Urabe K. Concordant overexpression of phosphorylated-ATF2 and STAT3 in extramammary Paget's disease J Cutan Pathol. 2009 Apr;36(4):402-8.
- 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—

2. 学会発表

- 竹内聡.かゆみから見たアトピー性皮膚炎の治療 2009 長崎県中央皮膚科医研究会講演会 平成22年1月23日 諫早
- Satoshi Takeuchi^{1*}, Hidehisa Saeki², Shoji Tokunaga³, Hideshi Torii⁴, Koichiro Nakamura⁵, Yoshinao Soma⁶, Michihiro Hide⁷, Rikako Sasaki⁸, Yukihiro Ohya⁹, Makiko Kido¹, Masutaka Furue¹. A randomized, multicenter trial of topical tacrolimus for treatment of pruritus in patients with atopic dermatitis 5th International Workshop for the Study of Itch, Oct. 27th, 2009 (Chin-zan-so, Tokyo)
- 竹内聡. :アトピー性皮膚炎の治療におけるかゆみの制御 第61回皮膚科学会西部支部学術大会 ランチョンセミナー平成21年10月25日 別府国際コンベンションセンター
- 竹内聡. テーマ:かゆみからみたアトピー性皮膚炎の治療 第108回日本皮膚科学会総会 教育講演 38 平成21年4月26日 福岡国際会議場 (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。)

- 特許取得
なし。
- 実用新案登録
なし。
- 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

- 1) 本土・琉球クラスターにおけるアトピー関連遺伝子の探索に関する研究
- 2) 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

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 (九州大学病院皮膚科助教)、江崎仁一 (同皮膚科大学院生)、吉村映里 (九州医療センター皮膚科)、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 (慶應義塾大学生命情報学センター)、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)、藤本 学 (金沢大学皮膚科准教授)、羽白 誠 (大阪警察病院皮膚科部長)、秋山一男、中澤卓也 (国立病院機構相模原病院臨床研究センター)、幸野 健 (関西労災病院皮膚科)

研究要旨

- 1) アトピー性皮膚炎の疾患感受性遺伝子探索を目的とし、遺伝子背景の違いがわかってきている琉球クラスターと本土クラスターにおいて比較検討を進めながら共通して変化し、臨床応用の可能性の高い候補遺伝子を策定する。すでに候補遺伝子としての同定がすすんでいる遺伝子に関しては遺伝子改変マウスなどを用いて皮膚炎やかゆみへの貢献度を調べた。
- 2) 前回のEBM評価 (2003年まで) の2010年度アップデート版作成を目的とし、EBM評価に基づく治療法、合併症など、2009年9月までに発表された国内外の論文を検索・検討・評価し公表する。

A. 研究目的

1) 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。

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追跡調査、血液検査、遺伝子研究などで得られた成果 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、またはある特定の疾患サブグループや地域特異性 (石垣島など) に認められる傾向にあるのかなどをより正確に検討するには、次なるステップとして同様の採血検査、遺伝子調査を本邦の他地域においても実施し、石垣島で得られた結果の有意性を確認する必要がある。そこで九州・山口地域一円からの人口流入地域である福岡と、全国からの人口流入地域である東京地域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。

2) 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」のなかで、上記 1. ~6. 課題について、前回の EBM 評価で 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、2010 年度版 EBM 評価に基づく治療法、合併症などのアッ

プデートを行う目的で最終的には 2009 年 9 月までに発表された国内外の論文を検索し、検討、評価するものであり、本稿は各項目の現在の進捗状況を示すものである。

B. 研究方法

1) 九州大学病院皮膚科、同総合診療部、慶應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、健常者各 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。

2) アトピー性皮膚炎 (atopic dermatitis) と 1. ~6. それぞれの関連キーワードを組み合わせ、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、システマティックレビュー、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、該当例がない、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。

(倫理面への配慮)

1) 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を得ている。

2) 調査対象が既に公表された論文を検索、評価するものであるため倫理的問題は該当しないと考える。

C. 研究結果

1) 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。現在上記研究協力者の施設にて、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。

2) 合併症：ウイルス性疾患：(4件)、細菌感染症：(11件)、真菌感染症(5件)、白内障：(3件)を評価対象とした(吉村、竹内)。漢方療法(清皮湯、消風散、黄皇経験方、複方苦参、桂枝加黄ろう湯・黄ろう解毒湯、補中溢気湯、温清散、当帰飲子、白虎加人参湯、桂枝茯苓丸ほか)：ランダム化比較試験が2件、症例集積研究が10件、各30例、94例、10例、65例、65例、22例、14例、36例、34例、158例規模(江崎、竹内)。シクロスポリン内服療法：ランダム化比較試験1件(タクロリムス外用との比較)、後ろ向きコホート1件(内服による有用性と安全性の検討)、システマティックレビュー2件が確認された(藤本)。心身医学療法：選択的セロトニン拮抗薬や新資料法・精神療法を中心に、RCTなし、メタアナリシス2件、比較研究4件、単群研究4件、症例報告2件が認められた(羽白)。環境アレルゲン(注：全年代を検索)：検索で得られた24件を解析中である(秋山)。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(幸野)。

D. 考察

1) 現在までに九州大学病院皮膚科ではアトピー性皮膚炎患者130名の調査・サンプル採取が終了した。
2) 現在、各研究分担者、研究協力者よりEBM各分野のまとめの本文、評価表が提出され、エビデンスの最終評価作業中である。

E. 結論

1) 今後も継続的に積極的な患者への呼びかけとサンプル収集を行いたい。
2) 今後、細部修正の上、2010年度中の公表を予定している。

F. 健康危険情報

該当無し。

G. 研究発表

1. 論文発表

Furue M, Takeuchi S
Topical tacrolimus as treatment of atopic dermatitis
Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology 2 ; 161-166 ; 2009

Hosokawa C, Takeuchi S, Furue M
Severity scores, itch scores and plasma substance P levels in atopic dermatitis treated with standard topical therapy with oral olopatadine hydrochloride
Journal of Dermatology 36 ; 185-190 ; 2009

Hachisuka J, Takeuchi S, Kido M, Fukiwake N, Furue M
Severity of disease, rather than xerosis, correlates with pruritus in patients with atopic dermatitis.
The International Society of Dermatology 48 ; 374-378 ; 2009

Saeki H, Furue M, Furukawa F, Hide M, Ohtsuki M, Katayama I, Sasaki R, Suto H, Takehara K.
Guidelines for management of atopic dermatitis
Journal of Dermatology 36 ; 563-577 ; 2009

古江増隆
ステロイド外用薬
アレルギーの臨床 29(5) ; 397-403 ; 2009

古江増隆
アトピー性皮膚炎治療の考え方
日本医事新報 4447 ; 56-61 ; 2009

古江増隆
ステロイド外用薬の使い方：コツと落とし穴
アレルギー 58(5) ; 491-497 ; 2009

古江増隆
アトピー性皮膚炎に対する早期介入を行っても喘息を発症してしまうと聞きましたが本当ですか？
Q&Aでわかるアレルギー疾患 5(2) ; 197-199 ; 2009

五十嵐敦之、中川秀己、瀧川雅浩、古江増隆、大槻マミ太郎、川島眞、佐伯秀久、竹原和彦、秀道広、古川福実、両角國男
アトピー性皮膚炎治療におけるシクロスポリンMEPCの使用指針
臨床皮膚科 63(13) ; 1049-1054 ; 2009

竹内聡、古江増隆 アレルギーの臨床：この20年の進歩と今後の展望 アレルギー性皮膚疾患：今後の展望 アレルギーの臨床(総説)2010

Takeuchi S, Yasukawa F, Furue M, Katz SI. Collared mice: A model to assess the effects of scratching.
J Dermatol Sci. 2010 Jan;57(1):44-50.

竹内聡、古江増隆. 痒みのメカニズムと制御に迫る。痒みの制御とその可能性 ―痒み治療の新展開―アレルギーの臨床 2009年9月号 (総説)

Chen SY, Takeuchi S, Moroi Y, Kido M, Hayashida S, Qian Y, Tomoeda H, Uenotsuchi T, Urabe K, Furue M, Tu YT. Significance of cyclin D1-, product of retinoblastoma (pRb), p53, p63 and p73 expression in eccrine poroma and eccrine porocarcinoma. J Dermatol Sci. 2009 Oct;56(1):69-72.

Chen SY, Takeuchi S, Moroi Y, Hayashida S, Kido M, Tomoeda H, Uenotsuchi T, Tu YT, Furue M and Urabe K. Concordant overexpression of phosphorylated-ATF2 and STAT3 in extramammary Paget's disease J Cutan Pathol. 2009 Apr;36(4):402-8.

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―

2. 学会発表

Furue M. 5th International Workshop for the Study of Itch Prevalence of atopic dermatitis in Japan, 2009/10/27

Furue M. Special Lecture: Atopic dermatitis; epidemiological, fundamental and practical approach, The 61st Annual Spring Meeting of Korean Dermatological Association, Jeju, Korea, 2009/4/15-16

古江増隆. 抗ヒスタミン薬・抗アレルギー薬による早期介入, シンポジウム アトピー性皮膚炎の治療 2009, 第72回日本皮膚科学会東京支部学術大会, 2009/2/22

古江増隆. アトピー性皮膚炎, イブニングセミナーADフォーラム, 第108回日本皮膚科学会総会, 2009/4/24-26

古江増隆. 薬剤アレルギー (薬疹), 専門医教育セミナー, 第35回日本アレルギー学会春季大

会, 2009/6/4-6

古江増隆. アトピー性皮膚炎の Natural history と intervention, シンポジウム: アレルギー疾患の Natural history を変えることは可能か?, 第49回日本呼吸器科学会, 2009/6/12

古江増隆. 教育講演: アトピー性皮膚炎; 石垣島乳幼児コホート (KIDS since 2001) より, 第59回日本アレルギー学会秋季学術大会, 2009/10/29

竹内聡. かゆみから見たアトピー性皮膚炎の治療 2009 長崎県中央皮膚科医研究会講演会 平成 22 年 1 月 23 日 諫早

Satoshi Takeuchi^{1*}, Hidehisa Saeki², Shoji Tokunaga³, Hideshi Torii⁴, Koichiro Nakamura⁵, Yoshinao Soma⁶, Michihiro Hide⁷, Rikako Sasaki⁸, Yukihiro Ohya⁹, Makiko Kido¹, Masutaka Furue¹. A randomized, multicenter trial of topical tacrolimus for treatment of pruritus in patients with atopic dermatitis 5th International Workshop for the Study of Itch, Oct. 27th, 2009 (Chin-zan-so, Tokyo)

竹内聡. :アトピー性皮膚炎の治療におけるかゆみの制御

第 61 回皮膚科学会西部支部学術大会 ランチョンセミナー平成 21 年 10 月 25 日 別府国際コンベンションセンター

竹内聡. テーマ:かゆみからみたアトピー性皮膚炎の治療 第 108 回日本皮膚科学会総会 教育講演 38 平成 21 年 4 月 26 日 福岡国際会議場

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
該当無し。
2. 実用新案登録
該当無し。
3. その他
該当無し。