

アトピー性皮膚炎寛解維持のための proactive 療法

アトピー性皮膚炎の寛解維持のために、最近、保湿外用薬のみでなく週に2~3回タクロリムス軟膏を外用することで症状の再燃を抑える proactive 療法が提唱されている。

Wollenberg ら⁹⁾は、1日2回6週間タクロリムス軟膏を外用し良好なコントロールが得られた成人アトピー性皮膚炎患者を、寛解維持療法として週2回タクロリムス軟膏を外用する proactive therapy 群(116例)と、基剤のみを外用する reactive therapy 群(108例)にランダムに分け、皮疹の再燃について検討した。いずれの群も再燃時にはタクロリムス軟膏を1日2回外用し、軽快すれば元の寛解維持療法を行い、12か月間観察した。その結果、proactive therapy 群では66例(56.9%)で12か月間再燃がなく、この割合は reactive therapy 群の32例(29.6%)と比較し有意に高かった。また再燃により治療に要した日数も、proactive therapy 群で12.4日、reactive therapy 群で31.5日と有意に短かった。さらに初回の再燃までの日数においても、reactive therapy 群が15日であったのに対して proactive therapy 群では142日と有意に長かった。

保湿外用薬併用による ステロイド外用薬の使用量への影響

小児のアトピー性皮膚炎患者を対象とし、ステロイド外用薬に保湿外用薬を併用することでステロイド外用薬の必要量を減少させられることが報告されている。

Grimalt ら¹⁰⁾は、12か月齢以下の中等症~重症のアトピー性皮膚炎患児173例を対象に、ステロイド外用薬と保湿外用薬(Exomega[®])を併用する群と、ステロイド外用薬のみで保湿外用薬を併用しないコントロール群に振り分けるランダム化試験を行い、6週間後までのステロイド外用薬使用量を検討した。治療開始後3週間のステロイド外

用薬(high potency corticosteroids (Locatop[®]))使用量は、保湿外用薬を併用した群ではステロイド外用薬単独群より45.2%少なく、6週間では41.8%少なかった。また治療3週目に中等度~高度の乾燥症状を呈した患者数も、ステロイド外用薬単独群より保湿外用薬併用群のほうが有意に少なかった。すなわちステロイド外用薬に保湿外用薬を併用することでステロイド外用薬の必要量を減少させ、さらに皮膚の乾燥症状の軽減においてもより有効であることが示された。

2008年のMsika らの検討¹¹⁾では、4~48か月齢の軽症~中等症のアトピー性皮膚炎患者86例を対象に、隔日1回~1日2回のステロイド外用薬(Tridesonit[®] desonide 0.05%)と、1日2回の保湿外用薬(2% sunflower oil oleodistillate cream, STELATOPIA[®])塗布を組み合わせ、保湿外用薬併用の効果を検討している。3週間の治療期間で、1日2回ステロイド外用薬のみ外用した群と、2日に1回のステロイド外用薬に1日2回の保湿外用薬を併用した群では、治療開始1週間後および3週間後のSCORAD index がいずれも有意に改善し、両群間でほぼ同等の効果が得られることが示された。

この検討により、急性期の治療期間中でも、ステロイド外用薬に保湿外用薬を併用することでステロイド外用薬の量を大きく減ぜられる可能性が示された。なお以上の2つの検討¹⁰⁾¹¹⁾は小児を対象として行われたが、日本皮膚科学会のアトピー性皮膚炎診療ガイドライン¹²⁾では「乳幼児、小児では原則として皮疹の重症度が重症あるいは中等症では成人で使用しているステロイドのランクより1ランク低いステロイド外用薬を使用する」とあり、小児アトピー性皮膚炎におけるステロイド外用薬の副作用への注意を喚起している。そのため、保湿外用薬の併用が小児アトピー性皮膚炎におけるステロイド外用薬の使用量を減少させられるエビデンスが示されたことの意義は大きいと考えられる。

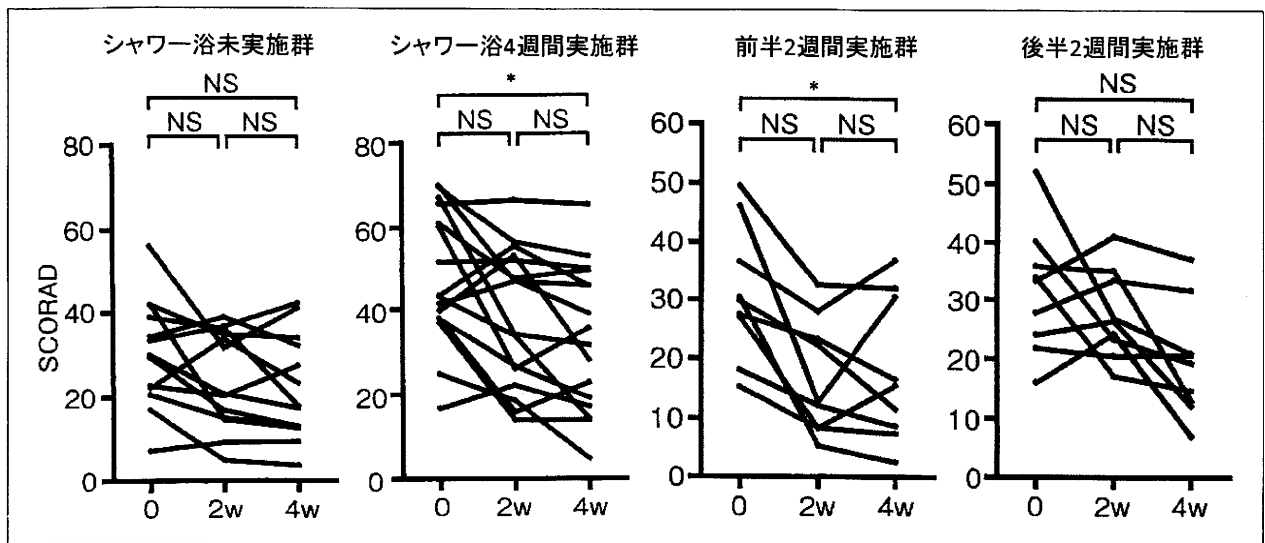


図 1. アトピー性皮膚炎におけるシャワー浴の効果—SCORAD—

シャワー浴 4 週間実施群, 前半 2 週間実施群において実施前に比較し SCORAD score の有意な改善がみられた. * $p < 0.05$, NS : not significant

入浴, シャワー浴の効果

スキンケアにおいて, 皮膚を清潔に保つことは保湿とともに重要であるが, その効果を検討した報告は非常に少ない.

2003 年望月¹³⁾は, 小学生のアトピー性皮膚炎患児を対象に学校でのシャワー浴の有用性を検討している. 彼らは 5 月から 8 週間, 微温水による全身のシャワー浴を実施し, 保護者または養護教諭による皮膚症状の評価を行った. シャワー浴が遂行できた 14 例と遂行できなかった (8 週間の間に 2 回以下のシャワー浴しかできなかった) 6 例を比較したところ, シャワー浴群ではシャワー浴開始後 8 週目で症状スコアの有意な改善がみられた.

亀好¹⁴⁾は, 小学校 1 年生から中学校 2 年生までの中等症以上のアトピー性皮膚炎患児 58 名を対象とし, 学校でのシャワー浴の効果を検討した. 彼らはシャワー浴非実施群, シャワー浴 4 週間実施群, 前半または後半の 2 週間のみシャワー浴実施群に割り付け, 9 月始めの開始時, 2 週間後, 9 月末ないし 10 月始めの 4 週間後の時点で皮膚科医により評価を行った. その結果, 4 週間後にはシャワー浴を 4 週間実施した群と前半 2 週間にシャワー浴を実施した群に開始時と比較して SCORAD 値の有意な改善がみられた (図 1). また重症度別には重症以上の群で効果が明らかで

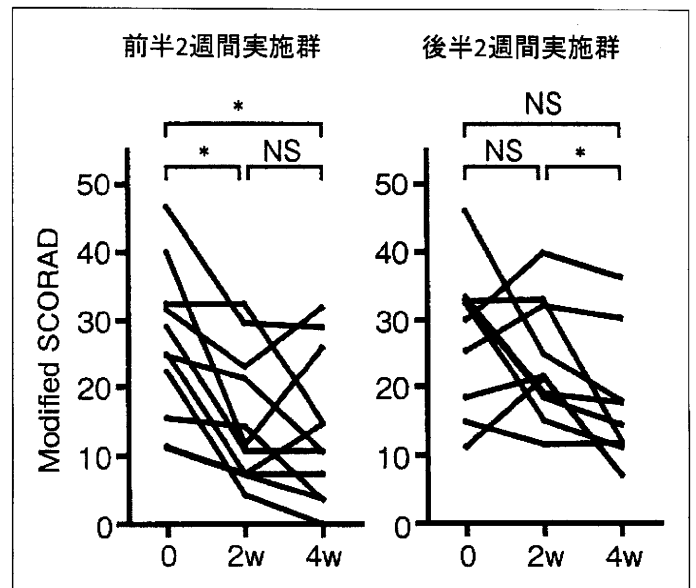


図 2. アトピー性皮膚炎におけるシャワー浴の効果—modified SCORAD—

2 週間のみシャワー浴を行った 2 群で modified SCORAD を検討した. いずれもシャワー浴を実施した 2 週間の前後で有意な改善がみられたが, 開始時と比較し 4 週間後に有意な改善がみられたのは前半 2 週間実施群であった. * $p < 0.05$, NS : not significant

あった. さらに 2 週間後の変化に注目すると, 高温多湿で運動会の練習時期と重なった前半 2 週間 (9 月前半) のシャワー浴で modified SCORAD (SCORAD から自覚症状を除いたスコア) で有意な改善が認められた (図 2). これらの結果から, アトピー性皮膚炎における日中のシャワー浴の有効性が示され, 特に症状が重症以上で, 気温が高

く、運動会の練習などで汗をかくことの多い9月前半までのシャワー浴により高い効果が得られることが示された。

アトピー性皮膚炎の治療では、適切な保湿外用薬の使用のほか、シャワー浴などにより汗や埃を除去し、皮膚を清潔に保つことの重要性は広く認識されていたが、近年、学校でのシャワー浴の効果について、初めて2つのエビデンスが報告された。特に、汗をかきやすい時期に重症のアトピー性皮膚炎患児がシャワー浴を行った結果¹⁴⁾は、専門医により評価されており、意義が高いと考えられる。

おわりに

アトピー性皮膚炎に対するスキンケアの有効性については、現在継続してエビデンスが蓄積されつつある。特に近年、アトピー性皮膚炎の寛解を維持するための保湿外用薬の役割や、ステロイド外用薬、タクロリムス軟膏で治療を行う際の保湿外用薬の併用効果についてのエビデンスが報告されている。今後さらに具体的で細かな外用の方法や量などについての検討が期待される。

また入浴、シャワー浴などの日常生活におけるセルフケアについても、これからさらに高いレベルのエビデンスの蓄積が必要であろう。

文 献

- 1) Chiang C, Eichenfield LF : Quantitative assessment of combination bathing and moisturizing regimens on skin hydration in atopic dermatitis. *Pediatr Dermatol*, **26** : 273-278, 2009.
- 2) Loden M, Andersson AC, Andersson C et al : Instrumental and dermatologist evaluation of the effect of glycerine and urea on dry skin in atopic dermatitis. *Skin Res Technol*, **7** : 209-213, 2001.
- 3) 川島 眞, 沼野香世子, 石崎千明 : アトピー性皮膚炎患者の皮膚生理学的機能異常に対する保湿剤の有用性. *日皮会誌*, **117** : 969-977, 2007.
- 4) Berth-Jones J, Damstra RJ, Golsch S et al : Twice weekly fluticasone propionate added to emollient maintenance treatment to reduce risk of relapse in atopic dermatitis : randomised, double blind, parallel group study. *BMJ*, **326** : 1367-1372, 2003.
- 5) Peserico A, Städtler G, Sebastian M et al : Reduction of relapses of atopic dermatitis with methylprednisolone aceponate cream twice weekly in addition to maintenance treatment with emollient : a multicentre, randomized, double-blind, controlled study. *Br J Dermatol*, **158** : 801-807, 2008.
- 6) Szczepanowska J, Reich A, Szepietowski LC : Emollients improve treatment results with topical corticosteroids in childhood atopic dermatitis : a randomized comparative study. *Pediatr Allergy Immunol*, **19** : 614-618, 2008.
- 7) Wirén K, Nohlgård C, Nyberg F et al : Treatment with a barrier-strengthening moisturizing cream delays relapse of atopic dermatitis : a prospective and randomized controlled clinical trial. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, **23** : 1267-1272, 2009.
- 8) 川島 眞, 林 伸和, 乃木田俊辰ほか : アトピー性皮膚炎の寛解維持における保湿剤の有用性の検討. *日皮会誌*, **117** : 1139-1145, 2007.
- 9) Wollenberg A, Reitamo S, Girolomoni G et al : Proactive treatment of atopic dermatitis in adults with 0.1% tacrolimus ointment. *Allergy*, **63** : 742-750, 2008.
- 10) Grimalt R, Mengeaud V, Cambazard F : Study Investigators' Group : The steroid-sparing effect of an emollient therapy in infants with atopic dermatitis : a randomized controlled study. *Dermatology*, **214** : 61-67, 2007.
- 11) Msika P, De Belilovsky C, Piccardi N et al : New emollient with topical corticosteroid-sparing effect in treatment of childhood atopic dermatitis : SCORAD and quality of life improvement. *Pediatr Dermatol*, **25** : 606-612, 2008.
- 12) 日本皮膚科学会アトピー性皮膚炎診療ガイドライン作成委員会 : アトピー性皮膚炎診療ガイドライン. *日皮会誌*, **119** : 1515-1534, 2009.
- 13) 望月博之, 滝沢琢己, 荒川浩一ほか : アトピー性皮膚炎に対する小学校でのシャワー浴の有用性. *日本小児科学会雑誌*, **107** : 1342-1346, 2003.
- 14) 亀好良一, 望月 満, 高路 修ほか : アトピー性皮膚炎に対する学校でのシャワー浴の効果. *アレルギー*, **57** : 130-137, 2008.

Fucoidan suppresses IgE production in peripheral blood mononuclear cells from patients with atopic dermatitis

Kazumasa Iwamoto · Takaaki Hiragun · Shunsuke Takahagi ·
Yuhki Yanase · Satoshi Morioko · Shoji Mihara ·
Yoshikazu Kameyoshi · Michihiro Hide

Received: 31 August 2010 / Revised: 2 December 2010 / Accepted: 7 December 2010
© Springer-Verlag 2010

Abstract We previously reported that fucoidan, a dietary fiber purified from seaweed, inhibited IgE production in B cells from mice spleen in vitro and ovalbumin-sensitized mice in vivo. In this study, we examined the effect of fucoidan on IgE production in human peripheral blood mononuclear cells (PBMC) in vitro. PBMC, obtained from healthy donors or patients with atopic dermatitis (AD) with high levels of serum IgE, were cultured with IL-4 and anti-CD40 antibody in the presence or absence of fucoidan. Fucoidan significantly reduced IgE production in PBMC without affecting cell proliferation and IFN- γ production. Fucoidan also inhibited immunoglobulin germline transcripts of B cells in PBMC, and decreased the number of IgE-secreting cells. The inhibitory effects of fucoidan were similarly observed for both PBMC from patients with AD and those with healthy donors. Our findings indicate that fucoidan suppresses IgE induction by inhibiting immunoglobulin class-switching to IgE in human B cells, even after the onset of AD.

Keywords Fucoidan · IgE · Atopic dermatitis · Peripheral blood mononuclear cells · B cells · C ϵ germline transcript

K. Iwamoto · T. Hiragun · S. Takahagi · Y. Yanase ·
S. Morioko · S. Mihara · Y. Kameyoshi · M. Hide (✉)
Division of Molecular Medical Science,
Department of Dermatology,
Graduate School of Biomedical Sciences,
Hiroshima University, 1-2-3 Kasumi,
Minami-ku, Hiroshima 734-8551, Japan
e-mail: ed1h-w1de-road@hiroshima-u.ac.jp

T. Hiragun
Natural Science Center for Basic Research and Development,
Hiroshima University, Hiroshima, Japan

Abbreviations

PBMC	Peripheral blood mononuclear cells
AD	Atopic dermatitis
Fc ϵ RI	High affinity IgE receptor
mAb	Monoclonal antibody
OVA	Ovalbumin
RT-PCR	Reverse transcription-polymerase chain reaction
GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

Introduction

IgE plays a critical role in immediate hypersensitivity reactions by binding to the high-affinity IgE receptor (Fc ϵ RI) expressed on mast cells and basophils. The antigen-specific IgE on Fc ϵ RI on mast cells and basophils induces the release of inflammatory mediators, including histamine, arachidonic acid metabolites, and cytokines in response to the binding of multivalent antigens, which subsequently crosslink the Fc ϵ RI and contributes to the development of allergic diseases, such as atopic dermatitis (AD), asthma, and allergic rhinitis [6, 13]. Moreover, recent studies have shown that the binding of IgE itself on Fc ϵ RI without antigen may stimulate mast cells and induce the release of such substances [8, 14]. Clinically, levels of serum IgE in approximately 80% of patients with AD are elevated [10] and correlated with the severity of cutaneous lesions of AD [4]. It is also reported that AD skin contains an increased number of IgE-bearing Langerhans cells expressing Fc ϵ RI [21], and allergens are efficiently taken up, processed and presented to T cells via IgE bound to Fc ϵ RI [11]. Moreover, epidermal Langerhans cells

activated via FcεRI induce the expression of IL-16, a chemoattractant for CD4⁺ T cells and eosinophils, and consequently leads to inflammation in AD [17]. Recently, a recombinant humanized anti-IgE monoclonal antibody (mAb), omalizumab, which competes with FcεRI for the binding of IgE and reduces the level of circulating IgE, has been shown to be effective in the treatment of severe asthma [3]. More recently, the effect of omalizumab has also been shown in the treatment of a few cases of AD [22, 23]. However, an enormous amount of, i.e., very expensive, mAb is required to remove IgE from patients with AD, since the level of serum IgE in many patients with AD is tens or hundreds times higher than those with asthma or allergic rhinitis. Therefore, the inhibition of IgE production should be a promising and important modality in the treatment of patients with allergic disease, especially those with AD.

Fucoidan, a dietary fiber purified from seaweed, is composed of a polymer of α1 → 3-linked L-fucose with sulfate groups at the four positions on some of the fucose residues [15]. We previously reported that fucoidan has an inhibitory effect on IgE production through preventing NF-κB p52-mediated pathways in murine B cells isolated from spleen in vitro [12], and that peritoneal injection of fucoidan suppresses the increase of total and ovalbumin (OVA)-specific IgE in mouse plasma induced by OVA-sensitization in vivo [25]. However, we also observed that once cells completed immunoglobulin class-switching for IgE, IgE production of B cells was no longer affected by fucoidan. Therefore, from a clinical point of view, it is crucial to check whether fucoidan inhibits IgE production by B cells in patients with AD, especially those with hyper IgE.

In this study, we investigated whether fucoidan inhibits the production of IgE induced by IL-4 and CD-40 antibody in human peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from healthy donors and AD patients with high levels of serum IgE. Moreover, we studied the number of IgE-secreting cells and the expressions of Cε germline transcript in B cells purified from PBMC to study the effect of fucoidan on B cell differentiation and immunoglobulin class-switch recombination to IgE, by ELISpot and real-time quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR), respectively.

Materials and methods

Healthy donors and patients with AD

PBMC were obtained from 16 healthy donors (7 men and 9 women, age 31.5 ± 5.4 years, mean \pm SEM) and 18 patients with AD (9 men and 9 women, age

25.9 ± 5.5 years), diagnosed according to the diagnostic criteria for AD set by the Japanese dermatological association [19]. Levels of total serum IgE in patients with AD (2376 ± 643 ng/ml) were significantly higher than those of healthy donors (188 ± 53 ng/ml) with *p*-value <0.01 tested by Mann–Whitney *U* test. This study was carried out in accordance with the Guidelines stated in the Declaration of Helsinki and was approved by the Ethical Committee of Hiroshima University Graduate School of Medicine. Written informed consent for participation was obtained from all participants.

Preparation and culture of PBMC

PBMC were obtained by means of density gradient centrifugation with Leucosep tubes (Greiner Bio-one, Frickenhausen, Germany) according to the manufacturers' protocol. PBMC were distributed into a 24-well cell culture plate at 2×10^6 cells/0.5 ml per well in RPMI 1640 (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) containing 10% heat-inactivated fetal bovine serum (Invitrogen), penicillin G (10 IU/ml, Invitrogen), and streptomycin (100 μg/ml, Invitrogen). For the secretion of IgE, PBMC were stimulated with 100 ng/ml of human recombinant interleukin-4 (IL-4) (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) and 20 μg/ml of anti-CD40 antibody (R&D) and incubated for the indicated periods at 37°C in a humidified atmosphere containing 5% CO₂ in the presence or absence of fucoidan.

Cell proliferation assay

Cell proliferation was measured using CellTiter 96 Aqueous One Solution Proliferation Assay Kit (Promega, Madison, WI, USA) according to the manufacturers' protocol. It is based on the cellular conversion of a tetrazolium salt into a soluble formazan product as a measure of proliferation. In brief, 4×10^5 PBMC were plated in each well of a 96-well cell culture plate with IL-4 and anti-CD40 antibody in the presence or absence of 100 μg/ml of fucoidan. After incubation for 3 days, the Aqueous One solution reagent was added and incubated for 4 h. The intensity of the color was measured at 490 nm using a 96-well plate reader.

Measurement of IgE, IgG, IFN-γ and IL-13

The amounts of secreted IgE, IgG, IgG1, IgG2, IFN-γ and IL-13 in the culture supernatants of PBMC after incubation for indicated periods were measured by using Human IgE Quantitative ELISA kit (Bethyl Laboratories, Montgomery, TX, USA), Human IgG Quantitative ELISA kit (Bethyl Laboratories), Human IgG subclass ELISA kit (Invitrogen), Quantikine Human IFN-γ (R&D) and Quantikine

Human IL-13 (R&D) respectively, according to the manufacturers' protocols.

ELISpot assay

The number of IgE-secreting plasma cells was determined using Human IgE ELISpot Plus kit (Mabtech AB, Nacka Strand, Sweden) following the manufacturers' instruction. In brief, after pre-incubation with IL-4 and anti-CD40 antibody for 5 days, PBMC were washed to ensure the removal of secreted IgE and dispensed into the ELISpot 96-plate at 1×10^5 cells per well. After incubation for 20 h, IgE, released from B cells and captured on the bottom membrane, was stained with biotinylated anti-human IgE antibody, Streptavidin-ALP, and BCIP/NBT substrate. The number of spots was counted manually under a stereomicroscope.

Measurement of $C\epsilon$, $C\gamma 1$, $C\gamma 2$ germline transcripts and IgE mRNA by real-time quantitative RT-PCR in isolated B cells

PBMC were stimulated with IL-4 and anti-CD40 antibody for 4 or 12 days, and then B cells were isolated from PBMC by auto-MACS and B cell Isolation Kit II (Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany) according to the manufacturers' instruction. B cells were negatively selected and the purity of CD19-positive cells was confirmed as >97% by FACS analysis. The purified B cells were subjected to the detection of $C\epsilon$, $C\gamma 1$, $C\gamma 2$ germline transcripts and IgE mRNA. Total RNA was extracted from purified B cells by means of RNA Mini Kit (Qiagen, Tokyo, Japan), and then cDNA was generated with QuantiTect Reverse Transcription kit (Qiagen). Real-time quantitative RT-PCR was performed with the Power SYBR Green PCR Master Mix and the ABI 7300 Real-time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). The specific primers for the amplification of $C\epsilon$, $C\gamma 1$, $C\gamma 2$ germline transcripts, IgE mRNA, and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) were designed referring to previous reports [5, 9]. The expression of GAPDH was measured as an internal control for the calibration of the gene expression.

Results

Fucoidan does not show cytotoxicity in human PBMC

We first examined whether fucoidan has a cytotoxic effect on human PBMC or not. As shown in Fig. 1, the amount of formazan products, which correlates with cell proliferation, was not suppressed, but rather enhanced especially in the culture of PBMC from patients with AD by the treatment with fucoidan.

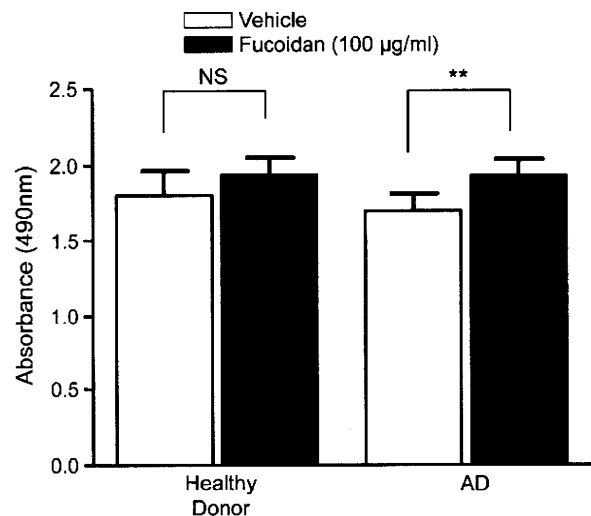


Fig. 1 Fucoidan exhibits no cytotoxicity in human PBMC. Human PBMC were cultured with IL-4 (100 ng/ml) and anti-CD40 antibody (20 µg/ml) for 3 days and then mixed with tetrazolium salt solution. The absorbance of soluble formazan products were measured at 490 nm. Data are mean \pm SEM of 6 healthy donors and 11 patients with AD. ** $p < 0.01$; significantly different from control by paired t test. NS not significant

Time course and dose response of the inhibitory effect of fucoidan on IgE production

To investigate the role of fucoidan in the modulation of IgE production, PBMC were cultured with 100 µg/ml of fucoidan for 4, 7 or 12 days, or with various concentrations of fucoidan (0, 10, 100 and 200 µg/ml) for 12 days. In both PBMC of healthy donors and those of patients with AD, fucoidan prevented the increase of IgE production in a time- and dose-dependent manner (Fig. 2). Subsequent experiments for IgE production were performed with 12 days' incubation in the absence or presence of 100 µg/ml fucoidan.

Fucoidan suppresses IgE production of human PBMC stimulated with IL-4 and anti-CD40 antibody

Fucoidan significantly suppressed the increase of IgE production in either PBMC of healthy donors or those of patients with AD stimulated with IL-4 and anti-CD40 antibody (Fig. 3a). Fucoidan also suppressed the expression of IgE mRNA in PBMC from both groups on day 12 (Fig. 3b). There was no significant difference between healthy donors and AD patients in the production of IgE. Spontaneous release of IgE in PBMC without stimuli of IL-4 and anti-CD40 antibody was less than detection limit (10 ng/ml) of the assay regardless of the presence of fucoidan. Total IgG and IgG subclass were also suppressed by fucoidan (Fig. 4a, b).

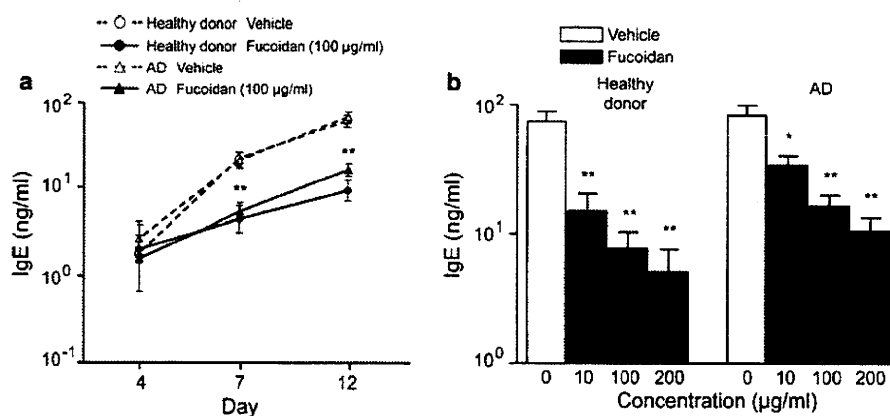


Fig. 2 Fucoidan prevents the increase of IgE production in a time- and dose-dependent manner. Human PBMC are cultured with IL-4 (100 ng/ml) and anti-CD40 antibody (20 µg/ml). The amounts of IgE in culture supernatants were measured by sandwich ELISA for human IgE. Data are mean \pm SEM of six healthy donors and six patients with AD, being normalized by logarithmic transformation. The

statistical difference was determined by paired *t* test. ***p* < 0.01, **p* < 0.05; significantly different from control. **a** Human PBMC were cultured with 100 µg/ml of fucoidan for 4, 7 or 12 days. **b** Human PBMC were cultured with various concentrations of fucoidan (0, 10, 100 and 200 µg/ml) for 12 days

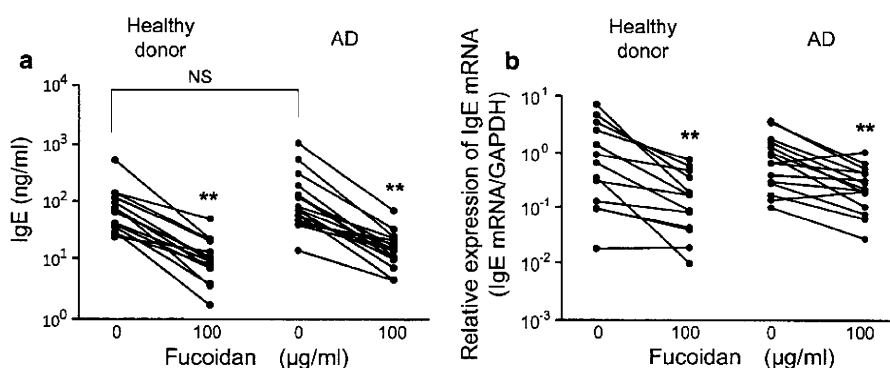


Fig. 3 Fucoidan suppresses the production of IgE in human PBMC at levels of protein and mRNA. Human PBMC were cultured with IL-4 (100 ng/ml) and anti-CD40 antibody (20 µg/ml) for 12 days. Data are logarithmically transformed for the statistical analysis. **a** The amounts of IgE in culture supernatants from 16 healthy donors and 18 patients with AD were measured by sandwich ELISA for human IgE. **b** B cells

were isolated from the cultured PBMC by using magnetic cell separation. The expression of IgE mRNA from 13 healthy donors and 15 patients with AD was measured by using real-time quantitative RT-PCR. ***p* < 0.01; significantly different from control by paired *t* test. NS not significant by Student's *t* test

Fucoidan does not alter the production of IFN- γ but enhances the production of IL-13 from human PBMC

Since IFN- γ plays a key role to inhibit the development of T_H2 cells which promote IgE production, we measured the amount of IFN- γ in culture supernatants after the incubation of human PBMC in the presence and the absence of fucoidan for 12 days. As shown in Fig. 5a, the production of IFN- γ was not affected by the treatment with fucoidan both in PBMC of healthy donors and in those of patients with AD. On the other hand, the production of IL-13, a T_H2 cytokine with functional similarity to IL-4, was

significantly enhanced by the treatment with fucoidan in either PBMC of healthy donors or those of patients with AD (Fig. 5b).

Fucoidan suppresses the increase of IgE-secreting cells

To examine whether fucoidan inhibits the differentiation of B cells to IgE secreting phenotype, we performed ELISpot assay targeted against IgE. Spots on the bottom membranes indicate the number of IgE-secreting B cells (see the "Materials and methods"). Fucoidan significantly suppressed both the increase of IgE-secreting cells from healthy donors and those from patients with AD (Fig. 6a).

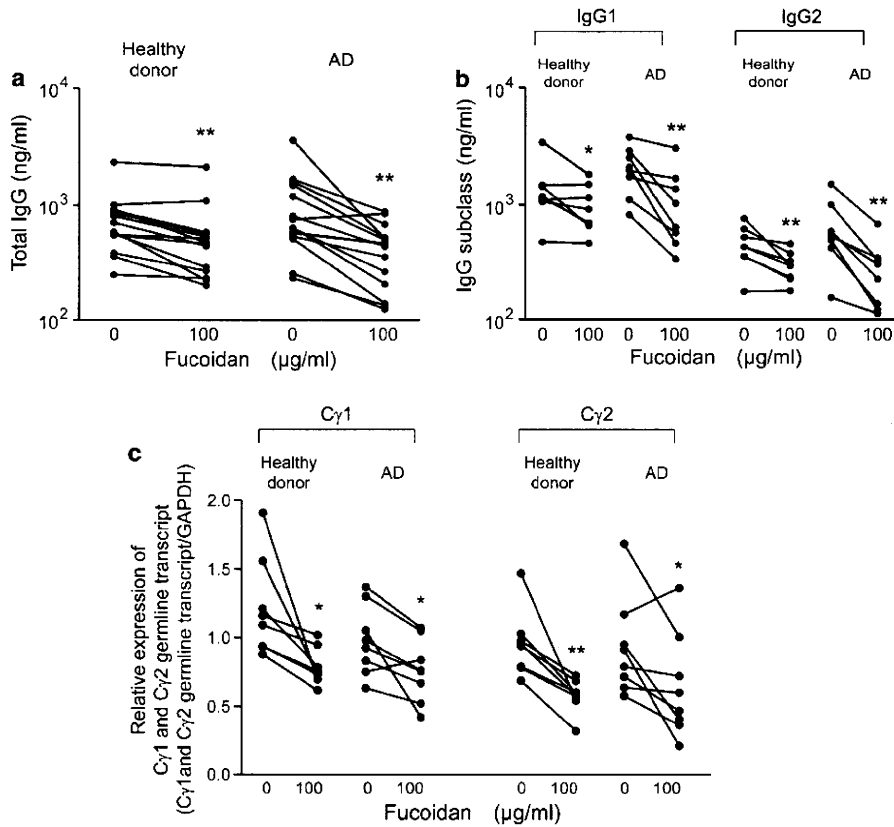


Fig. 4 Fucoidan suppresses the production of total and subclass IgG in human PBMC. Human PBMC were cultured with IL-4 (100 ng/ml) and anti-CD40 antibody (20 μg/ml) for 12 days. The data of total and subclass IgG productions are normalized by logarithmic transformation. The statistical difference was determined by paired *t* test. ***p* < 0.01, **p* < 0.05; significantly different from control. **a** The amounts of total IgG in culture supernatants from 14 healthy donors and 15 patients with AD were measured by sandwich ELISA for

human IgG. **b** The amounts of IgG1 and IgG2 in the culture supernatants from eight healthy donors and eight patients with AD were measured by sandwich ELISA for subclasses of human IgG. **c** B cells were isolated from PBMC, which were cultured for 4 days, by using magnetic cell separation. Levels of Cγ1 and Cγ2 germline transcripts from eight healthy donors and eight patients with AD were measured by using real-time quantitative RT-PCR

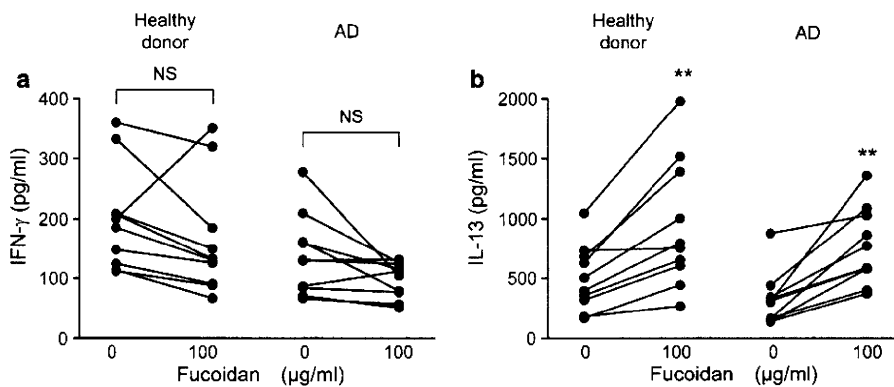


Fig. 5 Fucoidan does not enhance the production of IFN-γ but increase the production of IL-13 in human PBMC. Human PBMC from ten healthy donors and ten patients with AD were cultured with IL-4 (100 ng/ml) and anti-CD40 antibody (20 μg/ml) for 12 days.

a The amounts of IFN-γ in supernatants were measured by ELISA. **b** The amounts of IL-13 in supernatants were measured by ELISA. NS not significant from control by paired *t* test. ***p* < 0.01; significantly different from control by paired *t* test

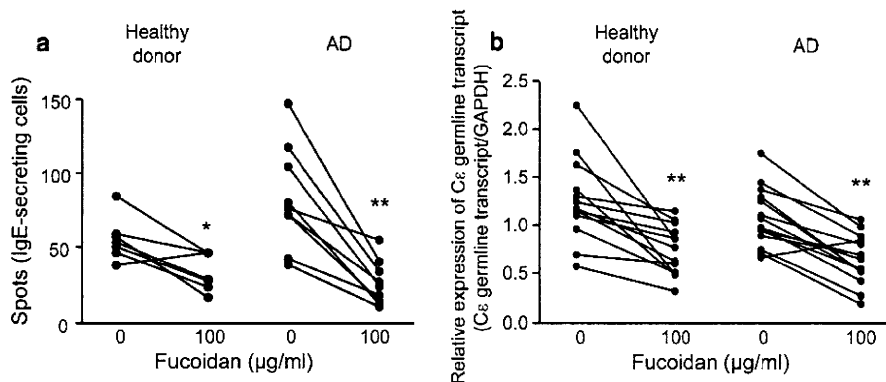


Fig. 6 Fucoidan suppresses class-switch recombination to IgE in human B cells. Human PBMC were cultured with IL-4 (100 ng/ml) and anti-CD40 antibody (20 μg/ml). **a** The number of IgE-secreting B cells from seven healthy donors and nine patients with AD was determined by means of ELISpot after the incubation for 5 days.

b B cells were isolated from PBMC, which were cultured for 4 days, by using magnetic cell separation. Levels of Cε germline transcript from 13 healthy donors and 15 patients with AD were measured by using real-time quantitative RT-PCR. ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$; significantly different from control by paired *t* test

Fucoidan suppresses the immunoglobulin class-switch recombination in purified human B cells

To study the effect of fucoidan on class-switch recombination to IgE, we purified B cells from PBMC incubated for 4 days with IL-4 and anti-CD40 antibody, and measured the expressions of Cε germline transcript with real-time quantitative RT-PCR. Fucoidan suppressed the induction of Cε germline transcript in the purified B cells from healthy donors and those from patients with AD (Fig. 6b). Cγ1 and Cγ2 germline transcripts were also suppressed by the treatment with fucoidan (Fig. 4c).

Discussion

In this study, we demonstrated that fucoidan, a sulfate polysaccharide contained in seaweed, inhibited IgE production in human PBMC induced by IL-4 and anti-CD40 antibody. Fucoidan also inhibited the Cε germline transcript in B cells and decreased the number of IgE-secreting cells. The effects of fucoidan were similarly observed in PBMC from patients with AD and high serum IgE, and in those from healthy donors.

IgE synthesis is predominantly regulated by the balance of T_H1 and T_H2 cytokines. Namely, IL-4 or IL-13 induces the expression of Cε germline transcript and subsequently up regulates class-switch recombination to IgE in B cells in concert with CD40 ligand [7]. Conversely, IFN-γ suppresses the development of T_H2 cells and the production of IL-4, leading to the inhibition of IgE production. Fucoidan did not alter the production of IFN-γ and enhanced the production of IL-13; therefore, fucoidan could inhibit IgE production even under the condition that PBMC were

stimulated by sufficient Th2 cytokines. Moreover, fucoidan also suppressed the increase of total IgG, but did not show cytotoxicity in the culture of human PBMC. These results suggest that fucoidan inhibits immunoglobulin class-switching in B cells as observed in the culture of mouse splenocytes and B cells. Identification of a molecular target for fucoidan on B cells or possibly on other cells in PBMC should be a subject for further studies. We confirmed that several ligands for scavenger receptors suppressed IgE production by murine spleen cells (data not shown). Since fucoidan binds to several scavenger receptors [16], the effect of fucoidan observed in this study may be related to the activation of such scavenger receptors.

We previously have demonstrated that fucoidan inhibits NF-κB p52-mediated pathway in murine B cells, but the direct target on human B cells is still not clear. In this study, we stimulated and cultured B cells in human PBMC, because we could not detect a sufficient amount of IgE by ELISA in the supernatants of purified human B cells even in those cultured with IL-4 and anti-CD40 antibody (data not shown). Therefore, we cannot exclude a possibility of an indirect effect of fucoidan on B cells through other type cells in PBMC. In fact, Avery et al. [1] have reported that IgE production of human B cells induced by IL-4 and anti-CD40 antibody was enhanced in the presence of IL-21.

We have also reported that the effect of fucoidan was not observed if B cells were pre-stimulated with IL-4 and anti-CD40 antibody in vitro [12], or mice were sensitized by OVA in vivo [25] before the administration of fucoidan. These observations suggest that fucoidan may not prevent a further increase of IgE in patients who have already developed allergic diseases and high levels of serum IgE. However, we demonstrated that new induction of IgE in PBMC of patients with AD is effectively suppressed in the

presence of fucoidan by inhibiting immunoglobulin class-switching in B cells in peripheral blood.

For the treatment of IgE-mediated diseases, such as asthma, allergic rhinitis and atopic dermatitis, several modalities targeting IgE production have been tried. Among them, the administration of soluble IL-4R [20] and IFN- γ [2] to inhibit the development of T_H2 and promote T_H1 functions did not sufficiently block the increase of IgE. However, a recently developed humanized monoclonal antibody against CD23, the low-affinity receptor for IgE, blocks class-switch recombination to IgE, effectively inhibits IgE production from human PBMC [24] and showed efficacy in a Phase I clinical trial for the treatment of asthma [18]. Further studies of fucoidan focusing on appropriate modes of administration and more details of its molecular target may allow us to treat AD more easily by reducing new production of IgE by pre-differentiated B cells.

Acknowledgments We thank Ms Kazue Uchida and Ms Kaori Ishii for the expert technical assistances, and Dr Faiz Kermani for critical review of the manuscript.

References

- Avery DT, Ma CS, Bryant VL, Santner-Nanan B, Nanan R, Wong M, Fulcher DA, Cook MC, Tangye SG (2008) STAT3 is required for IL-21-induced secretion of IgE from human naive B cells. *Blood* 112:1784–1793
- Boguniewicz M, Jaffe HS, Izu A, Sullivan MJ, York D, Geha RS, Leung DY (1990) Recombinant gamma interferon in treatment of patients with atopic dermatitis and elevated IgE levels. *Am J Med* 88:365–370
- Busse W, Corren J, Lanier BQ, McAlary M, Fowler-Taylor A, Cioppa GD, van As A, Gupta N (2001) Omalizumab, anti-IgE recombinant humanized monoclonal antibody, for the treatment of severe allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 108:184–190
- Clendenning WE, Clack WE, Ogawa M, Ishizaka K (1973) Serum IgE studies in atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 61:233–236
- Coëffier M, Lorentz A, Manns MP, Bischoff SC (2005) Epsilon germ-line and IL-4 transcripts are expressed in human intestinal mucosa and enhanced in patients with food allergy. *Allergy* 60:822–827
- Galli SJ, Tsai M, Piliponsky AM (2008) The development of allergic inflammation. *Nature* 454:445–454
- Geha RS, Jabara HH, Brodeur SR (2003) The regulation of immunoglobulin E class-switch recombination. *Nat Rev Immunol* 3:721–732
- Kitaura J, Song J, Tsai M, Asai K, Maeda-Yamamoto M, Mocsai A, Kawakami Y, Liu FT, Lowell CA, Barisas BG, Galli SJ, Kawakami T (2003) Evidence that IgE molecules mediate a spectrum of effects on mast cell survival and activation via aggregation of the Fc ϵ RI. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:12911–12916
- Kriangkum J, Taylor BJ, Strachan E, Mant MJ, Reiman T, Belch AR, Pilarski LM (2006) Impaired class switch recombination (CSR) in Waldenstrom macroglobulinemia (WM) despite apparently normal CSR machinery. *Blood* 107:2920–2927
- Leung DY, Boguniewicz M, Howell MD, Nomura I, Hamid QA (2004) New insights into atopic dermatitis. *J Clin Invest* 113:651–657
- Maurer D, Stingl G (1995) Immunoglobulin E-binding structures on antigen-presenting cells present in skin and blood. *J Invest Dermatol* 104:707–710
- Oomizu S, Yanase Y, Suzuki H, Kameyoshi Y, Hide M (2006) Fucoidan prevents C ϵ germline transcription and NF κ B p52 translocation for IgE production in B cells. *Biochem Biophys Res Commun* 350:501–507
- Owen CE (2007) Immunoglobulin E: role in asthma and allergic disease: lessons from the clinic. *Pharmacol Ther* 113:121–133
- Pandey V, Mihara S, Fensome-Green A, Bolsover S, Cockcroft S (2004) Monomeric IgE stimulates NFAT translocation into the nucleus, a rise in cytosol Ca²⁺, degranulation, and membrane ruffling in the cultured rat basophilic leukemia-2H3 mast cell line. *J Immunol* 172:4048–4058
- Patankar MS, Oehninger S, Barnett T, Williams RL, Clark GF (1993) A revised structure for fucoidan may explain some of its biological activities. *J Biol Chem* 268:21770–21776
- Pearson AM (1996) Scavenger receptors in innate immunity. *Curr Opin Immunol* 8:20–28
- Reich K, Heine A, Hugo S, Blaschke V, Middel P, Kaser A, Tilg H, Blaschke S, Gutgesell C, Neumann C (2001) Engagement of the Fc epsilon RI stimulates the production of IL-16 in Langerhans cell-like dendritic cells. *J Immunol* 167:6321–6329
- Rosenwasser LJ, Busse WW, Lizambri RG, Olejnik TA, Totoritis MC (2003) Allergic asthma and an anti-CD23 mAb (IDEC-152): results of a phase I, single-dose, dose-escalating clinical trial. *J Allergy Clin Immunol* 112:563–570
- Saeki H, Furue M, Furukawa F, Hide M, Ohtsuki M, Katayama I, Sasaki R, Suto H, Takehara K (2009) Guidelines for management of atopic dermatitis. *J Dermatol* 36:563–577
- Sato TA, Widmer MB, Finkelman FD, Madani H, Jacobs CA, Grabstein KH, Maliszewski CR (1993) Recombinant soluble murine IL-4 receptor can inhibit or enhance IgE responses in vivo. *J Immunol* 150:2717–2723
- Semper AE, Heron K, Woollard AC, Kochan JP, Friedmann PS, Church MK, Reischl IG (2003) Surface expression of Fc epsilon RI on Langerhans' cells of clinically uninvolved skin is associated with disease activity in atopic dermatitis, allergic asthma, and rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 112:411–419
- Sheinkopf LE, Rafi AW, Do LT, Katz RM, Klaustermeyer WB (2008) Efficacy of omalizumab in the treatment of atopic dermatitis: a pilot study. *Allergy Asthma Proc* 29:530–537
- Vigo PG, Girgis KR, Pfuetze BL, Critchlow ME, Fisher J, Hussain I (2006) Efficacy of anti-IgE therapy in patients with atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 55:168–170
- Yabuuchi S, Nakamura T, Kloetzer WS, Reff ME (2002) Anti-CD23 monoclonal antibody inhibits germline Cepsilon transcription in B cells. *Int Immunopharmacol* 2:453–461
- Yanase Y, Hiragun T, Uchida K, Ishii K, Oomizu S, Suzuki H, Mihara S, Iwamoto K, Matsuo H, Onishi N, Kameyoshi Y, Hide M (2009) Peritoneal injection of fucoidan suppresses the increase of plasma IgE induced by OVA-sensitization. *Biochem Biophys Res Commun* 387:435–439

寛解維持期の指導で最も重要なポイントは「きれいな皮膚に保湿剤を塗ること」であり、これが皮疹の再燃予防には必須である。非ステロイド性抗炎症外用薬はアトピー性皮膚炎の治療効果が実証されていないばかりか、接触性皮膚炎を起こしやすいこともあり、使用するべきではない。

◆◆◆ 文 献 ◆◆◆

- 1) 上山一朗, 河野隆一監: アトピー性皮膚炎診療ガイドライン2009, 協和企画, 東京, 2009.
- 2) 古江輝隆, 他: 日皮会誌 119: 1515, 2009.
- 3) Ellis C, et al: Br J Dermatol 148 (Suppl 163): 3, 2003.
- 4) Long CC, et al: Clin Exp Dermatol 16: 444, 1991.
- 5) Long CC, et al: Br J Dermatol 138: 293, 1998.

【患者指導に使える資料(いずれも無料)】
 ①大矢幸弘監: ぜん息悪化予防のための小児アトピー性皮膚炎ハンドブック, 環境衛生保全機構, 2009.
 ②大矢幸弘: よくわかるアトピー性皮膚炎, MCクワイエント, 2008.

◆◆◆ 回 答 ◆◆◆

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

大矢幸弘

耳鼻咽喉科

髄液漏患者への

脂肪組織充填



髄液漏患者の漏出部位に、患者の脂肪組織を充填することで漏出を防ぐ手術について、以下を。

(1) 組織欠損部位に患者自身の脂肪組織を充填することは、外科一般というか他の部位の欠損に対しても広く行われているのか。

(2) 時間を経て結合組織になるには、充填した脂肪組織に間葉系幹細胞が含まれている必要があると思われ、末梢の脂肪組織には常に含まれているのか。

(3) 間葉系幹細胞が含まれるように脂肪組織を採取するのに注意点があれど。

(神奈川県 T)



鼻性髄液漏の存在は鼻副鼻腔と頭蓋内の交通を意味し、髄膜炎をはじめとする頭蓋内感染症を引き起

こす可能性がある。また交通が長期に及んだ場合、髄膜脳瘤の原因となるため、より早期の閉鎖が求められる。

鼻性髄液漏は大きく外傷性と非外傷性に分類され、さらに外傷性はその原因により、頭部外傷性と手術外傷性に分類される。非外傷性、手術外傷(術中、遅発性)の場合、髄液漏の診断がつきしだい

整復術の適応となる。頭部外傷後急性期の鼻性髄液漏の場合に限り保存的治療の対象となる。保存的治療により閉鎖しなかった場合や、再発、遅発性の発症の場合は整復術の適応となる¹⁾。

近年、内視鏡下鼻内整復術により閉鎖成功率の向上が謳われている²⁾。保存的治療が成功し髄液漏が止まった場合でも、長期観察では30~40%の症例で髄膜炎を発症するとの報告もあり、より早期の内視鏡下鼻内整復術が長期経過観察中の髄膜炎のリスク軽減につながる²⁾と考えられている。

また近年、ナビゲーションシステムの鼻副鼻腔手術への応用はその有用性が提唱され、適応となる

疾患は拡大されてきた。特に頭蓋底疾患(鼻性髄液漏)などの近接臓器へのアプローチでは、必須のツールとなりつつある。漏孔部位を探す、あるいは見つかった漏孔とがで、より安全で確実な手術が可能となる⁴⁾。

鼻性髄液漏に対する内視鏡下経鼻内整復術の成績は、1990~99年までのメタアナリシス³⁾によると、1回目の手術での成功率が90%(259/289例)、2回目の手術で96%(276/289例)と報告されている。

閉鎖法には脂肪、筋膜、軟骨、人工硬膜、鼻粘膜などを用いた多重閉鎖術と各種栄養血管を考慮した局所有茎粘膜炎がある。漏孔が比較的大きい場合には、脂肪を硬膜内にまで挿入し、さらに何層かそれをoverlayに覆う処置を行う。硬膜内に脂肪を挿入する際、フロ栓式閉鎖術(bath-plug closure)も良い方法である。成功率が高く、閉鎖することが可能(一次的閉鎖率は93.9%、二次的には100%)と報告されている⁵⁾。

◆◆◆文 献◆◆◆

- 1) Spiegel K, et al: Lancet 354: 1435, 1999.
- 2) Spiegel K, et al: Ann Intern Med 141: 846, 2004.
- 3) Knutson KL, et al: Arch Intern Med 166: 1768, 2006.
- 4) Mallon L, et al: Diabetes Care 28: 2762, 2005.
- 5) 小笠原謙, 他: Prog Med 24: 987, 2004.

◆◆◆回 答◆◆◆

滋賀医科大学睡眠学講座教授

大川匡子

皮膚科

外来でのアトピー性

皮膚炎患者指導

Q

外来でのアトピー性皮膚炎患者への指導のポイントと、患者指導に使えるパンフレットなどがあれば併せて。
(滋賀県 H)

A

アトピー性皮膚炎治療の基本は①原因・悪化因子の検索と対策、②

皮膚機能異常の補正(スキンケア)、
③薬物療法である¹⁾。この三つは互いに関連があり、完全に独立した治療ではない。
悪化因子の特定は血液検査などで解明できるものではない。アトピー性皮膚炎の患者は皮膚から抗原感作を受けやすいので、総IgE抗体が高いだけでなく、各種の特異的IgE抗体価も陽性を示すことが多い。これらは悪化要因となることもあるが、原因というよりは結果である。

係なくある程度の対策は行ったほうがよい。ペットは、感作を受けている患者では強い悪化因子となることが多い。
スキンケアはアトピー性皮膚炎治療の基本とも言うべきもので、脆弱な皮膚のバリア機能の補完と悪化の予防を目的とする。具体的には、よく泡立てた石鹸を使用し

て皮膚に付いた汚れや刺激物を洗い落とし、よくすすぎをして石鹸が残っていない皮膚に保湿剤を塗布する。1日2回を原則とするが、正常な皮膚状態が続いた場合は漸減が可能である²⁾。

スキンケアと悪化要因の低減は、皮膚状態の如何にかかわらず継続して実行されるべきものであるが、薬物療法は増悪時・寛解導入期と寛解維持期の二つのステージに分けて指導する³⁾。

塗布量はfinger tip unit (FTU)を基本とし、1FTUは0.5gである⁴⁾。人差し指の先端から最初の関節のくびれまでチューブから絞り出すとだいたい1FTUとなり、この量を両手の平(乳児なら顔全体)の面積に相当する範囲に塗布する。実際には、擦り込まないようにして、皮膚に薄皮一枚均一な膜を作る感じで丁寧

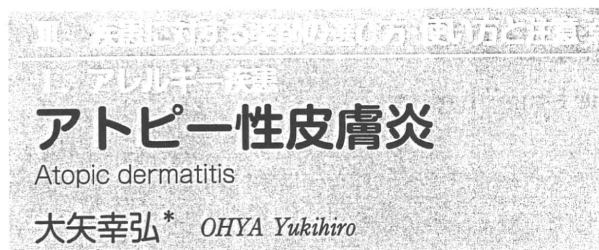
に塗布すると、この程度の量が必要となる。指導のポイントは「擦り込まないこと」である。1〜2週間後に再診し、皮疹の改善が認められない時は、診断の見直しやアドヒアランスの確認が必要となる。

寛解維持期の薬物療法は保湿剤を基本とするが、重症患者の場合には保湿剤だけにするとすぐに皮膚が再燃し、患者が不安になることが多いので、予防的にステロイド外用薬やタクロリムス軟膏を間欠塗布するとよい。すなわち、隔日塗布で2週間から4週間維持したら、その次は週2日といった具合に抗炎症外用薬の使用頻度を漸減していくと再燃を避けられ、副作用も回避できる。

食物でも食べられるものはあるのに、血液検査の結果だけを頼りに制限をしてはならない。少なくとも、それまで食べていて即時型反応を起こさない食物に関しては、最初に薬物療法とスキンケアを指導しても寛解維持期に至らない症例や、寛解維持期に順調にステロイド外用薬を漸減できない症例に除去試験や負荷試験を行って食物アレルギーの有無を鑑別すべきである。ダニやカビなどはアレルギー反応とは別の機序でも悪化要因となるので、血液検査の結果に関

量のみで判断しない。増悪時・寛解導入期の薬物療法は、ステロイド外用薬やタクロリムス軟膏など抗炎症効果のある外用薬を使用し、皮疹を消失させることが目的である。外来での指導のポイントは塗布する部位と塗布量の明示である。

間後に再診し、皮疹の改善が認められない時は、診断の見直しやアドヒアランスの確認が必要となる。



1. 疾患の概要

- 1) 表皮のバリア機能異常を伴い、複数の非特異的刺激性反応と特異的アレルギー反応が関与して生ずる慢性炎症と掻痒を病態とする湿疹・皮膚炎群であり患者の多くはアトピー素因をもつ。
- 2) 有病率は調査方法によって異なるが、大規模な疫学調査には世界共通の質問票によるISAAC方式が用いられることが多く、6~7歳ではイランの1.1%からスウェーデンの18.4%と国や地域による差が大きい。わが国では北海道で高く、沖縄は低い。0~1歳ごろと3歳ごろにピークがあり、そのあと徐々に低下する傾向にあるが、思春期頃に発症・再燃するケースも少なくない。
- 3) 特異的IgE抗体が陽性を示すアトピックタイプが小児には多く、総IgE抗体価は長期的な皮疹の重症度に相関がみられ、TARC値は短期的な病勢の重症度に相関する。
- 4) 皮膚の炎症のコントロールにはステロイド外用薬とタクロリムス軟膏が第1選択薬となり寛解状態を維持するためには保湿剤によるスキンケアが大切である。

2. 確定診断はどのように行うか

- 1) 国内外に複数の診断基準があるが、ほぼ共通するのは、

Key words: アトピー性皮膚炎, バリア機能異常, ステロイド外用薬, タクロリムス軟膏, proactive treatment, reactive treatment

*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

[〒157-8535 東京都世田谷区大蔵 2-10-1]

TEL 03-3416-0181 FAX 03-3416-2222

E-mail: ohya-y@ncchd.go.jp

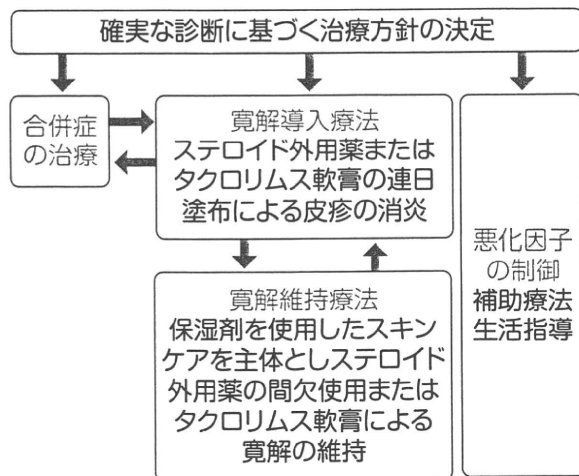


図1 治療の流れ

- ① 痒みがある湿疹（または掻破痕）の存在,
 - ② 好発部位の存在（顔, 首, 体幹, 臀部の下, 肘, 膝, 乳児では下腿外側など）,
 - ③ 慢性・反復性（乳児以外は半年以上）の経過などである。
- 2) 鑑別診断すべき頻度の高い疾患は、接触性皮膚炎, 脂漏性皮膚炎, おむつかぶれやカンジダ性間擦疹, 伝染性膿痂疹, 虫さされ, 秕糠疹, 尋常性魚鱗癬などである。
 - 3) まれではあるが、念頭に置くべき鑑別診断は、皮膚筋炎, 悪性リンパ腫, Netherton 症候群などである。
 - 4) 合併症に関しては皮膚の感染症（真菌, 細菌, ヘルペス, 水いぼなど）が多い。また、鑑別すべき疾患としてあげた 2) や 3) の疾患が合併することもある。

3. ファーストラインの治療戦略

1. 治療の流れ (図1)

- 1) 基本的にはステロイド外用薬またはプロトピックを使用して皮疹を消失させ（寛解導入期）、その後は保湿剤を使用して寛解を維持する（寛解維持期）。
- 2) 皮膚の感染症を合併しているときには、感染症の治療を優先し、数日して克服の見通しが得られたところで続けてアトピー性皮膚炎の治療を行う。

表 代表的なステロイド外用薬の薬効による分類

薬効	薬物一般名と濃度	市販薬品名
Strongest I群	プロピオン酸クロベタゾーム (0.05%) 酢酸ジフロラゾン (0.05%)	デルモベート ジフラルル, ダイアコート
Very Strong II群	プロピオン酸デキサメタゾン (0.1%) ジフルプレドナート (0.05%) 吉草酸ジフルコルトロン (0.1%) フルオシノニド (0.05%)	メサデルム マイザー ネリゾナ, テクスメテン トプシム
Strong III群	吉草酸ベタメタゾン (0.12%) プロピオン酸ベクロメタゾン (0.025%) 吉草酸デキサメタゾン (0.12%) 吉草酸酢酸プレドニゾロン (0.3%)	リンデロンV, ベトネベート プロパデルム ザルックス, ポアラ リドメックス
Medium IV群	トリウムシノロンアセトニド (0.1%) ピバル酸フルメタゾン (0.02%) 酪酸ヒドロコルチゾン (0.1%) 酪酸クロベタゾン (0.05%) プロピオン酸アルクロメタゾン (0.1%)	ケナコルトA, レダコート ロコルテン ロコイド キンダベート アルメタ
Weak V群	プレドニゾロン (0.5%)	プレドニゾロン

3) 食物アレルギーの関与する乳児アトピー性皮膚炎を疑った場合、食物の除去を最初に行うのではなく、通常のアトピー性皮膚炎の治療を試みる。すなわち、保湿剤によるスキンケアを試みて皮疹や痒みが消失しないのであれば、ステロイド外用薬を使用する。しかし、ステロイド外用薬の連日塗布でも皮疹が消失しないか、消失後に保湿剤のみの日を設けると皮疹が再燃しステロイド外用薬の間欠塗布に移行できない場合、皮膚テストや血液検査で疑わしい食物に対する除去試験・負荷試験を行い診断を確定する。

2. 薬物療法

1) 薬物療法のエビデンス

ステロイド外用薬とカルシニューリン抑制性外用薬（日本ではタクロリムス軟膏のみ保険適用）がファーストライン治療薬である。免疫抑制薬（シクロスポリン）の内服は成人患者に適応がある。保湿剤には湿疹の消炎効果はないが、バリア機能を補完し寛解状態を維持する役割がある。抗ヒスタミン薬には痒みを低減する効果があるが、消失させるほどの効果はない。

2) 実際の投与方法

<増悪時・寛解導入期>

- ① 皮膚を石鹸で洗い、よく濯いだあと保湿剤を塗布するだけで自然に消失する軽微な場合を除き、基本的にはステロイド外用薬またはプロトピック軟膏を使用して皮疹を消失させる。
- ② 皮膚の吸収率の違いを考慮して、ステロイド外用薬の強さに関しては（表）、顔は4群、体幹や四肢は3群を基本とするが、軽症の皮疹の場合顔以外でも4群で消失することがある。
- ③ 1日2回の塗布を原則とするが、3群以上のステロイドは1日1回でも複数回でも効果に有意差はないといわれている（ただし、1日1回のステロイド塗布の場合、もう1回は保湿剤を塗布する）。
- ④ 連日塗布しても1週間以内に明らかな改善が認められないか、2週間以上消失しないようなしつこい湿疹に対しては塗布するステロイド外用薬のランクを上げるか、その原因を検討すべきである。
- ⑤ 白内障や網膜剥離を回避するために、目の周

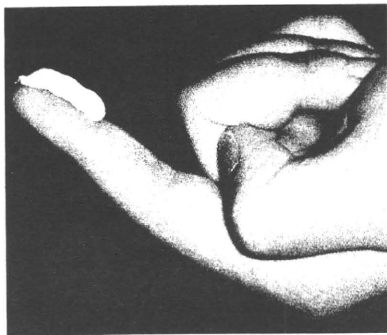


図 2
塗布量の目安
1FTU=約0.5g。
これで両手のひらの面積(ほぼ乳児の顔の面積)。

困もしっかりと塗布し掻痒動作を可及的速やかに消去する。ただし、ステロイド外用薬の長期連日塗布には緑内障の危険性が伴うため、容易に皮疹が消失しない重症例は経験のある専門医に紹介するか、2歳以上であればプロトピック軟膏を使用する。

- ⑥ 軟膏の塗布量はフィンガーチップユニット(図2)を基本とし、十分量を塗布する。
 - ⑦ 掻痒を低減するため第2世代の抗ヒスタミン薬(抗アレルギー薬)の内服も考慮する。
- <寛解維持期>
- ① ステロイド外用薬やプロトピック軟膏を塗布して皮疹が消失しても、スキンケアや外用剤の使用は継続する必要がある。
 - ② 寛解維持療法には皮疹が出現したときだけステロイド外用薬やプロトピックを塗布する reactive treatment と皮疹がゼロの状態を維持しながら予防的にステロイド外用

薬やプロトピック軟膏を間欠的に塗布する proactive treatment がある(図3)。

- ③ 軽症の患者の場合、皮疹が再燃するまでの期間が長い場合 reactive treatment でもよいかと思われるが、重症患者の場合は短期間で皮疹が再燃するため reactive treatment を行うと医療不信を招き、ステロイドフォビアに陥ることがある。
- ④ Proactive treatment による具体的なステロイド外用薬やタクロリムス軟膏の使用法はさまざまなバリエーションが考えられるが、例えば、皮疹が消失したら保湿剤と交互に隔日塗布とし数週間ごとに2日おき、3日おき、あるいは週3日、週2日、というような具合に塗布頻度を減らしていく。どのプロトコールがベストであるかは患者によって異なるので一概には決められないが、皮疹が再燃するまでの期間をチェックし、それよりも短い日数を保湿剤塗布の期間としてしばらく維持するなど、信頼関係ができた患者となら試行錯誤しながら決めていくのも一法である。
- ⑤ 保湿剤の使用も不要となるのは、ステロイド外用薬やタクロリムス軟膏が不要となり保湿剤だけで長期に寛解状態が維持できるようになってからである。

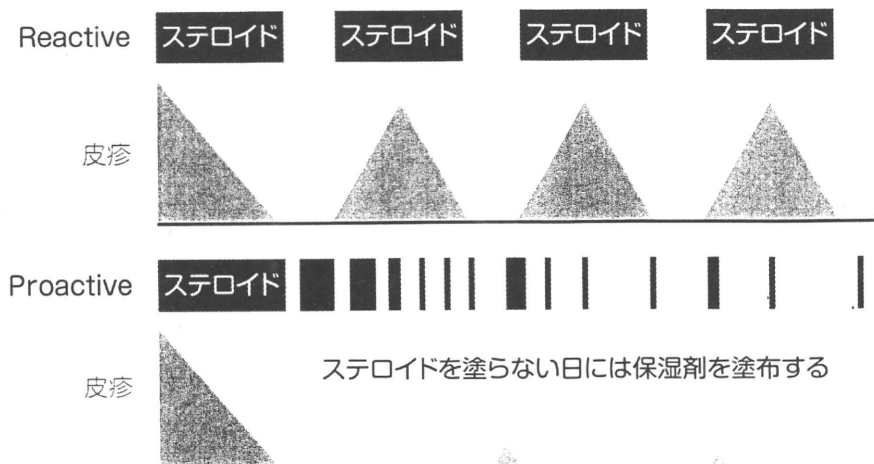


図3 Reactive treatment と Proactive treatment の比較イメージ

4. ファーストラインが無効・効果不十分の時の治療戦略

- 1) もっとも多いのは、外用薬の塗布量が不十分であったり皮膚の洗い方がいい加減だったりするケースである。こうしたケースは入院させ外来と同じ処方を実行すれば改善する。ただし、体幹や四肢に4群のステロイド外用薬を十分量塗布しても皮疹が消失しない場合は3群にランクをアップする必要がある。顔以外の局所の重症な皮疹には2群ステロイドを必要とすることもある。
- 2) 合併症への対策：小児で2群以上のステロイド外用薬を使用しているにもかかわらず皮疹が消失しない場合は、診断の見直しが必要である。皮膚筋炎やリンパ腫そしてNetherton症候群などの鑑別のほかに、頻度の高い原因は真菌による皮膚感染である。また、カポジ水痘様発疹や膿痂疹を合併する症例も多く、こうした感染症対策をステロイド外用薬の使用に先だて行う必要がある。
- 3) 食物アレルギーの関与する乳児アトピー性皮膚炎：この疾患は適切なランクのステロイド外用薬を塗布しても皮疹のコントロールが不十分で、当該食物の除去を行わないと皮疹が消失しないか、消失しても維持療法ができずステロイドの連日塗布から脱出できない。ただし、ファーストライン治療が行われずover-diagnoseされている症例が多い。生後3~4か月ごろに発症し生後半年を過ぎる

と即時型食物アレルギーに移行するか自然寛解するケースが多く、多種の食物抗原を長期に除去することのないよう診断の見直しに留意する必要がある。

- 4) 心身医学的対応を必要とするケース：親の搔破行動が子どもに対するスキンシップの一環となり条件づけされていることがある。子どもが痒がっても親が決して搔いてやることのないよう指導する。年長児や思春期になると搔破による皮膚の快感が習慣性搔破行動を条件づけていることがある。皮膚状態を徹底して改善すると搔破時の快感が得られなくなり自然に搔破行動も減衰していくことが多い。ストレスを感じているときに皮膚状態が悪化することを経験する患者は多いが、ストレスを回避する指導は現実的ではない。睡眠不足を解消し規則正しい生活を送るライフスタイルを確立しストレスに立ち向かう勇気をもてるよう、認知と行動の変容をもたらすことが望ましい。

文献

- 1) 古江増隆, 佐伯秀久, 古川福実, 他：日本皮膚科学会編「アトピー性皮膚炎診療ガイドライン」, 日皮会誌 **119**(8)：1515-1534, 2009
- 2) 河野陽一, 山本昇壮 (監修)：アトピー性皮膚炎治療ガイドライン, 協和企画, 東京, 2009
- 3) Einfield LF, Hanifin JM, Luger TA, et al：Consensus conference on pediatric atopic dermatitis. J Am Acad Dermatol **49**：1088-1095, 2003

* * *

アトピー性皮膚炎外用指導のポイント

大矢幸弘

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

アトピー性皮膚炎の治療においては、処方箋を患者に渡すだけでは、患者はどのように外用薬を使用してよいかわからず、良好な治療効果を期待することはできない。スキンケアの方法や外用剤の使い方に関する外用指導は非常に大切である。具体的な洗い方や塗り方をデモンストレーションするのが理想であるが、限られた診察時間のなかで留意すべき指導のポイントを列記する。

1. 洗い方のポイント

- ①石鹸を使って洗うときには、泡立てネットを利用したり、よく泡立てる（液体石鹸をペットボトルに入れ振って泡を作ったり、最初から泡が出てくるポンプ式を利用する手もある）。
- ②皮膚を傷つけないようになるべく素手で洗う。顔や湿疹のある場所も泡でしっかり洗う。屈曲部などはしっかり延ばして洗い残しがないようにする。
- ③ぬるめのお湯でよく濯いで石鹸が残らないようにしっかり洗い流す。

2. 外用薬の塗り方のポイント

- ①入浴後皮膚が乾燥しないうちになるべく早めに塗る。
- ②擦り込むのではなく、優しく均一な保護膜をつくるような気持ちで皮膚に乗せるように塗る。
- ③FTU (Finger Tip Unit: 人差し指の先端から第一関節の長さまでチューブから軟膏を出したときの量で約0.5g、これで乳児の顔全体の塗布量に相当する)を参考に塗布量を計算すると、随分大量の外用薬が必要であることがわかる。実はこのくらい塗らないと本来の効果は得られない。

3. ステロイド外用薬を処方するときのポイント

- ①どの部位にどの外用薬を塗布するのか明確な指示を出す。
- ②ステロイド外用薬を1週間以上連日塗布しても改善がみられないときには、診断の見直しや

治療内容の見直しが必要なので、必ず来院するように伝える。正しい使い方をすれば副作用を回避することができるので、自己流で使うことのないよう指導する。逆に言うと、ステロイド外用薬を毎日長期間使ってきたという患者に副作用がでていないなら塗り方が足りなかったということである。

- ③ステロイド外用薬で皮膚がきれいになったあとは保湿剤やタクロリムス軟膏に切り替えるのか、そのままさらにステロイドを塗り続けるのか、あるいは一定の頻度で間欠的にステロイドを塗るのか、など寛解維持期の治療についてもある程度の見通しを話しておく。ステロイドフォビアを作らないためには、こうすればステロイドの副作用は避けられるという方法を患者に知ってもらい、実感してもらうことが大切である。

4. タクロリムス軟膏を処方するときのポイント

- ①使い始めに刺激感があるが、1~2週間程度連日塗布していると皮膚状態が改善して刺激感がなくなることを説明する。ただし、水に濡れると刺激感を感じることもあるが心配いらぬことを説明しておく。
- ②皮膚癌や悪性リンパ腫の発症危険因子になるかどうかに関しては、動物実験の一部や症例報告など明確な因果関係を証明できないデータがあるだけで、大規模な疫学調査では因果関係が証明されていないことを説明し、患者や保護者が納得してから処方する。納得しないまま処方しても使用されることはない。

5. その他の注意点

寛解維持期に入って患者の気持ちが安定するまでは、「何か心配なことやわからないことはありませんか」と聞いてあげたほうがよい。間違っても、「何でこんなにひどくなるまで放っておいたのか」とか、「やる気がないのか」などと怒ってはならない。

アトピー性皮膚炎

疫学・病態・診断

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

大矢 幸弘

小児科臨床 別刷

63 : 2010-12

3. アトピー性皮膚炎

2) 疫学・病態・診断

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 おおや ゆきひろ
大矢幸弘



KEY WORDS

アトピー性皮膚炎, 有病率, バリア障害, フィラグリン, 診断基準

はじめに

アトピー性皮膚炎は20世紀の後半から先進国を中心に急増し、この10年ほどは新興国での増加が目立つ。この間に生じた環境変化が大きな関与をしていると思われるが、一方で親にアトピー性皮膚炎歴がある場合は、ない場合よりも子どものアトピー性皮膚炎発症率が高くなるという遺伝的関与を疑わせる疫学的データを多数の研究が示している。生体内でのアレルギー疾患関連物質発現に関する環境と遺伝子の関係は複雑であるが、近年、フィラグリン遺伝子の異常が一部のアトピー性皮膚炎患者のバリア障害に関与していることが明らかとなり、今後さらに Genome wide association study や Epigenetic study の発展により、複雑な関係がより明らかとなることが期待されている。

I. 疫学

1. 記述疫学と診断基準の問題

疫学には有病率や罹患率を調べる記述疫学

と発症や増悪に関わる危険因子を探索する分析疫学がある。後者に関しては別の章が設けられているので、本章では記述疫学の部分だけ担当する。有病率は採用する診断基準により大きな差が生ずる。そのため、異なる調査を比較するときには、診断基準の違いに注意する必要がある。

また、医師にアトピー性皮膚炎と診断されたことがあるかどうかを基準にすると、専門的なトレーニングを受けていない医師が関与している場合は、医師間での診断にも大きな差があるため、一致率や再現信頼性が低くなる。

ISAAC (International Study of Asthma and Allergies in Childhood) で採用された診断基準は UK Working Party の診断基準¹⁷⁾を簡略化したものである。逆翻訳のプロセスを得て翻訳妥当性が検証された調査票、またはビデオを用いた調査法を採用しており、同一の基準で世界中の異なる国や地域の有病率の分布をみるのにも優れている。ただ、直接医師が症状や経過を確認したものではないた

め、アトピー性皮膚炎以外の皮膚疾患が含まれている可能性は否定できない。したがって、他の診断基準を採用した疫学調査に比べると比較的高値を示す。

2. 有症率の国際比較と経年変化

ISAACの最初の調査(Phase I)¹⁾が1994年～1996年に56カ国で実施され、6～7歳児では90都市256,410人、13～14歳児では153都市458,623人が対象となった。6～7歳児で最も高い有症率を示したのはスウェーデンで18.4%、最も低いのがイランの1.1%、平均は7.3%であった。13～14歳児では、最も高い有症率はナイジェリアの17.7%、最も低いのはアルバニアの0.8%で、全体の平均は7.4%であった。ちなみに日本の6～7歳児は16.8%でスウェーデンに次いで高かった。しかし、台湾やシンガポールはそれぞれ3.5%、2.8%と低くアジア全体が高いというわけではない。欧州でもスペインの3.3%、イタリアの4.1%、イギリスの13.0%というように地域による差が大きい。

ISAACのPhase III²⁾がPhase Iと同じ調査方法を用いて2001年～2003年に実施され、6～7歳児では35カ国64都市187,943人、13～14歳児は55カ国105都市302,159人が対象となった。Phase Iでは低かったシンガポールが、6～7歳児では8.9%と3倍もの増加を示し、タイの6～7歳児は16.7%に達した。スウェーデンは依然として高く22.3%であった。ロシアやインドの一部では低下した地域もあったが、全体としては8.6%と、Phase Iよりも上昇していた。13～14歳児も全体では7.6%と上昇しており、Phase Iで10%以上の高い有症率を示した英国やニュージーランドでは低下が認められたが、日本を除くアジア地域やアフリカの多くの国では上昇を示した。

3. アトピー性皮膚炎の自然経過

ドイツの5つの都市で1990年に生まれた

7,609人中1,314人を前向きに7歳までの経過を観察した出生コホート研究³⁾によると、2歳までの累積罹患率は21.5%であった。2歳までに発症した子ども達のうち、43.2%は3歳以降無症状で、その中の55.4%はすでに2歳時から無症状になっていた。7歳まで毎年連続して症状があったものは18.7%で、残りの38.3%は7歳まで間欠的に症状があった。自然寛解しない患者のリスクファクターとしては重症度や家族歴が重要であった。

我が国におけるアトピー性皮膚炎の自然経過については、厚生労働科学研究班(代表河野陽一)が生後4カ月、1歳6カ月、3歳時点での医師の診断による追跡調査を行っており、千葉市でそれぞれ9.7%、14.6%、16.3%、横浜市では15.9%、11.9%、13.6%を示した。生後4カ月でのアトピー性皮膚炎の半数程度は1歳6カ月で消失し、3歳でのアトピー性皮膚炎の半数程度は1歳6カ月過ぎに発症していることを明らかにした⁴⁾。

乳幼児のアトピー性皮膚炎は概して軽症のものが多く、それらは自然寛解する確率が高いが、重症患者に関しては自然寛解が期待できる確率は低いと言えよう。

II. 病態

1. 概略

アトピー性皮膚炎は表皮の角化異常や海綿化を伴う形態異常と皮膚への炎症細胞の浸潤を特徴としており、急性増悪期の皮膚には、ランゲルハンス細胞のような抗原提示細胞とともに、IL-4やIL-13を分泌するT細胞、炎症性樹状細胞(IDEC)、マクロファージ、マスト細胞、好酸球などが増加している。また、慢性期には、これらの細胞浸潤は減少し、IL-4やIL-13に代わって、IL-5、IL-12、GM-CSF、インターフェロン- γ の発現が増加し表皮の肥厚が起こっている。皮疹病変部におけるディフェンシンなどの抗菌ペプチド