

解説：中枢性の痒みは、モルヒネに代表される μ 受容体を刺激して痒みを誘導するオピオイドと、 κ 受容体を刺激して痒みの誘導を抑制するオピオイドとのバランスにより制御されると考えられている。ナルフラフィン塩酸塩は κ 受容体を刺激することで中枢性の痒みを抑える新たな薬剤であり、抗ヒスタミン薬の無効な痒みにもその有効性が期待される。実際、ナルフラフィン塩酸塩がモルヒネにより惹起した痒みを抑制するだけでなく、ヒスタミン、サブスタンス P によって惹起した痒みを抑制することがマウスで報告されている¹⁾。

現在のところ、ナルフラフィン塩酸塩は「血液透析患者における癢痒症の改善（既存治療で効果不十分な場合に限る）」のみが保険適応であるが、モルヒネ使用時や胆汁うっ滞性肝疾患に伴う痒みについても効果があるとの報告がある。また、アトピー性皮膚炎のマウスモデルにおいてナルフラフィン塩酸塩の止痒効果を示した報告がある²⁾。

皮膚癢痒症の痒みに対してナルフラフィン塩酸塩が有効かどうかを検討した疫学的研究は存在せず、また症例報告も存在しない。そのため、皮膚癢痒症に対してナルフラフィン塩酸塩の有効性は明らかではないのが現状であるが、 μ 受容体の拮抗薬であるナロキソンが結節性痒疹に奏功したとの報告³⁾もあり今後の検討が待たれる。現時点で有効性のエビデンスはなく、保険適応外使用となるため、一般的な使用は推奨されない。

【文 献】

1. Togashi Y, Umeuchi H, Okano K, et al: Antipruritic activity of the kappa-opioid receptor agonist, TRK-820, Eur J Pharmacol, 2002; 435:259-64.
2. Nakao K, Ikeda K, Kurokawa T, et al: Effect of TRK-820, a selective kappa-opioid receptor agonist, on scratching behavior in an animal model of atopic dermatitis, Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi, 2008; 2: 75-83.
3. Metze D, Reimann S, Beissert S, Luger T : Efficacy and safety of naltrexone, an oral opiate receptor antagonist, in the treatment of pruritus in internal and dermatological diseases, J Am Acad Dermatol, 1999; 41:533-539.

⑩ 漢方薬は皮膚癢痒症に有効か？

推奨度：C1

推奨文：本症が治療抵抗性であることを考えれば試行して良い方法と思われる。

解説：老人性皮膚癢痒症については以下に示すランダム化比較試験が報告されている。

黄連解毒湯（中～実証を対象）、牛車腎気丸（中～虚証を対象）を用いたランダム化比較試験において、両者ともフマル酸クレマスチン（タベジール[®]）と同等の効果がみられている¹⁾。また当帰飲子と甘草エキス配合入浴剤の併用効果を検討し、当帰飲子単独と甘草エキス配合入浴剤単独、両者併用いずれにおいても角層水分量の改善をみている。しかし乾燥が改善した症例において癢痒が軽減したのは半数以下であった²⁾。八味地黄丸とフマル酸ケトチフェン（ザジテン[®]）を用いたクロスオーバー法によ

るランダム化比較試験で両者とも有意差なく 78%の有効性が確認されている³⁾。さらに八味地黄丸と六味丸との比較試験においても両者に同等の有効性が示されている⁴⁾。また大熊は皮膚癢痒症患者に対して当帰飲子と黄連解毒湯の併用で抗ヒスタミン薬と同等の効果を示しているが、患者の年齢分布や基礎疾患などの詳細な情報は記載されていない⁵⁾。

腎不全や透析患者の皮膚癢痒症における漢方薬内服療法については記述研究がほとんどである。症例集積研究としてその効果が報告されているものは、黄連解毒湯⁶⁻⁹⁾、温清飲^{7, 10-11)}、当帰飲子^{7, 10-12)}などである。

【文 献】

1. 五大学共同研究班: 老人性皮膚そう痒症に対する TJ-15,TJ-107 の使用経験, 西日皮膚, 1991; 53: 1234-1241. (レベル II)
2. 飯田利博, 西山千秋, 鈴木啓之: 老人性皮膚そう痒症に対する当帰飲子の内服と甘草抽出エキス配合入浴剤の併用効果, 日本東洋医学雑誌, 1996; 47: 35-41. (レベル II)
3. 石岡忠夫, 青井礼子: 老人性皮膚そう痒症に対する八味地黄丸とフマル酸ケトチフェンの薬効比較, 新薬と臨床, 1992; 41: 2603-2608. (レベル II)
4. 石岡忠夫: 老人性皮膚そう痒症に対する六味丸と八味地黄丸の薬効比較, Therapeutic Research, 1995; 16: 1497-1504. (レベル II)
5. 大熊守也: 皮膚そう痒症の漢方薬による治療, 和漢医薬学会誌, 1993; 10: 126-130. (レベル II)
6. 赤松浩彦, 石井洋光, 石井澄, ほか: 血液透析患者の痒みに対する黄連解毒湯の効果. 漢方と最新治療, 2004; 13: 75-79. (レベル V)
7. 川嶋朗, 班目健夫, 小川哲也, 新田孝作, 秋葉隆: 維持透析患者の合併症に対する漢方薬の応用, 日本透析医会雑誌, 2008; 23: 195-200. (レベル V)
8. 大和田章, 椎貝達夫: 保存期腎不全患者の癢痒症に対する黄連解毒湯の効果, 腎と透析, 1998; 44: 283-286. (レベル V)
9. 河合弘進, 高木智恵子, 塚田義人, ほか: 透析そう痒症に対する黄連解毒湯の効果の検討. 臨床透析, 1995; 11: 389-96. (レベル V)
10. 北裕次, 楠見博明, 畑中淳治: 透析患者の皮膚そう痒症に対する漢方製剤の効果, 新薬と臨床, 1984; 33: 283-288. (レベル V)
11. 阿部富弥, 北裕次, 楠見博明: 透析患者の皮膚癢痒症に対する漢方製剤の応用, 医学と薬学, 1983; 9: 1777-1781. (レベル V)
12. 岩本一郎, 堀内ひろみ, 今田聡雄, 大熊守也: 腎疾患と漢方治療 QOL・透析患者の皮膚そう痒症と当帰飲子, 現代医療学, 1994; 9: 63-68. (レベル V)

本研究は平成 21 年度厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）（H-21-難治-一般-114：研究課題：難治性慢性痒疹・皮膚瘙癢症の病態解析及び診断基準・治療指針の確立、研究代表者：横関博雄、研究分担者：佐藤貴浩、片山一朗、戸倉新樹、烏山一、河原和夫、安東嗣修、椛島健治、室田浩之）による研究費によって行われたものである。

(付表1) エビデンスのレベルと推奨度の決定基準 (皮膚悪性腫瘍グループ)

■ エビデンスのレベルと推奨度の決定基準(皮膚悪性腫瘍グループ)

A. エビデンスのレベル分類	
I	システマティック・レビュー／メタアナリシス
II	1つ以上のランダム化比較試験による
III	非ランダム化比較試験による
IV	分析疫学的研究(コホート研究や症例対照研究による)
V	記述研究(症例報告や症例集積研究による)
VI	専門委員会や専門家個人の意見+

B. 推奨度の分類+	
A	行うよう強く勧められる (少なくとも1つの有効性を示すレベルIもしくは良質のレベルIIのエビデンスがあること)
B	行うよう勧められる (少なくとも1つ以上の有効性を示す質の劣るレベルIIか良質のレベルIIIあるいは非常に良質のIVのエビデンスがあること)
C1	行うことを考慮してもよいが、十分な根拠*がない (質の劣るIII-IV,良質な複数のV,あるいは委員会が認めるVI)
C2	根拠*がないので勧められない(有効のエビデンスがない、あるいは無効であるエビデンスがある)
D	行わないよう勧められる(無効あるいは有害であることを示す良質のエビデンスがある)

+基礎実験によるデータ及びそれから導かれる理論はこのレベルとする。

*根拠とは臨床試験や疫学研究による知見を指す。

#本文中の推奨度が必ずしも上表に一致しないものがある。国際的にも皮膚悪性腫瘍診療に関するエビデンスが不足している状況、また海外のエビデンスがそのまま我が国に適用できない実情を考慮し、さらに実用性を勘案し、(エビデンス・レベルを示した上で)委員会のコンセンサスに基づき推奨度のグレードを決定した箇所があるからである。

痒みが労働／勉学生産性および日常活動性に与える影響、 およびその誘発メカニズムの検討

研究分担者 片山一郎 大阪大学大学院医学系研究科皮膚科 教授
室田浩之 大阪大学大学院医学系研究科皮膚科 助教

研究要旨： これまでに私たちは大阪大学医学部附属病院皮膚科受診者の中で皮膚痒痒症患者が占める割合と、その症状が生活の質や労働／勉学能率および日常活動障害程度を検討した結果を報告してきた。その結果、同疾患が罹患者のパフォーマンスや社会に影響することが明らかとなり、病態の解明と適切な対応策の立案が望まれる。そこで私たちは、「痒痒」に関するより詳細な情報を収集する事と、その病態を解明する事を目的とし以下の2つの新規研究を立案した。1) 「痒痒症」に関するより詳細な情報収集：痒痒を主訴に大阪大学医学部附属病院皮膚科を受診した患者を対象とし、痒痒が睡眠や日中の活動性、生活の質、労働／勉学障害に与える影響の検討。2) 温度が痒痒を誘発するメカニズムの解明：温度は痒痒を誘発する主要因子の一つと考えられているが、そのメカニズムの解明を目的としたモデルの確立を目標とし、新規治療戦略の樹立を視野に入れる。

A.研究目的

「痒み」を伴う皮膚疾患が罹患者の仕事、勉学、日常生活、および QOL に与える影響を調査し、皮膚痒痒症の病態および新規治療戦略の確立を目指す。

B.研究方法

【痒みが生活に与える影響の新規検討】

【対象】大阪大学医学部附属病院皮膚科外来、あるいは関連施設に痒みを主訴として受診した皮膚疾患患者。発汗に関しては多汗症の患者を疾患コントロールとして検証する。(対象基準) a)かゆみを主訴とするか、多汗症で来院した患者で研究の同意が得られている b) 8 歳以上とし、性別は問わない c)入院、外来の別は問わない(除外項目)担当医が試験への組み込みを不相当と判断した患者

【方法】インフォームドコンセント：当該施設の倫理委員会で承認の得られた同意説明文書を患者に渡し、文書および口頭による十分な説明を行い、患者の自由意思による同意を文書で得る。15 歳以下の未成年の場合は保護者など代諾者か

ら、16 歳以上の場合は代諾者とご本人から上述したプロセスで同意を得る。

(評価項目)

(1) Pain Vision PS-2100 による皮膚の知覚定量[尚、発汗評価と Pain Vision による知覚定量に必要な費用は研究者が負担する。](2) 痒みの visual scale 評価(自己記入式)(3) 薬の効果に関するアンケート(4) Skindex-16 による QOL 評価(19 歳以上)(5) Ped's QL による QOL 評価(8 歳以上、18 歳以下)(6) Work productivity and activity impairment (WPAI) による労働／勉学生産性評価。(7) STAI (State-Trait Anxiety Inventory-Form)

【温もると痒いメカニズムの解明】

温度感覚と痒み感覚の接点は意外にも温度感覚受容器側にあることが近年の報告によって証明されつつある。生体内には温度計の役割をもつ陽イオンチャンネル TRP (transient receptor potential) ファミリーが存在しているが、中でも約 42℃以上の活性温度をもち、カプサイシンの受容体としても知られる TRPV1 は代表的な起痒因子であるヒスタミンの痒み誘発に関与して

いと報告されている。ヒスタミンが細胞に作用した際に生じるアラキドン酸カスケード代謝産物の 12-Hydroperoxyeicosatetraenoic acid (HPETE)は TRPV1 のアゴニストかつ起痒因子となりうる事、また TRPV1 ノックアウトマウスではヒスタミン誘導性の痒みが減弱している事は、TRPV1 が痒みに関与する根拠とされている。私たちはアトピー性皮膚炎病変部の表皮内に侵入した末梢神経に TRPV1 の強い発現を確認しており、炎症に関わるブラディキニンや脂質メディエーターなどの増感作用によって TRPV1 がより低い温度でも活性化されるため、身近な温度でもかゆみが生じる可能性は十分考えられる。さらに artemin と呼ばれる神経栄養因子を表皮細胞特異的に強制発現させたマウスでは、皮膚末梢神経に TRPV1 の発現亢進が導かれ、温度知覚過敏が生じると報告された。本研究では artemin が温度痛覚過敏に与える影響を検討する。

C. 研究結果

【痒みが生活に与える影響の新規検討】

2010 年 11 月に当該施設における倫理委員会の承認を得たため、現在症例を蓄積している。

【温もると痒いメカニズムの解明】

(1) artemin は定常状態の皮膚表皮細胞、真皮線維芽細胞、血管内皮細胞では発現せず、サブスタンス P 処理した真皮線維芽細胞より発現することが明らかになった。

(2) artemin の生理学的機能

① 神経支配に対する影響

野生型マウスの足底に artemin あるいはサブスタンス P を 1 週間に 3 回、2 週間投与し、皮膚における神経支配を PGP9.5 およびサブスタンス P の免疫染色で検証した。予想された通り、野生型マウスでは artemin を投与した結果、皮膚末梢神経の sprouting が確認され表皮内への神経伸長が認められた。

② 温度痛覚過敏に対する影響

artemin を foot pad に投与したマウスでは hargreaves test にて温度痛覚過敏を生じている事がわかった (図 1)。

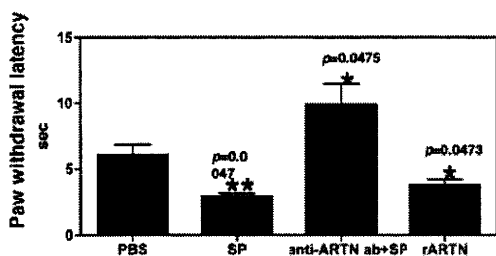


図 1 : hargreaves test の結果。温度は intensity

設定を 60 で行った。マウス後肢足底に PBS、サブスタンス P(SP)、artemin (rARTN)、artemin 中和抗体 (anti-ARTN ab) を投与した 12 時間後に測定を行った。統計解析は unpaired t-test を用いた。

D. 考察

【痒みが生活に与える影響の新規検討】

Work productivity and activity impairment (WPAI)スコアは 1992 年に Reilly MC によって発表された、疾患の症状が労働生産性にどのような影響を与えるかを評価できるアンケート調査である。これまで私たちは WPAI を用いて痒痒を伴う皮膚疾患が労働生産性に与える影響を検証し、実際にアレルギー性皮膚疾患罹患者の労働生産性が有意に障害されていることを報告してきた。しかし学童の症例数が少なかった事で、全般勉強障害率の十分な検証が行えていない。今回の新規検討で学生のデータの拡充と睡眠を含めた多角的な検証を行って行きたい。

【痒みが生活に与える影響の新規検討】

Artemin は皮膚末梢神経の TRPV1 発現増加に貢献し温度知覚過敏を引き起こすことを確認した。Artemin を皮下注したマウスは温度痛覚過敏が生じていることを hargreaves test によって確認した。この現象は artemin の中和抗体で抑制された。Artemin は温度痛覚過敏誘導を介して皮膚痒痒症の病態に関与する可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

- ① 室田浩之、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 46 回アレルギー学会秋季大会 2010, 11.
- ② 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.
- ③ 室田浩之. 温度と痒みのクロストーク 「温もると痒い」メカニズムに迫る. 小児アレルギー学会ニューロペプチド研究会. 2010, 11.

- ④ 室田浩之. 皮膚免疫とかゆみをめぐるダイナミズム アレルギー炎症反応と神経のクロストークから考える痒み治療戦略 抗ヒスタミン薬の役割を再考する. 皮膚アレルギー接触皮膚炎学会

1.論文発表

- ① Terao M, Nishida K, Murota H, Katayama I. Clinical effect of tocoretinate on lichen and macular amyloidosis. *J Dermatol*. 2011;38(2):179-84.
- ② 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;2011:213406.
- ③ Kira M, Katayama I. Superimposed linear psoriasis. *J Dermatol*. 2010;37(12):1063-5.
- ④ 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(4):425-8.
- ⑤ 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(4):345-54.
- ⑥ 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(1):200-3.
- ⑦ 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*. 2011;21(1):101-5
- ⑧ 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*. 2010;49(12):2408-12.
- ⑨ 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(8):735-9.
- ⑩ 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(4):881-4.
- ⑪ 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(7):594-600.
- ⑫ 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(3):410-1.
- ⑬ 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(2):121-32.
- ⑭ 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(2):171-4.
- ⑮ 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(1):128-37.
- ⑯ 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(2):123-9.
- ⑰ 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(7):929-30.
- ⑱ 室田浩之、片山一朗、谷内一彦. かゆみを伴う皮膚疾患における抗ヒスタミン薬の選択薬剤のパフォーマンスに及ぼす影響を考慮して. *診療と新薬* 47巻9号 Page964-973(2010.09)
- ⑲ 室田浩之、片山一朗. 痒みのメカニズムアップデート】痒みと仕事の生産性. *アレルギー・免疫.* 17巻9号 Page1539-1544(2010.08)

2.学会発表

H.知的財産権の出願・登録状況

なし

痒疹病変部におけるサイトカインプロファイルの解析に関する研究

研究分担者：戸倉新樹 浜松医科大学皮膚科学 教授
(前 産業医科大学皮膚科学教授)

研究協力者：朴 紀央 産業医科大学皮膚科 専修医
(現在 奈良県立医科大学皮膚科助教)

研究要旨： 痒疹の病態についての詳細は明らかにされていない。本研究においては、痒疹患者皮膚に浸潤する T 細胞由来のサイトカインの発現と、末梢血液中の T 細胞サブセットを明らかにすることを目的とした。痒疹病変皮膚を real-time PCR を用いて、IL-4、IL-31、IL-17、IL-22 の mRNA 発現を調べた結果、痒疹病変ではこれらサイトカインがすべて高発現を示していた。また末梢血には IL-17 を産生する Th17 細胞が高割合で存在した。痒疹は、Th2 サイトカイン、かゆみに関わるサイトカイン、表皮肥厚を誘導するサイトカインを産出し、Th17 細胞が病態に関わると考えられた。

A 研究目的

痒疹は全身性あるいは限局性に時には極めて激しい瘙痒を伴う孤立性丘疹、結節を主徴とする反応性疾患である。搔破によって頂点に小びらん、血痂を作るドーム状の充実性丘疹を形成するが、これまでその病態についての詳細は明らかにされていない。治療には、局所療法としてステロイド外用薬、紫外線療法、全身療法としてステロイド内服薬、H1 受容体阻害薬などが用いられているが、激しい瘙痒を伴いながら慢性に経過し、治療に難渋することが多い。

アトピー性皮膚炎でしばしば痒疹を形成するが、アトピー性皮膚炎の病態形成に IL-17 を産生するヘルパー T 細胞(Th17 細胞)が深く関与していることを当教室で明らかにした¹⁾。すなわち、アトピー性皮膚炎患者では重症な患者ほど末梢血中の

Th17 細胞が増加し、病変部の真皮に Th17 細胞が浸潤し、Th17 細胞が産生する IL-17 により、表皮ケラチノサイトのさまざまなサイトカイン産生が増強している。

最近、この IL-17 の他に IL-22 というサイトカインのアトピー性皮膚炎の病態形成における役割が注目されている。また IL-17 を産生せず、IL-22 のみを発現する T 細胞 (T22 細胞) がヒトの皮膚に存在することも示唆されている²⁾。この T22 細胞は、アトピー性皮膚炎患者皮膚で増加し、病態に深く関与していると報告された³⁾。慢性化した痒疹結節においては表皮が肥厚していることが多く、表皮ケラチノサイトに作用して、その増殖やサイトカイン産生に影響する IL-22 が痒疹の病態においても関わっている可能性が十分予想される。

さらに、最近 IL-31 もアトピー性皮膚炎

や痒疹結節の皮膚病変において高発現し、痒みの機序に重要な役割を果たしていることが提唱されている⁴⁾。

本研究は、痒疹患者皮膚に浸潤している細胞を解析し、痒疹の病態に Th17 細胞や T22 細胞がどのように関与しているかを評価することを目的としている。またこの研究により、痒疹とアトピー性皮膚炎や尋常性乾癬の病態の異同をより明確にできれば、臨床的に新しい治療方法を開発する第一歩となると考えられ、治療に難渋する痒疹患者にとり、大きな福音となる可能性がある。

B 研究方法

産業医科大学病院皮膚科を受診した痒疹患者を対象とした。痒疹患者の年齢、罹患年月、家族歴、アレルギー歴などを詳しく問診し、結節性痒疹、多形慢性痒疹など、痒疹のタイプを分類した。患者の同意を得て、痒疹結節についての組織学的検討を行った。痒疹結節部より径 6mm 大の皮膚組織を採取した。摘出組織を半切し、病理組織診断を行うとともに、残りの半分の皮膚組織を用いて mRNA を抽出した。real-time PCR 法により IL-4 mRNA、IL-17 mRNA、IL-22 mRNA、IL-31 mRNA、IFN- γ mRNA の発現を定量し、組織内サイトカイン発現の差異を調べた。

(倫理面への配慮)

本研究の内容は、産業医科大学内の倫理委員会に申請し承認を得た。研究に参加する患者には文書および口頭で今回の研究内容についての説明を行い、承諾書を得た。承諾書の内容は、ヘルシンキ宣言に準拠し、献体の取り扱い・個人情報の保護・解析結果の公表・解析後の検体の取り扱い、協力

した場合の利益・不利益などに関しては最大限の配慮を行った。

C 研究結果

2008 年 4 月から 2009 年 9 月に産業医科大学皮膚科を受診した慢性痒疹患者について検討した。同意が得られた痒疹患者 7 例について痒疹結節から皮膚生検を行った。対象として尋常性乾癬皮膚病変 (7 例)、正常皮膚 (5 例) を用いた。痒疹結節から 6mm 大の皮膚生検を行った。得られた皮膚組織を半切し、一方については病理組織診断を行い痒疹病変であることを確認した。残りの皮膚組織については、mRNA を抽出し、real-time PCR 法で IL-4、IFN γ 、IL-17、IL-22、IL-31 の mRNA 発現量を測定した。

IL-4、IL-31、IL-17、IL-22 の mRNA 発現を調べた結果、痒疹病変ではこれらサイトカインがすべて高発現を示していた (図 1)。また末梢血には IL-17 を産生する Th17 細胞が高割合で存在した (図 2)。

D 考察

我々は、痒疹患者から痒疹結節部の皮膚組織から mRNA を抽出し、RT-PCR 法にて IL-4、IL-5、IL-10 の mRNA 発現を確認し、また痒疹患者に対して recombinant IFN- γ を投与したところ症状が改善したことから、Th2 細胞が痒疹の病態に関与していることを示唆した⁵⁾。本研究においては痒疹は、Th2 サイトカイン、かゆみに関わるサイトカイン、表皮肥厚を誘導するサイトカインを表出し、Th17 細胞が病態に関わることを見出した。

IL-4 の痒疹の病態への関与の可能性が追試された。痒疹は臨床像、病理組織像にお

いて表皮の肥厚を認めていることから、これまで報告されているように、表皮ケラチノサイトの増殖に IL-22 が関わっていることが推察された。IL-31 の発現もコントロールと比較すると痒疹患者は増加し、痒みと IL-31 との関連を示唆した。

E 結論

今回の検討により痒疹において Th2 細胞、Th17 細胞が病態形成に関与している可能性が示唆された。

今後の検討課題としては、今回の患者皮膚組織でのサイトカイン発現量の結果を踏まえ、さらに検討を行うとともに、患者末梢血単核球においてもフローサイトメトリーによる Th17、T22 リンパ球サブセットの割合を測定し、さらには ELISA 法で血清中のサイトカイン量を比較し、皮膚において発現しているサイトカインとの相関を調べたい。また長期にフォローすることが可能な患者では、さまざまな治療に対して、末梢血や皮膚組織の T 細胞サブセットがどのように変動するかを調べ、治療のメカニズムを検証するとともに、分子標的薬などの新規治療法の開発を目指したい。

F 健康危険情報

なし

G 研究発表

なし

H 知的所有権の出願・登録状況

なし

参考文献

- ① Koga C et al. J Invest Dermatol 2008; 128: 2625-30
- ② Duhon T et.al. Nat Immunol 2009; 10: 857-63
- ③ Nograles KE et.al. J Allergy Clin Immunol 2009;123:1244-52
- ④ Sonkoly E et.al. J Allergy Clin Immunol 2006;117:411-7
- ⑤ Tokura. et. Al. Acta Derm Venerol 1997; 77: 231-234
- ⑥ Park K et al. Eur J Dermatol (in press).

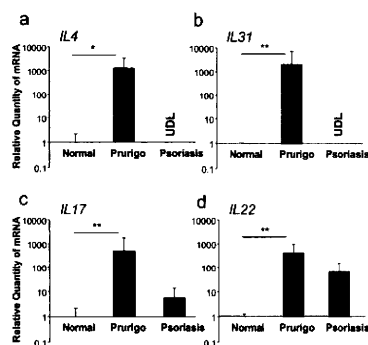


図1. 痒疹病変皮膚でのサイトカイン発現

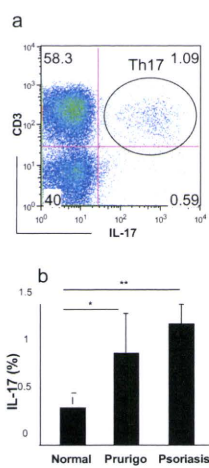


图2. 痒疹患者末梢血Th17细胞割合

動物モデルを用いた痒疹の病態解析

分担研究者 烏山 一 東京医科歯科大学大学院免疫アレルギー学分野 教授

研究要旨：これまで好塩基球のみを欠損する動物モデルが存在しなかったため、好塩基球の機能解析は困難を極め、痒疹を含む皮膚疾患マウスモデルにおける好塩基球の役割解明が遅々として進まなかった。本研究ではこの問題を解決するために、マウス好塩基球特異的に発現する mMCP-8 をコードする *Mcpt8* 遺伝子座にジフテリア毒素受容体遺伝子を挿入したノックインマウスを樹立した。このマウスにジフテリア毒素を投与すると、好塩基球のみが選択的に除去され、IgE 依存性慢性皮膚アレルギー炎症の誘導が全く認められなかった。さらに、皮膚にアレルギー様炎症を引き起こす吸血マダニ感染症において、好塩基球が生体防御に極めて重要な働きをしていることが明らかとなった。

A. 研究目的

慢性痒疹・皮膚癢痒症の発症機序解明にはマウスモデルを用いた解析が重要であるが、これまで好塩基球のみを欠損するマウスが存在しなかったため、皮膚疾患における好塩基球の役割解明が進んでいなかった。そこで本研究では、遺伝子組み換え・発生工学の技術を応用して、好塩基球のみを欠損する遺伝子改変マウスを作製し、皮膚炎症における好塩基球の役割を解析した。

B. 研究方法

マウス好塩基球特異的に発現するセリンプロテアーゼ mMCP-8 をコードする *Mcpt8* 遺伝子座にジフテリア毒素受容体遺伝子を挿入したターゲッティング・ベクターを作製し、マウス ES 細胞に遺伝子導入して、ノックイン

マウス (*Mcpt8*^{DTR} マウス) を樹立した。

(倫理面への配慮) 動物実験はすべて東京医科歯科大学動物実験指針に則り、実験動物委員会の承認を得ておこなった。

C. 研究結果

Mcpt8^{DTR} マウスでは、好塩基球特異的にジフテリア毒素受容体が発現するため、ジフテリア毒素投与によって、好塩基球のみが除去された。アレルギー投与前にあらかじめ好塩基球を除去しておくと、IgE 依存性慢性皮膚アレルギー炎症反応がまったく誘導されなかった。マダニに繰り返し吸血されると、宿主側にマダニに対する耐性が獲得されるが、ジフテリア毒素投与によって好塩基球を除去すると、マダニに対する耐性が消失した。

D. 考察

Mcpt8^{DTR} マウスの樹立に成功したことで、生体の好塩基球の機能解析が可能となり、慢性痒疹・皮膚痒痒症を含む皮膚疾患における好塩基球の解析が進むものと期待される。

E. 結論

世界に先駆けて、好塩基球のみを欠損するモデルマウスの樹立に成功した。

G. 研究発表

1. 論文発表

- ① Karasuyama, H., Tsujimura Y., Obata, K., and Mukai, K.: Role for basophils in systemic anaphylaxis. *Chem. Immunol. Allergy*. 95: 85-97, 2010.
- ② Wada, T., Ishiwata, K., Koseki, H., Ishikura, T., Ugajin, T., Ohnuma, N., Obata, K., Ishikawa, R., Yoshikawa, S., Mukai, K., Kawano, Y., Minegishi, Y., Yokozeki, H., Watanabe, N., and Karasuyama, H.: Selective ablation of basophils in mice reveals their nonredundant role in acquired immunity against ticks. *J. Clin. Invest.* 120: 2867-2875, 2010.
- ③ Matsushima, Y., Kikkawa, Y., Takada, T., Matsuoka, K., Seki, Y., Yoshida, H., Minegishi, Y., Karasuyama, H., and Yonekawa, H.: An atopic dermatitis-like skin disease with hyper-IgEemia develops in mice carrying a spontaneous recessive point mutation in the *Traf3ip2* (*Act1/CIKS*) gene. *J. Immunol.* 185: 2340-2349, 2010.
- ④ Karasuyama, H., Mukai, K., Obata, K., Tsujimura, Y., Kawano, Y., and Minegishi, Y.: Nonredundant roles for basophils in immediate- and delayed-onset allergic reactions. *The Open Allergy Journal*. 3: 73-80, 2010.
- ⑤ Ishikawa, R., Tsujimura, Y., Obata, K., Kawano, Y., Minegishi, Y., and Karasuyama, H.: IgG-mediated systemic anaphylaxis to protein antigen can be induced even under conditions of limited amounts of antibody and antigen. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 402: 742-746, 2010.
- ⑥ Karasuyama, H., Mukai, K., Obata, K., Tsujimura, Y., and Wada, T.: Nonredundant roles of basophils in immunity. *Annu. Rev. Immunol.* 29: 45-69, 2011.
- ⑦ Karasuyama, H., Wada, T., Yoshikawa, S., and Obata, K.: Emerging roles of basophils in protective immunity against parasites. *Trends Immunol.* in press.
- ⑧ 烏山 一:「急性ならびに慢性アレルギー発症における好塩基球の新たな役割」炎症と免疫 18(1): 23-27, 2010
- ⑨ 烏山 一:「好塩基球が主役を演じる IgE 依存性慢性アレルギー炎症」IgE practice in asthma 1-5, 2010
- ⑩ 烏山 一:「吸血ダニに対する抵抗性、好塩基球が鍵を握っていた」メディカルバイオ

(オーム社) 7 (6): 52-55, 2010

2.学会発表

- ① Karasuyama, H.: Novel roles for immune and allergic responses. The 97th Annual Meeting of the American Association of Immunologists. Baltimore, USA. 2010.05.08.
- ② 烏山 一: 好塩基球の新たな役割: 悪玉細胞それとも善玉細胞? 第75回日本インターフェロン/サイトカイン学会 小倉 2010.06.26
- ③ 烏山 一: 好塩基球とアレルギー 第31回日本炎症・再生医学会 東京 2010.08.06
- ④ Karasuyama, H.: Novel roles for basophils in allergy and immunity. International Congress of Immunology 2010. Kobe, 2010.08.26.
- ⑤ Karasuyama, H.: Nonredundant role for basophils in antibody-mediated, acquired immunity against ticks. The 10th Awaji International Forum on Infection and Immunity. Awaji 2010.09.10.
- ⑥ Karasuyama, H.: Newly discovered roles for basophils: a neglected minority gains new respect. The 40th Annual Meeting of the German Society for Immunology. Leipzig, Germany 2010.09.23.
- ⑦ 烏山 一: 特別講演「好塩基球による皮膚慢性アレルギーの誘導と炎症終焉」第39回皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会 2009.11.07京都
- ⑧ Karasuyama, H.: Novel roles for basophils in allergy and protective immunity. Cold Spring Harbor-Asia Conference 'Frontiers of Immunology in Health & Diseases'. Suzhou, China. 2010. 11.09.
- ⑨ Karasuyama, H.: Basophils as a non-redundant player in allergy and protective immunity. The 20th Annual Johns Hopkins Asthma and Allergy Center Symposium. Baltimore, USA. 2010.11.19.
- ⑩ 烏山 一: アレルギーならびに生体防御における好塩基球の新たな役割 第60回日本アレルギー学会秋季学術大会 東京 2010.11.26
- ⑪ 烏山 一: 好塩基球研究の新展開ー日陰者が一気に檜舞台にー 第47回日本小児アレルギー学会特別講演 横浜 2010.12.

蚊アレルギー性痒痒反応誘発セリンプロテアーゼ遊離関連細胞に関する研究

研究分担者 安東嗣修 富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学 准教授

研究協力者 穂山 祐 カルフォルニア大学デービス校 ポスドク

岩田 剛 富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学 学部生

(卒業研究)

倉石 泰 富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学 教授

烏山 一 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科

免疫アレルギー分野 教授

研究要旨： 我々は、蚊アレルギー痒痒反応に CD4 陽性 T 細胞とその遊離因子の一つであるセリンプロテアーゼ granzyme A が関与する可能性を明らかにした。本研究では、CD4 陽性 T 細胞がどのような機序でセリンプロテアーゼの遊離を促進しているか検討した。また、その他蚊アレルギー反応に関与する皮膚内細胞の探索も試みた。実験には、蚊唾液腺抽出物 (ESGM) を抗原として感作した蚊アレルギー性痒痒マウスモデルを用いた。蚊アレルギー反応は皮膚で膜リン脂質代謝物リポキシン A₄ (LXA₄) の産生が増加し、LXA₄によって誘発される痒み反応が proteinase-activated receptor-2 拮抗薬で抑制される。このことは、LXA₄の痒痒反応にセリンプロテアーゼの遊離が関与していることを示唆する。皮膚から単離した CD4 陽性 T 細胞には、LXA₄受容体 (LXR) が発現していたことから、LXA₄の産生による CD4 陽性 T 細胞活性化を介して granzyme A が遊離されると考えられる。また、マクロファージに対して毒性を示す 2-chloroadenosine の抗原チャレンジ前の投与は、蚊アレルギー性痒痒の抑制を示した。さらに、感作マウス皮膚では、非感作マウス皮膚では検出されなかった好塩基球の存在を示す抗 TUG8 抗体陽性タンパクの存在と皮膚での免疫活性が見出された。以上の結果より、CD4 陽性 T 細胞に加え、新たに、マクロファージや好塩基球が蚊アレルギーの痒みに関与する可能性が見出された。今後、これら細胞と遊離されるセリンプロテアーゼと痒み発生への関与を詳細に検討する予定である。

A. 研究目的

現在問題となっている痒痒性皮膚疾患の痒みの多くが抗 histamine 薬抵抗性であり、新たな痒みの発生機序の解明、並びに新規鎮痒薬の開発が望まれている。

我々は、蚊唾液腺抽出物 (ESGM: Extract of the Salivary Gland of Mosquito) を抗原として感作した蚊アレルギー性痒痒マウスモデルを作出してきた。本モデルのアレルギー性痒痒反応には、マスト細胞

—histamine系の関与が小さく、新たにCD4陽性 T 細胞—セリンプロテアーゼ（特にgranzyme A）系が関与していることを示してきた。

本研究では、CD4 陽性 T 細胞からのgranzyme A 遊離機構と、CD4 陽性 T 細胞以外の皮膚内細胞の関与を検討した。

B. 研究方法

1) 実験動物

実験には、雄性 ICR 系マウス（日本 SLC、静岡）を用いた。抗原チャレンジを行う場合は、実験前日にマウス吻側背部を除毛した。

2) 蚊唾液腺抽出物 (ESGM) の作製と感作
当研究室にて飼育した雌性ヒトスジシマ蚊の唾液腺を含む胸部よりタンパク質を抽出し、抗原 (ESGM) として用いた。

感作は、ESGM (10 µg/site) をマウス尾側背部に1週間に2回、4週間皮内注射した。チャレンジは、マウス吻側背部に ESGM (10 µg/site) を 50 µl の容量で皮内注射した。

3) 実験試薬

LXA₄ 及び 2-chloroadenosine は、Sigma (St. Louis, MO, USA) より購入したものをを用いた。Poteinase-activated receptor-2 (PAR₂) 拮抗薬 FSLLRY-NH₂ は、本学生薬学研究室 李 貞範先生に合成していただいた。LXA₄ は、1%ethanol 含有生理食塩水に溶解し、50 µl の容量で皮内注射した。2-Chloroadenosine は、抗原チャレンジの2日目前に 100%ethanol に溶解し、除毛した吻側背部に塗布した。FSLLY-NH₂ は、抗原チャレンジの30分前に皮内注射した。

4) 行動実験

行動実験の数日前にマウス吻側背部を除毛した。実験当日、行動撮影ケージ (13×9×40 cm/セル) に1時間放置し、馴化した。その後、ESGM をマウス吻側背部に皮内注射し、無人環境下に 8mm ビデオカメラでその後の行動を撮影した。行動評価は、ビデオの再生により、後肢による注射部位とその周辺への搔き動作数をカウントした。マウスは、1秒間に数回搔くので、足を挙げてから降ろすまでの一連の動作を搔き動作の1回としてカウントした。

5) ウェスタンブロッティング

マウス皮膚より常法にしたがってタンパク抽出を行い、SDS-PAGE 行なった。PVDFメンブランにタンパクをトランスファー後、抗 TUG8 抗体（東京医科歯科大学 鳥山一教授より供与）を1次抗体として反応させた。また、一部の実験では、抗 GAPDH 抗体を用いた。2次抗体としては、horseradish peroxidase-conjugated IgG を用いた。シグナルの検出は、Enhanced Chemiluminescence 溶液 (GE Healthcare Life Sciences, Piscataway, NJ, USA) と反応させ、発光したシグナルを X 線フィルムに感光させた。

6) 蛍光免疫化学染色

マウス凍結切片に対し、抗 TUG8 抗体を 4°C で反応させ、その後、Cy3 標識抗ラット IgG 抗体と反応させた。Cy3 のシグナルは、蛍光顕微鏡で観察した。

7) CD4 陽性 T 細胞の単離

皮膚から得られた細胞群を Lympholyte-M (CEDERLANE, Ontario, Canada) を用いて、リンパ球を選別し、CD4 カラム (RD systems, MN, USA) を用いて CD4 陽性 T 細胞を単離した。

8) LXR の発現

LXR の発現は、reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法で下記に示すプライマーを用いて検出した。(sense) 5'-ctccatcactttcttcttg-3' ; (antisense) 5'-tcccctctagcatctctaac-3'

C. 研究結果

1) ESGM 感作マウスにおける LXA₄ 誘発痒痒反応への PAR₂ 拮抗薬の効果

ESGM 感作マウスへの LXA₄ 皮内注射は、掻き動作を惹起した。この掻き動作は、FSLRLY-NH₂ (30-300 μg/site) (Fig. 1) により用量依存的に抑制された。

2) CD4 陽性 T 細胞での LXR mRNA の発現

RT-PCR 法により、感作マウス皮膚より単離した CD4 陽性 T 細胞に LXR mRNA が発現していることを示された (Fig. 2)。

3) ESGM 感作マウスにおける ESGM 誘発アレルギー性痒痒反応への 2-chloroadenosine の効果

マウス皮膚への 2-chloroadenosine (1-10 mM) の前処置により ESGM 誘発アレルギー性痒痒反応が抑制された (Fig. 3)。

4) ESGM 感作マウス皮膚での好塩基球の検出

感作マウス皮膚では TUG8 免疫陽性好塩基球が多数検出されたが、非感作マウス皮膚では殆ど検出されなかった (Fig. 4a)。ウェスタンブロッティングによる抗 TUG8 抗体免疫応答タンパクは、感作マウス皮膚タンパク中に検出されたが、非感作マウスでは検出されなかった (Fig. 4b)。

D. 考察

蚊唾液腺抽出物 (ESGM) を抗原として感作したアレルギー性痒痒マウスのアレルギー性の痒み反応は、CD4 陽性 T 細胞とセリンプロテアーゼが関与すること、また、セリンプロテアーゼの中でも CD4 陽性 T 細胞に発現している granzyme A が関与することを報告してきた。蚊アレルギー性痒痒反応機序には、アラキドン酸カスケード系の 5-lipoxygenase 代謝物の LXA₄ が関与することも明らかにしている。本研究では、CD4 陽性 T 細胞からの granzyme A の遊離機構に関して検討した。LXA₄ は、CD4 陽性 T 細胞を皮膚内に多数要する感作マウスにおいて痒み反応を示すが、皮膚中に CD4 陽性 T 細胞が殆ど存在しない非感作マウスでは痒み反応は起こさない。本研究では、感作マウスにおける LXA₄ 誘発痒痒反応が、PAR₂ 拮抗薬で抑制されたことから、その痒み反応にプロテアーゼ、特にセリンプロテアーゼの関与が示唆される。CD4 陽性 T 細胞には、LXA₄ 受容体 (LXR) が発現していた。したがって、LXA₄ が CD4 陽性 T 細胞を介して、granzyme A を遊離する可能性が示唆される。

マクロファージは、食食細胞として知られており、また、様々な免疫系に関与することが報告されている。そこで、マクロファージに対して毒性を示す 2-chloroadenosine の効果を検討した。2-Chloroadenosine のマウス皮膚の処置により、蚊アレルギーの痒み反応が抑制された。このことは、マクロファージの痒みへの何かしらの関与が示唆される。マクロファージには EOS をはじめとする多くのセリンプロテアーゼが含まれており、今後関

連性を検討する必要がある。

感作マウス皮膚では、非感作マウス皮膚に比べ皮膚内で好塩基球が増加していた。好塩基球は、近年、アレルギー反応に重要な役割を担っていることが明らかとなっている。しかしながら、痒みへの関与は未だ不明である。好塩基球からも MCP-11 などセリンプロテアーゼが遊離されるため、好塩基球に関しても今後検討する予定である。

E. 結論

アレルギー性痒痒反応に関与する granzyme A は、LXA4 の産生による CD4 陽性 T 細胞活性化を介して遊離される可能性を見出した。また、皮膚内マクロファージや好塩基球もアレルギー性の痒みに関与する可能性があり、今後詳細を検討する必要がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Zhang Q., Andoh T., Konno M., Lee J.B., Hattori M., Kuraishi Y. Inhibitory effect of methanol extract of *Ganoderma lucidum* on acute itch-associated responses in mice. *Biol. Pharm. Bull.* 33: 909-911, 2010.
 - 2) Andoh T., Zhang Q., Yamamoto T., Tayama M., Hattori M., Tanaka K., Kuraishi Y. Inhibitory effects of methanol extract of *Ganoderma lucidum* on mosquito allergy-induced itch-associated responses in mice. *J. Pharmacol. Sci.*, 114: 292-297, 2010.
 - 3) Gotoh Y., Andoh T., Kuraishi Y. Clonidine inhibits itch-related response through stimulation of $\alpha 2$ -adrenoceptors in the spinal cord in mice. *Eur. J. Pharmacol.* 650: 215-219 (2011)
 - 4) Gotoh Y., Omori Y., Andoh T., Kuraishi Y. Tonic inhibition of allergic itch signaling by the descending noradrenergic system in mice. *J. Pharmacol. Sci.*, (2011) (in press)
 - 5) 安東嗣修, 倉石 泰: 痒痒行動の評価法. 実践行動薬理学. 日本薬理学会. 武田弘志, 辻稔, 赤池昭紀編. 金芳堂, 京都, 102-112, 2010.
 - 6) 安東嗣修: 皮膚における痒みの発生メカニズム: ケラチノサイトの産生する新規痒み因子と痒み増強因子. 実践行動薬理学. 日本薬理学会. 武田弘志, 辻稔, 赤池昭紀編. 金芳堂, 京都, 242-250, 2010.
 - 7) 安東嗣修: 皮膚における痒み因子. *アレルギー・免疫* 17: 1506-1510, 2010.
- ##### 2. 学会発表
- 1) 安東嗣修: 動物モデルと痒みの評価法. 第109回日本皮膚科学会総会. 2010. 4. 16-18. 大阪.
 - 2) 安東嗣修: アレルギー疾患の新規バイオマーカーグランザイム A. 2010 バイオアカデミーフォーラム, 2010. 6. 30. 東京.
 - 3) Andoh T., Kuraishi Y.: Peripheral mechanisms of the induction of itch. *Neuro2010.9.3-4*. 神戸.

- 4) Gotoh Y, Haza S, Yoshida T, Andoh T, Kuraishi Y.: Milnacipran produces anti-pruritic effect through the activation of α -adrenoceptors. 第20回国際痒みシンポジウム. 10. 30-31. 東京.
- 5) 羽座沙都美, 安東嗣修, 倉石泰: アトピー性皮膚炎のマウスモデルの自発的掻き動作におけるロイコトリエン B4 の関与, 日本薬学会北陸支部第122回例会, 2010, 11, 21, 金沢.

H. 知的財産権の出願・登録状況

- 1) 国際特許出願 (PCT/JP2008/ 73175), アメリカへの移行 (2010/4); 安東嗣修, 中野 祐, 倉石 泰: アレルギー性疾患のバイオマーカーおよびその利用