

201229002A

厚生労働科学研究費補助金

免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業

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

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 齋藤 博久

平成 25 年 (2013) 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金

免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業

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

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 斎藤 博久

平成 25 年 (2013) 年 3 月

—目次—

I. 構成員名簿	-----	4
II. 総括研究報告書		
適切なスキンケア、薬物治療方法の確立とアトピー性皮膚炎の発症・増悪予防、自己管理に関する研究	-----	6
独立行政法人 国立成育医療研究センター 副所長 齋藤博久		
III. 分担研究者報告書		
i) 適切なスキンケア、薬物治療方法の確立とアトピー性皮膚炎の発症・増悪予防、自己管理に関する研究	-----	12
独立行政法人 国立成育医療研究センター 齋藤博久、大矢幸弘、新関寛徳、坂本なほ子、左合治彦		
ii) アトピー性皮膚炎の発症・増悪予防に関する基礎検討	-----	23
独立行政法人 国立成育医療研究センター 松本健治		
iii) スキンケア外用薬のアレルギー発症予防に対する基礎的・疫学的検討	-----	26
大阪大学大学院医学系研究科情報統合医学皮膚科学 片山一朗		
iv) 微量試料による特異的 IgE 抗体価測定方法の開発	-----	30
徳島大学疾患酵素学研究センター 木戸 博		
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	34
V. 研究成果の刊行物・別冊（主なもの）	-----	39

I. 構成員名簿

平成 22 年度 免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業
適切なスキンケア、薬物治療方法の確立とアトピー性皮膚炎の発症・増悪予防、自己管理に関する研究

構成員名簿

	氏名	職名	所属	所属施設の所在地
代表	斎藤 博久	副研究所長	国立成育医療研究センター	〒157-8535 東京都世田谷区大蔵 2-10-1
分担	大矢 幸弘	医長	国立成育医療研究センター 生 体防御系内科部 アレルギー科	〒157-8535 東京都世田谷区大蔵 2-10-1
分担	新関 寛徳	医長	国立成育医療研究センター 感 覚器形態外科部 皮膚科 医長	〒157-8535 東京都世田谷区大蔵 2-10-1
分担	坂本なほ子	室長	国立成育医療研究センター 研 究所 成育疫学研究室 室長	〒157-8535 東京都世田谷区大蔵 2-10-1
分担	左合 治彦	部長	国立成育医療研究センター 周 産期診療部 部長	〒157-8535 東京都世田谷区大蔵 2-10-1
分担	松本 健治	室長	国立成育医療研究センター 研 究所 免疫アレルギー研究部 室長	〒157-8535 東京都世田谷区大蔵 2-10-1
分担	片山 一朗	教授	大阪大学大学院医学系研究科情 報統合医学皮膚科学	〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-2
分担	木戸 博	教授	徳島大学疾患酵素学研究センタ ー	〒770-8504 徳島県徳島市蔵本町 3-18-15
分担	菅井 基行	教授	広島大学医歯薬保健学研究院細 菌学	〒734-8551 広島市南区霞 1 丁目 2 番 3 号

Ⅱ. 総括研究報告

研究代表者：斎藤 博久 独立行政法人 国立成育医療研究センター 副研究所長

研究要旨：アトピー性皮膚炎(AD)は掻痒や慢性・反復性経過を特徴とし、掻痒による生活の質 (quality of life ; QOL) の低下が著しいが、実証された有効な発症予防法はない。AD 患者の皮膚局所においては抗原感作が経皮的にも行われている可能性が高く、湿疹の悪化がアレルギー疾患の引き金になりうることが示唆されている。そこで、湿疹がまだ出現していない生後1週未満の新生児期からスキンケアを予防的 (proactive) に行う群と必要時 (reactive) に行う群において、AD 予防として有効かどうかを検討した。平成24年中に79例のリクルートができ予定参加者数である70例を達成した。中間解析53例の結果において、予想したように proactive 群のほうが reactive 群よりも発症が少なかったが、70例では検出力が不足することが明らかとなった。その理由として、reactive 群のドロップアウト率がやや高いことなどが挙げられる。今後、中間解析の結果に基づき、本研究の仮説の検証に必要な症例数を継続してリクルートし、プロトコール遵守率を高めて、本研究を完了し我が国初のエビデンスを発信する必要がある。従来、血液の抗原特異的 IgE 測定に使用されてきた ImmunoCAP は、1項目の測定に必要な検体量が多く患者の採血負担の大きいこと、測定感度が低く臍帯血の抗原特異的 IgE の検出ができないこと、測定域が狭いこと等が問題となっていた。これらの問題を解決するために平成22年度に続いて、アレルゲンを高濃度にマイクロアレイ上に固定化できる Diamind-Like Carbon (DLC) アレルゲン chip を使用することで検討した。その結果、数マイクロリッターの微量血清で30アレルゲンに対する IgE 抗体価を一度に測定でき、ImmunoCAP に比べて約7-10倍の高感度化が達成され、従来測定困難とされていた臍帯血のアレルゲン特異的 IgE 抗体価が測定可能となった。

研究分担者

大矢幸弘：国立成育医療研究センター 生体防御系内科部 アレルギー科 医長

新関寛徳：国立成育医療研究センター 感覚器形態外科部 皮膚科 医長

坂本なほ子：国立成育医療研究センター 研究所 成育疫学研究室 室長

左合治彦：国立成育医療研究センター 周産期診療部 部長

松本健治：国立成育医療研究センター 研究所 免疫アレルギー研究部 室長

片山一朗：大阪大学大学院医学系研究科情報統合医学皮膚科学教授

木戸博：徳島大学疾患酵素学研究センター教授

菅井基行：広島大学医歯薬保健学研究院細菌学 教授

研究協力者

堀向健太：国立成育医療研究センター 生体防御系内科部 アレルギー科 医師

野崎誠：国立成育医療研究センター 感覚器形態外科部 皮膚科 医員

本村健一郎：国立成育医療研究センター 周産期診療部 医師

森田英明：国立成育医療研究センター研究所 免疫アレルギー研究部 医師

室田浩之：大阪大学大学院医学系研究科情報統合医学皮膚科学 助教

寺尾美香：大阪大学大学院 医学系研究科 G-COE 特任研究員

A. 研究目的

近年、アトピー性皮膚炎の患者の数は、増加してきており社会問題化している。この背景にはアトピービジネスに代表されるように医療機関以外での民間療法やドクターショッピングを繰り返す患者の存在が考えられ、通常のアトピー性皮膚炎に対する治療方針に疑問を感じていることが懸念される。「日本皮膚科学会アトピー性皮膚炎治療ガイドライン 2009 改訂版」では、治療の基本方針として生理学的機能異常に対しては保湿剤外用などのスキンケアが推奨されているものの、特に乳幼児のアトピー性皮膚炎においてはエビデンスの不足からそれぞれの医療機関・医師により実際の治療および指導にばらつきを生じているのが現状

におけるアレルゲン特異的 IgE 抗体の獲得とアレルギー疾患発症の予防を到達目標に設定し、皮膚バリア機能補助剤を使用したスキンケアの予防効果は無作為ランダム化介入試験により検討する。

介入試験は国立成育医療研究センターにて実施するとともに、大阪大学で先行しているパイロット試験参加者の追跡調査を実施する。さらに本研究と同様に、国立成育医療研究センターにおいて実施している出生コホート調査参加者のうちアレルギー疾患発症高リスク者を対象とする免疫ヒト化マウスによるアレルギー疾患モデルの樹立に関する研究（理化学研究）と連携し、効率的に研究を実施する。アレルゲン特異的 IgE 抗体の測定は、徳島大学で開発したアレルギー診断タンパクチップをもちいた特異 IgE 抗体測定をもちいる。また、健常人皮膚からの黄色ブドウ球菌検出率は極めて低い一方で、アトピー性皮膚炎患者患部皮膚の大多数から黄色ブドウ球菌が検出されることが知られている。よって、本研究において介入試験に参加する新生児の皮膚に常在する黄色ブドウ球菌の性状を調査し、アトピー性皮膚炎発症に及ぼす影響について検討する。

である。

アレルギー疾患の有効な発症予防法を開発することは喫緊の重要な課題であるが、リスクを大幅に下げような方法は存在しない。我々は以前に、生後 1 カ月時の乳児湿疹がアレルギー疾患発症に先行すること (Matsumoto K, et al. *Int Arch Allergy Immunol* 2005)、および予防的なアトピー性皮膚炎治療により血清 IgE が低下することなど (Fukuie T, et al. *Br J Dermatol*, 2010) を見いだしている。そこで本研究事業において、アトピー性皮膚炎の既往のある母胎から出産する新生児を対象として、アトピー性皮膚炎・乳児湿疹の発症、および 2 歳児に

B. 方法

1. 【介入試験】無作為化オープン並行群間試験で実施する。生後 1 週未満の健康な新生児を対象とし、24 週間、スキンケアを予防的(proactive)に実施する群と必要時(reactive)に実施する群において、乳児湿疹、アトピー性皮膚炎の発症率を比較する。さらに、TEWL(trans epidermal water loss)、角質水分量、皮膚黄色ブドウ球菌および 2 歳時の特異的 IgE 抗体などを測定する。これら主要評価項目および副次評価項目を含む内容は UMIN 臨床試験登録システムに前登録 (UMIN000004544) した。

2. 【パイロット研究】①平成 20 年度より片山らはアトピー素因のある新生児に対するスキンケア介入の効果を検討している。方法は、保湿剤を 1 日最低 1 回 (入浴後は必ず) 顔面全体に外用するよう指示した。生後 1 週間以内、1 ヶ月後、4 ヶ月後、6 ヶ月後の皮膚症状の有無を観察するとともに、経皮水分蒸散量測定すると同時に、皮膚の細菌培養を行った。本年度は平成 20 年度に行った新生児スキンケア介入試験において児が 3 歳になる本年度にあたり、アレルギー一症状に関する追跡調査を行った。②2003 年 10

月1日～2005年12月31日にかけて国立成育医療研究センターにて実施した出生コホート参加者1460名において湿疹と食物アレルギーの関係について解析した。

3. 【高感度 IgE 抗体測定法開発】高密度抗原蛋白質の固定化が可能な diamond-like carbon (DLC)-chip に抗原蛋白質を搭載した測定システムを用いて、乳幼児や臍帯血からの微量検体を用いた網羅的な抗原特異的 IgE, IgA, IgG4 の高感度測定系を確立する。この方法により IgE 測定で UniCAP に比べ測定感度を 7-10 倍に上げることができた。

4. 【皮膚バリアに関する動物実験】①100 倍希釈石鹸ないし 1%SDS を 1 回/日 7 日間、25 往復ヘアレスマウス (Hos:HR-1) 背中皮膚に塗布し、最終塗布 24 時間後に皮膚のバリア機能を評価した。②ステロイドのバリア機能への影響をみる目的にて 5 日間 0.1%デキサメサゾン/エタノール液を外用し、24 時間後に 1%SDS 液を塗布し皮膚バリア機能を評価した。また培養ケラチノサイトに 0.01%SDS を添加し、IL18 を ELISA 法にて測定した。③C57BL/6 マウスの耳介に種々の濃度の V8 protease を隔日塗布し、耳介の厚さ、および組織学的変化を経時的に測定した。

5. 【新生児、乳児皮膚黄色ブドウ球菌解析】介入試験参加新生児の両頬部より採取したサンプルを培養し、生えたコロニーを PCR 法や multiplex-PCR 法にて解析し、さらにパルスフィールドゲル電気泳動後のバンドパターンによる系統解析により遺伝子型を同定した。

C. 結果

1. 【介入試験】 研究計画立案当初、P 群 20% 以下、R 群 47% 以上のアトピー性皮膚炎発症を仮定して各群 35 名の登録を開始した。研究計画書に従い中間解析をした結果、2012 年 11 月の時点で P 群 24%、R 群 43% の発症率であり、各

群 108 例が必要と判明した。よって、登録作業を継続し 2012 年 11 月現在、89 名より参加同意を得ている。なお、これまでの登録例で試験試料によると考えられる副作用は 1 例も起きていない。その他、現状では有意差は検出されていないものの、経表皮水分蒸散量 (transepidermal water loss ; TEWL) が予測因子となる可能性が示唆された。卵白など多種の特異的 IgE や IgG4 などに関しても、検討を進めている。さらに 57 例中 6 例 (10.5%) において日本人で同定されているフィラグリン遺伝子変異 8 種が判明した。

2. 【パイロット研究】検討を行った児、21 例 (介入群 12 例、非介入群 9 例) 全例を対象に郵送による追跡調査を行った。介入群の 3/11、非介入群の 4/10 が食物アレルギーを発症していた。介入群は 6～9 ヶ月、非介入群は 1 ヶ月～2 歳で食物アレルギーを発症していた。そのほとんどが特異的 IgE を測定することで小児科医が診断していた。3 歳時点で介入群の食物アレルギー 1 例を除き、除去は継続されていた。保湿剤によるスキンケアを介入群ではほぼ全例が継続していたが、非介入群では食物アレルギー発症群でアトピー性皮膚炎症状を改善させる目的で発症後に保湿剤を開始していた。②生後 6 か月までに湿疹があると 12 か月および 36 か月までに食物アレルギー発症のリスクが高まることが明らかとなった。

3. 【高感度 IgE 抗体測定法開発】 DLC アレルゲン chip を使用することで、微量検体による患者負担の軽減、アレルゲン特異的 IgE, IgA, IgG, IgG4 測定の幅広い測定域を確保して、高感度化が実現された。特に感度不足のために標準的な測定方法である ImmunoCAP では測定できなかった臍帯血の IgE や、アレルギー疾患の治療経過により変動する IgG4, IgA の検出も可能であった。1 の【介入試験】において生後 12 週よりも 32 週の方が卵白特異的 IgE 抗体が高値を示す傾向が認められた。

4. 【皮膚バリアに関する動物実験】①バリアの指標の一つとなる経皮水分蒸発量 (TEWL) は用いた 3 種類の石鹼すべてにおいて、無処置マウスや脱イオン蒸留水を塗布したマウスに比し、上昇していた。角質水分保持能もすべての石鹼において低下がみられた。②ステロイド外用は SDS によるバリア機能障害を増幅したが、エタノールと差が見られず、大きな影響はあたえないと考えられた。In vitro において界面活性剤の成分である SDS は IL1 β のケラチノサイトの産生を有意に上昇させた。③不活性化した V8 protease を塗布した群に比して、V8 protease を塗布した群では濃度依存的に耳介の腫脹を認めることが判明した。また、組織学的な検討では、表皮の肥厚や、真皮への多核球の浸潤を認めた。

5. 【新生児、乳児皮膚黄色ブドウ球菌解析】黄色ブドウ球菌が検出された被験者は、2012 年 12 月時点で 78 人中 31 人 (約 40%) であった。このうち、出生時から検出されたのは 4 人 (約 13%) であった。各被験者の各週齢の株は、病原因子関連遺伝子の保有パターン及び PFGE バンドパターンの結果から、ほぼ同一ゲノタイプと考えられた。

D. 考察

1. 【介入試験】予防的に保湿剤を使用した P 群ではアトピー性皮膚炎、乳児湿疹の発症が少ない傾向が得られた (P=0.19)。しかし中間解析の結果、当初の予想数と比較し、アトピー性皮膚炎発症率には著しい違いはないものの、当初予定していた 2 倍以上の被験者数が必要であることが判明した。

2. 【パイロット研究】出生コホート研究のデータ解析の結果から、乳児期の湿疹は食物アレルギーの発症リスクを高めることが示された。

3. 【高感度 IgE 抗体測定法開発】1 の【介入試験】における調査においても有用性が示唆され

るデータを得ることができた。

4. 【皮膚バリアに関する動物実験】石鹼の使用は皮膚バリア機能を障害し、また界面活性剤成分の SDS が炎症を促進させることより、適切な使用、洗浄法の指導が重要と考えられた。また、黄色ブドウ球菌由来の V8 protease は湿疹局面における感作を促進するだけでなく、皮膚炎自体の発症や遷延化に直接関与し、アトピー性皮膚炎及び、その後のアレルギー疾患の発症に関与する可能性が示唆された。

5. 【新生児、乳児皮膚黄色ブドウ球菌解析】1 の【介入試験】において、比較的高率に黄色ブドウ球菌が検出された。被験者皮膚に黄色ブドウ球菌が検出された場合、同一ゲノタイプの株が居続ける事が示唆された。

E. 結論

本研究は、皮膚バリア機能補助剤による新生児期からの介入がアトピー性皮膚炎の発症、ひいてはアレルギー感作を予防する効果があるかどうかを検討する独創的かつ実現性が高い介入試験であり、この成果はアレルギー疾患の発症予防という点で広く社会に還元でき、また医療費の削減にも繋がる可能性が期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Kamemura N, Tada H, Shimojo N, Morita Y, Kohno Y, Ichioka T, Suzuki K, Kubota K, Hiyoshi M, Kido H. Intrauterine sensitization of allergen-specific IgE analyzed by a highly sensitive new allergen microarray. J Allergy Clin Immunol. 2012 Jul;130(1):113-21.

Morita H, Arae K, Ohno T, Kajiwara N, Oboki K, Matsuda A, Suto H, Okumura K, Sudo K, Takahashi T, Matsumoto K, Nakae S. ST2 requires Th2-, but not Th17-, type airway inflammation in epicutaneously antigen-sensitized mice. *Allergol Int.* 2012 Jun;61(2):265-73.

Suzukawa M, Morita H, Nambu A, Arae K, Shimura E, Shibui A, Yamaguchi S, Suzukawa K, Nakanishi W, Oboki K, Kajiwara N, Ohno T, Ishii A, Körner H, Cua DJ, Suto H, Yoshimoto T, Iwakura Y, Yamasoba T, Ohta K, Sudo K, Saito H, Okumura K, Broide DH, Matsumoto K, Nakae S. Epithelial cell-derived IL-25, but not Th17 cell-derived IL-17 or IL-17F, is crucial for murine asthma. *J Immunol.* 2012 Oct 1;189(7):3641-52.

Morita H, Nomura I, Orihara K, Yoshida K, Akasawa A, Tachimoto H, Ohtsuka Y, Namai Y, Futamura M, Shoda T, Matsuda A, Kamemura N, Kido H, Takahashi T, Ohya Y, Saito H, Matsumoto K. Antigen-specific T-cell responses in patients with non-IgE-mediated gastrointestinal food allergy are predominantly skewed to T_H2. *J Allergy Clin Immunol.* 2013 Feb;131(2):590-592

2. 学会発表

大矢幸弘. 教育セミナー「アレルギー発症予防へのチャレンジ～スキンケアを日常診療において役立てる～」日本小児科学会総会 2012年4月22日

Ohya Y, Narita M, Futamura M, Sakamoto N, Saito H. Immediate type food allergy at twelve months old does not associated with timing of introduction of weaning diet but associated with episodes of eczema and gastroenteritis. 67th Annual Meeting of American Academy of Allergy, Asthma & Immunology, San Francisco, USA. Mar 18-22, 2011.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）

1. 特許取得

特許第 4660756 号 ダイヤモンドチップへの蛋白質/ペプチドの固定化方法（登録日、平成 23 年 1 月 14 日）

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

Ⅲ. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業）

分担研究報告書

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

分担研究項目：スキンケアによる乳児湿疹・アトピー性皮膚炎予防に関する研究

研究代表者：斎藤 博久 独立行政法人 国立成育医療研究センター 副研究所長

分担研究者：

松本 健治 （独） 国立成育医療研究センター 研究所 免疫アレルギー研究部 部長

大矢 幸弘 （独） 国立成育医療研究センター 生体防御系内科部 アレルギー科 医長

新関 寛徳 （独） 国立成育医療研究センター 感覚器・形態外科部 皮膚科 医長

坂本なほ子 （独） 国立成育医療研究センター 研究所 成育疫学研究室 室長

左合 治彦 （独） 国立成育医療研究センター 周産期センター センター長

研究協力者：

堀向 健太 （独） 国立成育医療研究センター 生体防御系内科部 アレルギー科 医師

成田 雅美 （独） 国立成育医療研究センター 生体防御系内科部 アレルギー科 医師

森田久美子 （独） 国立成育医療研究センター 生体防御系内科部 アレルギー科 医師

野崎 誠 （独） 国立成育医療研究センター 感覚器・形態外科部 皮膚科 医員

本村健一郎 （独） 国立成育医療研究センター 周産期センター レジデント

徳永 秀美 （独） 国立成育医療研究センター 薬剤部

青木 智子 （独） 国立成育医療研究センター 6 西病棟看護師

西海 真理 （独） 国立成育医療研究センター 医療連携室 看護師

早瀬 和子 （独） 国立成育医療研究センター 生体防御系内科部 アレルギー科

研究要旨：アトピー性皮膚炎(AD)は掻痒や慢性・反復性経過を特徴とし、掻痒による生活の質 (quality of life ; QOL) の低下が著しいが、実証された有効な発症予防法はない。AD 患者の皮膚局所においては抗原感作が経皮的にも行われている可能性が高く、湿疹の悪化がアレルギー疾患の引き金になりうることが示唆されている。そこで、湿疹がまだ出現していない生後 1 週未満の新生児期からスキンケアを予防的 (proactive) に行う群と必要時 (reactive) に行う群において、AD 予防として有効かどうかを検討した。平成 24 年中に 79 例のリクルートができ予定参加者数である 70 例を達成した。中間解析 53 例の結果において、予想したように proactive 群のほうが reactive 群よりも発症が少なかったが、70 例では検出力が不足することが明らかとなった。その理由として、倫理的配慮から対照群を無治療観察群ではなく必要時塗布を許可した reactive 群としたため当初の予測よりも対照群の発症率が低くなったこと、reactive 群のドロップアウト率がやや高いこと、試験プロトコル違反(参加者が自主的に proactive 療法を開始する)などが挙げられる。今後、中間解析の結果に基づき、本研究の仮説の検証に必要な症例数を継続してリクルートし、プロトコル遵守率を高めて、本研究を完了し我が国初のエビデンスを発信する必要がある。

A. 研究目的

20 世紀後半の経済成長や生活環境の激変に伴い、我が国のアトピー性皮膚炎の患者数は急増した。また、日常生活に支障を来す重症患者も増加し、医療不信とステロイド忌避の現象が相まって社会問題化した。日本皮膚科学会および日本アレルギー学会がガイドラインを作成し混乱に終止符を打つ努力を行った結果、少しずつ混乱が収束しつつあるが、アトピー性皮膚炎の発症を予防する方法はまだ実証された水準のものはない。

「日本アレルギー学会アトピー性皮膚炎診療ガイドライン 2012」では、アトピー性皮膚炎を発症した患者に対しては、治療の基本方針として生理学的機能異常に対する保湿剤外用などのスキンケアが推奨されているが、未発症の乳幼児に対する発症予防効果は謳われていない。

アレルギー疾患の有効な発症予防法を開発することは喫緊の重要な課題であるが、これまで国内外で行われた各種抗原を除去する方法はいずれも発症予防に失敗しており、現時点では、ランダム化比較試験で実証された予防法は存在しない。ある種の乳酸菌を妊娠中と授乳中に母親に児のアトピー性皮膚炎の発症率を低減したとの報告はあるが、北欧の一国に限られ豪州での追試はネガティブであり、まだ結論が出ていない。我々は以前に、生後 1 カ月時の乳児湿疹がアレルギー疾患発症に先行すること (Matsumoto K, et al. *Int Arch Allergy Immunol* 2005)、および予防的なアトピー性皮膚炎治療により血清 IgE が低下することなど (Fukuie T, et al. *Br J Dermatol*, 2010) を見いだしている。そこで本研究では、アトピー性皮膚炎の既往のある母胎から出産する新生児を対象として、アトピー性皮膚炎・乳児湿疹の発症、および 2 歳児におけるアレルギー特異的 IgE 抗体の獲得とアレルギー疾患発症の有無をアウトカム評価とし、皮膚バリア機能補正のために保湿剤を使用したスキンケアのアレルギー疾患予防効果

についてランダム化介入試験を実施した。

本研究と同様に、国立成育医療研究センターにおいて実施している出生コホート調査参加者のうちアレルギー疾患発症高リスク者を対象とする免疫ヒト化マウスによるアレルギー疾患モデルの樹立に関する研究 (理化学研究) と連携し、効率的に研究を実施してきた。アレルギー特異的 IgE 抗体の測定は、徳島大学で開発した DLC チップを用いた。

B. 方法

研究デザインは無作為化オープン並行群間試験で、生後 1 週未満の健康な新生児を対象とし、24 週間以上、スキンケアを予防的 (proactive) に実施する群と必要時 (reactive) に実施する群において、乳児湿疹、アトピー性皮膚炎の発症率を比較する。このとき、フィラグリンの遺伝子変異の有無について検討し、層別化して検定する。さらに、TEWL (transepidermal water loss)、角質水分量、皮膚黄色ブドウ球菌および 2 歳時の特異的 IgE 抗体などを測定する。これら主要評価項目および副次的評価項目を含む内容は UMIN 臨床試験登録システムに前登録 (UMIN-CTR: UMIN000004544 スキンケアによる乳児湿疹・アトピー性皮膚炎予防に関する研究) した。

(倫理面への配慮)

乳児湿疹、アトピー性皮膚炎の発症時、診断時には速やかに加療を開始する。また、試験試料によると思われる有害事象が出現した場合は、即座に試験試料の使用を中止し、治療を行う。本研究は国立成育医療研究センター倫理委員会の承認を得て実施された。

C. 結果

2010 年 11 月より症例登録を開始した。東日本大震災に続く原発事故の問題などで、東京周辺から

離れる家族が多く、正常分娩の入院数の減少が続いたこと、新たに登録が開始された出生コホート研究との来院スケジュール重複、スキンケアが有効であるとの噂により試験に参加せず独自にスキンケアを実施するケースなど予期しない事態が続き、試験参加登録が遅れた。しかし、入院数の回復してきた2011年10月より、他の研究との調整を行い、さらに妊娠初期より積極的に参加呼びかけを行った結果、2012年末までに、89名より参加同意を得た。すでにその多くは出生し、出産後の母体、児の体調不良などでリクルート基準に達しなかった児を除く79例がランダム化登録を完了し、当初のリクルート予定数を突破した(Fig.1)。

研究開始当初より、半数を超えた時点での中間解析を行った上で症例数の調整を行う計画となっていたため、2012/11月末時点で32週までの観察期間を終えた47例と、32週に達する前にすでにアトピー性皮膚炎発症などでプロトコールオフとなった6例の、計53例において、中間解析を行った。

Proactive群で同意撤回1例を除いた23例、Reactive群で同意撤回3例を除いた26例で検討を行った(Reactive群の同意撤回は4例であったが、そのうち1例はアトピー性皮膚炎と食物アレルギーを発症していたことが、偶然当院アレルギー外来を初診したことにより判明し、発症例数に組み入れた。)。アトピー性皮膚炎の発症をアウトカムとした χ^2 乗検定によるp値は0.19であり、今後100~200例程度に参加者が増加すると有意差が検出される可能性が示された(Fig2)。中間解析時点での結果に基づき、Proactive群の発症率を24%、Reactive群のそれを43%とすると仮説検証に必要なサンプルサイズは各群108例となる。この結果に基づき、参加者のリクルートを継続して行うこととした。なお、これまでの登録例で試験試料によると考えられる副作用は1例も起きていない。

さらに、本研究では、アレルギー疾患の発症予防という観点から、各種の検査を並行して行なっている。

経表皮水分蒸散量 (transepidermal water loss ; TEWL)、角質水分量、皮膚 pH はセンサーを用いた非侵襲性の検査であり、新生児期から導入可能である。これらの変化がAD発症予測に貢献する可能性があり、AD発症まで定期検査に組み入れている。中間解析の時点で47例が32週まで達成しており、解析可能なデータのある32例で検討を行った。経過観察中にADを発症した場合はその加療に入り、それ以降の定期検査は施行しないことからAD発症群の例数は経過に従い減少していく。そのため、データとして有用なのは12週程度までと考えられる。現状では有意差は検出されていないが、角質水分量よりTEWLが予測因子となる可能性が示唆された(Fig3-7)。

また、アレルギー感作と防御因子の検索として、卵白、卵黄、オボムコイド、オボアルブミン、牛乳、カゼイン、ラクトアルブミン、小麦などコンポーネントを含め多種の特異的IgEやIgG4などに関しても、検討を進めている。新生児を対象とした研究であるため、採血量は少量が求められるため、蛋白チップを用いた新しい検査方法であるが、従来のCAP-RASTと相関性も高いことが確認されている(Suzuki K, et al., Anal Chim Acta. 2011 ; 14;706(2):321-7. 2011.)。未発症群でも、32週の段階で、特異的IgEが高値になる例も観察され、現状ではその傾向は明らかではないが、IgG4は12週時に高値で、32週では低下する傾向が見られ、興味深い動きが見られた、今後も検討を進めていく(Fig.8-12)。

また、本研究では、先行研究でアトピー性皮膚炎の増悪因子とされる黄色ブドウ球菌や日本人で同定されているフィラグリン遺伝子変異8種(Hirota T. et al, Nat Genet. 2012 ; 7 ; 44(11): 1222-6.)の有無の検索も同時に行なっている。フィラグリンに関して、前半の登録者では全例の臍帯血が採取できなかったため、同意撤回やプロトコール違反を除いた57例の検体採取が可能であったが、そのうち6例(=10.5%)においてフィラグリン遺伝子異常

が検出されている。47 例目以降は、臍帯血の確保ができなかった場合に関して児の採血を新生児期に追加することで DNA サンプルを抽出する体制を構築し、検体の確保に努めた。従って、47 例以降の参加者に関してはほぼ全例でフィラグリン遺伝子変異の検索を行なうことが可能と思われる。

黄色ブドウ球菌の検出に関しては、定期検査毎に頬部よりスワブ擦過にて検体を確保し、単に菌の検出のみならず、黄色ブドウ球菌の菌株の違いに関しても検索中である。

D. 考察

我々は以前に新生児を対象とした前向きコホート研究から、生後 1 カ月時に乳児湿疹がアレルギーマーチに先行することを見いだしている (Matsumoto K, et al, *Int Arch Allergy Immunol* 2005;37:S69)。また、AD の治療によって、血清 IgE が低下することを示した (Fukuie T, et al. *Br J Dermatol*, 2010 Jun 10 Epub)。アトピー性皮膚炎患者皮膚局所においては抗原感作が経皮的にも行われる可能性が高い (Lack G. et al, *J Allergy Clin Immunol*. 2008;121:1331) という仮説が提唱され、湿疹の悪化がアレルギー疾患の引き金になりうることを示唆されている。実際に、皮膚バリア機能に関連するフィラグリン遺伝子変異により、AD を高率に発症する (Fleckman P. et al, *Exp Dermatol*. 2002 ;11(4): 327-36) ことは、皮膚バリア機能を良好に保つことが重要であることを示している。また、AD では、皮疹部のみならず無疹部においても、角質細胞間脂質のひとつであるセラミド量が低下しておりバリア機能が低下していると報告されており (Imokawa G, et al. *J Invest Dermatol*. 1991 ; 96:523-6)、乾燥肌に保湿剤を 7 週間使用することによって皮膚のバリア機能が改善することを示した報告がある (Buraczewska I,

et al. *Br J Dermatol*.2007 ; 156:492-8)。上記のような先行研究が示す「乳児湿疹がアレルギー疾患発症に先行すること、および Proactive なアトピー性皮膚炎治療により血清 IgE が低下すること」という結果から類推される「スキンケアがアトピー性皮膚炎やアレルギー感作に有効かもしれない」という仮説を検証することを本研究は目指しており、中間解析時点では有意差はないものの、では P 群 24%、R 群 43% の発症率が得られており、この比率が変わらなければ、今後参加者が増加することで検証が可能となる。先行研究である大阪大学皮膚科による予防研究に比べ発症率が高いが、途中リクルートを強化した時期の影響で出生季節が秋以降に多かったことなどが影響していると考えられる。

また、TEWL (transepidermal water loss)、角質水分量、皮膚 pH など非侵襲的な皮膚検査が行われており、その中でも TEWL は AD 発症の予測因子として参考にできる可能性が示唆された。新生児期のこのような検査の報告自体極めて少ない。新生児期から 6 ヶ月以上に渡りこれらの測定をした報告はほとんどなく、これらの結果は AD 予防の観点だけでなく基礎的な研究結果として重要なものとなりうると思われる。

また、抗原特異的 IgE 値を測定することで、乳児の抗原感作状況を調べているが、どの時期から発生するかは、胎内感作、経母乳感作、経皮感作など、その経路に関しての報告は交錯しており、いまだ明らかになっていない。未発症群でも特異的 IgE が陽性になっている群もあり、経皮感作ばかりではない可能性はあるが、さらに精査検討する必要がある。

フィラグリン遺伝子変異や皮膚の黄色ブドウ球菌保持の有無などに関しても、これらの情報を組み合わせることで、AD 予防に役立つ可能性がある。フィラグリン遺伝子変異に関して 10.5%

においてフィラグリン遺伝子異常が検出されている。先行研究とほぼ一致した率であり、今後さらに詳細な検討を実施する。

同様の研究が海外、国内でも計画されてきているが、いまだ、少数例の結果のみである(Lowe AJ, et al. *BMC Dermatol.* 2012; 4;12:3.) (Lavender T, et al. *BMC Pediatr.* 2011; 13;11:35)。その理由として、リクルートの困難さや同意撤回率の高さなどが指摘されており、新生児を対象とした試験の困難さが伺える。本研究においても、実施の継続には様々な困難に直面しているが、各科、各方面からの協力により、諸外国の研究より遅れることなく研究が続行できているうえ、研究内容は多岐にわたっている。

当初、P群20%以下、R群47%以上のアトピー性皮膚炎発症を仮定して各群35名を登録したが、研究計画書に従い53例にて中間解析をした結果、現時点で、各群108例が必要と判明した。当初対照として設定を想定していた“無治療観察群”を倫理審査委員会の意見を取り入れて修正し、ある程度の試験試料の塗布を許可した“reactive群”を対照としたことは、検出率が低下した一因と思われる。また、reactive群のドロップアウト率がproactive群に比べるとやや高いこと、試験プロトコールに対するコンプライアンスの問題が挙げられる。reactive群が毎日試験試料を塗布している場合があったり、proactive群の洗浄方法や塗布法に関して問題があれば、その差は小さくなる可能性がある。プロトコール遵守に関して、さらなるチェックアップ体制を構築し、実行開始したところである。

E. 結論

本研究は、保湿剤による皮膚バリア機能補正による新生児期からの介入がアトピー性皮膚炎の発症、ひいてはアレルギー感作を予防する効果があるかどうかを検討する介入試験である。検証された有効な発症予防法が存在しないなか、本研究が計画通りに貫徹されれば、アレルギー疾患の発

症予防の一翼を担う方法を発見したという点で広く社会に還元でき、また医療費の削減にも繋がる可能性と次世代の国民に対する大きな貢献が期待できる。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

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

Nomura I, Morita H, Hosokawa S, Hoshina H, Fukuie T, Watanabe M, Ohtsuka Y, Shoda T, Terada A, Takamasu T, Arai K, Ito Y, Ohya Y, Saito H, Matsumoto K. Four distinct subtypes of non-IgE-mediated gastrointestinal food allergies in neonates and infants, distinguished by their initial symptoms. *J Allergy Clin Immunol.* 127: 685-688 e681-688, 2011

Morita H, Nomura I, Orihara K, Yoshida K, Akasawa A, Tachimoto H, Ohtsuka Y, Namai Y, Futamura M, Shoda T, Matsuda A, Kamemura N, Kido H, Takahashi T, Ohya Y, Saito S, Matsumoto K. Antigen-specific T-cell responses in patients with non-IgE-mediated gastrointestinal food allergy are predominantly skewed to TH2. *J Allergy Clin Immunol* 131: 590-592, 2013.

2. 学会発表

大矢幸弘. 教育セミナー「アレルギー発症予防へ

のチャレンジ～スキンケアを日常診療において
役立てる～」日本小児科学会総会 2012 年 4 月
22 日

Ohya Y Recent paradigm shift in the
prevention and treatment for atopic disease.
Korean Pediatric Society Invited Lecture
Oct 19th, 2012. Gangwan-do, Korea.

Ohya Y, Narita M, Futamura M, Sakamoto N,
Saito H. Immediate type food allergy at twelve
months old does not associated with timing of
introduction of weaning diet but associated

with episodes of eczema and gastroenteritis.
67th Annual Meeting of American Academy of
Allergy, Asthma & Immunology, San Francisco,
USA. Mar 18-22, 2011.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）

1.特許取得

なし

2.実用新案登録

なし

3.その他

なし

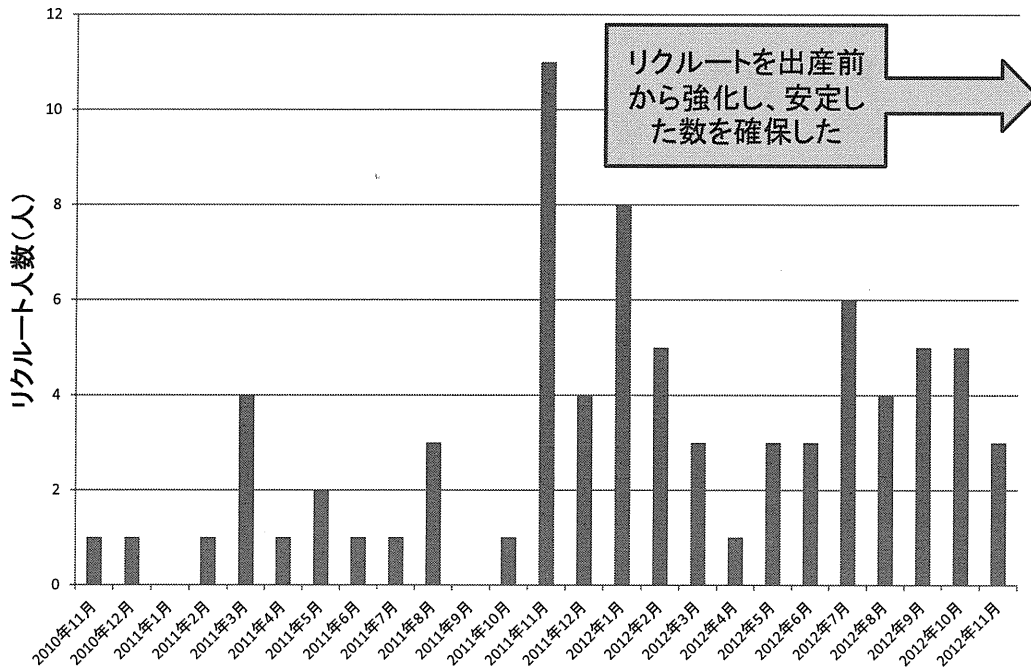
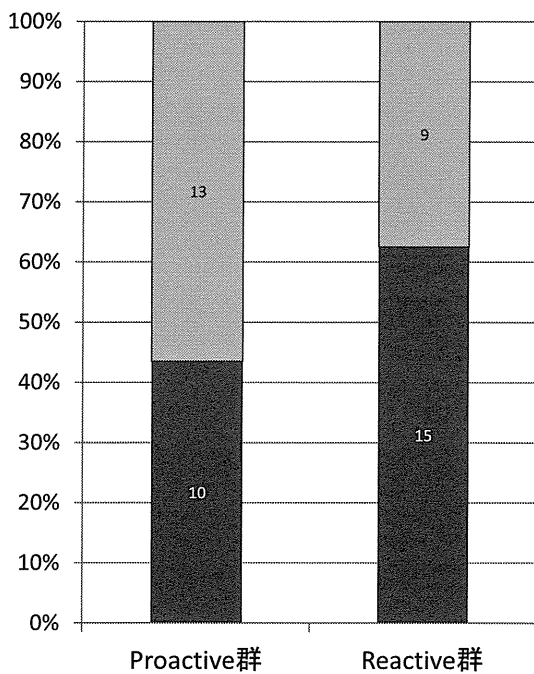


Fig.1. リクルート状況

Fig.2. 中間解析結果(アトピー性皮膚炎AD発症率)



Proactive群	総数	24
	実数	23
	AD	10
	乳児湿疹	3
	同意撤回	1
Reactive群	総数	29
	実数	24
	AD	15
	乳児湿疹	2
	同意撤回	4
	プロトコール違反	1

32週までにプロトコールオフR群5例、P群1例

■ 未発症
■ 発症

χ^2 乗検定 P=0.191

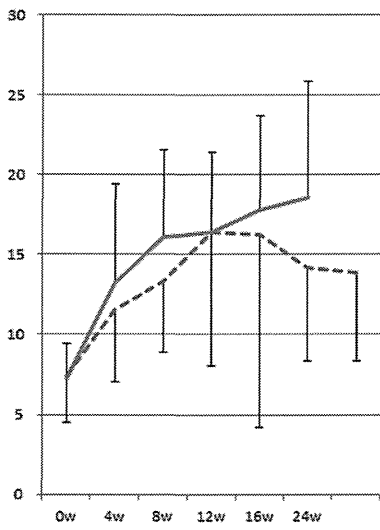


Fig.3. 下腿 TEWL

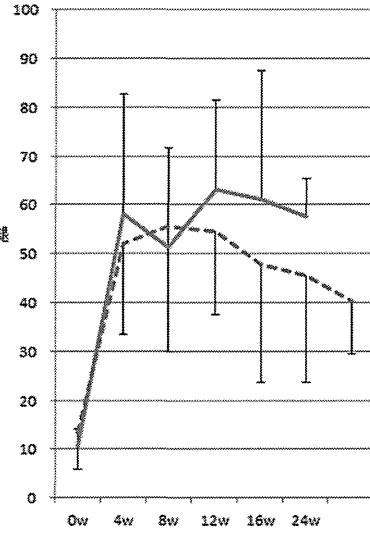


Fig.4. 下腿 角質水分量

	例数						
	0w	4w	8w	12w	16w	24w	32w
Eczema発症群	19	18	12	9	2	5	
未発症群	13	13	10	13	9	13	14

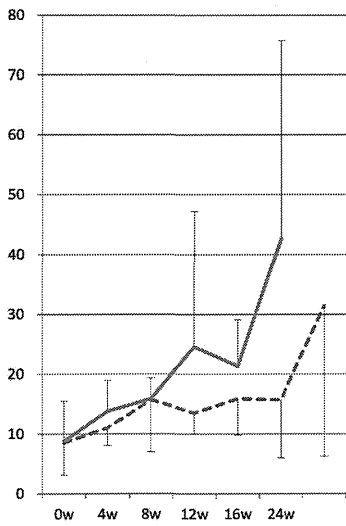


Fig.5. 前額部 TEWL

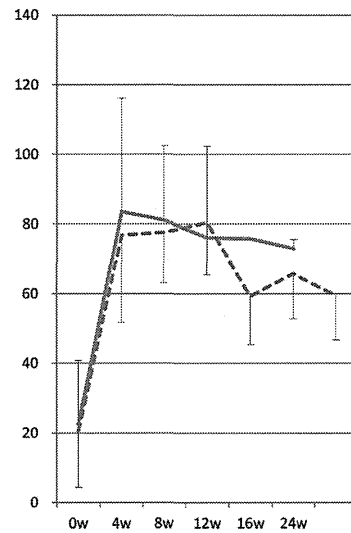


Fig.6. 前額部 角質水分量

	例数						
	0w	4w	8w	12w	16w	24w	32w
Eczema発症群	19	18	12	9	2	3	
未発症群	13	13	10	13	9	13	14