

織切片を作成し、タンニン酸が角質層表面に留まり、内部までは侵入していないことが確認できた。今後は、タンニン酸処理 3 D 皮膚ヒトモデルと精製汗抗原溶液、ならびにアトピー性皮膚炎患者末梢好塩基球を用いてヒスタミン遊離試験を行い、角層に吸着したタンニン酸による汗抗原失活効果について検討する予定である。

E. 結論

タンニン酸配合スキンケア製品はアトピー性皮膚炎の皮疹ならびに瘙癢の改善に有効であった。またタンニン酸は皮膚表面に留まり、その有効性を発揮させる可能性がある

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

信藤 肇ほか：アトピー性皮膚炎に対するタンニン酸配合湯上り製剤およびスプレー剤の臨床的有用性の検討、アレルギー60、33、2011

2. 学会発表

信藤 肇ほか：アトピー性皮膚炎に対するタンニン酸配合スキンケア製剤の臨床効果の検討、第22回日本アレルギー学会春季臨床大会、2010年5月、京都

三原祥嗣：アトピー性皮膚炎における汗アレルギーと対策、第40回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会学術大会、2010年12月、広島

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許所得

汗抗原失活物質としてのタンニン酸のスキンケア製剤（特許出願中：特願 2009-149825）

2. 実用新案登録 該当なし

3. その他 該当なし

2. スキンケアの EBM に関する研究

A. 研究目的

アトピー性皮膚炎におけるスキンケアの有用性に

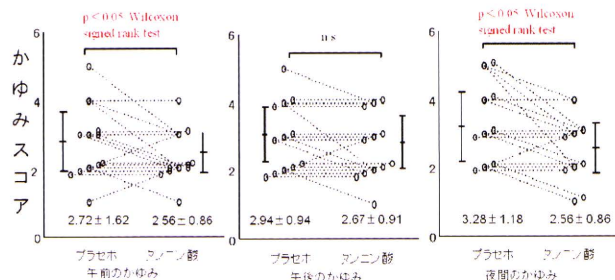


図 1：タンニン酸配合エアゾールスプレー使用前後のかゆみスコア

つき保湿外用薬の有効性に関して行われた臨床試験、また皮膚の清潔を目的としたシャワー浴、入浴の有効性を検討した臨床試験を検索した。

B. 研究方法

検索 Data base は PubMed および医中誌を用いた。昨年(2009年)の検討以降(2009年09月以降2010年12月まで)の文献を検索対象とした。PubMed の検索では、#1 [atopic dermatitis OR atopic eczema]、#2 [skin care OR emollient OR moisturizer OR TEWL OR bathing]、#3[controlled study OR comparative study OR clinical study] のキーワードを用い、#1 AND #2 AND #3 で検索し、25 報の文献が得られた。このうち他の分野との重複を除き 4 報の検討を行った。医中誌の検索では#1[アトピー性皮膚炎]、#2[スキンケア OR 保湿 OR 入浴 OR シャワー浴]で検索し、#3[メタアナリシス OR ランダム化比較試験 OR 準ランダム化比較試験 OR 比較研究]をかけた。6 報の文献が得られたが、他分野との重複を除き、3 報を検討した。

C. 結果及び考察

計 7 報の検討をおこなった。6 報がアトピー性皮膚炎の乾燥症状に対する新規保湿剤の有用性の検討であり、1 報は保湿入浴剤の有用性の検討であった。いずれの報告でもアトピー性皮膚炎患者の乾燥所見の改善に有効であることが報告されていた。2 報では保湿薬と very strong クラスのステロイド外用薬を SCORAD (scoring of atopic dermatitis) や患者アンケートを用いて比較検討し、保湿薬はステロイド外用薬と同等の改善効果が得られたと報告されていた^{1) 2)}。

1) DeBelilovsky C et al. J Dermatolog Treat 22, 2010

2) Udompataikul M et al. J Eur Acad Dermatol Venereol 14, 2010

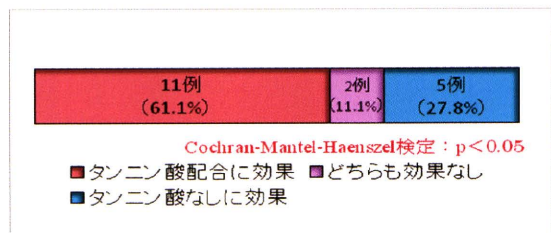


図 2：エアゾールスプレーの臨床的有用性：クロスオーバー試験での有効性の評価

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 東京慈恵会医科大学皮膚科講師

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、東京大学医学部皮膚科では AD 患者 119 名の調査・サンプル採取が終了した。東京慈恵会医科大学皮膚科でもヒトゲノム倫理審査委員会の承認を得ており、現在、AD 患者 22 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

石地尚興 東京慈恵会医科大学皮膚科准教授
堀田健人 東京慈恵会医科大学皮膚科助教
立石純子 東京慈恵会医科大学皮膚科

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、東京慈恵会医科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、東京慈恵会医科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 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) 東京大学医学部皮膚科ではアトピー性皮膚炎患者 119 名の調査・サンプル採取が終了した。また、東京慈恵会医科大学皮膚科では、本研究 (受付番号: 22-089 6266、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 22 年 9 月 6 日付けで大学のヒトゲノム倫理審査委員会の承認を得ており、さらに 10 月 30 日付けで病院における臨床研究実施の承認を得た。平成 23 年 1 月 22 日現在、アトピー性皮膚炎患者 22 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^{1,2)}、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やや遅れているので、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必要がある。

(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³⁾、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⁴⁾、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⁵⁾。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^{6,7)}。また、タクロリムスの使用法に関しては、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^{8,9)}。

<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. 健康危惧情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) 佐伯秀久：アトピー性皮膚炎診療ガイドライン：診断基準と重症度分類－海外との比較も踏まえて－. アレルギーの臨床 30: 1147-52, 2010.
- (2) Kato T, Saeki H, Tsunemi Y, Shibata S, Sekiya T, Nakamura K, Kakinuma T, Kagami S, Fujita H, Tada Y, Sugaya M, Tamaki K: Analysis of cysteinyl leukotriene receptor 2 gene polymorphism in atopic dermatitis and psoriasis vulgaris. J Dermatol, in press.

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

アトピー性皮膚炎と皮膚悪性リンパ腫のかゆみの違いに関する研究

研究分担者 菅谷 誠 東京大学大学院医学系研究科 皮膚科学 講師

研究要旨

かゆみに関係する生理活性物質を同定するため、皮膚悪性リンパ腫患者をかゆみの有無で分け、かゆみのある患者で上昇している血清中生理活性物質を調べた。進行期の患者に限って解析したところ、LDH と CCL26 がかゆみと関連しており、Th2 系の疾患におけるかゆみに関わっている可能性が考えられた。

A. 研究目的

ヘルパーT2 (Th2) 細胞はインターロイキン(IL)-4 や IL-5 などを産生し、主に液性免疫に関与する。アトピー性皮膚炎と皮膚悪性リンパ腫はともに Th2 細胞優位の病態として知られており、両者は時に類似した臨床像を呈する。アトピー性皮膚炎患者が強いかゆみを訴えるのに対し、皮膚悪性リンパ腫では一部の患者しかかゆみを訴えない。アトピー性皮膚炎では皮膚炎の病勢とかゆみはほぼ一致しているため、ある血清マーカーが患者で上昇しているにもかかわらず、その物質がかゆみに直接関与しているのか判定困難である。一方、皮膚悪性リンパ腫では病勢とかゆみが必ずしも一致しないため、かゆみの指標となる血清中の生理活性物質を同定できる可能性がある。かゆみのない皮膚悪性リンパ腫患者で上昇しておらず、かゆみのあるリンパ腫患者とアトピー性皮膚炎患者で上昇している物質は、かゆみの原因となっている可能性がある。一方アトピー性皮膚炎患者で上昇しておらず、かゆみの有無に関わらず悪性リンパ腫で上昇し

ている物質は、リンパ球の悪性化に関与している可能性がある。本研究では皮膚悪性リンパ腫(菌状息肉症とセザリー症候群)をかゆみの有無で分け、かゆみのある患者で上昇している血清中生理活性物質を調べることにした。

B. 研究方法

1997年12月から2010年7月までに当科を受診した菌状息肉症58例、セザリー症候群7例、合計65例の血清を用いた。菌状息肉症は紅斑期(36例)、扁平浸潤期(9例)、腫瘤期(11例)、紅皮症(2例)に病期分類した。血清中生理活性物質は、CCL17、CCL27、CCL11、CCL26、CCL1、IL-4、IL-27をR&D systems社のELISA kitもしくはDuo setを用いて測定した。これらの物質が皮膚悪性リンパ腫患者血清中で上昇していることは、既に我々が報告している。またこれらの多くはTh2細胞ののだすサイトカイン、ケモカインであり、アトピー性皮膚炎患者血清中でも上昇していることが報告されている。かゆみの有無は、抗ヒスタミン薬の処方歴があるものを「かゆみ有り」と判定

した。

(倫理面への配慮)

患者血清を用いる本研究は、東京大学大学院医学系研究科・医学部倫理委員会の承認を得ている。人権擁護には十分配慮し、採血時には患者より書面にてインフォームド・コンセント)を得ている。

C. 研究結果

菌状息肉症、セザリイ症候群 65 例中、抗ヒスタミン薬の処方歴があるものは 20 例 (30.8%) であった。病期別にみると、紅斑期 36 例中 2 例 (5.6%)、扁平浸潤期 9 例中 3 例 (33%)、腫瘍期 11 例中 8 例 (72.7%)、紅皮症 2 例中 1 例 (50%) であった。セザリイ症候群では 7 例中 6 例 (85.7%) に処方歴があった。解析前の印象に反し、皮膚悪性リンパ腫の病期が進むにつれて、かゆみを訴える患者が増えることが分かった。特に紅皮症を呈する患者では高率に (77.8%) 抗ヒスタミン薬を内服していた。次にかゆみの有無で有意差のある生理活性物質を調べた。かゆみのある患者で有意に高値であったのは、可溶性 IL-2 受容体 (795.1 IU/ml vs 1564.8 IU/ml, $p = 0.008$)、LDH (229.2 IU/l vs 351.2 IU/l, $p = 0.001$)、IgE (326.3 IU/ml vs 3873.2/ml, $p = 0.04$)、CCL17 (819.4 pg/ml vs 3101.4 pg/ml, $p = 0.03$)、CCL27 (781.5 pg/ml vs 1098.6 pg/ml, $p = 0.01$)、CCL26 (14.9 pg/ml vs 40.6 pg/ml, $p = 0.0003$)、CCL1 (12.1 pg/ml vs 19.1 pg/ml, $p = 0.003$) であった。次に病期が進むほどかゆみの有る患者が増えることから、扁平浸潤期以降の患者に限って解析を行った。かゆみのある患者で高値であったのは、LDH (242.5 IU/l vs 337.6 IU/l, $p = 0.05$) と

CCL26 (21.4 pg/ml vs 40.0 pg/ml, $p = 0.05$) のみであった。

D. 考察

血清中の可溶性IL-2受容体、CCL17、CCL27などはアトピー性皮膚炎、皮膚悪性リンパ腫において上昇していることが知られている。今回の解析において全例を対象としたところ、かゆみのある患者でこれらは有意に高値であった。皮膚悪性リンパ腫では病期が進むにつれてかゆみを訴える患者が増えることから、扁平浸潤期以降の進行期の患者に限って解析すると、これらの生理活性物質の血清中濃度はかゆみの有無によって有意差を認めなかった。従ってこれらの物質に関しては、かゆみよりも病勢そのものを反映している可能性が考えられた。進行期の患者に限った場合、LDHとCCL26はかゆみと有意に相関したことから、これらの物質はTh2系の疾患のかゆみに関わっている可能性が考えられた。CCL26は好酸球遊走因子のひとつであるが、アトピー性皮膚炎や喘息の病変部で発現が亢進していることが報告されている。また、血清中CCL26濃度はアトピー性皮膚炎の重症度と相関することも知られており、今回の結果は非常に興味深いと思われる。

E. 結論

血清中のかゆみを反映する生理活性物質として、CCL26が候補になりうると考えられた。今回の解析はあくまで皮膚悪性リンパ腫患者の血清を用いた解析であるが、アトピー性皮膚炎患者のかゆみスコアと血清中CCL26濃度の相関の研究など、今後の発展が期待できると考えた。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

他のデータと合わせ、Serum proteins responsible for pruritus in cutaneous T cell lymphomaというタイトルで投稿予定。

2. 学会発表

2011年5月4-7日 Society for Investigative Dermatology Annual meetingにて発表予定。

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。

皮膚の損傷治癒と神経再生に関する研究

研究分担者 遠山正彌 大阪大学大学院連合小児発達学研究科/医学系研究科教授

研究要旨

我々が明らかとした炎症時に表皮肥厚と自由神経終末のsproutingを起こす2つの機序、NGF-p75経路とNeurospinein (Kallikrein8, Klk8)経路の両者間に相互作用があり、お互いに発現強化することも明らかとした。

A. 研究目的

我々は掻痒を含む炎症時での表皮肥厚ならびに神経線維sproutingの分子機序の解明を行ってきた。その結果図1に示すように炎症を起こした表皮細胞で神経成長因子(β -NGF; 以下NGF)が発現増加し、表皮細胞、及び自由神経終末に局在するp75受容体を介して、表皮の増殖、神経終末のsproutingを引き起こすことを明らかとした(図1)。さらに我々はNeurospinein(ヒトではKallikrein8; Klk8)も炎症時に発現増強し、発現増強したNeurospineinがAP2 α 発現を抑制し、次いで発現抑制されたAP2 α がKeratin 10発現を高めることにより炎症時の表皮を肥厚させることを明らかとした(図1)。これらの事実はNGFとNeurospinein (Klk8)の間にinteractionが存在する可能性を示す(図1)。本年度はこのinteractionの有無について検討した。

B. 研究方法

1) Neurospinein (Klk8) が NGF 発現を制御するか否かの実験: NeurospineinKO マウスに炎症刺激として Sodium Lauryl Sulfate(SLS)を塗布し、NGF 発現をコントロールと比較した。次いでヒト培養表皮細胞(HaCat細胞)において表皮NeurospineinのKlk8発現をsiRNAで抑制した細胞でのNGF発現、ヒト培養表皮細胞にKlk8を添加した時のNGF発現を検討した。

2) NGFがNeurospinein(Klk8)発現を制御するか否かの検討: p75KOマウスにSLS刺激を負荷したときの表皮でNeurospinein及びその下流シグナル(AP2 α がKeratin10)の発現が変化するか否かを検討した。

(倫理面への配慮)

動物実験においては大阪大学医学系研究科動物実験規定を順守し、動物への苦痛が最小限になるよう配慮した。またヒト組織を用いた研究は培養細胞を使用しているため倫理面での問題はない。

C. 研究結果

1) Neurospinein (Klk8) が NGF 発現を制御するか否かの実験

NeurospineinKOマウスに炎症刺激としてSLSを塗布しても正常マウスで見られるようなNGF発現上昇は見られない(図2a)。in vitro実験でも

Neurospineinの発現を抑制したHaCat細胞ではNGF発現が低下し、Klk8を添加したHaCat細胞では逆にNGF発現が増加した(図2b)。以上の事実はNeurospineinはNGF発現を促進していることを示す。

2) NGFがNeurospinein(Klk8)発現を制御するか否かの検討

p75KOマウス表皮では正常マウスと比較してneurospineinmRNA発現が低下していた。さらに炎症刺激を加えたマウスでは著しいneurospineinmRNA発現の上昇が見られるが、p75KOマウスではその発現上昇が抑制されていた(図3)。次いでneurospineinの下流シグナルの変化についても検討を行った。正常マウス表皮に比し、p75KOマウスではAP2 α の発現が上昇し(図3)、Keratin10発現が低下していた(図3)。炎症刺激でも同様の結果が得られた。

D. 考察 E. 結論

以上の結果からNeurospinein(Klk8)はNGF発現を促進し、またNGFはp75受容体を介してNeurospinein(Klk8)発現を促進し、Neurospinein(Klk8)とNGF間でのinteractionの存在を確立した。炎症刺激を受けた表皮ではNGF系、Neurospinein(Klk8)系、この両者の相互作用により表皮の肥厚が生じているものと思われる。

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

第20回国際痒み研究会、2010、記念講演、Molecular pathway of hyperkeratosis and sprouting of nerve fibers in the inflamed skin.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

図 1 炎症時に KLK8/neuropsin と p75 受容体が引き起こす表皮肥厚、自由神経終末過剰分岐の分子機序

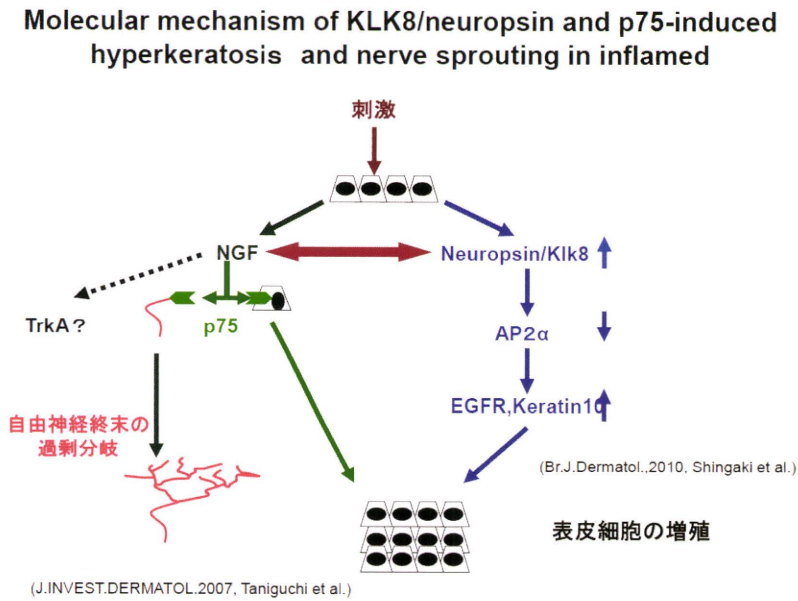
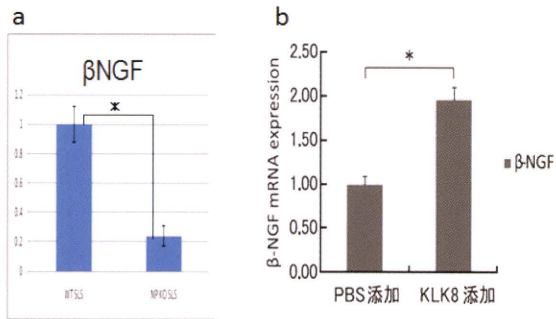


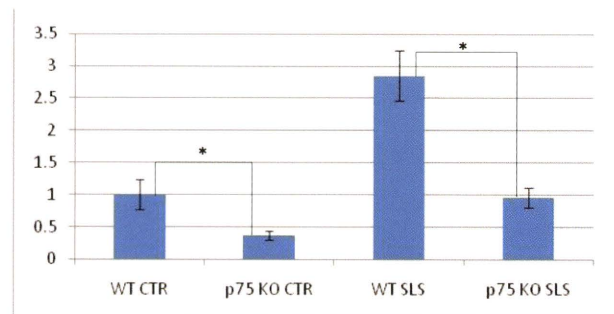
図 2



NeuropsinKOマウス表皮では炎症刺激を与えてもNGF発現は増加しない

Klk8添加はHaCat細胞NGF発現量を増加させる

図 3



p75KOマウスで炎症刺激を加えてもNeuropsinの発現増加は見られない

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

これまでの検討により、NC/Nga マウス耳殻にコナヒョウヒダニ (*Dermatophagoides farinae*) 排泄物から調製した抽出物 (F_{Ag}) を反復塗布することにより、高頻度の掻破行動および強い耳殻腫脹を発現する皮膚炎モデルを確立した。F_{Ag} には大量の lipopolysaccharide (LPS) が含まれており、LPS が耳殻腫脹の誘発および掻破行動の発現を制御する可能性が示唆されたため、LPS 除去した F_{Ag} に再度 LPS を添加して影響を検討し、F_{Ag} 中に混在する大量の LPS が耳殻腫脹の誘発および掻破行動の発現を制御する可能性を再確認した。

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および前述の F_{Ag} を NC/Nga マウス耳殻に反復塗布して誘発する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 *in vitro* で検討するため、表皮ケラチノサイトの培養系の確立を試みた。BALB/c マウス新生仔の皮膚を分離し、細胞浮遊液を調製し、培養条件を検討した結果、長期に亘って表皮細胞を継代できる培養系が確立できた。現在、培養細胞の特徴を継代数との関係も含めて解析している。

ICR マウスは histamine に対して高頻度の掻破行動を発現し、histamine が関与する掻破行動の解析には必須のマウスであるが、ICR マウスが histamine をはじめとする刺激物質に対して高頻度の掻破行動を発現する理由は明らかではない。一方、ICR マウス皮膚を用いる実験では使用する部位を除毛する必要があり、除毛の影響が懸念される場合がある。そこで、ICR マウスと無毛の HR-1 マウスとを交配し、ICR の特徴を有する無毛マウス (ICR ヘアレスマウス) の育成を試みてきた。本年度は、育成したマウスの特徴を検討し、ICR マウスと同様に histamine に対して高頻度の掻破行動を発現し、掻破行動の解析に有用であることを明らかにした。

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。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。興味深いことに、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。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、コナヒョウヒダニ *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た。ダニ排泄物から調製した抽出物 (F_{Ag}) の NC/Nga マウス耳殻への反復塗布は高頻度の掻破行動を伴う強い耳殻腫脹を誘発する。tacrolimus、dexamethasone はいずれも耳殻腫脹および掻破行動を抑制する。

本年度は、F_{Ag} 反復塗布による皮膚炎の特徴をさらに検討するとともに、tacrolimus の掻破行動抑制機序を *in vitro* においても解析するため、皮膚ケラチノサイト培養系の確立を試みた。また、数年来育成してきた ICR ヘアレスマウスの特徴について検討した。

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 F_{Ag} を調製した。NC/Nga マウスの両耳殻に F_{Ag} あるいは LPS を除去した F_{Ag} 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)。

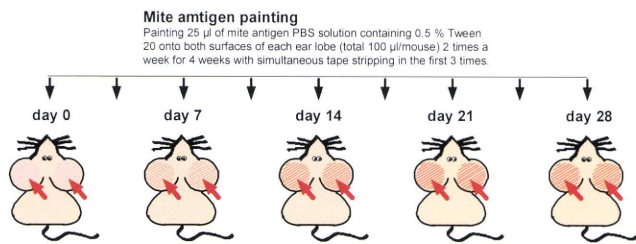


図 1. FAg による皮膚炎誘発のプロトコール

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 時間搔破行動を観察した。

マウス表皮細胞の採取および培養は以下のように行った。BALB/c マウス新生仔から皮膚を採取し、表皮を分離した後、酵素処理して単離細胞の浮遊液を調製した。フラスコに細胞を播種して培養し、細胞の形態、細胞数の変化等を観察した。

ヘアレスマウス (HR-1) を ICR マウスと交配し、ICR の背景を有すると推定されるヘアレスマウス (ICR ヘアレスマウス) を育成した。ICR ヘアレスマウスにヒスタミンを皮内投与し、搔破行動および血管透過性亢進を評価した。受け身皮膚アナフィラキシー (PCA) についても検討した。さらに、ヒスタミンによる搔破行動誘発にかかわる受容体を、拮抗薬を用いて検討した

(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

前年度の検討において、FAg 中に含まれる大量の LPS が耳殻腫脹および搔破行動を制御する可能性が示唆された。この成績を確認するため、LPS を除去した FAg に LPS を再添加して影響を検討した。NC/Nga マウスに FAg を反復塗布することにより、強い耳殻腫脹と高頻度の搔破行動が誘発されたが、LPS 除去 FAg の反復塗布の場合には、耳殻腫脹および搔破行動が減少する傾向を示し、LPS 再添加によってこれらの変化が減弱した。

(2) マウス新生仔皮膚由来細胞の培養系の確立

BALB/c マウスの新生仔から皮膚を採取して表皮を分離し、酵素処理によって単離細胞浮遊液を調製した。種々の培養条件を検討し、長期に亘って継代できる表皮由来細胞の培養系がほぼ確立できた。培養条件等からケラチノサイトであると考えられる。現在、ケラチノサイトであることの確認とともに、継代数と細胞の分化段階との関係を明らかにするための検討を行っている。

(3) ICR ヘアレスマウスの特徴

histamine に対する感受性が高い ICR マウスと無毛のHR-1 マウスとを交配し、ICR マウスの遺伝背景を持つと推定される無毛マウス (ICR ヘアレスマウス) を育成した。

ICR ヘアレスマウスは histamine の皮内注射に対して高頻度の搔破行動を発現し、その頻度は ICR マウスとほぼ同等もしくはむしろわずかながら大であった。また、HR-1 マウスに比し、より高頻度であった。受け身皮膚アナフィラキシー (PCA) の場合にも同様に、ICR ヘアレスマウスは ICR マウスと同様に高頻度の搔破行動を発現した。

ICR ヘアレスマウスの起痒物質に対する応答性を、histamine に対して応答性の低い BALB/c マウスと比較した。histamine、serotonin、substance P、compound 48/80 はいずれも ICR ヘアレスマウスに高頻度の搔破行動を誘発したが、BALB/c マウスにはほとんど搔破行動は誘発されなかった。血管透過性亢進は両マウスに誘発された。

ICR ヘアレスマウスの histamine に対する高応答性が確認できたため、ICR ヘアレスマウスを用いて histamine 誘発搔破行動に関与する histamine 受容体について薬理的に検討した。

histamine H1 受容体拮抗薬 diphenhydramine および ketotifen は histamine による搔破行動を有意に抑制し、同時に血管透過性亢進も強く抑制した。搔破行動の抑制よりも血管透過性亢進の抑制の方が強力であった。H2 受容体拮抗薬 famotidine および ranitidine はいずれも血管透過性亢進には影響を及ぼさなかったが、搔破行動を有意に抑制した。H3 受容体拮抗薬 idophenpropit は搔破行動、血管透過性亢進のいずれにも影響を及ぼさず、H3 および H4 受容体に拮抗作用を示す thioperamide は血管透過性亢進には影響を及ぼさなかったが、搔破行動を有意に抑制した。さらに、選択的 H4 受容体拮抗薬 JNJ7777120 によっても搔破行動は抑制されたが、血管透過性亢進には影響は見られなかった。また、diphenhydramine、famotidine および JNJ7777120 を併用することにより、搔破行動抑制作用は単独の作用よりも増強された。

また、ICR ヘアレスマウスおよび HR-1 マウス皮膚には肥満細胞が、ICR マウスの場合よりも多数分布していることを確認した。

D. 考察

NC/Nga マウスはコナ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るが、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、FAg を反復塗布して誘発する高頻度の搔破行動を伴う NC/Nga マウスの皮膚炎モデルは興味深いと思われるが、FAg 中

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。前年度と本年度の検討の結果から、共存する LPS が FAg による炎症、搔破行動の発現を制御する役割を演じる可能性があることを明らかにした。気道炎症のモデルにおいても類似の報告があるが、LPS の用量によって役割が異なる可能性が指摘されており、判断には注意が必要である。

これまでの検討において、tacrolimus が表皮 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、また、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が、直接的な確認はできていない。また、semaphorin 3A 発現の増強の機序についても不明である。また、免疫染色像から、皮膚ケラチノサイトが tacrolimus の標的細胞のひとつとして重要である可能性が示唆された。そこで、tacrolimus の作用発現機序を解析することを目標に、ケラチノサイト培養系の確立を試みた。本年度の成果として、長期間に亘って継代できる培養方法が確立できたと考えられる。培養の条件から、得られた細胞はケラチノサイトであると考えられるが、細胞の分化の度合いと継代数との関係を明らかにした後、tacrolimus 作用機序の解析に応用する予定である。

アトピー性皮膚炎および搔痒の研究に有用なマウスの育成を目的に、数年前より、無毛の HR-1 マウスと histamine 感受性の高い ICR マウス、あるいは皮膚を炎自然発症する NC/Nga マウスとを交配し、無毛の ICR マウス (ICR ヘアレスマウス) あるいは NC/Nga マウス (NC/Nga ヘアレスマウス) の育成を続けてきた。本年度は、交配回数が 10 回に達した ICR ヘアレスマウスの特徴を明らかにするため、検討を行った。

母系である ICR マウスは histamine に対して高頻度の搔破行動を発現するが、他の系統のマウスのほとんどは histamine に対して低応答性である。育成した ICR ヘアレスマウスは、ICR マウスと同様に、histamine のみならず、serotonin、substance P などの起痒物質に対して高頻度の搔破を発現することを確認した。さらに、本マウスを用いて histamine 誘発搔破行動に関与する histamine 受容体を検討した。受容体特異的な拮抗薬を用いた検討から、H1、H2 および H4 受容体が搔破行動発現に関与することを確認した。したがって、ICR ヘアレスマウスは搔痒研究に有用なマウスであると思われる。

E. 結論

大量の LPS が皮膚炎を制御する役割を演じうることを再確認した。また、搔痒の治療標的として有用と考え

られる皮膚ケラチノサイトの培養系を確立した。さらに、搔痒研究に有用な ICR ヘアレスマウスを育成し、特徴を明らかにした。

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 [Yamashita H, et al.: Comparison of the efficacy of tacrolimus and cyclosporine A in a murine model of dinitrofluorobenzene-induced atopic dermatitis. *Eur J Pharmacol* 645: 171-176, 2010]

2. 学会発表

小室優美, 他: ダニ抗原反復塗布によるマウスアレルギー性皮膚炎に及ぼす LPS の影響. 第56回日本薬学会東海支部大会, 岐阜, 2010.3.7.3.

奈良直輝, 他: 羚羊角の抗アレルギー作用についての検討. 第27回和漢医薬学会学術大会, 山科, 2010.8.28-29.

樋口順哉, 他: ICR マウスの特徴を有するヘアレスマウスのヒスタミン感受性の検討. 第14回日本ヒスタミン学会, 川崎, 2010.10.24-25.

樋口順哉, 他: ICR マウスの背景を有するヘアレスマウスの特徴の検討. 第118回日本薬理学会近畿部会, 大阪, 2010.11.19.

樋口順哉, 他: ICR マウスの背景を有するヘアレスマウスのヒスタミン感受性の検討. 第60回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 2010.11.25-27.

Yamashita H, et al.: Evaluation of anti-inflammatory properties of medicinal mushrooms in allergic dermatitis models using mice. The 9th NRCT-JSPS Joint Seminar, Bangkok, 2010.12.8-9.

Inagaki N, et al.: An attempt to search for plants possessing anti-allergic properties. The 9th NRCT-JSPS Joint Seminar, Bangkok, 2010.12.8-9.

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行動療法と副腎機能および患者教育に関する研究

研究分担者 大矢幸弘 (独)国立成育医療研究センター内科系専門診療部アレルギー科医長
研究協力者 二村昌樹 (独)国立成育医療研究センター内科系専門診療部 アレルギー科医員
成田雅美 同上 医員
小島令嗣 同上 臨床研究員 防衛医科大学小児科
佐塚京子 同上 臨床研究員 獨協医科大学越谷分院小児科

研究要旨

成人アトピー性皮膚炎患者の副腎皮質機能は健常人に比して低下していることが従来から指摘されているが、乳幼児の患者においても同様の現象があるかどうかを確かめ、また副腎機能の低下がステロイド外用薬の副作用によるものか否かについて明らかにすることを目的に採血刺激の前後で唾液のコルチゾールを測定した。その結果、乳幼児のアトピー性皮膚炎患者においても採血によるストレス刺激による副腎皮質の反応性は重症度に比例して低下していることが判明した。また、重症患者のほとんどがステロイド外用薬の使用歴がなかったことから、この副腎機能抑制はステロイド外用薬の副作用ではなく、アトピー性皮膚炎のコントロールが不良であることがからくる合併症であることが明らかとなった。

アトピー性皮膚炎の重症度に比例して上昇するTh2マーカーであるTARCが2008年7月から保険収載となったが、小児では成人よりも高値を示すことからどの程度の値を治療目標とすればよいか必ずしも明らかではない。そこで、ステロイド外用薬を使用した標準的な治療で寛解維持状態（皮疹も痒みもないSCORAD=0の状態）にある患者のTARC値を調べ年齢別の分布を調べた。その結果、0歳から2歳児までは皮疹と痒みが完全にコントロールされていても1000pg/mlを超えるようなケースも散見されたが、年齢が長ずるにつれて最高値は低下し6歳以上では500pg/ml以下、7歳以降では400pg/mlに収まっていた。ほとんどの症例では皮疹の改善とともにTARC値は低下したが、寛解を維持しながらステロイド外用薬の塗布頻度や塗布量を減らしていくと若干上昇するケースも認められた。低年齢ではTARC値だけを治療に指標にすることは困難と思われるが、長期的なTARC値の推移とアトピー性皮膚炎患者の予後との関連を追跡することで今後より精度の高い治療が実現できるかもしれない。

A. 研究目的

I.成人アトピー性皮膚炎患者の副腎皮質機能は健常人に比して低下しており、特に刺激に対する反応性が低下していること、これが指摘されているが、これはステロイド外用薬の副作用によるものか、アトピー性皮膚炎そのものによる特性なのか諸説がある。そこで、我々は乳幼児の患者でも同じように副腎機能の低下が認められるか否か、さらにそれらの現象がステロイド外用薬の影響に依るものか否かについて調べることにした。

II. TARC(Thymus and activation-regulated chemokine)はCCL17とも呼ばれ、アトピー性皮膚炎の重症度に比例して上昇するTh2ケモカインで、そのときの皮膚状態を鋭敏に反映する画期的なマーカーである。我が国では2008年7月から保険適用となり、アトピー性皮膚炎治療のよい指標になると思われるが、小児においては成人よりも高値を示すため、どの程度の値を治

療目標とすればよいか必ずしも明確ではない。そこで、アトピー性皮膚炎の治療を受け急性増悪期の湿疹を消失させステロイド外用薬を間欠的に塗布して寛解維持を図っている患者のTARC値の分布を調べることにした。

B. 研究方法

I. 血清コルチゾール値は採血によるストレス刺激で上昇するため、乳幼児においてはストレス刺激のコルチゾール値に与える影響を測定する指標としては、唾液コルチゾール値を用いる事にした。

対象は国立成育医療センターアレルギー科の外来を受診した初診患者で本研究に同意の得られた38名である。内訳は男児24名、女児14名、年齢は中央値生後16ヶ月（分布3ヶ月～66ヶ月）で、過去6ヶ月間に吸入ステロイドや経口ステロイドの使用歴がないものとした。重症度はSCORADで測定し、便宜的に軽症は25未満、中等症は25以上50未満、重症は50以上とした。

ステロイド外用薬の使用経験の多寡については、表 1 のような TCS スコアをつけて分類した。

表1

Score (total 10)	0	1	2	3	4
Potency of preparation	none	Mild	Strong	Very strong	strongest
% BSA treated		<9%	9-36%	>36%	
Treatment duration*		<7 days	7 days≤	Continuous	

唾液の採取については採血の 5 分前、及び採血後 15～20 分で行った。、唾液のコルチゾール値は ELISA キット (Salimetrics, State College, PA)にて測定した。

II. 国立成育医療研究センターアレルギー科の外来に通院中のアトピー性皮膚炎患者のなかから SCORAD が 0 (つまり痒みも皮疹もなくコントロールできている患者) の TARC 値を電子カルテから抽出し、年齢別にプロットした。
また、入院加療を経験した患者を中心に SCORAD が 0 に至ったケースについて TARC 値の経時的推移を追跡した。

C. 研究結果

I. 参加者の属性は表 2 に示すように重症患者はステロイドの使用歴がないものも多く、総 IgE 値は重症度に比例して高くなっていった。

表2.

	Mild n = 12	Moderate n = 14	Severe n = 12	p value*
男/女	6 / 6	9 / 5	9 / 3	0.44
月令 (分布)	19 (4-66)	21 (3-60)	10.5 (3-57)	0.41
SCORAD (分布)	16 (8-25)	40 (26-48)	64.5 (51-86)	0.0001
TCS スコア中央値	4.5 (4-7)	5 (0-7)	0 (0-7)	0.38
ステロイド外用薬 非使用者	0	2	7	0.002
採血回数 中央値	2 (1-3)	1 (1-4)	1 (1-3)	0.096
Total IgE (IU/ml)†	163 (5.2-4562)	212 (12.9-9500)	1093.5 (55.6-4161)	0.12

図 1. に示したように、採血回数 (=採血に失敗した回数+1) すなわちストレス刺激が多いほど、採血後のコルチゾールの上昇が大きかった。

図1.

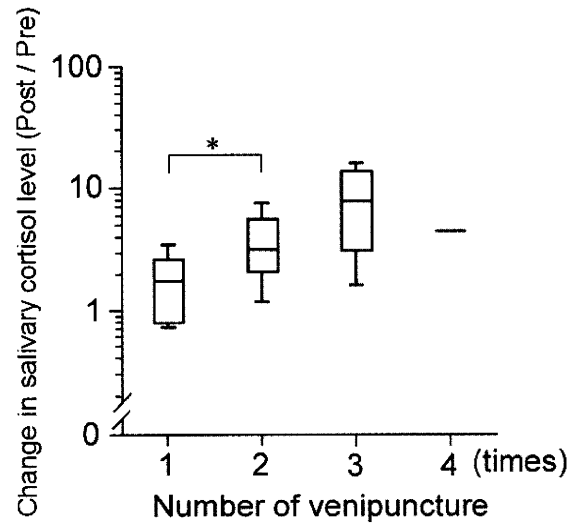


図 2. に示したように、どの重症度でも採血前の唾液コルチゾールの値よりも採血後の方が高くなっていった。

図2.

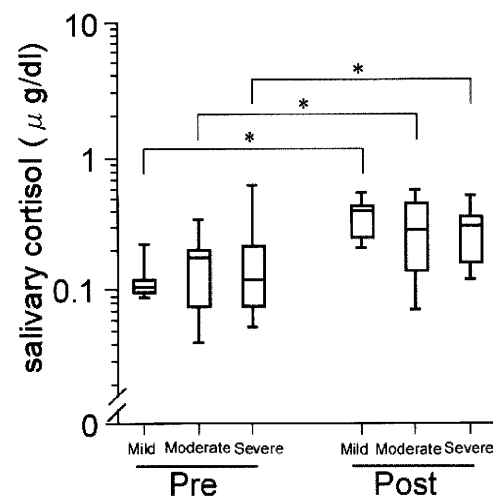
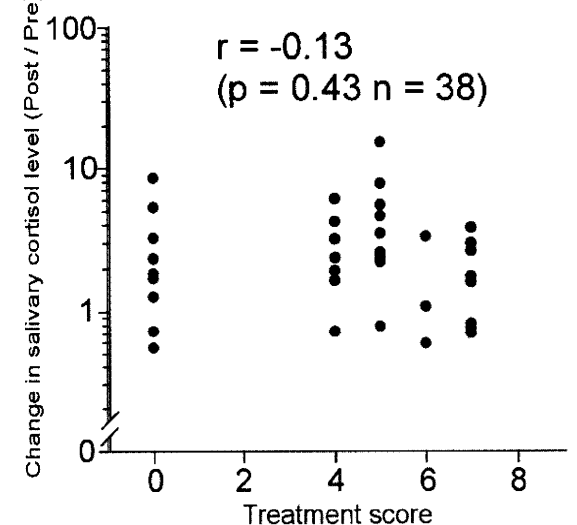


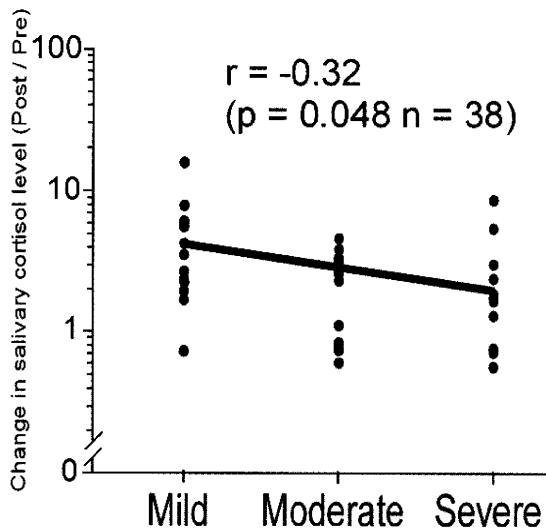
図 3. に示すように、ステロイドの使用量と唾液コルチゾール値の採血刺激前後での変化量とは相関がなかった。

図3.



重症度が高いほど、採血刺激による唾液コルチゾール値の上昇は少なかった。

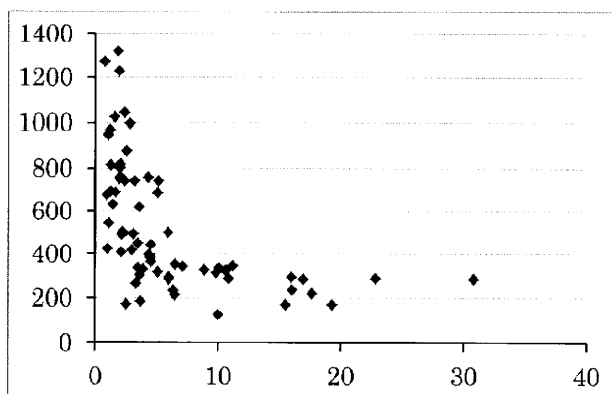
図4.



II

図5. に示したように0歳児と1歳児においては皮疹が消失しSCORADが0になっても1000pg/mlを超えるTARC値を示すものがあつた。上限は1500pg/ml未満に収まっていたが下は400pg/ml程度のケースもあり幅が大きい。また治療開始時に1100pg/ml程度の値しか示さなかった患者もおり1歳以下の低年齢では1500pg/ml未満を正常値とすることはできない。また、6~7歳程度までは上限が年齢とともに低下していくことがプロット図から読み取ることができる。6歳での上限は500pg/mlで7歳以上では全員が400pg/ml以下であつた。図には示していないが、全ての症例において治療開始時よりも寛解維持期のTARC値は低下していた。ただし、寛解維持期においてはTARC値が下げ止まり、なかには若干半年後の測定でわずかに上昇を示したケースもあつた。

図5.



D. 考察

小児のアトピー性皮膚炎患者においても、これまで成人患者に関して報告されてきたのと同じように刺激に対する副腎の反応性が重症度に比例して低下していた。しかも、重症患者ではステロイド外用薬の使用歴がほとんどなかったことから、ステロイド外用薬の副

作用によって副腎抑制がかかった可能性を否定することができる。アトピー性皮膚炎は重症になればなるほど、睡眠障害も甚大となる。気管支喘息患者でも重症患者の場合は副腎機能が低下することが指摘されており、両者に共通する特徴は睡眠障害である。鬱病のようなストレス性疾患ではむしろコルチゾールの分泌が亢進しており、アトピー性皮膚炎や気管支喘息などの睡眠障害を伴うアレルギー疾患では、別の特有の副腎機能抑制をきたすメカニズムが働いているものと思われる。ストレス刺激によって一時敵に副腎からのコルチゾールの分泌は亢進するが、アトピー性皮膚炎のような慢性的な痒み刺激にさらされていると副腎が次第に疲弊し、刺激に対する反応性が低下するのかもしれない。いずれにしても、アトピー性皮膚炎患者に特有の副腎機能低下はステロイド外用薬によるものではなく、疾患そのものの重症度がもたらす合併症であることが明確となった。

小児の TARC 値は成人同様治療によって低下するが、皮疹が消失した患者の TARC 値の分布は広く、特に 0 歳児や 1 歳児においては正常上限を定めることは困難であつた。7 歳以降になると全員が 400pg/ml 未満の値を示しており成人なみの値が適応できそうであつた。ただ、同じ程度の値でも SCORAD が 0 のケースもあれば皮疹や痒みを生じているケースもあり、TARC 値だけを治療の指標とするのではなく、個人差を考慮した治療が必要と思われる。今後は長期的な予後との関連を調べていくことで、より精度の高い治療の実現に役立つかもしれない。

E. 結論

アトピー性皮膚炎の患者では副腎機能が重症度に比例して低下していることが乳幼児の患者でも確かめられたが、それはステロイド外用薬の副作用ではなく、疾患そのものに由来する合併症であることが明らかとなった。TARC値は小児のアトピー性皮膚炎治療においてもよい指標となるが、低年齢では分布幅が広く特定の絶対値をもって指標することは困難と思われる。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表(学会発表)

1) Satsuka K, Yoshida K, Horimukai K et. al. TARC as a biological marker of proactive treatment for a patient with atopic dermatitis. New Trends in Allergy VII & 6th George Rajka symposium 23 June 2010, Munich

2) Ohya Y, Kojima R, Narita M, et. al. Cortisol suppression of patients with atopic dermatitis was not caused by their steroid use but by the disease severity itself. New Trends in Allergy VII & 6th George Rajka symposium 23 June 2010, Munich

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 の評価に関する研究

研究分担者	大矢幸弘	(独)国立成育医療研究センター	内科系専門診療部アレルギー科	医長
研究協力者	二村昌樹	(独)国立成育医療研究センター	内科系専門診療部アレルギー科	医員
	成田雅美	(独)国立成育医療研究センター	内科系専門診療部アレルギー科	医員
	津村由紀	(独)国立成育医療研究センター	内科系専門診療部アレルギー科	臨床フェロー
	林 啓一	(独)国立成育医療研究センター	内科系専門診療部アレルギー科	臨床研究員

研究要旨

アトピー性皮膚炎治療におけるステロイド外用薬の効果と安全性に関して、文献を網羅的に収集吟味しエビデンスの水準の高い研究から得られた知見をまとめた。ステロイド外用薬は一部の弱いものを除けば大半がプラセボとの間に有意な効果の差があり、アトピー性皮膚炎の治療に有効であった。ステロイド外用薬同士の比較は多かったが、臨床効果に基づくランキングは不可能であった。非常に強いステロイド外用薬では 1 日の塗布回数は 1 回でも複数回でも有意差はなかったが、中程度のものでは寛解率に差があった。連日塗布では皮膚萎縮などの副作用が生じるが、強いステロイド外用薬でも 1 日 2 回週 3 日以下の間欠塗布であれば副作用の回避が可能であった。またステロイド外用薬による寛解維持療法は再発を予防する目的でも有効であった。抗生剤を添加してもアトピー性皮膚炎に対する治療効果は有意な改善はしなかったが、抗真菌剤の添加には効果が認められたという報告があった。ウェットラップ法で使用した場合の前後改善率は有意であったが、ウェットラップ法自体の効果は有意とするものと疑問視するものがあった。他の外用薬との比較では、タクロリムスを除けばステロイド外用薬に匹敵するような治療効果を確認できたものはなかった。保湿剤や行動療法の併用はステロイド外用薬の使用量を減らすことができる可能性があり、今後はより現実的な使用方法に関する詳細なエビデンスを増やす必要がある。

A. 研究目的

アトピー性皮膚炎の治療薬としてのステロイド外用薬の有効性と安全性については、2003 年までの文献を検索した前回の検討(平成 14~16 年度厚生労働省研究班:古江班)において、高い水準のエビデンスが認められた。2003 年以後発表された文献について同様の検討を行った。

B. 研究方法

ステロイド外用薬の EBM 評価について、文献検索に使用したデータベースは EMBASE、PubMed(Medline)および医学中央雑誌で、前回の検討以降の 2003 年 1 月から 2009 年 9 月までに収録された文献を対象とした。検索語句(キーワード)は、EMBASE と PubMed では「eczema」or「besniers prurigo」or「neurodermatitis」or「childhood eczema」or「infantile eczema」or「atopic dermatitis」or「atopic eczema」の 7 つと「steroid」or「corticosteroid」を使用し、医学中央雑誌では「アトピー性皮膚炎」と「ステロイド」をそれぞれ使用した。統制語は、EMBASE では「Controlled Clinical Trial」or「Meta-Analysis」or「Randomized Controlled Trial」or「systematic

review」or「Cochrane Review」、PubMed では「Clinical Trial」or「Meta-Analysis」or「Randomized Controlled Trial」、医学中央雑誌では「メタアナリシス」or「(準)ランダム化比較試験」or「比較研究」or「診療ガイドライン」を用い、いずれも Human の Limit をかけた。なお英語および日本語以外の言語で記載されたものは内容が正確に把握できないと判断し検討から除外した。

C. 研究結果

検索式から得られた論文は EMBASE:297 件、PubMed:151 件、医学中央雑誌:49 件で、Abstract の内容で明らかに除外できたもの以外の本文について内容を検討した結果、英語論文 29 文献、日本語論文 0 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。なお今回適合した 29 文献がすべて PubMed および EMBASE のいずれからも抽出されていた。これらを前回 2003 年の検討と統合し、最終的にステロイド外用薬の EBM 評価として 119 文献をまとめた。

プラセボとの比較については、すべてのステロイド外用薬において報告されているわけではなかった。

ほとんどのものは年齢を問わずプラセボよりも効果的であることが示されていたが、一部の外用薬はプラセボとの比較で有意に検出できていなかった。エビデンスの水準は1または2の文献が多く、アトピー性皮膚炎に対するステロイド外用薬の治療効果は明らかで、推奨グレードはAとなる。

ステロイド外用薬同士の比較については、報告された RCT が最も多かったが、ITT(Intention to treat)解析が行われていないなど、論文の質は高いものも多かった。2003 年の検討では短期のものから長期投与による寛解維持効果や副作用を調べた論文まで散見されていたが、この数年はステロイド外用薬同士の RCT による比較はほとんど報告されていなかった。プラセボとの間に一部の文献で有意差が検出できなかった 1% hydrocortisone を比較対照としているものもあった。clobetasol を用いてステロイド外用薬の剤形による差を検討した論文では、ローションとクリームによる有意な差はみられていなかった。

ステロイド外用薬単独とその他の薬剤を添加したものととの比較では、抗生剤を添加した場合の効果については全ての RCT において差が検出できていなかったが、抗真菌剤の添加に関しては 1 論文だけ RCT がありステロイド単独よりも効果があるとしていた。保湿薬や保湿成分を添加した場合には短期的な治療効果が高いという論文があり、他にも laurocapram、pimecrolimus、caffeineなどを添加した場合の治療効果が高いことを示すものがあった。一方で 10%尿素や tacrolimus の添加ではそれぞれ有意差がみられなかったという報告があった。薬剤ではないが、行動療法を併用した場合との比較では、ステロイド外用薬単独の場合より改善効果が高かったことが示されていた。

ステロイド外用薬と他の薬剤との比較(カルシニューリンインヒビターを除く)では、cyclic AMP-phosphodiesterase inhibitor やハーブのカモミール抽出液を含むクリームとの比較があった。前者は基剤に比べて効果はあるが hydrocortisone ほどではないとし、後者は hydrocortisone に比べて効果が有意であるが基剤との有意差がないとするなど、論文間の結果に矛盾がみられた。またコールタール抽出物と 1%hydrocortisone との比較では、両者とも 4 週後に著明な改善が得られ両群間には差がなかった。sodium cromoglycate と beclomethasone dipropionate との 2 週間の比較では両者に差はなくどちらも治療前に比べて効果があった。

ウェットラップ(WW)法を用いた場合の効果についての RCT 5 報のうち、3 報は WW と組み合わせたステロイド外用薬の前後比較試験であった。残りの 2 報は、非 WW 法と比較して WW 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った。WW 法の効果がうかがえる一方で、抗生剤の使用が増加するとも報告されていた。

塗布頻度による効果の違いについての RCT では、3 報は1回と複数回との統計的な有意差は検出できず、1 報は 1 日 1 回よりも 2 回塗布の改善率がよかったと報告していた。しかし、有意差が検出できなかった RCT には少なくとも II 群以上に属する非常に強いステロイドも含まれていた。

ステロイド外用薬の長期投与に関する効果として、ここ数年アトピー性皮膚炎の寛解維持療法(Proactive Treatment)が注目されている。急性期の治療で改善した皮膚に、週 2 日程度の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いた。一方で、従来の湿疹再燃時のみのステロイド外用薬使用である Reactive Treatment での長期管理を行った論文では、急性期に 0.1%hydrocortisone butyrate を用いた群よりも強力なステロイドである 0.05% fluticasone propionate を使用した群が 3 ヶ月後の皮膚状態も良かった。

長期投与による有害事象としてエビデンスの水準が1である RCT では、hydrocortisone の 1 日 2 回 18 週連日塗布でも betamethasone valerate の 1 日 2 回週 3 日 18 週塗布でも皮膚のひ薄化は生じていなかった。また mometasone や fluticasone では週 2 日で 1 年近くに及ぶ長期塗布でも重篤な副作用はなく皮膚の萎縮も一時的であった。しかし、健常人対象の 6 週間の比較塗布試験では、betamethasone valerate、mometasone furoate、prednicarbate は基剤に比べると有意なひ薄化をみとめた。他の論文では prednicarbate は 6 週間の塗布は皮膚のひ薄化や毛細血管の拡張などの副作用はなかったとしているが、clobetasone propionate のような非常に強い外用薬では 6 週間塗布でひ薄化が生じていた。

症例集積研究ではステロイド外用薬による接触皮膚炎、皮膚萎縮、経皮吸収による副腎機能抑制に関する報告があったが、重症例でステロイド外用薬による適切な治療によって副腎機能が回復することを示したものもあった。また網膜剥離をきたした多くのアトピー性皮膚炎患者が眼球殴打をしているという報告もあった。症例対照研究では強いステロイド外用薬では副腎機能低下が起きている症例もあることが報告されていた。しかし、mild から moderate のステロイド外用薬の報告では副腎抑制や成長障害は見出されていなかった。

ステロイド外用薬の塗布量に関する RCT はなかったが、実際の塗布量を調査した論文では成人の示指の先端から第一関節部までを finger-tip unit

(FTU)として各部位の基準量を示していた。口径が 5mm のチューブから出した 0.025% betamethasone 軟膏(成人)および 0.05% clobetasone butyrate 軟膏(小児)の量を報告していた。

D. 考察

ステロイド外用薬に関する論文は非常に多数あるが、一部のものを除いて古いものが多くそれらは質的には高くなかった。RCT の形式を採用していても、目的とするアウトカム評価を基準に考えた場合は本質的には症例集積研究であったりするなど質的な問題が多かった。しかし 1996 年に CONSORT 声明が公表されて以降、統計手法として ITT 解析が明記されるなど論文のエビデンス水準が飛躍的に向上した。

ステロイド外用薬がアトピー性皮膚炎の治療に有効であることは疑う余地がないが、ステロイドの種類によって随分効果に差があるため、ステロイド外用薬なら何でも水準 1 のエビデンスがありアトピー性皮膚炎の治療に有効であるという結論を導くことはできない。

Ⅲ群以上の強いステロイド外用薬で連日塗布を数ヶ月続けた場合、副作用が生じる可能性は高く、漫然と連日塗布している患者には警鐘を鳴らす必要がある。ただ、長期投与による副作用の回避や寛解維持に関する論文が多く報告され、皮膚状態の寛解導入後に週 2 日や 3 日といった間欠投与の Proactive Treatment によって副作用の回避と寛解維持を目指すという臨床現場で経験則に基づいて行ってきた使用法にエビデンスが与えられた。また、ステロイド外用薬単独よりも保湿剤と併用した場合のほうが、患者の評価が高いことやステロイド外用薬の使用量を減らすことができる可能性が示唆されており、今後どのような保湿剤が優れているか、併用療法の方法(臨床現場でよく用いられている混合処方など)についての検討が必要である。

非常に強いステロイド外用薬では 1 日あたりの塗布頻度に関しては 1 日 1 回でも複数回でも有意差が検出できていないが、このことは 1 日のスキンケア頻度が 1 回でも複数回でも効果に差がないということを保つことも意味しない。特に日本では季節による症状悪化をしばしば経験し、皮膚の洗浄と保湿によるスキンケア頻度を増すことで皮膚症状の改善を経験する患者が多い。したがって、ステロイドの使用頻度とスキンケアの頻度の問題は分け

て検討する必要があると思われる。

1 回当たりの塗布量や塗布頻度を患者に指示して処方する必要があるが、塗布量に関しては RCT がなく、最も効果的な量に関するエビデンスがない。Long らの論文では実際に患者に薄く均一塗布した場合の量を計測していたが、これは英国人を対象にしているため日本人の場合はもう少し減らされると思われる。しかし我が国のステロイド外用薬チューブの口径はより小さく、FTU を基本とした軟膏量の計算方法は日本でも適応可能と思われる、現在では我が国のガイドラインにも引用されている。

今後はさらに多くのステロイド外用薬でのデータ収集や具体的な使用法を検討する詳細な臨床研究の実施が望まれる。こうしたステロイド外用薬の使用に際しては、その方法もさることながら、習慣化した搔破行動を消去する行動療法を併用することで、使用量を減らして良好なコントロールが可能となることが示唆されており、この分野も今後より詳細な研究を進める必要があろう。

E. 結論

今回の EBM 評価においても、ステロイド外用薬の急性期治療薬としての有効性は最も高いエビデンスレベル 1 と変わらなかった。さらに長期的な再燃予防効果を期待した Proactive Treatment という新しい使用方法が注目され、その有効性も証明された。保湿剤や他の外用薬との併用や混合使用あるいは行動療法の併用に関しては、詳細なエビデンスは不足しており、今後の課題として臨床現場での使用法に即した Practical RCT を計画する必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

「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講師

研究要旨

【研究目的】「かゆみ」で困っている小児アトピー性皮膚炎を含む皮膚疾患のある患児の保護者が、それに対しどのように対応、行動するかを明らかにし、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(HP)「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、について検討する。

【方法】佐賀市で実施している 1 歳児および 3 歳児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。アンケートの実施に関しては、佐賀市健康づくり課に協力を要請した。

【結果】2009 年 10 月より 2010 年 10 月の期間、佐賀市 1 歳および 3 歳児健診に随伴しアンケート調査を行い、1 歳児 950 人、3 歳児 925 人、計 1875 人に対するアンケートを回収し検討した。「かゆみ」に困ったことがある者は全体の 42%であり、その 90%以上が治療をし、79%が医療機関を受診していた。治療の情報源を医師から情報を得たと答えた者は 60%だった。当 HP を知っていた者は 54 名であり、「かゆみ」に困ったことがある小児の 6% (全体の 2.8%) であった。HP を閲覧した者の 82%がある程度以上理解できたと答え、91%がこの HP が「かゆみ」治療にある程度以上役にたったと答えた。この HP を知らない者のうち 57%はこの HP を見てみたいと回答した。

【考察】乳幼児皮膚の「かゆみ」は日常的な問題であり、高率に医療機関を受診している。医療情報も医師から得た者が多く、医師または医療機関に対する強い信頼がうかがわれた。「かゆみ」に困ったことのある小児の 6%が当 HP を知っていた。HP の存在を知った者は半数以上が当 HP を見てみたいと回答し、情報があれば HP の閲覧はさらに増えることが予想される。医師から当 HP の情報を得た者は 54 名中 3 名であり、医療関係者に対する HP 周知の努力が必要である。当 HP を見た者の当 HP に対する評価は概ね高かった。

【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る。患者は医療関係者、特に医師から得た情報を信頼しており、当 HP 利用促進のためにはまず医師に対し周知を図り、医師から患児の保護者に知らせることが必要であると考えられる。

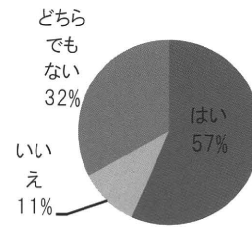
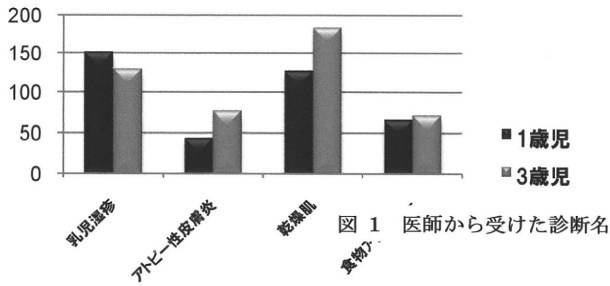
【研究目的】「かゆみ」で困っている小児アトピー性皮膚炎(AD)患者に対し、疾患の正しい認識、治療法を啓蒙するためには、患児の保護者がそれに対しどのように対応、行動するかを明らかにする必要がある。さらに、現在当研究班がインターネット上に開設しているホームページ(HP)「アトピー性皮膚炎、かゆみをやっつけよう！」が実際にどの程度活用されているのか、その活用を促進するためにはどのような方法があるのか、についても検討する。

【方法】佐賀市で実施している 1 歳児および 3 歳児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に実施を承認された。アンケートの実施に関しては、佐賀市健康づくり課に協力を要請した。

【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。2010 年 10 月末時点で、1 歳児健診を受診した 950 人、3 歳児健診 925 人、計 1875 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乳児湿疹の診断を受けた者は 1 歳児、3 歳児ともに約 15%、AD の診断を受けた者は 1 歳児が 4.8%、3 歳児は 8.5%であった。(図



「かゆみ」に困ったことがある小児の 6% (全体の 2.8%) であった。このうち 18 名が検索エンジンを使いこの HP を見出し、医療関係者から知らされたものは 3 名であった。(図 4) HP

を知らないと答えた者のうち 57%はこの HP を見てみたいと回答した(図 5)。HP を閲覧した者の 82%がある程度以上理解できたと答え、91%がこの HP が「かゆみ」治療にある程度以上役にたったと答えた(図 6)。

1) 「かゆみ」に困ったことがある者は全体の 42% であり(図 2)、その 90%以上が治療をし、79%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 77%であったが、

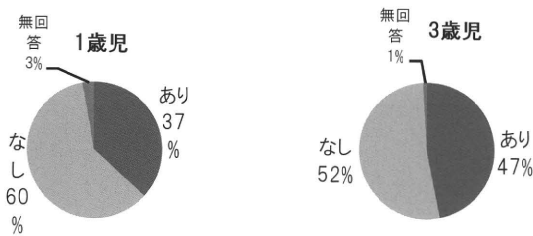


図 2 かゆみに困ったことがあるか

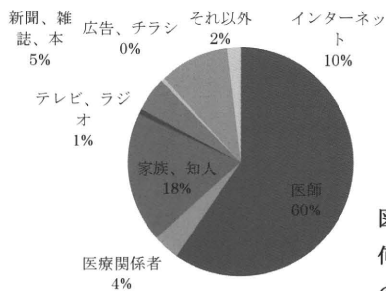


図 3 何からかゆみ治療の情報を得たか

「かゆみ」治療の情報源として利用した者は 10%であった。これに対し医師から情報を得たのは 60%、医療関係者と答えた者は 4% だった(図 3)。インターネット

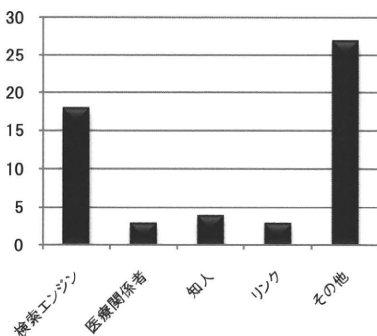


図 4 どのように HP を知ったか

により 68%が「かゆみ」治療に有用な情報を得たと答えた。当 HP を知っていた者は 54 名であり、

【考察】乳幼児およびその保護者にとって、皮膚の「かゆみ」は日常的な問題であり、高率に医療機関を受診していることが明らかになった。医療情報も医師から得た者が多く、医師または医療機関に対する強い信頼がうかがわれた。インター

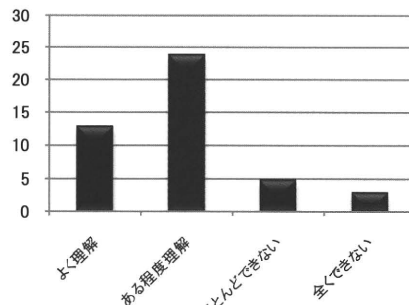


図 6 HP が理解できたか

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。医療情報など信頼性の必要な情報においてはインターネット利用を制限する姿勢が表れているのかもしれない。「かゆみ」に困ったことのある小児の 6%が当 HP を知っていたが、調査の進展に伴い徐々に増加している印象がある。今回のアンケートにより、HP の存在を知った者は半数以上が当 HP を見てみたいと回答し、情報を与えれば HP の閲覧は増えることが予想される。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。医師から当 HP の情報を得た者は 54 名中 3 名しかおらず、医療関係者に対しても 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。当 HP を見た者の当 HP に対する評価は概ね高く、その内容は一般の保護者にも十分に理解でき妥当なものと思われる。

【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った。患者は医療関係者、