

後1週未満の健康な新生児を対象とし、24週間、スキンケアを予防的（proactive）に実施する群と必要時（reactive）に実施する群において、乳児湿疹、アトピー性皮膚炎の発症率を比較する。このとき、フィラグリンの遺伝子変異の有無について検討し、層別化して検定する。さらに、TEWL（transepidermal water loss）、角質水分量、皮膚黄色ブドウ球菌および2歳時の特異的IgE抗体などを測定する。これら主要評価項目および副次評価項目を含む内容はUMIN臨床試験登録システムに前登録（UMIN-CTR: R000005429 スキンケアによる乳児湿疹・アトピー性皮膚炎予防に関する研究）した。

C. 結果

本年度は倫理審査委員会申請（7月22日申請、8月3日第一回審査、9月6日予備審査委員会承認、本委員会10月5日承認）、臨床試験登録を経て、2010年11月より症例登録を開始した。今後、スキンケアのアトピー性皮膚炎や2歳時におけるアレルギー感作に対する予防効果を検討する。

D. 考察

我々は以前に、生後1カ月時の乳児湿疹がアレルギー疾患発症に先行すること（Matsumoto K, et al. *Int Arch Allergy Immunol*, 2005）、および予防的なアトピー性皮膚炎治療により血清IgEが低下することなど（Fukuie T, et al. *Br J Dermatol*, 2010）を見いだしている。今後、これらの観察研究において得られた「スキンケアがアトピー性皮膚炎やアレルギー感作に有効かもしれない」という仮説を検証していく。

E. 結論

本臨床試験の成果はアレルギー疾患の発症予

防という点で広く社会に還元でき、また医療費の削減にも繋がる可能性が期待される。次世代の国民に対する大きな貢献が期待できる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Iikura K, Katsunuma T, Saika S, Saito S, Ichinohe S, Ida H, Saito H, Matsumoto K. Peripheral blood mononuclear cells from patients with bronchial asthma show impaired innate immune responses to rhinovirus in vitro. *Int Arch Allergy Immunol*. 2011; Accepted.

Nomura I, Morita H, Hosokawa S, Hoshina H, Fukuie T, Watanabe M, Ohtsuka Y, Shoda T, Terada A, Takamasu T, Arai K, Ito Y, Ohya Y, Saito H, Matsumoto K. Four distinct subtypes of non-ige-mediated gastrointestinal food allergies in neonates and infants, distinguished by their initial symptoms. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127:685-688.

Matsumoto K, Fukuda S, Hashimoto N, Saito H. Human eosinophils produce and release a novel chemokine, CCL23, in vitro. *Int Arch Allergy Immunol*. 2011; Accepted.

Ebihara T, Azuma M, Oshiumi H, Kasamatsu J, Iwabuchi K, Matsumoto K, Saito H, Taniguchi T, Matsumoto M, Seya T. Identification of a polyI:C-inducible membrane protein that participates in dendritic cell-mediated natural killer cell activation. *J Exp Med*. 2010; 207: 2675-2687.

Oboki K, Ohno T, Kajiwara N, Arae K, Morita H, Ishii A, Nambu A, Abe T, Kiyonari H, Matsumoto K, Sudo K, Okumura K, Saito H, Nakae S. IL-33

is a crucial amplifier of innate rather than acquired immunity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010; 107: 18581-18586.

Yagami A, Orihara K, Morita H, Futamura K, Hashimoto N, Matsumoto K, Saito H, Matsuda A. IL-33 mediates inflammatory responses in human lung tissue cells. *J Immunol.* 2010; 185: 5743-5750.

Yamada Y, Matsumoto K, Hashimoto N, Saikusa M, Homma T, Yoshihara S, Saito H. Effect of Th1/Th2 cytokine pretreatment on RSV-induced gene expression in airway epithelial cells. *Int Arch Allergy Immunol* 2011; 154: 184-194.

Harada M, Hirota T, Jodo AI, Hitomi Y, Sakashita M, Tsunoda T, Miyagawa T, Doi S, Kameda M, Fujita K, Miyatake A, Enomoto T, Noguchi E, Masuko H, Sakamoto T, Hizawa N, Suzuki Y, Yoshihara S, Adachi M, Ebisawa M, Saito H, Matsumoto K, Nakajima T, Mathias RA, Rafaels N, Barnes KC, Himes BE, Duan QL, Tantisira KG, Weiss ST, Nakamura Y, Ziegler SF, Tamari M. TSLP Promoter Polymorphisms are Associated with Susceptibility to Bronchial Asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2010 Jul 23. [Epub ahead of print].

Takeichi T, Sugiura K, Muro Y, Matsumoto K, Ogawa Y, Futamura K, Kaminuma O, Hashimoto N, Shimoyama Y, Saito H, Tomita Y. Overexpression of LEDGF/DFS70 Induces IL-6 via p38 Activation in HaCaT Cells, Similar to that Seen in the Psoriatic Condition. *J Invest Dermatol.* 2010; 130: 2760-2767.

Fukuie T, Nomura I, Horimukai K, Futamura M, Narita M, Ohzeki T, Matsumoto K, Saito H, Ohya Y. Proactive treatment appears to decrease serum IgE levels in patients with severe atopic dermatitis. *Br J Dermatol.* 2010;163: 1127-1129.

Matsumoto K, Terakawa M, Fukuda S, Saito H. Analysis of signal transduction pathways involved in anti-CD30 mAb-induced human eosinophil apoptosis. *Int Arch Allergy Immunol* 2010;152 Suppl 1: 2-8.

Kajiwara N, Sasaki T, Bradding P, Cruse G, Sagara H, Ohmori K, Saito H, Ra C, Okayama Y. Activation of human mast cells through the platelet-activating factor receptor. *J Allergy Clin Immunol.* 2010; 125: 1137-1145.

Niyonsaba F, Ushio H, Hara M, Yokoi H, Tominaga M, Takamori K, Kajiwara N, Saito H, Nagaoka I, Ogawa H, Okumura K. Antimicrobial peptides human beta-defensins and cathelicidin LL-37 induce the secretion of a pruritogenic cytokine IL-31 by human mast cells. *J Immunol.* 2010; 184: 3526-3534.

Futamura K, Orihara K, Hashimoto N, Morita H, Fukuda S, Sagara H, Matsumoto K, Tomita Y, Saito H, Matsuda A. beta2-Adrenoceptor agonists enhance cytokine-induced release of thymic stromal lymphopoietin by lung tissue cells. *Int Arch Allergy Immunol.* 2010;152: 353-361.

Kawamichi Y, Cui CH, Toyoda M, Makino H, Horie A, Takahashi Y, Matsumoto K, Saito H, Ohta H, Saito K, Umezawa A. Cells of extraembryonic mesodermal origin confer human dystrophin in the

mdx model of Duchenne muscular dystrophy. *J Cell Physiol.* 2010; 223: 695-702.

Tsubota A, Matsumoto K, Mogushi K, Nariai K, Namiki Y, Hoshina S, Hano H, Tanaka H, Saito H, Tada N. IQGAP1 and vimentin are key regulator genes in naturally occurring hepatotumorigenesis induced by oxidative stress. *Carcinogenesis.* 2010; 31: 504-511.

新関寛徳: 湿疹、皮膚炎 (9章 皮膚) 石井栄三郎編、小児科臨床ピクセル 24、症状別 検査の選び方・進め方中山書店 (東京) 2011; 200-203.

Ishida Y, Ozono S, Maeda N, Okamura J, Asami K, Iwai T, Kamibeppu K, Sakamoto N, Kakee N, Horibe K. Medical Visits of Childhood Cancer Survivors in Japan: A Cross-sectional Survey. *Pediat Int* 2010 Nov 16. [Epub ahead of print]

Ishida Y, Honda M, Ozono S, Okamura J, Asami K, Maeda N, Sakamoto N, Inada H, Iwai T, Kamibeppu K, Kakee N, Horibe K. Late effects and quality of life of childhood cancer survivors: part 1. Impact of stem cell transplantation. *Int J Hematol.* 2010;91:865-876.

Kamibeppu K, Sato I, Honda M, Ozono S, Sakamoto N, Iwai T, Okamura J, Asami K, Maeda N, Inada H, Kakee N, Horibe K, Ishida Y. Mental health among young adult survivors of childhood cancer and their sibilings including posttraumatic growth. *J Cancer Surviv.* 2010;4:303-312.

石田也寸志, 大園秀一, 本田美里, 浅見恵子, 前田尚子, 岡村純, 稲田浩子, 上別府圭子, 岩

井艶子, 坂本なほ子, 掛江直子, 堀部敬三. 小児がん経験者の晩期合併症および Quality of Life(QOL)の実態に関する横断的調査研究 第2報:身体的特徴と晩期合併症の危険因子. *日本小児科学会雑誌* 2010;114;676-686.

石田也寸志, 本田美里, 上別府圭子, 大園秀一, 岩井艶子, 掛江直子, 坂本なほ子, 岡村純, 浅見恵子, 稲田浩子, 前田尚子, 堀部敬三. 小児がん経験者の晩期合併症および Quality of Life(QOL)の実態に関する横断的調査研究 第1報:調査方法と対象. *日本小児科学会雑誌* 2010;114; 665-675.

Yang L, Fujimoto J, Qiu D, Sakamoto N. Trends in cancer mortality in the elderly in Japan, 1970-2007. *Ann Oncol.* 2010;21: 389-396.

Takayasu H, Kitano Y, Kuroda T, Morikawa N, Tanaka H, Fujino A, Muto M, Nosaka S, Tsutsumi S, Hayashi S, Sago H.: Successful management of a large fetal mediastinal teratoma complicated by hydrops fetalis. *J Pediatr Surg.* 2010;45:e21-24.

Okuyama H, Kitano Y, Saito M, Usui N, Morikawa N, Masumoto K, Takayasu H, Nakamura T, Ishikawa H, Kawataki M, Hayashi S, Inamura N, Nose K, Sago H.: The Japanese experience with prenatally diagnosed congenital diaphragmatic hernia based on a multi-institutional review. *Pediatr Surg Int.* 2010 Nov 28. [Epub ahead of print]

Kitano Y, Okuyama H, Saito M, Usui N, Morikawa N, Masumoto K, Takayasu H, Nakamura T, Ishikawa H, Kawataki M, Hayashi S, Inamura N, Nose K, Sago H.: Reevaluation of Stomach

Position as a Simple Prognostic Factor in Fetal Left Congenital Diaphragmatic Hernia: A Multicenter Survey in Japan. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2011; 37:277-282

Sago H, Hayashi S, Saito M, Hasegawa H, Kawamoto H, Kato N, Nanba Y, Ito Y, Takahashi Y, Murotsuki J, Nakata M, Ishii K, Murakoshi T.: The outcome and prognostic factors of twin-twin transfusion syndrome following fetoscopic laser surgery. *Prenat Diagn.* 2010;30:1185-1191.

Ohnuki Y, Torii C, Kosaki R, Yagihashi T, Sago H, Hayashi K, Yasukawa K, Takahashi T, Kosaki K.: Cri-du-Chat Syndrome Cytogenetically Cryptic Recombination Aneusomy of Chromosome 5: Implications in Recurrence Risk Estimation. *Mol Syndromol.* 2010;1:95-98.

Natsuga K, Nishie W, Shinkuma S, Nakamura H, Arita K, Yoneda K, Kusaka T, Yanagihara T, Kosaki R, Sago H, Akiyama M, Shimizu H.: A founder effect of c.1938delC in ITGB4 underlies junctional epidermolysis bullosa and its application for prenatal testing. *Exp Dermatol.* 2011 ;20:74-76.

Ishii K, Murakoshi T, Hayashi S, Saito , Sago H, Takahashi Y, Sumie M, Nakata M, Matsushita M, Shinno T, Naruse H, Torii Y.: Ultrasound and Doppler predictors of mortality in monochorionic twins with selective intrauterine growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2011;37:22-26.

Usui N, Kitano Y, Okuyama H, Saito M, Morikawa N, Takayasu H, Nakamura T, Hayashi S, Kawatani M, Ishikawa H, Nose K, Inamura N, Masumoto K, Sago H.: Reliability of the lung to thorax

transverse area ratio as a predictive parameter in fetuses with congenital diaphragmatic hernia. *Pediatr Surg Int.* 2011;27:39-45.

Takahashi H, Hayashi S, Miura Y, Tsukamoto K, Kosaki R, Itoh Y, Sago H : Trisomy 9 mosaicism diagnosed in utero. *Obstet Gynecol Int.* Epub 2010 Jul 25

Watanabe N, Jwa SC, Ozawa N, Sago H.: Sinusoidal heart rate patterns as a manifestation of massive fetomaternal hemorrhage in a monochorionic-diamniotic twin pregnancy: a case report. *Fetal Diagn Ther.* 2010;27(3):168-70. Epub 2010 Feb 10.

室月淳, 左合治彦, 林聡, 加藤有美, 難波由喜子, 伊藤裕司, 村越毅, 石井桂介, 中田雅彦, 高橋雄一郎. 双胎間輸血症候群に対するレーザー手術における新生児合併症. 一多施設共同調査研究— 日本周産期・新生児誌 2010; 46: 14-16.

柿島裕樹, 山崎茂樹, 嵯峨美奈子, 小野ひろみ, 外川靖士, 佐久間武史, 石井幸雄, 宮崎澄夫, 佐々木愛子, 藤田秀樹, 小須賀基道, 小崎里華, 小澤伸晃, 林 聡, 左合治彦, 奥山虎之. 絨毛生検組織に対する未培養 FISH 法を目的とした標本作製法. 日本染色体遺伝子検査 2010; 28: 91-97

2. 学会発表

Saito H. Invited Lecture: Role of environment and immunity in the development of childhood allergic diseases. WPAO (West Pacific Allergy Organization) Jinan Forum 2011: Better

Environment for Atopic Dermatitis. Jinan, Korea.
Jan. 28-29, 2011.

大矢幸弘： シンポジウム 2 小児アトピー性
皮膚炎の特徴と患者指導 第 40 回日本皮膚ア
レルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会
2010.12.11 広島

大矢幸弘： モーニングセミナー1 小児アト
ピー性皮膚炎における外用療法～最新の知見
から～ 「抗炎症外用剤による Proactive 療法」
第 34 回日本小児皮膚科学会学術大会
2010.7.4

大矢幸弘： イブニングセミナー1 小児アト
ピー性皮膚炎～発症予防の可能性と外用療法、
それぞれのポイント～ 「小児アトピー性皮膚
炎の予防と食物制限」 第 34 回日本小児皮膚
科学会学術大会 2010.7.3

大矢幸弘： 特別講演「小児アレルギー疾患の
発症予防に関するパラダイムシフト」 第 64
回日本小児科学会鳥取地方会例会 2010.6.13

H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得

斎藤博久

WO2005/028667 ヒト肥満細胞で発現する G 蛋
白質共役型受容体を標的とした薬剤およびそ
のスクリーニング方法

WO2004/005509 アレルギー性疾患の検査方法、
および治療のための薬剤

WO2004/003198 アレルギー性疾患の検査方法、
および治療のための薬剤

特許公開 2010-207200 アトピー素因判定マ
ーカー、アレルギー性皮膚疾患素因判定マーカー
及びそれらの使用方法

特許公開 2010-004853 制御性 T 細胞の製造
方法

特許公開 2009-014524 アレルギー疾患推定
マーカー及び治療効果判定マーカー、並びに、
それらの利用方法

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業）

分担研究報告書

適切なスキンケア、薬物治療方法の確立とアトピー性皮膚炎の発症・増悪予防、自己管理に関する研究

分担研究項目：アトピー性皮膚炎の発症・増悪予防に関する基礎検討

研究代表者：松本 健治 独立行政法人 国立成育医療研究センター研究所免疫アレルギー研究部 アレルギー研究室 室長

研究協力者：森田 英明（独）国立成育医療研究センター 研究所 免疫アレルギー研究部 医師 共同研究員

研究要旨：食物抗原に対するアレルギー感作の成立には食物抗原の経皮的な曝露が重要である可能性が示唆されているが、なぜ皮膚から浸入した抗原が Th2 型の免疫応答を誘導するかについては不明な点が多く残されている。今回、私たちはアトピー性皮膚炎の皮膚に常在する黄色ブドウ球菌が産生する V8 protease の皮膚への曝露が、経皮的な OVA 曝露による IgE 抗体産生に与える影響について、Balb/c マウスを用いて検討した。その結果、不活性化した V8 protease を添加した場合に比して、active な V8 protease の添加によって OVA に対する IgE 産生は増強され留事が秋田かとなった。このことは、経皮的な食物抗原に対する曝露において、ブドウ球菌が重要な役割を演じる可能性を示唆しており、今後、介入研究におけるブドウ球菌についても検討を加える。

A. 研究目的

近年の疫学研究から、食物抗原に対するアレルギー感作の成立には食物抗原の経皮的な曝露が重要である可能性が示唆されている。食物抗原に対するアレルギー感作の成立はその後のアトピー性皮膚炎の治療や QOL に大きく影響する問題である。しかし、これまでに、なぜ皮膚から浸入した抗原が Th2 型の免疫応答を誘導するかについては不明な点が多く残されている。今回、私たちはアトピー性皮膚炎の皮膚に常在し、皮膚炎の重症度に強く相関する黄色ブドウ球菌の関与に着目し、黄色ブドウ球菌が産生する皮膚のバリア傷害分子となる V8 protease のマウス経皮感作における影響を検討した。

B. 方法

1. Balb/c マウスの体幹皮膚を剃毛し、10 mg/ml の Ovalbumin (OVA) 抗原に種々の濃度の V8 protease を添加して 72 時間貼付し、1 週間あける、という操作を 3 回行った。
2. 3 回目の経皮曝露後に OVA 抗原に対する血清 IgE 抗体を ELISA にて測定し、添加した V8 protease が経皮曝露した OVA に対する IgE 産生に与える影響について検討した。

C. 結果

1. 不活性化した V8 protease を添加した場合に比して、active な V8 protease の添加によって OVA に対する IgE 産生は増強された。
2. IgE 産生に対する V8 protease の影響は Bell shape な容量反応性を示し、50 mg/ml の V8 protease 添加時に最も IgE 産生が増強された。

D. 考察

1. 食物抗原に対する経皮的な感作の成立には、黄色ブドウ球菌由来の protease が促進的に作用する可能性が明らかとなった。

2. この経路の阻害は食物アレルギーの発症予防に繋がる可能性があり、今後更に詳細にその機序を検討する必要があると考えられた。

E. 結論

皮膚からの食物抗原侵入には黄色ブドウ球菌由来の protease が促進的に作用する。

F. 研究発表

1. 論文発表

Ikura K, Katsunuma T, Saika S, Saito S, Ichinohe S, Ida H, Saito H, Matsumoto K. Peripheral blood mononuclear cells from patients with bronchial asthma show impaired innate immune responses to rhinovirus in vitro. *Int Arch Allergy Immunol*. 2011; Accepted.

Nomura I, Morita H, Hosokawa S, Hoshina H, Fukuie T, Watanabe M, Ohtsuka Y, Shoda T, Terada A, Takamasu T, Arai K, Ito Y, Ohya Y, Saito H, Matsumoto K. Four distinct subtypes of non-IgE-mediated gastrointestinal food allergies in neonates and infants, distinguished by their initial symptoms. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127:685-688.

Matsumoto K, Fukuda S, Hashimoto N, Saito H. Human eosinophils produce and release a novel chemokine, CCL23, in vitro. *Int Arch Allergy Immunol*. 2011; Accepted.

Ebihara T, Azuma M, Oshiumi H, Kasamatsu J, Iwabuchi K, Matsumoto K, Saito H, Taniguchi T, Matsumoto M, Seya T. Identification of a

polyI:C-inducible membrane protein that participates in dendritic cell-mediated natural killer cell activation. *J Exp Med*. 2010; 207: 2675-2687.

Oboki K, Ohno T, Kajiwara N, Arae K, Morita H, Ishii A, Nambu A, Abe T, Kiyonari H, Matsumoto K, Sudo K, Okumura K, Saito H, Nakae S. IL-33 is a crucial amplifier of innate rather than acquired immunity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010; 107: 18581-18586.

Yagami A, Orihara K, Morita H, Futamura K, Hashimoto N, Matsumoto K, Saito H, Matsuda A. IL-33 mediates inflammatory responses in human lung tissue cells. *J Immunol*. 2010; 185: 5743-5750.

Yamada Y, Matsumoto K, Hashimoto N, Saikusa M, Homma T, Yoshihara S, Saito H. Effect of Th1/Th2 cytokine pretreatment on RSV-induced gene expression in airway epithelial cells. *Int Arch Allergy Immunol* 2011; 154: 184-194.

Harada M, Hirota T, Jodo AI, Hitomi Y, Sakashita M, Tsunoda T, Miyagawa T, Doi S, Kameda M, Fujita K, Miyatake A, Enomoto T, Noguchi E, Masuko H, Sakamoto T, Hizawa N, Suzuki Y, Yoshihara S, Adachi M, Ebisawa M, Saito H, Matsumoto K, Nakajima T, Mathias RA, Rafaels N, Barnes KC, Himes BE, Duan QL, Tantisira KG, Weiss ST, Nakamura Y, Ziegler SF, Tamari M. TSLP Promoter Polymorphisms are Associated with Susceptibility to Bronchial Asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2010 Jul 23. [Epub ahead of print].

Takeichi T, Sugiura K, Muro Y, Matsumoto K,

Ogawa Y, Futamura K, Kaminuma O, Hashimoto N, Shimoyama Y, Saito H, Tomita Y. Overexpression of LEDGF/DFS70 Induces IL-6 via p38 Activation in HaCaT Cells, Similar to that Seen in the Psoriatic Condition. *J Invest Dermatol*. 2010; 130: 2760-2767.

Fukaie T, Nomura I, Horimukai K, Futamura M, Narita M, Ohzeki T, Matsumoto K, Saito H, Ohya Y. Proactive treatment appears to decrease serum IgE levels in patients with severe atopic dermatitis. *Br J Dermatol*. 2010;163: 1127-1129.

Matsumoto K, Terakawa M, Fukuda S, Saito H. Analysis of signal transduction pathways involved in anti-CD30 mAb-induced human eosinophil apoptosis. *Int Arch Allergy Immunol* 2010;152 Suppl 1: 2-8.

Futamura K, Orihara K, Hashimoto N, Morita H, Fukuda S, Sagara H, Matsumoto K, Tomita Y, Saito H, Matsuda A. beta2-Adrenoceptor agonists enhance cytokine-induced release of thymic stromal lymphopoietin by lung tissue cells. *Int Arch Allergy Immunol*. 2010;152: 353-361.

Kawamichi Y, Cui CH, Toyoda M, Makino H, Horie A, Takahashi Y, Matsumoto K, Saito H, Ohta H, Saito K, Umezawa A. Cells of extraembryonic mesodermal origin confer human dystrophin in the

mdx model of Duchenne muscular dystrophy. *J Cell Physiol*. 2010; 223: 695-702.

Tsubota A, Matsumoto K, Mogushi K, Nariai K, Namiki Y, Hoshina S, Hano H, Tanaka H, Saito H, Tada N. IQGAP1 and vimentin are key regulator genes in naturally occurring hepatotumorigenesis induced by oxidative stress. *Carcinogenesis*. 2010; 31: 504-511.

2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特許公開 2010-207200 アトピー素因判定マーカー、アレルギー性皮膚疾患素因判定マーカー及びそれらの使用法

特許公開 2009-014524 アレルギー疾患推定マーカー及び治療効果判定マーカー、並びに、それらの利用方法

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業）

分担研究報告書

適切なスキンケア、薬物治療方法の確立とアトピー性皮膚炎の発症・増悪予防、自己管理に関する研究

研究代表者：片山 一郎 大阪大学大学院医学系研究科情報統合医学皮膚科学 教授

研究協力者：室田 浩之 大阪大学大学院医学系研究科情報統合医学皮膚科学 准教授

研究要旨：近年、アトピー性皮膚炎の患者の数は、増加してきており社会問題化している。この背景にはアトピービジネスに代表されるように医療機関以外での民間療法やドクターショッピングを繰り返す患者の存在が考えられ、通常のアトピー性皮膚炎に対する治療方針に疑問を感じていることが懸念される。「日本皮膚科学会アトピー性皮膚炎治療ガイドライン 2009 改訂版」では、治療の基本方針として生理学的機能異常に対しては保湿剤外用などのスキンケアが推奨されているものの、特に乳幼児のアトピー性皮膚炎においてはエビデンスの不足からそれぞれの医療機関・医師により実際の治療および指導にばらつきを生じているのが現状である。本研究では（1）乳児期早期の適切なスキンケアがその後のアレルギー疾患の発症に与える影響、（2）スキンケアにおける角質細胞間脂質の機能について検討する。

A. 研究目的

（1）乳児期早期の適切なスキンケアがその後のアレルギー疾患の発症に与える影響、（2）スキンケアにおける角質細胞間脂質の機能について検討する。

B. 研究方法

1. 平成20年度に私たちは以下のような検討を行った：アトピー素因のある新生児をスキンケア介入群と非介入群を封筒法によって無作為に割付け、前者に対しては顔面には洗浄料を使わず、ぬるま湯のみで洗うよう指示し、保湿剤を1日最低1回（入浴後は必ず）顔面全体に外用するよう指示した。生後1週間以内、1ヶ月後、4ヶ月後、6ヶ月後の皮膚症状の有無を観察するとともに、経皮水分蒸散量（TEWL）、皮膚表面 pH を測定すると同時に、頬部、前胸部、および下腿の細菌培養を行った。

児が2歳になる本年度にあたり、アレルギー

症状に関する追跡調査を行った。

2. 角質細胞間脂質の1つ、コレステロールの皮膚バリアにおける役割を（1）アセトンでバリアを障害したマウスの角質水分蒸散量測定、（2）ハプテンによる接触過敏反応モデルを用いて検討した（図1）。

C. 研究結果

1. 平成20年度、後期両親学級に参加した200名の妊婦に説明を行い、全員に対し郵送調査法にてアンケートを実施。200名中32名にアトピー素因があることが判明し、当該研究の候補者として、出産入院の際インフォームドコンセントを行い23名の父母から同意を得た。児の状況から20名に介入ができた。その結果1ヶ月後の pH、1ヶ月後以降の TEWL、胸部/下肢の黄色ブドウ球菌コロニー数評価値は介入群でバリア機能の改善が認められた。

アトピー性皮膚炎の発症は介入／非介入群いずれも4-6ヶ月の間で2例ずつ認めた。2年後、本研究対象者における追跡調査を行った。21例（介入群 12例、非介入群 9例）全例で追跡調査を行う事ができた。その結果、生後6ヶ月～2歳時までにおいて、a) アトピー性皮膚炎発症例：介入群 1/12、非介入群 3/9、b) 食物アレルギー発症例：介入群 3/12、非介入群 3/9であった。

2. (1) バリア機能におけるコレステロールの役割：コレステロール外用処理あるいは非処理のSKHマウスのback skinをアセトンあるいはPBSで清拭した後の角質水分蒸散量をTEWLメーターで33時間モニターした。マウスは各々n=4を行った。コレステロール塗布群は塗布直後からTEWLの著明な現象を認めた。溶媒塗布群ではバリア破壊後5～6時間後にTEWLが処理前の値まで改善した。(2) DNFBによる24時間、48時間後の接触過敏反応はコレステロールをDNFB処理後に塗布する事によって有意に抑制された(図1)。

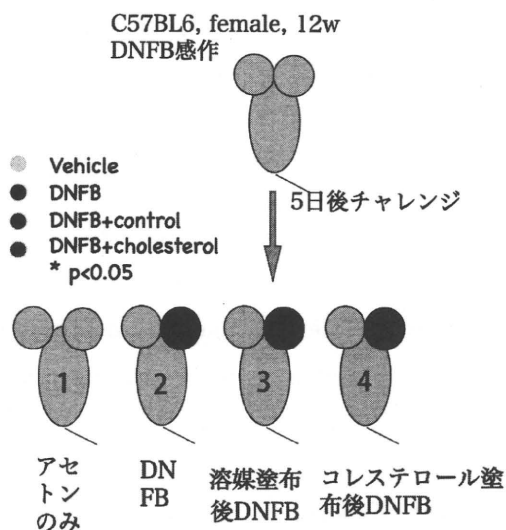


図1：コレステロール外用はDNFBによる接触過敏反応を抑制する

D. 考察

症例数は少ないながら、新生児からの保湿剤によるスキンケア介入は児のその後のアレルギー疾患の発症率を低下させる可能性が示唆された。スキンケア介入は6ヶ月間と限られており、この期間がその後のアレルギーマーチの発症にどのくらいの影響を及ぼすかに興味もたれた。その結果、2歳時でのアトピー性皮膚炎有病率は非介入群に比し介入群で低い結果となった。

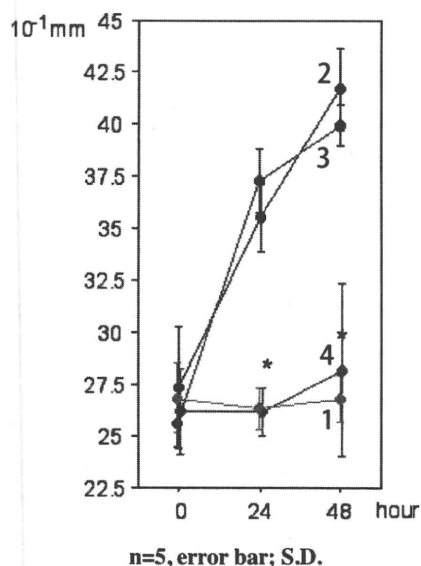
近年、アトピー性皮膚炎と食物アレルギーの関連についてとりざたされる事が多い。中でも食物抗原の経皮感作に関する話題に興味が集まっている。そのため、新生児からのスキンケアが食物アレルギーの発症予防に及ぼす影響に期待が寄せられる。残念ながら今回の我々の調査では介入、非介入群の間で2歳時の食物アレルギー有病率に差は認められなかった。検討された症例数はまだ少なく、症例の蓄積が必要であろう。

皮膚バリア機能におけるコレステロールの役割の検討では、コレステロール外用は皮膚の

バリア機能にとって重要な脂質であると想像され、保湿剤としての機能に期待が寄せられた。

E. 結論

スキンケアの重要性を支持する所見と思われ、今後も症例数、検討数を増やして検



討していく予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Terao M, Nishida K, Murota H, Katayama I. Clinical effect of tocoretinate on lichen and macular amyloidosis. *J Dermatol* 2011;38:179-184.

Nishioka M, Tanemura A, Yamanaka T, Umegaki N, Tani M, Katayama I, Takemasa I, Sekimoto M, Tomita K, Tamai N. A case of giant squamous cell carcinoma of the buttock possibly arose from syringocystadenoma and invaded to the rectum. *J Skin Cancer* 2011; 213406.

Kira M, Katayama I. Superimposed linear psoriasis. *J Dermatol* 2010;37:1063-1065.

Takahashi Y, Murota H, Tarutani M, Sano S, Okinaga T, Tominaga K, Yano T, Katayama I. A case of juvenile dermatomyositis manifesting inflammatory epidermal nevus-like skin lesions: unrecognized cutaneous manifestation of blaschkitis? *Allergol Int* 2010;59:425-428.

Murota H, Kitaba S, Tani M, Wataya-Kaneda M, Azukizawa H, Tanemura A, Umegaki N, Terao M, Kotobuki Y, Katayama I. Impact of sedative and non-sedative antihistamines on the impaired productivity and quality of life in patients with pruritic skin diseases. *Allergol Int* 2010 ;59: 345-354.

Hirakawa S, Tanemura A, Mori H, Katayama I, Hashimoto K. Multiple lymphadenopathy as an initial sign of extramammary Paget disease. *Br J Dermatol* 2011;164:200-203.

Matsui S, Kitaba S, Itoi S, Kijima A, Murota H, Tani M, Katayama I. A case of disseminated DLE complicated by atopic dermatitis and Sjögren's syndrome: link between hypohidrosis and skin manifestations. *Mod Rheumatol*. 2010

Shima Y, Kuwahara Y, Murota H, Kitaba S, Kawai M, Hirano T, Arimitsu J, Narazaki M, Hagihara K, Ogata A, Katayama I, Kawase I, Kishimoto T, Tanaka T. The skin of patients with systemic sclerosis softened during the treatment with anti-IL-6 receptor antibody tocilizumab. *Rheumatology (Oxford)* 2010;49:2408-2412.

Nishioka M, Tanemura A, Yamanaka T, Tani M, Miura H, Asakura M, Tamai N, Katayama I. Pilomatrix carcinoma arising from pilomatricoma after 10-year senescent period: Immunohistochemical analysis. *J Dermatol* 2010;37:735-739.

Terao M, Sakai N, Higashiyama S, Kotobuki Y, Tanemura A, Wataya-Kaneda M, Yutsudo M, Ozono K, Katayama I. Cutaneous symptoms in a patient with cardiofaciocutaneous syndrome and increased ERK phosphorylation in skin fibroblasts. *Br J Dermatol* 2010;163:881-884.

Takamatsu H, Takegahara N, Nakagawa Y, Tomura M, Taniguchi M, Friedel RH, Rayburn H, Tessier-Lavigne M, Yoshida Y, Okuno T, Mizui M, Kang S, Nojima S, Tsujimura T, Nakatsuji Y,

Katayama I, Toyofuku T, Kikutani H, Kumanogoh A. Semaphorins guide the entry of dendritic cells into the lymphatics by activating myosin II. *Nat Immunol* 2010;11:594-600.

Murota H, Takahashi A, Nishioka M, Matsui S, Terao M, Kitaba S, Katayama I. Showering reduces atopic dermatitis in elementary school students. *Eur J Dermatol* 2010;20:410-411.

Murota H, El-latif MA, Tamura T, Amano T, Katayama I. Olopatadine hydrochloride improves dermatitis score and inhibits scratch behavior in NC/Ngamice. *Int Arch Allergy Immunol* 2010;153:121-132.

Hanafusa T, Umegaki N, Yamaguchi Y, Katayama I. Good's syndrome (hypogammaglobulinemia with thymoma) presenting intractable opportunistic infections and hyperkeratotic lichen planus. *J Dermatol* 2010;37:171-174.

Abd El-Latif MI, Murota H, Terao M, Katayama I. Effects of a 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor and low-density lipoprotein on proliferation and migration of keratinocytes. *Br J Dermatol* 2010;163:128-137.

Katayama I, Kotobuki Y, Kiyohara E, Murota H. Annular erythema associated with Sjögren's syndrome: review of the literature on the management and clinical analysis of skin lesions. *Mod Rheumatol* 2010;20:123-129.

Murota H, Kitaba S, Tani M, Wataya-Kaneda M, Katayama I. Effects of nonsedative antihistamines

on productivity of patients with pruritic skin diseases. *Allergy* 2010;65:929-930.

2. 学会発表

片山一朗：教育講演「アトピー性皮膚炎ガイドライン」第22回日本アレルギー学会春季臨床大会 2010.5.8-9

室田浩之：ミニシンポジウム3 小児のアトピー性皮膚炎 「小児アトピー性皮膚炎のスキンケアの進め方」第22回日本アレルギー学会春季臨床大会 2010.5.8-9

室田浩之：シンポジウム6 アトピー性皮膚炎の病態解明と治療の最前線 「発汗機能とスキンケアの指導法（生活指導を含めた包括的治療）」第60回日本アレルギー学会秋季学術大会 2010.11.25-27

北場俊、木嶋晶子、室田浩之、片山一朗：発汗機能異常を呈したシェーグレン症候群が合併したアトピー性皮膚炎の3例. 第22回アレルギー学会春季臨床大会、2010、5.

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

なし

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業）

分担研究報告書

適切なスキンケア、薬物治療方法の確立とアトピー性皮膚炎の発症・増悪予防、自己管理に関する研究

分担研究項目：微量試料による特異的 IgE 抗体価測定方法の開発

研究代表者：木戸 博 徳島大学疾患酵素学研究センター 教授

研究要旨：カルボキシル化ダイヤモンドライクカーボン（DLC）チップを用いて、UniCAP の測定限界をさらに 1/10-1/15 にまで下げるアレルギー特異的 IgE, IgA, IgG, C, s-IgA の新規測定法を確立した。この測定法は、1) 微量(1-2 mL)の血液、唾液で測定が可能、2) 30 種類のアレルゲンの同時測定が可能、3) 従来法が IgE の測定であったのに比べて、抗原特異的 IgA, S-IgA, IgG, IgG1, IgG4 の定量が可能、4) 高感度化により臍帯血で抗原特異的抗体の検出が可能、以上を達成することができた。この微量検体によるアレルギーの高感度測によって、アトピー性皮膚炎の発症・増悪の健康管理、増悪予防のデータを低侵襲性に得ることが可能となった。今後、アトピー性皮膚炎の発症・増悪に伴う血液と唾液中の抗原特異的 IgA, S-IgA, IgG, IgG1, IgG4 の推移をモニターする。

A. 研究目的

本研究課題において、従来法では達成できていなかった「網羅的で高感度な抗原特異的 IgE, IgA, IgG4 の蛋白チップによる解析法」を確立する。具体的には以下の 2 項目を達成して、アトピー性皮膚炎の発症・増悪予防、自己管理に関する研究を進める。1) 高感度測定が必要な臍帯血 total IgE, 唾液 total IgE、抗原特異的 IgE, IgA, IgG4 を測定する蛋白チップを開発する。2) 患者負担の少ない数マイクロリッターの微量血清、あるいは全血で 28-30 アレルゲンに対する抗体価の同時測定を可能にする蛋白チップを開発する。

B. 方法

高密度抗原蛋白質の固定化が可能な、カルボキシル化ダイヤモンドライクカーボン（DLC）チップを用いて、乳幼児や臍帯血からの微量検体を用いた網羅的な抗原特異的 IgE, IgA, IgG4 の高感度測定系を確立する。

C. 結果

アレルゲンとして一般的な食物抗原、吸入抗原 28 種類を搭載したカルボキシル化 DLC チップが完成した。これまで一般的に使用されてきた UniCAP の抗原特異的 IgE の測定結果との比較では、イヌ、ヒノキ花粉、ブタクサ花粉抗原を例外として、25 種類の全ての抗原で 71-92% の一致率、0.7-0.9 の高い相関係数を示した。UniCAP では測定できない低レベルの臍帯血や唾液の IgE の高感度測定、Total IgE の高感度測定、網羅的な抗原特異的 IgA, IgG4 の測定が初めて可能となった。さらに、本検査に使用する検体は、数マイクロリッターの微量の全血あるいは血清で良く、患者負担の極めて少ない検査方法となった。

D. 考察

目標とした一般的な食物抗原、吸入抗原の 28 種類の抗原の中で、25 抗原は UniCAP に搭載してある抗原とほぼ同様な反応性を示したが、ブタクサ花粉では蛋白チップの抗原の反応性が極め

て高く、UniCAPの反応性が低くかつた。逆にイヌ抗原では、蛋白チップの抗原反応性が低く、UniCAPの反応性が高く、ヒノキ花粉では患者によってまちまちで一定の傾向を示さなかつた。これら3種の抗原については、今後さらに抗原抽出方法の改良を進めると共に、臨床症状とのすり合わせを進め、UniCAPを凌ぐDLC蛋白質チップのシステム開発を行う。

E. 結論

開発されたDLCアレルギーチップでは、IgEにおいては従来のUniCAP法の測定限界をさらに1/10-1/15にまで下げることができた。これにより、微量の臍帯血total IgE、抗原特異的IgEを正確に測定することが可能となった。さらに従来法では測定系の無かつた抗原特異的IgA、IgG4についても測定が可能となり、本研究課題の「アトピー性皮膚炎の発症・増悪予防、自己管理」に関する研究、さらに「アレルギーマーチ」の発症予防の評価が、今後可能となる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Kido H, Ishidoh K, Nobuhiko Katunuma: an outstanding scientist in the field of proteolysis and warm-hearted 'Kendo Fighter' biochemist. *J Biochem.* 2010;148:527-31.

Wang S, Le TQ, Kurihara N, Chida J, Cisse Y, Yano M, Kido H. Influenza virus-cytokine-protease cycle in the pathogenesis of vascular hyperpermeability in severe influenza. *J Infect Dis.* 2010;202:991-1001.

Takahashi E, Kataoka K, Fujii K, Chida J, Mizuno D, Fukui M, Hiro-O Ito, Fujihashi K, Kido H. Attenuation of inducible respiratory immune

responses by oseltamivir treatment in mice infected with influenza A virus. *Microbes Infect.* 2010;12:778-83.

Wang S, Quang Le T, Chida J, Cisse Y, Yano M, Kido H. Mechanisms of matrix metalloproteinase-9 upregulation and tissue destruction in various organs in influenza A virus infection. *J Med Invest.* 2010;57:26-34.

Okumura Y, Takahashi E, Yano M, Ohuchi M, Daidoji T, Nakaya T, Böttcher E, Garten W, Klenk HD, Kido H. Novel type II transmembrane serine proteases, MSPL and Tmprss13, proteolytically activate membrane fusion activity of the hemagglutinin of highly pathogenic avian influenza viruses and induce their multicycle replication. *J Virol.* 2010;84:5089-96.

Cisse Y, Wang S, Inoue I, Kido H. Rat model of Influenza-associated encephalopathy(IAE): studies of Electroencephalogram(EEG) *in vivo*. *Neuroscience.* 2010;165(4):1127-37.

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

WO2008/111281 アレルギー疾患の判定方法

特許公開 2010-266448 アレルギー疾患の判定方法及びアレルギー疾患の判定キット

特許公開 2010-204130 ダイヤモンドチップへの蛋白質/ペプチドの固定化方法

| | | |
|------------------|---------------------------------|-----------------|
| 特許公開 2006-267063 | アレルギー疾患の 判定方法及びアレルギー疾患の判定キット | 2. 実用新案登録 なし |
| 特許公開 2006-267058 | ダイヤモンドチップへの蛋白質/ペプチドの固定化方法 | 3. その他 なし |

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業）

分担研究報告書

適切なスキンケア、薬物治療方法の確立とアトピー性皮膚炎の発症・増悪予防、自己管理に関する研究

分担研究項目：免疫ヒト化マウスによるアレルギー疾患モデルの樹立に関する基礎検討

研究代表者：竹森 利忠 理化学研究所 免疫・アレルギー科学 総合研究センター、免疫記憶研究グループ、グループディレクター

研究協力者：石川 文彦 理化学研究所 免疫・アレルギー科学 総合研究センター ヒト疾患モデル研究ユニット、ユニットリーダー

研究要旨：ヒト化免疫マウスの作成に向けて、アレルギーハイリスク母胎から出生した児の臍帯血単核細胞及びDNA、臍帯血漿のセット25検体を採取、保管した。ヒト化免疫マウスによるアレルギー疾患発症予防モデル作成の準備が整いつつある。

A. 研究目的

ヒト化マウスを用いたアレルギー疾患の原因の検討

アレルギー疾患の発症機序を明らかにする目的で、国立成育医療研究センター（以下NCCHD）でアレルギーハイリスク児の臍帯血を採取して理研免疫・アレルギー科学総合研究センター（以下RCAI）に保管する。臍帯血供与者のアレルギー発症の追跡調査を行い、RCAIでアレルギー発症が認められた児に由来する臍帯血細胞より造血幹細胞を精製しヒト化マウスを作製しアレルギー発症要因を解析する。これらの過程で得られた全ての情報は匿名化しデータベース化を図り、初期発症メカニズム（コホート）の解明を目指す。

B. 方法

（1）NCCHDでアレルギー疾患の家族歴をもつ妊婦より出生した児の臍帯血有核細胞をパ

ーコール法を用いて精製、凍結し、分離した細胞をRCAIで保存する。

（2）児の発症の最も大きなrisk factorである家族歴をNCCHDで調査し、出生した児に関して、アレルギー疾患発症の有無を追跡しアレルギー発症を確認する。

（3）RCAIで発症および非発症群に由来する有核細胞から臍帯血造血幹細胞をFACSを用いて精製し重篤な免疫不全マウスに移植し、マウスの環境下でヒト造血、免疫系が構築されたヒト化マウスを作製する。この技術は既に確立されている。発症および非発症群に由来する造血幹細胞で構築されたヒト化マウスを対象に、追跡調査で抽出されたアレルゲンでの感作、非感作群を設け、アレルギー反応とその制御に関する免疫細胞の動態およびアレルゲンに反応する抗体産生の動向を解析、比較評価し、アレルギー初期発症メカニズムを明らかにする。

C. 結果

ヒト化免疫マウスの作成に向けて、アレルギーハイリスク母胎から出生した児の臍帯血単核細胞及びDNA、臍帯血漿のセット25検体を採取、保管した。

D. 考察

皮膚バリア機能の異常がアトピー性皮膚炎の発症に関与する事が推察され、また初期バリア機能の異常に伴って誘発される免疫機能の異常が発症の促進を導く可能性が示唆されている。本研究において、アレルギー素因として働く内在性の免疫機能が外来性の刺激でどのように増幅されアレルギー発症を促進する免疫動態にシフトするかを検討する事が可能である。

E. 結論

ヒト化免疫マウスによるアレルギー疾患発症予防モデル作成の準備が整いつつある。

F. 研究発表

1. 論文発表

Fujimura T, Yonekura S, Horiguchi S, Taniguchi Y, Saito A, Yasueda H, Inamine A, Nakayama T, Takemori T, Taniguchi M, Sakaguchi M, Okamoto Y. Increase of regulatory T cells and the ratio of specific IgE to total IgE are candidates for response monitoring or prognostic biomarkers in 2-year sublingual immunotherapy (SLIT) for Japanese cedar pollinosis. Clin Immunol. 2011 Feb 5. [Epub ahead of print]

Fujimura T, Yonekura S, Taniguchi Y, Horiguchi S, Saito A, Yasueda H, Nakayama T, Takemori T, Taniguchi M, Sakaguchi M, Okamoto Y. The induced regulatory T cell level, defined as the proportion of IL-10⁺Foxp3⁺ cells among

CD25⁺CD4⁺ leukocytes, is a potential therapeutic biomarker for sublingual immunotherapy: a preliminary report. Int Arch Allergy Immunol. 2010;153(4):378-87.

Kishi Y, Aiba Y, Higuchi T, Furukawa K, Tokuhisa T, Takemori T, Tsubata T. Augmented antibody response with premature germinal center regression in CD40L transgenic mice. J Immunol. 2010;185:211-219.

Saito Y, Uchida N, Tanaka S, Suzuki N, Tomizawa-Murasawa M, Sone A, Najima Y, Takagi S, Aoki Y, Wake A, Taniguchi S, Shultz LD, Ishikawa F. Induction of cell cycle entry eliminates human leukemia stem cells in a mouse model of AML. Nat Biotechnol. 2010;28:275-280.

Shultz LD, Saito Y, Najima Y, Tanaka S, Ochi T, Tomizawa M, Doi T, Sone A, Suzuki N, Fujiwara H, Yasukawa M, Ishikawa F. Generation of functional human T-cell subsets with HLA-restricted immune responses in HLA class I expressing NOD/SCID/IL2r gamma(null) humanized mice. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010; 107: 13022-13027.

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

WO2004/110139 ヒト由来免疫担当細胞の製造方法

特許公開 2010-110254 共通サイトカイン受容体γ鎖遺伝子ノックアウトブタ

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表 平成 22 年度(2010)

<雑誌>

研究代表者：斎藤博久、分担研究者：松本健治、大矢幸弘

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻号 | ページ | 出版年 |
|--|--|------------------------|-----|-----------|------|
| Fukuie T, Nomura I, Horimukai K, Futamura M, Narita M, Ohzeki T, Matsumoto K, Saito H, Ohya Y. | Proactive treatment appears to decrease serum IgE levels in patients with severe atopic dermatitis. | Br J Dermatol | 163 | 1127-1129 | 2010 |
| Nomura I, Morita H, Hosokawa S, Hoshina H, Fukuie T, Watanabe M, Ohtsuka Y, Shoda T, Terada A, Takamasu T, Arai K, Ito Y, Ohya Y, Saito H, Matsumoto K | Four distinct subtypes of non-ige-mediated gastrointestinal food allergies in neonates and infants, distinguished by their initial symptoms. | J Allergy Clin Immunol | 127 | 685-688. | 2011 |

分担研究者：片山一朗

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻号 | ページ | 出版年 |
|---|--|--------------------------|-----|---------|------|
| Murota H, Kitaba S, Tani M, Wataya-Kaneda M, Azukizawa H, Tanemura A, Umegaki N, Terao M, Kotobuki Y, Katayama I. | Impact of Sedative and Non-Sedative Antihistamines on the Impaired Productivity and Quality of Life in Patients with Pruritic Skin Diseases. | Allergol Int | 59 | 345-354 | 2010 |
| Murota H, El-latif MA, Tamura T, Amano T, Katayama I. | Olopatadine hydrochloride improves dermatitis score and inhibits scratch behavior in NC/Nga mice. | Int Arch Allergy Immunol | 153 | 121-132 | 2010 |
| Murota H, Kitaba S, Tani M, Wataya-Kaneda M, Katayama I. | Effects of nonsedative antihistamines on productivity of patients with pruritic skin diseases. | Allergy | 65 | 929-930 | 2010 |