

## 原発性局所多汗症ガイドライン作成

分担研究者	玉田康彦	愛知医科大学皮膚科 教授
研究協力者	片山一朗	大阪大学医学部皮膚科 教授
	金田真理	大阪大学医学部皮膚科 講師
	田村直俊	埼玉医科大学短期大学看護学科 教授
	吉岡 洋	名古屋第二赤十字病院呼吸器外科 部長
	四宮滋子	しのみやクリニック 院長
	菅野範英	東京医科歯科大学血管外科 助教
	田中智子	東京医科歯科大学皮膚科 助教
主任研究者	横関博雄	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科皮膚科 教授

### 研究要旨

原発性局所多汗症の本邦における診療ガイドラインをまとめた。皮膚科、神経内科、血管外科、胸部外科、精神科などの診療科に所属する多汗症の専門家による原発性局所多汗症診療ガイドライン委員会を4回開催し、多汗症の診断基準、分類および原発性局所多汗症診療ガイドラインを策定した。また、多汗症の各種治療法の有用性をクリニカルクエスション形式でEBMに基づいて検証後、手掌、腋窩、足底の局所多汗症ごとに診療アルゴリズムを作成した。

### A. 研究目的

原発性局所多汗症は、本邦では難治性疾患として認識されておらず、未治療もしくは美容クリニック、エステティックサロンなどで不適切な処置がなされている。しかし、欧米ではすでに原発性局所多汗症に対する適切な診断基準、診療ガイドラインが作成され重症度に応じた段階的な治療がなされている。今回、原発性局所多汗症の診断基準、診療ガイドラインができることにより、本邦における発症頻度が明らかにされ、重症度に応じた治療指針に沿って治療が行われるようになれば、現在のようにボツリヌス毒素局所注射療法、交感神経遮断術などが安易に施行され過剰医療に伴う多くの弊害がもたらされている現状の改善が期待できる。さらには、適切な治療により多汗症に悩む活動期の青年層の精神的苦痛を改善し青年期多汗症患者の勤勉、勤労意欲を高め

ることが可能であることからガイドライン作成委員会を設置し、その治療方針の指針を作成した。

### B. 研究方法

原発性局所多汗症の本邦における診療ガイドラインをまとめた。皮膚科、神経内科、血管外科、胸部外科、精神科などの多汗症の専門家による原発性局所多汗症診療ガイドライン委員会を4回開催し、多汗症の診断基準、分類および原発性局所多汗症診療ガイドラインを策定した。

### C. 結果

#### 診断基準

局所多汗症の診断基準として局所的に過剰な発汗が明らかな原因がないまま6ヶ月以上認められ、以下の6症状うち2項目以上あてはまる場合を多汗症と

診断。

- 1) 最初に症状がでるのが25歳以下であること
- 2) 対称性に発汗がみられること
- 3) 睡眠中は発汗が止まっていること
- 4) 1週間に1回以上多汗のエピソードがあること
- 5) 家族歴がみられること
- 6) それらによって日常生活に支障をきたすこと。

これらの2項目以上を満たす症例や幼小児例では家族からの指摘などを参考にして、それぞれ発汗検査を行って診断を確定する。

### 重症度判定

原発性局所多汗症の重症度は自覚症状により、以下の4つに分類したHyperhidrosis disease severity scale (HDSS)を採用。

自覚症状により

- ① 発汗は全く気にならず、日常生活に全く支障がない。
- ② 発汗は我慢できるが、日常生活に時々支障がある。
- ③ 発汗はほとんど我慢できず、日常生活に頻繁に支障がある。
- ④ 発汗は我慢できず、日常生活に常に支障がある。

の重症度に分類し、③、④を重症の指標にしている。

### 治療法と予後

#### アルゴリズム概説 (図1～4)

原発性多汗症のアルゴリズムを4つの図にまとめた。診断については、図1に示すような続発性の多汗症を除外する必要があるものの、診断基準にてらしまわせば、問診と臨床症状から原発性多汗症の診断は比較的容易であろう。つまり局所的に過剰な発汗が明らかな原因がないまま6ヶ月以上認められ、以下の6症状うち2項目以上あてはまる場合を多汗症と診断している。

これらの2項目以上を満たす症例や幼小児例では家族からの指摘などを参考にして、それぞれ発汗検査を行って診断および重症度を確定する。

治療について、第1選択として塩化アルミニウムの単純/ODT(occlusive dressing technique)外用はま

ず全ての部位に対して第1選択にすることが推奨される(推奨度B)。その効果は腋窩については単純外用で有効であるが、手掌については重症度に応じて、中等症～重症例についてはODT療法を行うなど外用方法を変える必要がでてくる。(図3)外用という手軽さと、副作用としては刺激性皮膚炎があるものの、治療の休止やステロイド外用といったことで対応可能である。足底については過去の報告がわずかなため推奨度C1であるが、やはり第1選択の治療法であると考える。(図4)現在のところ、塩化アルミニウム溶液は病院での院内製剤として処方されており、外用薬の普及が望まれる。

イオントフォレーシスは、手掌、足底には非常に有効な治療法であり、塩化アルミニウム外用療法と並んで推奨度B～C1で塩化アルミニウム外用療法と同じく第一治療法とした。(図3、4)簡便かつ保険適応となっている治療でもあり、機器の普及が今後望まれる。

第2選択の療法は腋窩、手掌、足底多汗症全てにA型ボツリヌス毒素(BT-A)の局注療法である。ボツリヌス毒素局注療法は、腋窩に対して欧米では非常に推奨度の高い治療であるが、本邦においては現時点で保険適応外であり、今回のガイドラインにおいては推奨度B～C1とした。(図2)ただ、手掌、足底に対しては、欧米でも保険適応にはなっていない。その理由として、施術の際の疼痛コントロール法、重症度に応じた投与単位数に決まった見解がまだ十分統一されていないことが挙げられる。この背景を踏まえ、アルゴリズムには推奨度C1とした。(図3、4)

第3選択療法は手掌多汗症のみ内視鏡的胸部神経遮断術(ETS)とした。(図3)ESTについては、手掌多汗症において可逆的な治療を試したが治療に難渋し、かつ十分な説明のもと患者本人の強い希望がある際にという条件付きで推奨度Bとした。ETSが有効であるとするEBMに優れた文献が少なく、代償性発汗をはじめとした合併症の存在も無視できない背景を加味し、遮断部位のT2を避けることを条件として

欄外に記載した。また、腋窩に対する ETS は有効であるものの、外用療法や BTX-A の可逆的治療でもコントロールが比較的望めることから、あえて強くは勧めないという点を加味して欄外への記載にとどめた。

内服療法、神経ブロック、レーザー療法については、いずれもエビデンスレベルが低く、主体的な治療法にはならないが、患者にとって侵襲が低いことから推奨度 C1 ~C2 とした。

図1 診断アルゴリズム

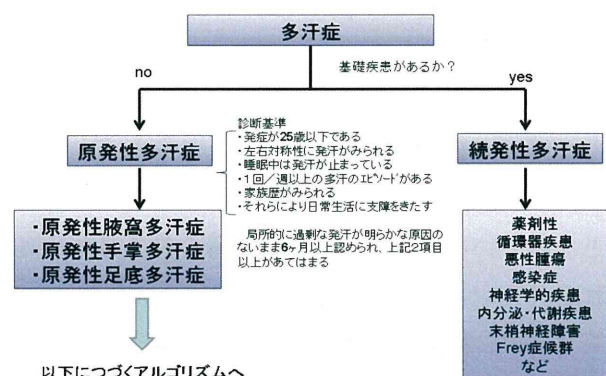


図1

図2：腋窩多汗症

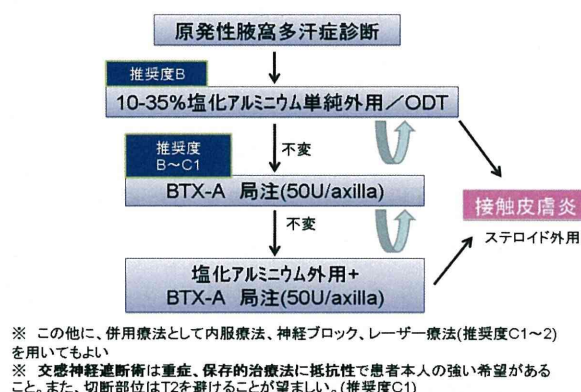


図2 原発性腋窩多汗症における診療アルゴリズム

図3：手掌多汗症

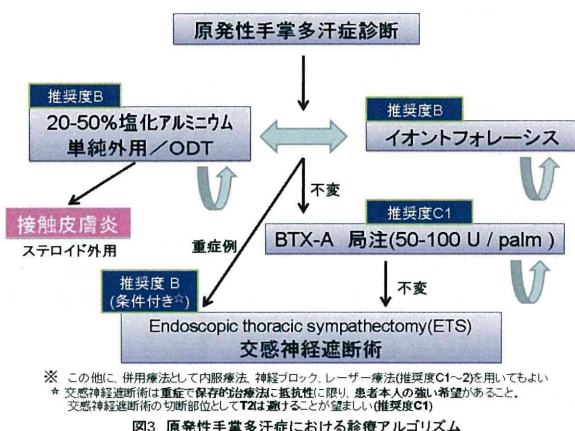
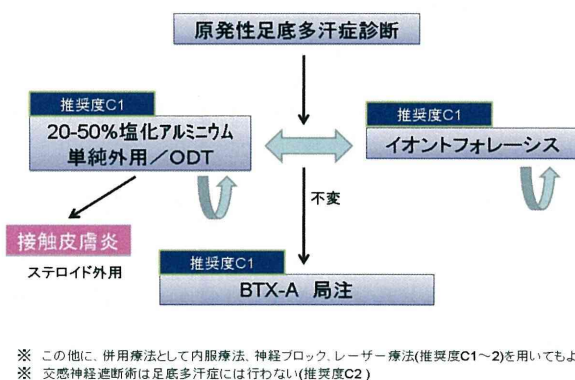


図4：足底多汗症



#### D. 考察

今回のガイドラインで治療について、手掌、腋窩、足底の各々について検討したが、一方で、今のところ強いエビデンスをもち、推奨できる治療法がない顔面の多汗については言及しなかった。顔面、頭部の発汗で非常に困っている患者は多く、今後新しい治療が開発されることを期待する。また、ガイドライン策定上問題になったのが、ボトックスA局所注射療法である。欧米ではすでに、ボトックスA局所注射療法は保険診療適応となり推奨度も腋窩ではA、手掌でもBであるが本邦では保険診療外治療となり推奨度は腋窩でB-C1、手掌、足底ではC1と低く評価したが治療アルゴリズム第2選択療法とした。

## E. 結論

原発性局所多汗症における混乱した現在の診療基準をエビデンスレベルの検討と考察から診療ガイドラインを作成した。結果、重症度に応じた、段階的な治療選択をすることが重要であることを示すことができた。また、代償性発汗についてのエビデンスは検討が困難であり、今後本邦での実態調査を含めた考察が必要である。

## F. 研究発表

### (1) 学会発表

- 1 山下範子、大嶋雄一郎、伊東慶子、河田守弘、西村朱理、玉田康彦、渡辺大輔、松本義也。掌蹠多汗症患者の発汗量推移からみた治療効果。第17回日本発汗学会総会 2009.09 福岡
- 2 伊東慶子、玉田康彦、水谷公彦、山下範子、大嶋雄一郎、河田守弘、西村朱理、渡辺大輔、松本義也。重症手掌多汗症に対するボツリヌス毒素 A90 単位による治療効果。第17回日本発汗学会総会 2009.09 福岡
- 3 大嶋雄一郎、柳下武士、伊東慶子、河田守弘、西村朱理、山下範子、渡辺大輔、玉田康彦、松本義也。掌蹠多汗症における塩化アルミニウム外用療法の作用メカニズムの検討。第17回日本発汗学会総会 2009.09 福岡
- 4 伊東慶子、玉田康彦、水谷公彦、山下範子、大嶋雄一郎、河田守弘、西村朱理、渡辺大輔、松本義也。重症の手掌多汗症に対するボツリヌス毒素 A90 単位による治療結果。第60回日本皮膚科学会中部支部学術大会 2009.10 京都

### (2) 論文発表

1. Yamashita N, Tamada Y, Kawada M, Mizutani K, Watanabe D, Matsumoto Y. Analysis of family history of palmo-plantar hyperhidrosis in Japan. J Dermatol. 2009 Dec;36(12):628-31.
2. Kawada M, Tamada Y, Simizu H, Yanagishita T, Yamashita N, Ishida N, Watanabe D, Yoshida M, Ibi T, Sahashi K, Hashizume Y, Matsumoto Y. Reduction in QSART and vasoactive intestinal polypeptide expression in the skin of Parkinson's disease patients and its relation to dyshidrosis. J Cutan Pathol. 2009 May;36(5):517-21.

## G. 知的所有権の出願・登録状況

なし

## 代償性発汗に対するボツリヌス毒素 A 局所注射療法の治療効果について

研究分担者 玉田 康彦 愛知医科大学皮膚科学客員教授  
研究協力者 柳下 武士 愛知医科学皮膚科学 助教  
岩瀬 敏 愛知医科大学生理学 教授

### 研究要旨

原発性局所多汗症に対する内視鏡的交感神経節切除術 (ETS) 後に生じうる代償性発汗は患者の QOL を著しく低下させる。昨年度われわれは代償性発汗部位にボツリヌス毒素 A (BT-A) を 2cm 間隔で 50 カ所に 2 単位、合計 100 単位を局所注射した。当初 5 症例で 2 ヶ月間の観察で、発汗量の減少と HDSS による自覚症状の改善をは全例に認めたことから、症例数を 8 例に増加し、より長期間の治療効果を検討した。約 6 ヶ月間発汗量の減少と HDSS による自覚症状の改善をほぼ全例に認めた。筋力低下などの副反応もみられず、BT-A の局所注射療法は代償性発汗患者の有用な治療法になりうると考えられる。

### A. 研究目的

原発性局所多汗症に対する内視鏡的交感神経節切除術 (ETS) は有効であるが術後の副反応として予期しない

部位からの多汗つまり代償性発汗を生じることがあり、患者の QOL を著しく低下させる。代償性発汗に対する有効な治療法がないことから、早急な対策が必要であり、われわれは代償性発汗部位にボツリヌス毒素 A (BT-A) の局所注射を行い多汗に対する治療効果を検討した。

(愛知医科大学倫理委員会承認 N0.10-22)

### B. 研究方法

対象患者：ETS 施行後、代償性発汗を生じ当院皮膚科外来に受診した成人患者。目標

症例数は 10 症例で現在 8 症例を登録している。

本学第 2 生理学講座の人工気候室にて、ミノール法を行い多汗の有無、多汗部位を特定し、換気カプセル法により発汗量を計測した。多汗の程度と部位の特定を行った後、BT-A(Botox, Allergan Inc.)を最も不快に感じている多汗部位に縦横方向に 2cm 間隔で皮内に局所注射を行う。1 部位あたり 2 単位の BT-A を総量 100 から 200 単位を限度として局所注射を行う。評価方法は 1 ヶ月毎に治療効果の推移を簡易ミノール法と換気カプセル法を用いて約 6 ヶ月間発汗量を測定する。Hyperhidrosis disease severity scale(HDSS)を用いて自覚症状の改善度の検索を行う。また患者さんの満足度、局所注射

に対する要望に対してアンケート調査をおこなう。

### C. 研究結果

BT-A 局所注射により、注射部位の発汗量は換気カプセル法で計測した7例で投与1ヶ月後より有意に減少し、5ヶ月後で6例、6ヶ月後で4例の計測で発汗量の減少が確認された(図1)。HDSSによる発汗量減少の自覚にはばらつきがあるが、多数例で2-3ポイント減少しており、HDSSが1になった症例もあり、満足度が高い結果が得られた。アンケート調査においても7例が満足しており、他の多汗部位への追加投与や効果消退時の再投与の希望が半数以上にみられた(図2)。

BT-A 局注に伴い生じる可能性のある一時的な筋力低下は全例認めておらず、また注射時の疼痛も注射前のクーリングと細い注射針を併用することで容認でき、現在のところ目立った副反応を生じていない。

### D. 考察

代償性発汗の治療にBT-Aを用いた報告は少ないが、Kim WOら(Dermatol Surg.2009)は17例の代償性発汗部位に100~500単位のBotoxを1.5cm間隔で局注し、約10ヶ月間にわたってHDSSスコアの改善を確認している。われわれのBT-A局所注射による治療効果は約6ヶ月間にわたって持続していた。局注部の発汗量は1ヶ月後より速やかに低下し、自覚症状の改善と日常生活での満足度が高いことから、代償性発汗部位へのBT-A局所注は有効な治療法になりうると考えている。

BT-Aをより広範囲に投与するため、少数例で投与部位の間隔4cmに広げると発汗量の減少が少なく、満足度も低いことから、投与部位の間隔は2cmが適切と考える。

したがって広範囲に投与するためにはBT-Aの増量が必要であり、安全性や他部位からの代償性発汗などの副反応の有無等を検討していく必要がある。

### E. 結論

原発性局所多汗症に対する内視鏡的交感神経節切除術(ETS)後に生じた代償性発汗の患者にBT-Aの局所注射を行い、6ヶ月間にわたって同部位の発汗量の著明な低下と自覚症状の改善がみられた。多汗部位へのBT-A局所注射療法は代償性発汗の有効な治療法になりうると考えている。

### F.健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### (1) 論文発表

1. 伊東慶子、玉田康彦、大嶋雄一郎、柳下武士、渡辺大輔. ボツリヌス毒素注射(掌蹠多汗症) 皮膚臨床 52, 1552-1555, 2010.
2. 玉田康彦. 皮膚粘膜と付属器の疾患：原発性局所多汗症診療ガイドラインの概要. 日皮会誌 120, 2892-2895, 2010.
3. Ito K, Yanagishita T, Ohshima Y, Tamada Y, Watanabe D. Therapeutic effectiveness of botulinum toxin type A on severity of palmar hyperhidrosis. J Dermatol 2011,38,859-63.
4. Nishimura J, Tamada Y, Iwase S, Kubo A, Watanabe D, Matsumoto Y. A case of lung cancer with unilateral

anhidrosis and contralateral hyperhidrosis as the first clinical manifestation. J Am Acad Dermatol 2011,65,438-40.

5. 大嶋雄一郎、伊東慶子、玉田康彦、渡辺大輔、西村直記、岩瀬敏、菅屋潤壹. 過去5年間における愛知医科大学皮膚科を受診した特発性後天性全身性無汗症患者の治療経過について. 発汗学 2011; 18,3-6.

## (2) 学会発表

1. 発汗異常症の治療ガイドライン作成に向けて(ボトックス、イオントフォレーシスを含む)第109回日本皮膚科学会総会 2010.04 大阪
2. 西村朱理、玉田康彦、渡辺大輔、松本義也、岩瀬敏. 片側性発汗異常により脊髄病変が見つかった3例. 第109回日本皮膚科学会総会 2010.04 大阪
3. 玉田康彦. 原発性局所多汗症の診療ガイドラインについて. 第18回日本発汗学会総会イブニングセミナー 2010.08 大阪
4. 柳下武士、玉田康彦、大嶋雄一郎、伊東慶子、渡辺大輔. 掌蹠多汗症に対する塩化アルミニウム外用療法におけるアルミニウム局所分布についての検討. 第18回日本発汗学会総会 2010.08 大阪
5. 伊東慶子、玉田康彦、大嶋雄一郎、柳下武士、渡辺大輔. 重症掌蹠多汗症の重症度によるボツリヌス毒素Aの治療効果. 第18回日本発汗学会総会 2010.08 大阪
6. 西村直記、岩瀬敏、菅屋潤壹、吉岡洋、村瀬允也、玉田康彦. 手掌多汗症者に対するETS後の発汗分布について. 第18回日本発汗学会総会 2010.08 大阪
7. 犬飼洋子、岩瀬敏、清水裕樹、桑原祐子、西村直記、佐藤麻紀. Dominika kanikowska、菅屋潤壹、西村朱里、玉田康彦. 限局性多汗症の原因が片側胸部の過伸展により生じた無汗部の代償であると考えられた1例. 第18回日本発汗学会総会 2010.08 大阪
8. 大嶋雄一郎、伊東慶子、玉田康彦、渡辺大輔、西村直記、岩瀬敏、菅屋潤壹. 過去5年間における当大学皮膚科を受診

した特発性無汗症患者の治療経過について. 第61回日本皮膚科学会中部支部学術大会 2010.9 大阪

9. 大嶋雄一郎、石田奈津子、春日井親俊、柳下武士、伊東慶子、玉田康彦、渡辺大輔、西村直記、岩瀬敏、菅屋潤壹. 2歳女兒に発症した特発性後天性全身性無汗症の1例. 第19回日本発汗学会総会 2011.09 名古屋
10. 伊東慶子、玉田康彦、大嶋雄一郎、柳下武士、渡辺大輔. 皮膚科医の立場から. 第19回日本発汗学会総会 ワークショップ 2011.09 名古屋
11. 犬飼洋子、岩瀬敏、西村直記、佐藤麻紀、清水裕樹、桑原裕子、菅屋潤壹、佐橋功、玉田康彦. 片側顔面紅潮 (harlequin syndrome) と交叉性発汗障害を呈した3小児例の経過の機序. 第19回日本発汗学会総会 2011.09 名古屋
12. 柳下武士、玉田康彦、大嶋雄一郎、伊東慶子、渡辺大輔、西村直記、岩瀬敏、吉岡洋、村瀬允也. 代償性発汗に対するボツリヌス毒素A局所注射療法の治療効果. 第19回日本発汗学会総会 2011.09 名古屋

H.知的所有権の出願、登録状況  
なし

図 1

BTA局注後、ミノール法による径時観察: Case 1



図 2

BTA治療前後の発汗量の推移(換気カプセル法による定量)

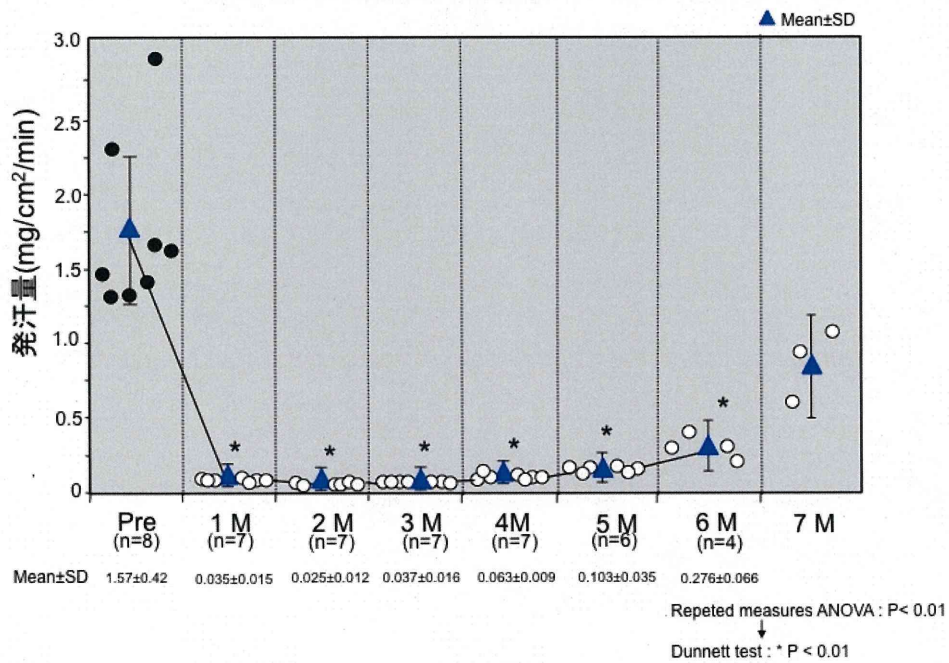
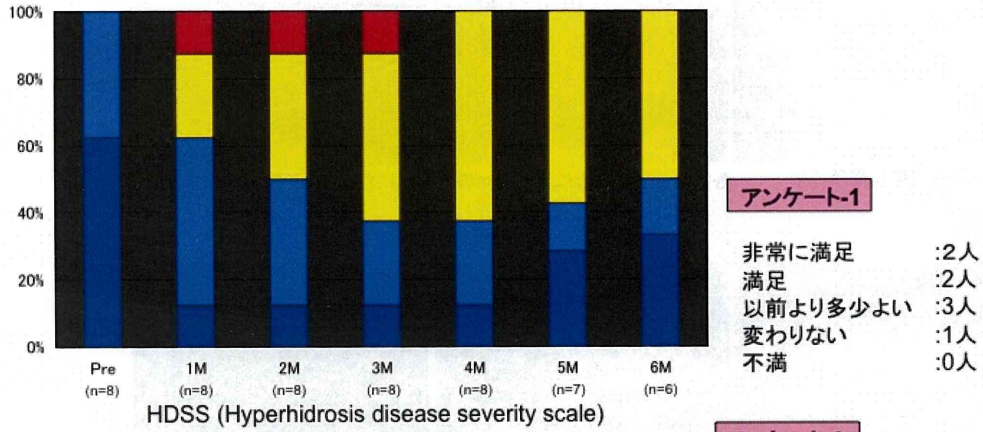




図 3

HDSS値による発汗の自覚程度と満足度の推移



- HDSS 1: 発汗は全く気にならず、日常生活に全く支障がない
- HDSS 2: 発汗は我慢できるが、日常生活に時々支障がある
- HDSS 3: 発汗はほとんど我慢できず、日常生活に頻繁に支障がある
- HDSS 4: 発汗は我慢できず、日常生活に常に支障がある

アンケート-1

- 非常に満足 :2人
- 満足 :2人
- 以前より多少よい :3人
- 変わらない :1人
- 不満 :0人

アンケート-2

追加投与の希望:5例  
(他の多汗部位にも施行)

効果がなくなった時にまた  
施行したい:5例

## 難治性重症原発性局所多汗症の病態解析及び治療指針の確立

研究分担者 片山一朗 大阪大学大学院医学系研究科皮膚科学 教授

### 研究要旨

特発性多汗症患者における労働生産性、学習生産性の障害に関する準備研究と発汗における神経ペプチドの役割の解明

#### A. 研究目的

1. WPAI (the Work Productivity and Activity Impairment)を指標に多汗症患者の労働、学習能率の低下を検討するための準備研究を行った。

2. 限局性局所多汗症は発症、誘発機序不明の疾患である。その機序はコリン作動性の交感神経が優位に作用することとされているが、その具体的な制御機構は不明の点が多い。アレルギー炎症の病態形成に関与する化学伝達物質や神経ペプチドがアセチルコリン誘発性発汗に与える影響を検討するために、マウスを用いたミノール法変法により発汗量を半定量化する試みを行い、この方法でサブスタンス P、ヒスタミンの発汗に対する影響を検討した。

#### B. 研究方法

1. 多汗症によりどの程度労働ないし学習の能率が影響を受けているかを、WPAI, VAS(Visual analog scale)法を中心に検討した。

2. 5 $\mu$ gの塩酸ピロカルピン(Pilo)のみ、あるいは10 $^{-6}$ MのサブスタンスP(SP)を足底に皮下注

射したのち2分後の反応をみた。

発汗のdotをカウントし、発汗量の指標とした。

(倫理面への配慮)

連結不可能匿名化された臨床情報を集計した。

#### C. 研究結果

1. 勤労者では多汗症自体では会社を休む例はなく、いわゆるAbsenteesmとしての生産性の低下は見られなかった。また労働生産性の低下は47.14 %であり、他の皮膚疾患より障害率が高かった。

SPはC57BL/6, BALB/cいずれの系統においてもPilo誘導性の発汗を有意に抑制した。

#### D. 考察

今回の結果からアセチルコリンはマウスの系統に関わらず、末梢において主に交感神経を介して発汗を誘導し、SPはこの発汗作用に影響を与える事が示唆された。また多汗症は、その労働生産性に与える影響が大きく、その

適切な治療が望まれる。

F. 研究発表  
(英文論文)

1. Kitaba S, Murota H, Terao M, Azukizawa H, Terabe F, Shima Y, Fujimoto M, Tanaka T, Naka T, Kishimoto T, Katayama I: Blockade of interleukin-6 receptor alleviates disease in mouse model of scleroderma. *Am J Pathol.* 2012; 180:165-76.
2. Terao M, Murota H, Kimura A, Kato A, Ishikawa A, Igawa K, Miyoshi E, Katayama I: 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase-1 is a novel regulator of skin homeostasis and a candidate target for promoting tissue repair. *PLoS One.* 2011; 6(9):e25039
3. Murota H, Katayama I: Assessment of antihistamines in the treatment of skin allergies. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2011; 11(5): 428-37.
4. Nishioka M, Tani M, Murota H, Katayama I: Eosinophilic pyoderma gangrenosum with pulmonary and oral lesions preceded by eosinophilic pneumonia: Unrecognized syndromic manifestations? *Eur J Dermatol.* 2011; 21(4): 631-2.
5. Terao M, Ishikawa A, Nakahara S, Kimura A, Kato A, Moriwaki K, Kamada Y, Murota H, Taniguchi N, Katayama I, Miyoshi E: Enhanced Epithelial-Mesenchymal Transition-like Phenotype in N-Acetylglucosaminyltransferase V Transgenic Mouse Skin Promotes Wound Healing. *J Biol Chem.* 2011; 286(32): 28303-11.
6. Murakami Y, Wataya-Kaneda M, Terao M, Azukizawa H, Murota H, Nakata Y, Katayama I: Peculiar distribution of tumorous xanthomas in an adult case of erdheim-chester disease complicated by atopic dermatitis. *Case Rep Dermatol.* 2011; 3(2): 107-12.
7. Murakami Y, Matsui S, Kijima A, Kitaba S, Murota H, Katayama I: Cedar pollen aggravates atopic dermatitis in childhood monozygotic twin patients with allergic rhino conjunctivitis. *Allergol Int.* 2011; 60(3): 397-400.
8. Kitaba S, Matsui S, Iimuro E, Nishioka M, Kijima A, Umegaki N, Murota H, Katayama I: Four Cases of Atopic Dermatitis Complicated by Sjögren's Syndrome: Link between Dry Skin and Autoimmune Anhidrosis. *Allergol Int.* 2011; 60(3): 387-91.
9. Murota H, Katayama I: Lichen aureus responding to topical tacrolimus treatment. *J Dermatol.* 2011; 38(8): 823-5.

10. Terao M, Nishida K, Murota H, Katayama I. Clinical effect of tocoretinate on lichen and macular amyloidosis. *J Dermatol*. 2011; 38(2): 179-84.
11. Kiyohara E, Tamai K, Katayama I, Kaneda Y: The combination of chemotherapy with HVJ-E containing Rad51 siRNA elicited diverse anti-tumor effects and synergistically suppressed melanoma. *Gene Ther*. (In press)
12. Hanafusa T, Azukizawa H, Kitaba S, Murota H, Umegaki N, Terao M, Sano S, Nakagiri T, Okumura M, Katayama I: Diminished regulatory T cells in cutaneous lesions of thymoma-associated multi-organ autoimmunity: a newly described paraneoplastic autoimmune disorder with fatal clinical course. *Clin Exp Immunol*. 2011; 166(2): 164-70
13. Kotobuki Y, Tanemura A, Yang L, Itoi S, Wataya-Kaneda M, Murota H, Fujimoto M, Serada S, Naka T, Katayama I: Dysregulation of Melanocyte Function by Th17-related Cytokines: Significance of Th17 Cell Infiltration in Autoimmune Vitiligo Vulgaris. *Pigment Cell Melanoma Res*. (in press)
14. Namiki T, Tanemura A, Valencia JC, Coelho SG, Passeron T, Kawaguchi M, Vieira WD, Ishikawa M, Nishijima W, Izumo T, Kaneko Y, Katayama I, Yamaguchi Y, Yin L, Polley EC, Liu H, Kawakami Y, Eishi Y, Takahashi E, Yokozeki H, Hearing VJ: AMP kinase-related kinase NUA2 affects tumor growth, migration, and clinical outcome of human melanoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011; 108(16): 6597-602.
15. Wataya-Kaneda M, Tanaka M, Nakamura A, Matsumoto S, Katayama I: A novel application of topical rapamycin formulation, an inhibitor of mTOR, for patients with hypomelanotic macules in tuberous sclerosis complex. *Arch Dermatol*. (in press)
16. Wataya-Kaneda M, Tanaka M, Nakamura A, Matsumoto S, Katayama I: A topical combination of rapamycin and tacrolimus for the treatment of angiofibroma due to tuberous sclerosis complex (TSC): a pilot study of nine Japanese patients with TSC of different disease severity. *Br J Dermatol*. 2011; 65(4): 912-6.
17. Arase A, Wataya-Kaneda M, Oiso N, Tanemura A, Kawada A, Suzuki T, Katayama I: Repigmentation of leukoderma in a piebald patient associated with a novel c-KIT gene mutation, G592E, of the tyrosine

- kinase domain. *J Dermatol Sci.* 2011; 58: 147-9.
18. Murakami Y, Wataya-Kaneda M, Terao M, Azukizawa H, Murota H, Nakata Y, Katayama I: Peculiar distribution of tumorous xanthomas in an adult case of erdheim-chester disease complicated by atopic dermatitis. *Case Rep Dermatol.* 2011; 3(2): 107-12.
  19. 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.
  20. Terao M, Nishida K, Murota H, Katayama I : Clinical effect of tocoretinate on lichen and macular amyloidosis. *J Dermatol.* 2011; 38(2): 179-84.
  21. 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.
  22. 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
  23. Shimbo T, Tanemura A, Yamazaki T, Tamai K, Katayama I, Kaneda Y: Serum anti-BPAG1 auto-antibody is a novel marker for human melanoma. *PLoS One.* 2010; 5(5): e10566.
  24. 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.
  25. Wataya-Kaneda M, Katayama I: Dissociate expression of TSC-1 product hamartin in a skin and pulmonary lesion of a tuberous sclerosis complex. *Hum Pathol.* 2009; 40: 430-4.
  26. Gunadi K, Miura M, Ohta A, Sugano, Myeong JL, Yumi S, Wataya-Kaneda M, Katayama I, Nishigori C, Matuo M, Takaoka Y, Nishio H: Two Novel mutation in ED1 Gene in Japanese Families With X-Linked Hypohidrotic

- Ectodermal dysplasia. Pediatric research. 2009; 65: 453-7.
27. Murakami Y, Wataya-Kaneda M, Tanaka M, Myoui A, Sakata Y, Katayama I: Case of schwannomatosis. The Journal of Dermatology. 2009; 36(9); 508-11.
- (日本語論文)
1. 室田浩之, 北場俊, 片山一朗他: 大阪大学関連施設を中心としたアトピー性皮膚炎患者の生活習慣実態調査研究 J Environ Dermatol Cutan Allergol. 2011; 5:1 03-14.
  2. 田村忠史, 室田浩之, 片山一朗: オロパタジンによる痒みと表皮内神経線維の伸長の制御 アレルギーと神経ペプチド 2011; 7: 32-6.
  3. 北場俊, 室田浩之, 熊ノ郷卓之, 足立浩祥, 片山一朗: 【アレルギー疾患と睡眠障害】臨床医学からのアプローチ 蕁麻疹・アトピー性皮膚炎と睡眠障害. アレルギー免疫 2011; 18 : 230-5.
  4. 種村篤, 高橋彩, 上木裕理子, 山中隆嗣, 室田浩之, 山口裕史, 片山一朗: 尋常性白斑に対する活性型ビタミンD3外用と紫外線照射併用療法の有効性についての検討ー活性型ビタミンD3外用に日光浴もしくはナローバンドUVB照射を併用した患者群の比較ー 皮膚の科学. 10(6), 2011 掲載予定
  5. 山中隆嗣, 種村篤, 金田眞理, 片山一朗, 平川聡史, 橋本公二 他脳転移を来たした乳房外 Paget 癌の 1 例 : 剖検結果と進展様式の考察 皮膚の科学 2010; 9(3):229-36.
  6. 田中智子, 横関博雄, 片山一朗, 金田眞理, 田村直, 菅野範英, 吉岡洋, 玉田康彦, 四宮滋子: 原発性局所多汗症診療ガイドライン日本皮膚科学会雑誌 2010; 120: 1607-25.
  7. 金田眞理, 片山一朗: ファブリー病に対する酵素補充療法. 皮膚病診療 2009 ; 31 (3) : 357-64
  8. 室田浩之, 北場 俊, 谷 守, 金田眞理, 梅垣知子, 片山一朗: かゆみを伴う皮膚疾患患者での労働生産性の評価とヒスタミン H1 拮抗薬による改善効果の検討. Progress in Medicine 2009 ; 29 (7) : 1842-8.
- 2.学会発表
1. 片山一朗: アトピー性皮膚炎-最新の病態と今後の治療-第 356 回日本皮膚科学会山形地方回ランチョンセミナー山形 2011.12.4.
  2. 北場俊, 室田浩之, 花房崇明, 小豆澤宏明, 片山一朗: 抗 IL-6 受容体抗体はブレオマイシン (BLM) 誘導性強皮症モデルマウスの症状を改善する 第 61 回日本アレルギー学術秋季学術大会 東京 2011.11.10-12.
  3. 阿部理一郎, 齋藤奈央, 藤田靖幸, 吉岡直也, 保科大地, 前博克, 林宏明, 藤本亘, 梶原一亨, 尹浩信, 小豆澤宏明, 片山一朗, 清水宏: グラニューライシン迅速測定キットを用いた重症薬疹早期診断の検討. 第 61 回日本アレルギー学術秋季学術大会 東京 2011.11.10-12.

4. 田中文,糸井沙織,松井佐起,谷守,花房崇明,井川健,片山一朗,千貫祐子,森田栄伸: OAS が先行し、茶のしずく石鹼使用後に発症した WDEIA の一例: 石鹼の Inflammasome 刺激作用の検討. 東京 2011.11.10-12.
5. 松井佐起, 北場俊, 荒瀬規子, 室田浩之, 片山一朗, 森山達哉: 花粉症患者における交叉反応性野菜・果物特異的 IgE の検出: 花粉所言うから OAS 発症までの経過を追う. 第 61 回日本アレルギー学術秋季学術大会 東京 2011.11.10-12.
6. 辻知江, 田中文, 種村篤, 谷守, 片山一朗, 白山純実, 八幡陽子, 飯島英樹, 水島恒和: 人工肛門周囲に発症した壊疽性膿皮症の 2 例. 第 63 回日本皮膚科学会西部支部学術大会 東京 2011.11.10-12.
7. 田中文, 早石祥子, 横見明典, 種村篤, 谷守, 片山一朗, 増澤幹男, 中嶋安彬: 自然消退した原発不明転移性血管肉腫の一例. 第 63 回日本皮膚科学会西部支部学術大会 沖縄 2011.10.8-9.
8. 糸井沙織, 梅垣知子, 吉良正浩, 片山一朗, 堀内孝彦: 1 型遺伝性血管性浮腫を合併した関節症乾癬の 1 例. 第 63 回日本皮膚科学会西部支部学術大会 沖縄 2011.10.8-9.
9. 清原英司, 横見明典, 種村篤, 片山一朗, 緒方篤: 関節リウマチへのトリシズマブ(抗 IL-6 抗体)投与により頻回な皮膚潰瘍、血疱、紫斑を生じ Paradoxical Neutrophilic dermatosis と考えた一例. 第 63 回日本皮膚科学会西部支部学術大会 沖縄 2011.10.8-9.
10. 片山一朗: 日本における白斑治療の最新情報. 中国西域皮膚科学術集会 ウルムチ、中国 2011.8.26.
11. 大畑千佳, 片山一朗: 外陰部の癬痕. 第 27 回 日本皮膚病理組織学会 東京 2011.7.23.
12. 千田聡子, 西岡めぐみ, 井川 健, 片山一朗: ドレニゾンテープによる治療が奏効した necrobiosis lipidica の 2 例 第 104 回 近畿皮膚科集談会 大阪 2011.7.10
13. 中野真由子, 矢島智子, 糸井沙織, 壽 順久, 種村 篤, 片山一朗: 尋常性白斑を合併したアトピー性皮膚炎の臨床的特徴および免疫組織化学染色による検討. 第 104 回 近畿皮膚科集談会 大阪 2011.7.10.
14. 室田浩之, 北場俊, 片山一朗, 嶋良仁, 桑原, 祐介, 田中敏郎, 岸本忠三: 治療抵抗性の全身性強皮症に対するトシリズマブ (アクテムラ) の使用経験. 第 100 回 日本皮膚科学会静岡地方会 浜松 2011.6.19
15. 片山一朗: アトピー性皮膚炎の最新治療. 第 28 回 日本医学会総会 2011 東京 2011.4.8-10.
16. Katayama I, Kijima A, Ishikawa A, Matsui S, Kitaba S. Murota H : Abnormal Axon Reflex-mediated Aweating in Atopic Dermatitis; Possible Relationship to Impaired Barrier/Function WCD2011 Atopic Dermatitis Ancillary Meeting Seoul; Seoul, Korea 2011.3.24.
17. Katayama I, L Nieuweboer ,Krobotova

Y ,Y Gauthier : Definition of Koebner phenomenon. Agenda of Vitiligo Global Issues Consensus Conference Preparation Meeting during WCD Seoul Seoul, Korea 2011.3.24.

第 60 回日本皮膚科学会中部支部学術大会  
京都 2009.10.10-11.

18. Yajima T, Katayama I: Five Cases of Vitiligo Vulgaris Complicated by Adult Atopic Dermatitis. 1st Vitiligo World Congress, Milano, 2010.9.23-25.
19. Itoi S, Katayama I: Five Cases of Vitiligo Vulgaris Complicated by Adult Atopic Dermatitis. 1st Vitiligo World Congress, Milano, 2010.9.23-25
20. Kotobuki Y, Katayama I: Proinflammatory Cytokines Regulate MITF-related Molecules Expression and Melanin Production in vitro. -Possible Pathogenesis of Vitiligo- 1st Vitiligo World Congress, Milano, 2010.9.23-25.
21. 田中まり, 金田眞理, 片山一朗: 結節性硬化症の顔面血管線維腫に対するラパマイシン軟膏外用療法 第 61 回日本皮膚科学会中部支部学術大会 大阪 2010.9.11.
22. 村上有香子, 金田眞理, 田中まり, 片山一朗: 分節型神経線維腫症の合併が疑われた結節性硬化症の一例法. 第 109 回日本皮膚科学会総会 大阪 2010.4.16-1.
23. 田中まり, 金田眞理, 片山一朗: 結節性硬化症の肺病変. 第 108 回日本皮膚科学会総会 福岡 2009.4.24-26.
24. 田中まり, 金田眞理, 片山一朗: 結節性硬化症の血管線維腫に対する CO2 治療.

G. 知的財産権の出願・登録状況  
なし



## 皮膚・汗腺におけるアクアポリン蛋白発現と制御解析

分担研究者 佐々木 成 東京医科歯科大学大学院腎臓内科学分野 教授  
研究協力者 内田 信一 東京医科歯科大学大学院腎臓内科学分野 准教授  
井上梨紗子 東京医科歯科大学大学院皮膚科学分野 大学院生

研究要旨:アクアポリン(以下 AQP)は水を選択的に通す膜蛋白で、浸透圧勾配により1秒間に億を超える水分子が通過するが、これはアクアポリンも持たない脂質2重膜の100倍程度の水透過能となる。よって AQP は、素早い水の透過を必要とする細胞、上皮、および臓器で活躍している可能性があり、実際腎臓での水の出納調節は集合尿管における AQP2 が担っており、その異常は腎性尿崩症を引き起こす。今まで得られた結果の総括として、(1) AQPs 阻害作用のある Hg をマウスに投与し、発汗が有意に低下したことを示す。(2) ヒト皮膚汗腺における AQP5 の詳細な局在を示す。(3) マウス汗腺において、発汗時と発汗乏時における AQP5 に局在差があることを示す。(4) 極性をもたせることができる MDCK (Madin-Darby canine kidney) cell line を用いて AQP5 を安定発現させ、その機能制御機構の解析を行った結果を示す。以上得られた結果より、発汗時 AQP5 は汗腺分泌部において、細胞質から管腔膜に trafficking (移動)することを通して原汗産生に重要な役割を果たしていると考えられる。AQP5 は発汗調節薬の標的として有望な候補と考える。

### (1) マウス paw 発汗における塩化水銀 $\text{HgCl}_2$ の阻害効果

#### A. 研究目的

げっ歯類汗腺には AQP5 が発現し、発汗における重要な役割を担っている可能性が推察されるが、AQP5 ノックアウトマウスの過去の報告では、別々のグループから発汗が有意に低下したという報告と、有意な低下はなかったという報告とが存在する (Nejsum LN et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 511 2002, Song Y et al. *J Physiol* 541: 561 2002)。AQP5 を含むいくつかの AQPs を特異的に阻害する薬剤として確立されている  $\text{HgCl}_2$  をマウス paw に皮下注射し、その発汗への影響を調べる。

#### B. 研究方法

マウス paw に、1mM  $\text{HgCl}_2$  (生理食塩水で希釈) を皮下注射し、ミノール変法で発汗状態を確認する。コントロールは生理食塩水 (Ns: 0.9% NaCl) を同量皮下注射したものとする。

#### C. 研究結果

$\text{HgCl}_2$  ないし Ns をマウス paw に皮下注射し、提示の時間経過後の発汗状態を (図1) に示す。黒い dot が発汗部位・発汗量を反映する。

$\text{HgCl}_2$  投与30分後より、コントロールと比べ明らかに発汗量が低下した。

#### D. 考察

$\text{HgCl}_2$  は AQP5 を含む AQPs の阻害薬として確立しているが、得られた結果が、AQP5 阻害の影響のみを反映しているのか、 $\text{HgCl}_2$  の汗腺・発汗における他の影響も反映しているのかは不明ではある。しかしながら

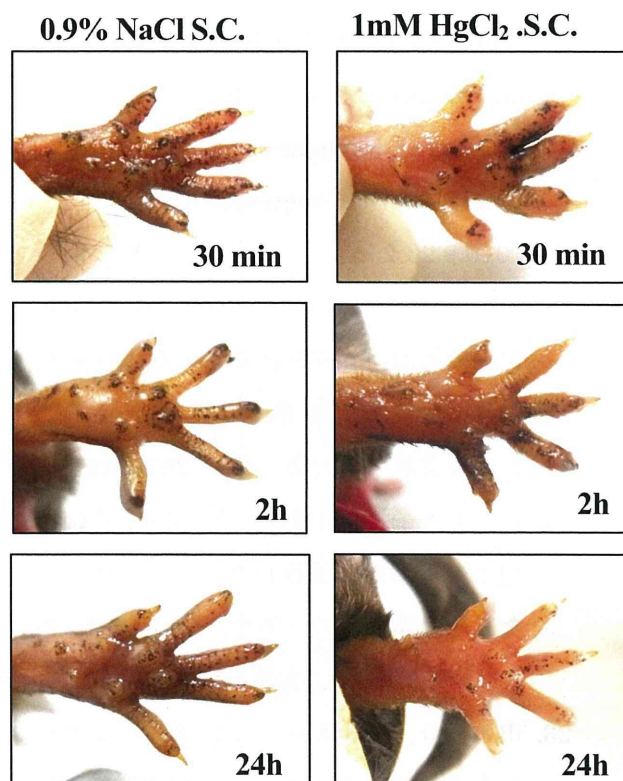


図1: マウス paw 発汗における  $\text{HgCl}_2$  の影響

本結果は AQP5 が発汗に重要な役割を果たす可能性を示唆していると考えた。

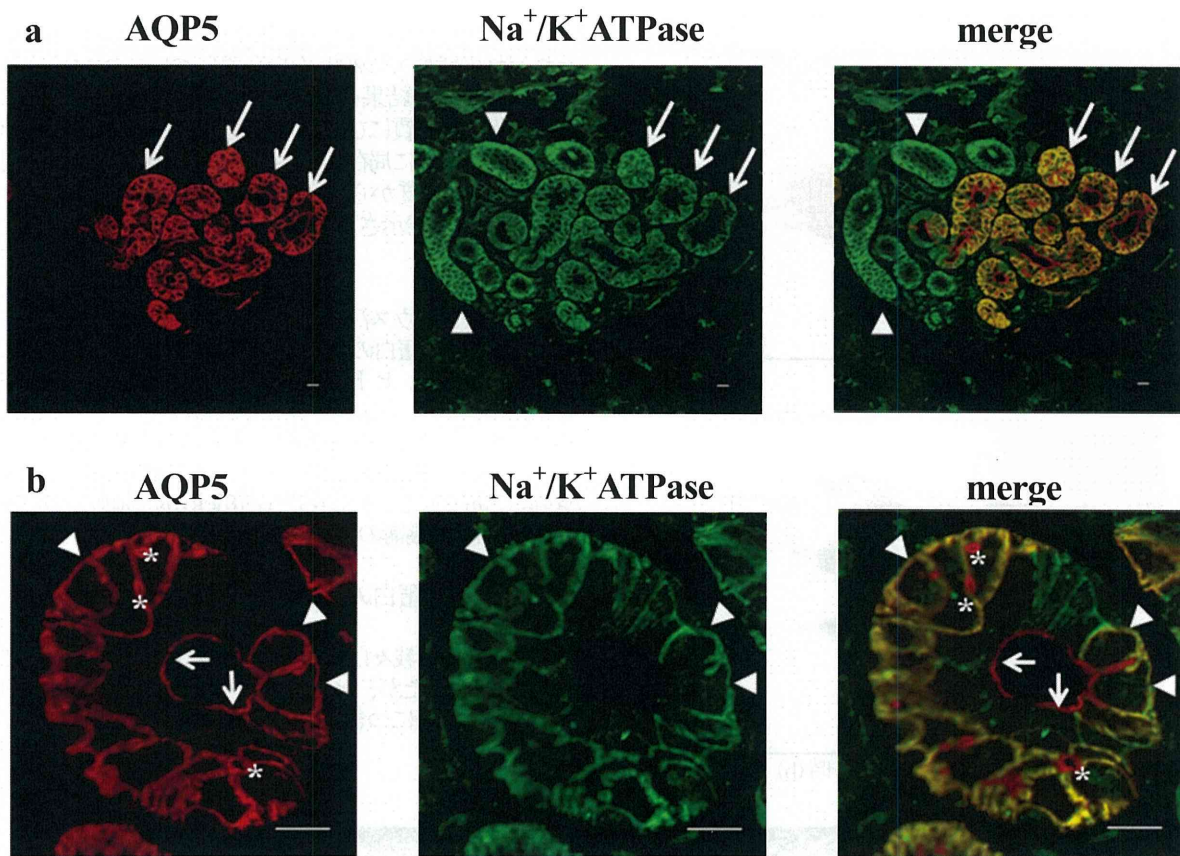


図2：ヒト汗腺におけるAQP5の局在 Bar = 10 $\mu$ m.

## (2) ヒト皮膚汗腺におけるAQP5の局在

### A. 研究目的

ヒト皮膚汗腺におけるAQP5の局在は、過去いくつかの報告があるが(Kabashima K et al. *J Am Acad Dermatol* 59: S28 2008, Brown MB et al. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 300: R605 2011)、より詳細な局在を明らかにするために、我々のグループにおいても免疫染色を試みた。

### B. 研究方法

同意の得られた患者より、正常皮膚の皮膚生検を行い、ホルマリン固定後、パラフィン包埋し、標本作製した。AQP5及びNa<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase抗体で染色、蛍光抗体を2次抗体とし、共焦点顕微鏡にて観察した。本研究は東京医科歯科大学医学部附属病院倫理審査の承認を得ている。

### C. 研究結果

結果を図2に示す。図2 (a) AQP5(赤)は分泌部: secretory portion (矢印)にみとめられるが、汗管: ductal portion (矢頭)にはみとめなかった。一方、Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase(緑)は分泌部・汗管ともに発現がみられたが、汗管により強い発現がみられた(矢頭)。

図2 (b) 分泌部の拡大像。AQP5(赤)は管腔膜: apical膜(矢印)と、intercellular canaliculi (アスタリスク)膜と、明調細胞: clear cellの基底膜および側膜: basolateral膜(矢頭)にみとめた。Clear cellのbasolateral膜においては、Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase(緑)とcolocalizeしていた。

### D. 考察

分泌部における汗産生において、明調細胞: clear

cell は漿液性のfluidを分泌する細胞と考えられており、水透過に関わるAQPがapical膜のみならずbasolateral膜にも発現している点は、この解釈と合致する。また、その機能について詳しく分かっていないintercellular canaliculiは、apical膜に開口しているとされるが、AQP5の発現がみられることから、水透過の一役を担っていることが予想された。

## (3) マウス汗腺におけるAQP5 trafficking

### A. 研究目的

AQP2では、腎集合管においてvasopressinの刺激で細胞質からapical膜にtrafficking (移動)し、その機能を果たす(Fushimi et al. *Nature* 361:549 1993, Nielsen et al. Nielsen et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:11663 1993, Yamamoto et al. *Am J Physiol* 268:C1546 1995)。AQP2と相同性の高いAQP5のtraffickingについては、唾液腺スライスや細胞実験での報告があるが(Ishikawa et al. *Biochem Biophys Res Commun* 245:835 1998, Ishikawa et al. *Biochem Biophys Res Commun* 265:94 1999)、汗腺についての報告はまだない。ヒトでの実験は困難なため、マウス汗腺について検討した。

### B. 研究方法

マウスpaw発汗時と無汗時の組織を速やかに採取し、ホルマリン固定後、パラフィン包埋し、標本作製した。AQP5抗体で染色、蛍光抗体を2次抗体とし、共焦点顕微鏡にて観察した。

### C. 研究結果

マウスは愛護的に把持しミノール変法で確認すると、pawやdigitに自然に発汗がみられた(図3 (b))。麻酔で

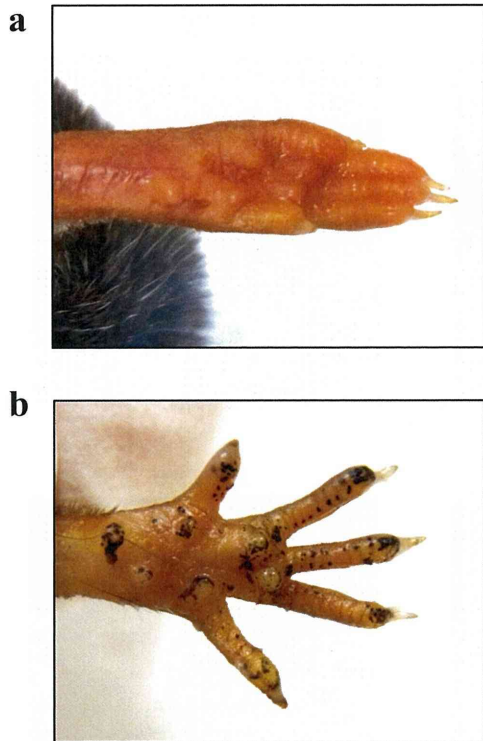


図3 マウスpaw 安静時(a)および発汗時(b)

安静にすると発汗をほとんどみとめなかった(図3 (a))。それぞれの状態でのAQP5の局在差について検討したところ、図4, 5の結果を得た。すなわち、安静時AQP5はapical膜と細胞質にびまん性に局在するが(図4)、発汗時apical膜のみに局在する(図5)。以上AQP5は発汗刺激により細胞質からapical膜に一部traffickingすることが*in vivo*で示された。

#### D. 考察

ヒト汗腺とマウス汗腺の構造は異なり、AQP5の局在も異なるが、AQP5蛋白の基本的機能は種を超えて保存されていると考える。ヒト汗腺においても、発汗刺激によりAQP5は細胞質からapical膜へtrafficking (移動)し、その機能を果たす——水透過性を高めると考えられる。

マウス汗腺安静時においても一定量のAQP5がapical膜に局在することから、trafficking制御のみならず、他の制御機構の可能性も推察される。

#### (4) ヒトAQP5蛋白の細胞内trafficking

##### A. 研究目的

上記のように我々は、マウス汗腺におけるAQP5のtraffickingを示したが、ヒトAQP5について発汗時の細胞内シグナル伝達系につき、新たな知見を得ようと試みた。

##### B. 研究方法

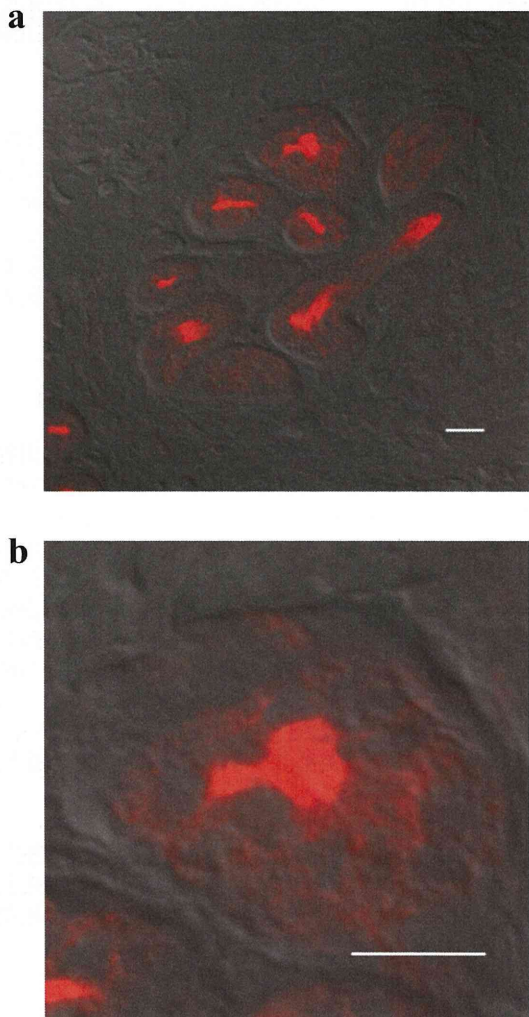


図4 安静時のマウス汗腺AQP5 Bar = 10 $\mu$ m.

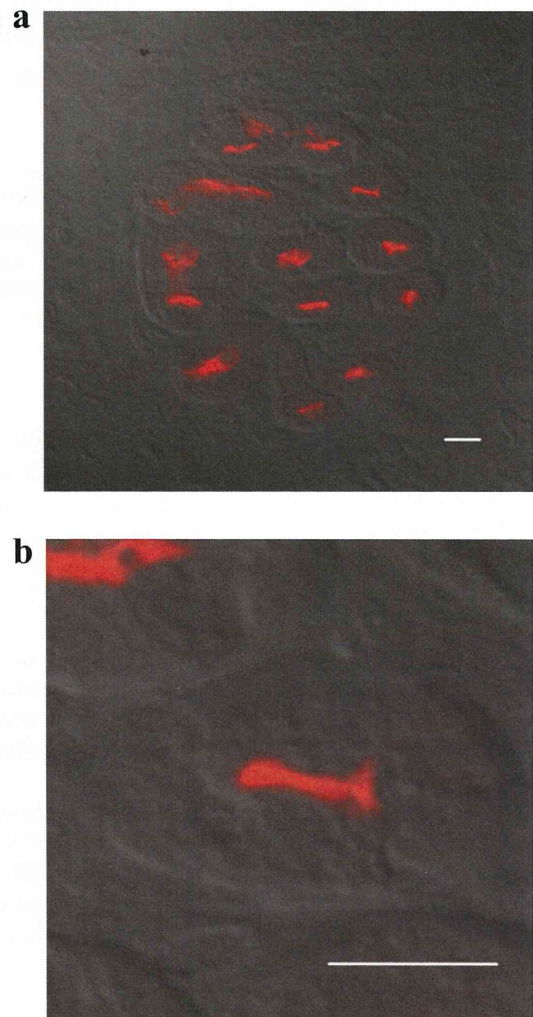


図5 発汗時のマウス汗腺AQP5 Bar = 10 $\mu$ m.

極性をもたせることができるMDCK (Madin-Darby canine kidney) cell lineにAQP5遺伝子をtransfectionしG418にて負荷、安定発現株を得た。薬剤を希釈した培養液で置換し、apical およびbasolateral membrane (以下APMおよびBLM)をbiotinylationにより分画し、AQP5量の変化をWestern blot法で確認した。

### C. 研究結果

作成したAQP5の安定発現株の細胞融解液をWestern blot法で確認し、うちNo. 6を実験に用いた (図6)。またNo. 4とNo. 7とNo. 9を混合した株も作成し、biotinylationを施行したところ、wild type MDCKには内因性のAQP5の発現をみとめず、両株ともにAPMおよびBLM fractionsの両方にAQP5の発現を確認した (図7)。細胞の極生についてはBLMであるNa<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase抗体でBLM fractionのみバンドをみとめ、APM fractionにはみとめないことで確認した(data not shown)。

#### AQP5

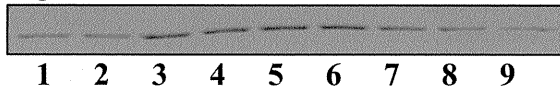


図6: AQP5 安定発現株の Western blot 法、AQP5 抗体で染色

lane 1-9: AQP5 を MDCK cell line に AQP5 遺伝子を transfection し G418 負荷後得られた stable cell line. No. 6 を実験に用いた (clone #6)。また No. 4 と No. 7 と No. 9 を混合した株も作成した (mixed clone)。

#### AQP5

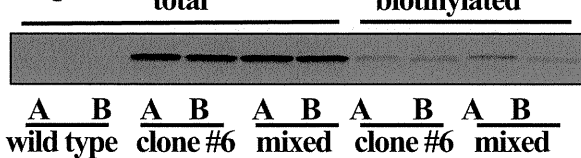


図7: Biotinylation 施行、AQP5 抗体で染色

A, APM fraction; B, BLM fraction; wild type, wild type MDCK cell line; mixed, mixed clone of #4, #7 and #9.

ヒト汗腺では主に交感神経末端から分泌されるアセチルコリンにより細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度が上昇し、汗産生が生じる。同系を用いて、10 μM calcium ionophore A23187を添加した培養液と添加していない培養液(control)で置換し、APM (図8および9)とBLM (図10および11) fractionsにつきそれぞれ5分後(a)と30分後(b)について検討した。Calcium ionophore添加5分後にAPM fractionのAQP5量は2.1倍に増加し、30分後にcontrolと同じレベルになった。BLM fractionのAQP5量は5分後にも30分後も変化はなかった。すなわち、細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度上昇により、短時間でhAQP5は細胞質からAPMにtraffickingすることが*in vitro*で示された。このことから、ヒト発汗時にもAQP5は細胞質からapical膜へにtraffickingし、その機能を果たす——水透過性を高めると推測される。

### D. 考察

図7で示したように、培養細胞系においてもヒトAQP5はAPM fractionのみならず、BLM fractionにも分布した。これは図2で示したように*in vivo*ヒト汗腺AQP5

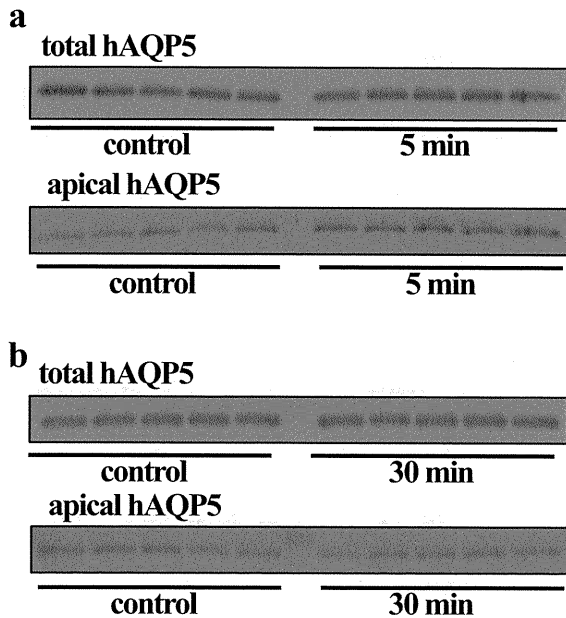


図8: 10 μM calcium ionophore 添加し biotinylation 施行、それぞれ(a)5分後、(b)30分後の apical membrane fraction、AQP5 抗体で染色

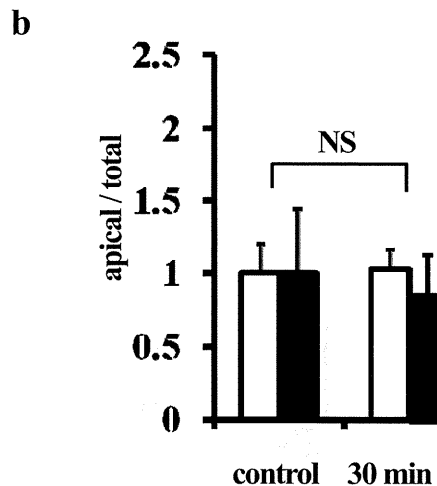
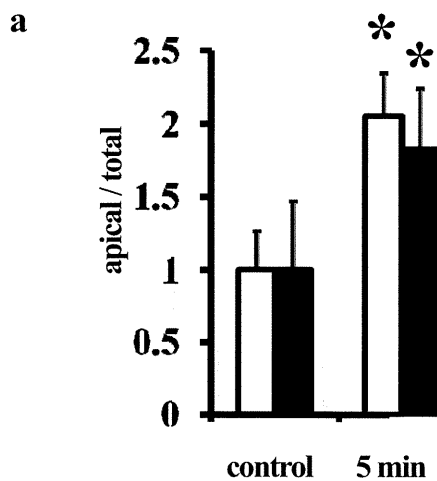


図9: 図8 結果の densitometry

□ clone #6, ■ mixed clone, n=5. \* P<0.05, NS; not significant.