

201322008A・B

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業（免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業 免疫アレルギー研究分野）

アトピー性皮膚炎の発症・症状の制御および治療法の確立普及に関する研究

平成23～25年度 総合研究報告書

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 古江 増隆

平成26（2014）年3月

目 次

I. 総合研究報告書(平成23-25年度)

- アトピー性皮膚炎の発症・症状の制御および治療法の確立普及に関する研究 -----1
研究代表者 古江増隆

II. 総括研究報告書(平成25年度)

- アトピー性皮膚炎の発症・症状の制御および治療法の確立普及に関する研究 -----21
研究代表者 古江増隆

III. 分担研究報告書(平成25年度)

- バリア機能破綻に起因するアトピー性皮膚炎の痒みのメカニズムの解明と制御
—知覚神経と表皮ケラチノサイトの相互作用の観点から— ----- 30
研究分担者 高森 建二
研究協力者 富永 光俊、鎌田 弥生

- アトピー性皮膚炎のかゆみに影響する各種パラメータの解析—治療前後の比較について— 34
研究分担者 相馬良直
研究協力者 川上民裕、京谷樹子

- アトピー性皮膚炎における汗アレルギーの解析と有効性の高いスキンケア方法の開発----- 36
研究分担者 秀 道広
研究協力者 信藤 肇、平郡 隆明、平郡 真記子、石井 香

- アトピー性皮膚炎の疾患感受性遺伝子解析とアトピー性皮膚炎が睡眠や就労に与える影響に
関する研究----- 39
分担研究者 佐伯秀久
研究協力者 石地尚興、石氏陽三、堀田健人、佐藤純子、東福有佳里

- アトピー性皮膚炎のかゆみと相関する生理活性物質の同定及び
日常生活におけるかゆみ対策の気づきと実践 ----- 42
研究分担者 菅谷 誠

マウスモデルを用いた掻痒発現機序の解析と治療戦略の構築	44
研究分担者 稲垣直樹	
研究協力者 田中宏幸、山下弘高	
小児アトピー性皮膚炎に対するproactive治療、かゆみとQOLに関する研究	47
研究分担者 大矢幸弘	
研究協力者 樺島重憲、夏目統、近藤麻伊、山本貴和子、成田雅美	
ケラチノサイト由来の炎症性サイトカインとアトピー性皮膚炎	51
研究分担者 浜崎雄平	
研究協力者 山本修一、谷口一登	
アトピー性皮膚炎のかゆみの発症機序と治療に関する研究	
樹状細胞の病態への役割に関する研究	53
研究分担者 中村晃一郎	
研究協力者 宮野恭平	
アトピー性皮膚炎の疾患感受性遺伝子解析	55
研究分担者 玉利真由美	
研究協力者 広田朝光	
痒み・掻破行動と皮膚炎増悪メカニズムに関するアトピーモデルを用いた研究	58
研究分担者 竹内 聡	
研究協力者 古江増隆、江崎仁一	
脊髄内痒み神経の同定に関する研究/石垣島コホート研究/本土・琉球クラスターにおけるアトピー関連遺伝子の探索に関する研究	60
研究分担者 古江増隆	
研究協力者 竹内聡、中原剛士、蜂須賀淳一、江崎仁一、林亜矢子、林純、古庄憲浩、玉利真由美、広田朝光、天谷雅行、海老原全、工藤純、佐伯秀久	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	63
IV. 研究成果の刊行物・別刷	65

平成25年度 総括研究報告書

アトピー性皮膚炎の発症・症状の制御および治療法の確立普及に関する研究

研究代表者 古江増隆 九州大学大学院医学研究院皮膚科学分野教授

研究要旨

アトピー性皮膚炎の効果的な治療と患者QOLの改善のためには、増悪因子でもある“炎症性痒みメカニズム”の解明が重要である。我々は免疫・神経生理学的方面双方から病態の理解と制御をすすめ、かゆみ抑制検証モデルの確立や臨床応用可能なSema3A導入法やかゆみを引き起こす汗抗原と常在真菌のかかわりなど臨床応用可能な物質を同定、一部はすでに製剤化も果たしエチル。また、皮膚炎の発症原因、増悪因子に関して従来の知識に問われない遺伝学的アプローチを試み、MDCなど、8つの新たな候補遺伝子を同定し、コホート研究では卵アレルギーと重症度の関連性も認識された。本研究の最終目標としてアトピー性皮膚炎治療の標準化と普及のため、本研究結果も含め、より患者視点からの改良を行うため、患者会と協力し、一般・患者向け教育ウェブサイトのリニューアルを行った。

研究分担者

高森建二（順天堂大学医学部附属浦安病院）、相馬良直（聖マリアンナ医科大学皮膚科教授）、秀道広（広島大学大学院歯薬保健学研究院皮膚科学教授）、佐伯秀久（東京慈恵会医科大学皮膚科准教授）、菅谷誠（東京大学大学院医学系研究科皮膚科学准教授）、稲垣直樹（岐阜薬科大学機能分子学大講座薬理学研究室教授）、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）、浜崎雄平（佐賀大学医学部小児科学教授）、中村晃一郎（埼玉医科大学皮膚科教授）、玉利真由美（理化学研究所統合生命医科学研究センター呼吸器・アレルギー疾患研究チーム チームリーダー）、竹内聡（九州大学病院特別教員）

研究協力者

富永光俊、鎌田弥生（順天堂大学大学院医学研究科環境医学研究所）、川上民裕（聖マリアンナ医科大学皮膚科准教授）、京谷樹子（聖マリアンナ医科大学皮膚科助教）、信藤肇、平郡隆明、平郡真記子、石井香（広島大学大学院歯薬保健学研究院皮膚科学）、石地尚興（東京慈恵会医科大学皮膚科准教授）、石氏陽三（東京慈恵会医科大学皮膚科助教）、堀田健人、佐藤純子、東福有佳里（東京慈恵会医科大学皮膚科）、田中宏幸（岐阜薬科大学機能分子学大講座薬理学研究室准教授）、山下弘高（岐阜薬科大学機能分子学大講座薬理学教室助教）、樺島重憲、夏目統、近藤麻伊、山本貴和子、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）、山本修一（佐賀大学医学部小児科学講師）、谷口一登（佐賀大学地域医療支援学助教）、宮野恭平（埼玉医科大学皮膚科助教）、広田朝光（理化学研究所 統合生命医科学研究センター呼吸器・アレルギー

一疾患研究チーム研究員）、中原剛士（九州大学大学院医学研究院皮膚科学）、蜂須賀淳一、江崎仁一、林亜矢子（九州大学大学院医学研究院皮膚科学大学院生）、林純、古庄憲浩（九州大学大学院感染環境医学分野）、天谷雅行、海老原 全（慶應義塾大学医学部皮膚科学）、工藤 純（慶應義塾大学生命情報学センター）、認定 NPO 法人日本アレルギー友の会、小河祥子（千葉大学大学院看護学研究科）

A. 研究目的

我々は、これまでに厚生労働省科学研究「アトピー性皮膚炎の既存治療法のEBMによる評価と有用な治療法の普及に関する研究」（平成14～16年度）の成果を「アトピー性皮膚炎—よりよい治療のためのEvidence-Based Medicine とデータ集」（http://www.kyudai-derm.org/atopy_ebm/index.html）としてウェブサイト上に公開した。また、厚生労働省科学研究「アトピー性皮膚炎の症状の制御および治療法の普及に関する研究」（平成17～19年度）では、ホームページ「アトピー性皮膚炎、かゆみをやっつけよう」というウェブサイト（<http://www.dermjapan.org/kayumi/index.html>）を2007年5月10日に公開した。さらに「アトピー性皮膚炎のかゆみの解明と治療の標準化に関する研究」（平成20～22年度）では上記EBMウェブサイト（http://www.kyudai-derm.org/atopy_ebm/index.html）を2010年版としてアップデートし、治療薬の明確な効能・効果をエビデンスに基づいて詳述した。これらのウェブサイトでは多くの患者を悩ましQOLの低下を招いているアトピー性皮膚炎(AD)の痒みの具体的な治療法、家庭での対策などに関して、患者の視点からよりわかりやすく解説し、開設以来、患者を中心に非常に多くのアクセスを記録している。本研究では、

(1) ADの発症に関与する諸因子をコホート研究にて明らかにするとともに、(2) ADの重要な症状である痒みと炎症の機序を生物学的ならびに遺伝学的に解明し、(3) これらの研究成果を踏まえ、標準治療とその工夫・治療効果を分かりやすく具体的に国民に普及させることを目的とする。

B. 研究方法

(1) 痒みの機序と抑制に関する基礎的研究(稲垣、高森、竹内、浜崎、古江) 基礎的な研究では、マウスモデルを用いた掻痒発現機序の解析と治療戦略の構築(稲垣)、バリア機能破綻に起因するADの痒みのメカニズムの解明(知覚神経と表皮ケラチノサイトの相互作用)(高森)、痒み・掻破行動と皮膚炎増悪メカニズムに関するアトピーモデルを用いた検証(竹内)、セロトニン感受性痒み伝達神経の起痒物質感受性の探索(古江)、表皮ケラチノサイトに関連するADの痒み関連因子の検討(浜崎)を行う。

(2) ADの発症に寄与する諸因子の解明(古江、竹内、玉利) 2001年から我々が樹立した石垣島児童検診コホート(KIDS)では、毎年600~800名の0-6歳児童の検診、アンケート、採血を行っている。本研究では、平成23年度に卵アレルギーとAD発症の疫学調査、平成24年度に小児のIgE産生の疫学、平成25年度に血中monocyte-derived chemokine (MDC)値の推移とADの発症に関する疫学、MDC値と予後ならびに皮膚感染症の合併に関する疫学調査を行う。加えてフィラグリン遺伝子多型を有してはいるもののADを発症していない児の背景因子を調査したい(古江、竹内)。また遺伝学的研究では平成20-22年度に集積したAD患者919例、健常人1032例の遺伝子サンプルを含むAD患者1472名、非ADコントロール7971名を対象にして、遺伝子多型とAD発症の関連性を3年間にわたり順次明らかにしたい(玉利)。

(3) 痒みの機序と抑制に関する臨床的研究(佐伯、菅谷、中村、相馬、秀、大矢) 臨床的な研究では、ADが睡眠や就労に与える影響に関する研究(佐伯)、ADのかゆみと相関する生理活性物質の同定及び日常生活におけるかゆみ対策の気づきと実践(菅谷)、(IL-31など)ADのかゆみの理解とその対策に関する包括的研究(相馬)、ADにおける汗アレルギーの解析とスキンケアの方法の開発(秀)、ADのかゆみにおける樹状細胞の役割に関する研究(中村)、小児ADに対するproactive治療に関する研究(大矢)を行う。

(4) 標準的治療を普及させるウェブサイトのリニューアルと公開(古江、大矢、浜崎、患者の会) 開設以来多くのアクセスを得ている「アトピー性皮膚炎についていっしょに考えましょう」というウェブサイトを、標準治療とその工夫・治療効果を中心に患者の立場に立ってリニューアルするべく検討を開始した(古江、患者の会)。本研究で明らかとなった痒みのメ

カニズム、質的違い、遺伝背景などの研究成果も踏まえながら、患者の会とも協力してこれらのウェブサイトのリニューアルをすすめていく。また、作成されたウェブサイトに対する保護者のアクセス行動に関する調査研究も行う(浜崎)。

(倫理面への配慮)

本研究で行われる臨床試験、動物実験、ゲノム・遺伝実験はすべて施行施設での倫理委員会の承認を受けており、ヒト関連研究では同意の上で施行されている。

C. 研究結果

(1) 痒みの機序と抑制に関する基礎的研究(稲垣、高森、竹内、浜崎、古江) ICRマウスNC/NgaマウスのTNF- α 誘導性の起痒物質NGFがsiRNA+invivofectamine 2の局所注射で強く抑制されることを示した。現在効率の良い経皮的な投与経路の開発中である(稲垣)。アトピーマウスモデルで皮膚炎および掻破抑制に有効なSema3Aを効率よく発現させるプロモーター領域としてROR α 領域を同定し、同作動薬によるSema3A発現誘導が確認された(高森)。アトピーモデルマウスでFK506の抗かゆみ効果が、ハプテン再チャレンジに対して外用中止後3日目までは効果が持続し、その後4-6日目では徐々に消失することを確認した。臨床的なADでの外用中止後のかゆみ再発の中央値(3日目)と一致し(既報告)、興味深い(竹内)。セロトニン感受性かゆみ伝達神経は、脊髄後索の浅層に入力し、機械刺激にも応答する多様式ニューロンであることが確認された(古江)。また、アレルギー性接触皮膚炎モデルマウスでは、抗IL-33抗体治療がAD様皮膚炎(表皮肥厚、好酸球浸潤)を抑制することがわかった。

(2) アトピー性皮膚炎の発症に寄与する諸因子の解明(古江、竹内、玉利) 石垣島コホートでのべ7856人の保育園児調査の結果、平均有病率は6.3%、本人の気管支喘息と卵アレルギー、父親や同胞のADが罹患危険因子であり、卵アレルギーを合併するAD園児は、非合併のD園児より重症であることが分かった。一方でミルクや小麦など他の3大食物アレルギーやダニアレルギーの有無ではそのような差は見られなかった。また、AD園児でのTh2ケモカインMDC値は健常群より高いことも分かった。また、石垣島コホートにおいて、フィラグリン遺伝子変異の有無がアトピー性皮膚炎の発症に必ずしも寄与しないことを見出した(古江、竹内、天谷)。AD集団のimmunochip解析、遺伝子発現解析、eQTL解析にて、あらたにRAG1,2、SOCS1、NGFR、NLRP10、CCR4の関与が示された(玉利)。

(3) 痒みの機序と抑制に関する臨床的研究(佐伯、菅谷、中村、相馬、秀、大矢) AD患者の労働生産性の障害度(TWPI)は32.8 \pm 23.7%で重症度スコアや皮膚疾患QOLスコア(DLQI)と相関した。また、睡眠の質障害度(PSQI)も同様にこれらと相関した。(佐伯)。東京大学皮膚科アトピー外来に通院中の患者では、か

ゆみ関連物質 GRP と autotaxin がいずれも健常群より上昇していることが分かった(菅谷)。AD 患者由来の樹状細胞は健常人に比して有意に高い Th2 ケモカイン MDC の産生能を示すことがわかった(中村)。外来の AD 患者の血液検査で、重症度マーカー TARC が SCORAD、掻痒 VAS、好酸球数、LDH と相関することを確認した。IL-31 と LDH に相関がみられた(相馬)。AD 患者での発汗によるかゆみの原因物質として、常在真菌であるマラセチア (*Malassezia globosa*) の分泌タンパク MGL1304 を同定した(秀)。生後 6 ヶ月で湿疹あり児では湿疹なし児と比較して、食物アレルギー発症が高く(既報)、また近年では食物の早期摂取が食物アレルギーの発症を抑制するという報告がある。そこで、AD 乳幼児において、生後 6 ヶ月から 1 歳まで粉末化加熱卵タンパクの連日摂取をする群とプラセボを摂取する対照群に分け、両群とも、1 歳まで卵を含む食品の摂取を制限する。また、この間の湿疹治療においては保護者の希望に応じて、ステロイド外用薬を用いた proactive 療法を行うか、スキンケアのみ実施する 2 群に分ける。現在 83 名の登録があり、50 名の負荷試験が終了しており、登録も継続中である(大矢)。

(4) 標準的治療を普及させるウェブサイトのリニューアルと公開(古江、患者の会)開設以来、多くのアクセスを得ている「アトピー性皮膚炎についていっしょに考えましょう」というウェブサイトを、標準治療とその工夫・治療効果を具体的に患者の立場で解説する仕様にリニューアルした(古江、患者の会)。本研究で明らかとなった痒みのメカニズム、質の違い、遺伝背景などの研究成果も踏まえながら、患者の会とも協力してさらに完成度を高めたい。

D. 考察

基礎研究では NGFsiRNA の in vivo での治療の可能性を示し、至適条件を検討して臨床応用が期待される。タクロリムス (FK) の抗かゆみ効果は外用中止後 3 日目までは効果が持続し、臨床結果とも一致した。AD のプロアクティブ療法の外用間隔の調整を考えるうえで重要な知見である。また、プロモーター領域制御による抗炎症・かゆみ物質 Sema3A の発現調節技術は低コストの新薬開発につながる可能性ある。最近報告された AD と関連する IL-33 抗体治療が、マウスでの慢性皮膚病変部を改善しており、病態への関連が示唆される。5-HT (マウスでの主要な起痒物質) 誘発によるかゆみ特異的神経の同定と上位伝達ニューロン分布の決定は、かゆみ知覚の受容の観点から脳 MR I 解析など中枢での痒み知覚研究の推進に寄与すると思われる。

石垣島コホートおよび遺伝子解析では新規の AD 患児の罹患危険因子の同定や卵アレルギーと AD 罹患および重症度との関わりが示唆され昨年報告した Th2 ケモカイン MDC (CCL-22) など 8 領域に加え RAG1, 2、

SOCS1, NGFR, NLRP10, CCR4 の関与が示唆された。AD の主要な遺伝的罹患危険因子である天然保湿因子フィラグリンは、Th2 環境下でその発現が低下するため、日本人では約 7 割に達するフィラグリン遺伝子変異のない AD 患者での発症メカニズムの観点からもこの Th2 ケモカイン MDC との関連は注目に値し、またかゆみと関連の深い NGF の受容体 NGFR があらたに同定されたことも興味深い。

臨床的研究では AD 患者の労働生産性障害度や睡眠障害度は重症度 SCORAD や QOL スコアと有意な正の相関が認められ、重症であるほどかゆみが強く、生産活動性、患者 QOL が落ちることに他ならない。またかゆみと相関する血清中の生理活性物質としてあらたに GRP と autotaxin が同定された。適正治療による病状や起痒物質のコントロールの重要性が示唆される。また、AD 患者末梢血由来の樹状細胞からは前述の遺伝子解析でも指摘された Th2 ケモカインの MDC に有意な上昇がみられることを確認した。重症度マーカー TARC が SCORAD、掻痒 VAS、好酸球数、LDH と相関することを確認した。また、かゆみの悪化因子である汗抗原として常在真菌である *Malassezia globosa* の分泌タンパク MGL1304 を同定した。真菌と AD の関連を示すものとして臨床的に注目される。さらに乳幼児 AD へのプロアクティブ療法介入が食物アレルギーの合併率に与える影響をしらべる前向き研究では現在 83 名と登録が進み、50 名で負荷試験が終了している。引き続き研究を進め、食物アレルギーを含めたアレルギー疾患全般のコントロールからみた皮膚局所の AD 治療の意義を問いたい。

E. 結論

平成25年度の本研究によって基礎的、臨床的に多くの新知見が得られ、また現在も成果を得るべく継続中である。患者教育ウェブサイトは患者会の協力のもの、患者側からの視点でも再構成した。本研究の新知見も踏まえながら、成果を整理し、科学論文や患者教育ウェブサイトの充実を通してアトピー性皮膚炎の正しい治療の普及を図りたい。

F. 健康危険情報：特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Furue M, Ebata T, Ikoma A, Takeuchi S, Kataoka Y, Takamori K, Satoh T, Saeki H, Augustin M, Reich A, Szepietowski J, Fleischer A, Blome C, Phan NQ, Weisshaar E, Yosipovitch G, Ständer S. Verbalizing Extremes of the Visual Analogue Scale for Pruritus: A Consensus Statement. *Acta Derm Venereol.* 2013 Mar 27;93(2):214-5.

Morino-Koga S, Uchi H, Tsuji G, Takahara M, Kajiwar

- J, Hirata T, Furue M. Reduction of CC-chemokine ligand 5 by aryl hydrocarbon receptor ligands. *J Dermatol Sci.* 2013 Oct;72(1):9-15.
- Chiba T, Tatematsu S, Nakao M, Furue M. Urinary biopyrrin: a potential inflammatory marker of atopic dermatitis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2014 Feb;112(2):182-3. doi: 10.1016/j.anai.2013.12.011.
- 川島 眞、古江増隆、秀 道広、佐藤伸一、宮地良樹、慢性蕁麻疹における標準治療不応例に対するベポタスチンベシル酸塩増量の有油性の検討(UPDATE trial)、*臨床医薬* 29:1057-1070, 2013
- Tomita K, Sakashita M, Hirota T, Tanaka S, Masuyama K, Yamada T, Fujieda S, Miyatake A, Hizawa N, Kubo M, Nakamura Y, Tamari M. Variants in the 17q21 asthma susceptibility locus are associated with allergic rhinitis in the Japanese population. *Allergy.* 2013;68:92-100.
- Iijima H, Kaneko Y, Yamada H, Yatagai Y, Masuko H, Sakamoto T, Naito T, Hirota T, Tamari M, Konno S, Nishimura M, Noguchi E, Hizawa N. A distinct sensitization pattern associated with asthma and the thymic stromal lymphopoietin (TSLP) genotype. *Allergol Int.* 2013;62:123-130.
- Himes BE, Sheppard K, Berndt A, Leme AS, Myers RA, Gignoux CR, Levin AM, Gauderman WJ, Yang JJ, Mathias RA, Romieu I, Torgerson DG, Roth LA, Huntsman S, Eng C, Klanderma B, Ziniti J, Senter-Sylvia J, Szeffler SJ, Lemanske RF Jr, Zeiger RS, Strunk RC, Martinez FD, Boushey H, Chinchilli VM, Israel E, Mauger D, Koppelman GH, Postma DS, Nieuwenhuis MA, Vonk JM, Lima JJ, Irvin CG, Peters SP, Kubo M, Tamari M, Nakamura Y, Litonjua AA, Tantisira KG, Raby BA, Bleecker ER, Meyers DA, London SJ, Barnes KC, Gilliland FD, Williams LK, Burchard EG, Nicolae DL, Ober C, DeMeo DL, Silverman EK, Paigen B, Churchill G, Shapiro SD, Weiss ST. Integration of mouse and human genome-wide association data identifies KCNIP4 as an asthma gene. *PLoS One.* 2013;8:e56179.
- Ellinghaus D, Baurecht H, Esparza-Gordillo J, Rodríguez E, Matanovic A, Marenholz I, Hübner N, Schaarschmidt H, Novak N, Michel S, Maintz L, Werfel T, Meyer-Hoffert U, Hotze M, Prokisch H, Heim K, Herder C, Hirota T, Tamari M, Kubo M, Takahashi A, Nakamura Y, Tsoi LC, Stuart P, Elder JT, Sun L, Zuo X, Yang S, Zhang X, Hoffmann P, Nöthen MM, Fölster-Holst R, Winkelmann J, Illig T, Boehm BO, Duerr RH, Büning C, Brand S, Glas J, McAleer MA, Fahy CM, Kabesch M, Brown S, McLean WH, Irvine AD, Schreiber S, Lee YA, Franke A, Weidinger S. High-density genotyping study identifies four new susceptibility loci for atopic dermatitis. *Nat Genet.* 2013;45:808-812.
- Kanemitsu Y, Matsumoto H, Izuhara K, Tohda Y, Kita H, Horiguchi T, Kuwabara K, Tomii K, Otsuka K, Fujimura M, Ohkura N, Tomita K, Yokoyama A, Ohnishi H, Nakano Y, Oguma T, Hozawa S, Nagasaki T, Ito I, Oguma T, Inoue H, Tajiri T, Iwata T, Izuhara Y, Ono J, Ohta S, Tamari M, Hirota T, Yokoyama T, Niimi A, Mishima M. Increased periostin associates with greater airflow limitation in patients receiving inhaled corticosteroids. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;132:305-312.
- Tanaka S, Hirota T, Kamijo A, Ishii H, Hatsushika K, Fujieda S, Ishitoya J, Masuyama K, Tamari M. Lung Functions of Japanese Patients with Chronic Rhinosinusitis Who Underwent Endoscopic Sinus Surgery. *Allergol Int.* 2013 in press
- Wu AC, Himes BE, Lasky-Su J, Litonjua A, Peters SP, Lima J, Kubo M, Tamari M, Nakamura Y, Qiu W, Weiss ST, Tantisira K. Inhaled corticosteroid treatment modulates ZNF432 gene variant's effect on bronchodilator response in asthmatics. *J Allergy Clin Immunol.* 2013:S0091-6749(13)01486-3. in press
- Yatagai Y, Sakamoto T, Masuko H, Kaneko Y, Yamada H, Iijima H, Naito T, Noguchi E, Hirota T, Tamari M, Imoto Y, Tokunaga T, Fujieda S, Konno S, Nishimura M, Hizawa N. Genome-Wide Association Study for Levels of Total Serum IgE Identifies HLA-C in a Japanese Population. *PLoS One.* 2013;8:e80941.
- Hayashi M, Hirota T, Saeki H, Nakagawa H, Ishiuchi Y, Matsuzaki H, Tsunemi Y, Kato T, Shibata S, Sugaya M, Sato S, Tada Y, Doi S, Miyatake A, Ebe K, Noguchi E, Ebihara T, Amagai M, Esaki H, Takeuchi S, Furue M, Tamari M. Genetic polymorphism in the TRAF3IP2 gene is associated with psoriasis vulgaris in a Japanese population. *J Dermatol Sci.* 2013:S0923-1811(13)00381-2. in press
- 英文総説
Tamari M, Tanaka S, Hirota T. Genome-wide

association studies of allergic diseases. *Allergol Int.* 2013;62:21-28.

Tamari M, Hirota T. Genome-wide association studies of atopic dermatitis. *J Dermatology.* 2013 in press.

日本語総説

玉利真由美, 田中翔太, 角大治朗, 広田朝光: ゲノムワイド関連解析と呼吸器多因子疾患. *呼吸*, 32(3):274-279, 2013.

広田朝光, 玉利真由美: 疾患概念と病因論 ゲノム解析. COPD (慢性閉塞性肺疾患) 病態解明から治療まで 最新医学 1072-1078, 2013.

広田朝光, 玉利真由美: 日本人の遺伝的背景とアレルギー. *実験医学増刊号*, 31:2872-2878, 2013.

広田朝光, 玉利真由美: ゲノム解析と気管支喘息. *呼吸と循環*, 61:906-913, 2013.

玉利真由美, 広田朝光: ゲノムワイド関連解析と呼吸器疾患. 第 1 章 病態生理に関する最新の基礎的研究別冊 医学のあゆみ 呼吸器疾患 Ver.6 state of arts, 61-63, 2013.

玉利真由美, 広田朝光: 遺伝的アプローチから見た小児気管支喘息. *日本小児アレルギー学会誌*, 539-547, 2013.

中村晃一郎. 負荷試験の実際 2013 薬物アレルギー負荷テスト. *小児内科*. 45 (5), 987 - 988 , 2013 (05)

中村晃一郎. ステロイド外用薬の薬理学・薬物動態学の視点. *ステロイド外用薬の構造と薬理活性*. 薬局 (64(6): 1885-1888, 2013(5)

Yamashita H, Makino T, Inagaki N, Nose M, Mizukami H: Assessment of relief from pruritus due to Kampo medicines by using murine model of atopic dermatitis. *J Trad Med* 30: 114-123, 2013.2.

Kagami S, Sugaya M, Suga H, Morimura S, Kai H, Ohmatsu H, Fujita H, Tsunemi Y, Sato S. Serum gastrin-releasing peptide levels correlate with pruritus in patients with atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 133: 1673-5, 2013.

Suga H, Sugaya M, Miyagaki T, Kawaguchi M, Morimura S, Kai H, Kagami S, Ohmatsu H, Fujita H, Asano Y, Tada Y, Kadono T, Sato S. Serum visfatin levels in

patients with atopic dermatitis and cutaneous T-cell lymphoma. *Eur J Dermatol* 23: 629-35, 2013.

Nakao M, Sugaya M, Suga H, Kawaguchi M, Morimura S, Kai H, Ohmatsu H, Fujita H, Asano Y, Tada Y, Kadono T, Sato S. Serum autotaxin levels correlate with pruritus in patients with atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* in press.

Saeki H, Hirota T, Nakagawa H, Tsunemi Y, Kato T, Shibata S, Sugaya M, Sato S, Doi S, Miyatake A, Ebe K, Noguchi E, Ebihara T, Amagai M, Esaki H, Takeuchi S, Furue M, Nakamura Y, Tamari M: Genetic polymorphisms in the IL22 gene are associated with psoriasis vulgaris in a Japanese population. *J Dermatol Sci* 71: 148-50, 2013.

Yano C, Saeki H, Ishiji T, Ishiuchi Y, Sato J, Tofuku Y, Nakagawa H: Impact of disease severity on work productivity and activity impairment in Japanese patients with atopic dermatitis. *J Dermatol* 40: 736-9, 2013.

Hayashi M, Saeki H, Ito T, Fukuchi O, Umezawa Y, Katayama H, Tanito K, Igarashi A, Etoh T, Hasegawa T, Nakagawa H: Impact of disease severity on work productivity and activity impairment in Japanese patients with psoriasis. *J Dermatol Sci* 72: 188-91, 2013.

Yano C, Saeki H, Ishiji T, Ishiuchi Y, Sato J, Tofuku Y, Nakagawa H: Impact of disease severity on sleep quality in Japanese patients with atopic dermatitis. *J Dermatol Sci* 72: 195-7, 2013.

Hiragun T, et al. Fungal protein MGL_1304 in sweat is an allergen for atopic dermatitis patients. *J Allergy Clin Immunol* 132: 608-615, 2013.

Hiragun M, et al. Elevated serum IgE against MGL_1304 in patients with atopic dermatitis and cholinergic urticaria. *Allergol Int*, in press.

Kamo A, Negi O, Tengara S, Kamata Y, Noguchi A, Ogawa H, Tominaga M, Takamori K. Histamine H4 Receptor Antagonists Ineffective against Itch and Skin Inflammation in Atopic Dermatitis Mouse Model. *J Invest Dermatol*. 2013, in press.

Tominaga M, Takamori K. An update on peripheral mechanisms and treatments of itch. *Biol Pharm Bull.* ,

36(8): 1241-7, 2013.

Kamo A, Tominaga M, Taneda K, Ogawa H, Takamori K. Neurotrophin inhibits the increase in intraepidermal nerve density in the acetone-treated dry-skin mouse model. *Clin Exp Dermatol.* 38(6): 665-8, 2013.

Akiyama T, Tominaga M, Takamori K, Carstens MI, Carstens E. Roles of glutamate, substance P, and gastrin-releasing peptide as spinal neurotransmitters of histaminergic and nonhistaminergic itch. *Pain*, 2013, in press.

Shibata A, Sugiura K, Kimura U, Takamori K, Akiyama M. A novel ATP2C1 early truncation mutation suggests haploinsufficiency as a pathogenic mechanism in a patient with Hailey-Hailey disease. *Acta Derm Venereol.*, 93(6): 719-20, 2013.

Furue M, Ebata T, Ikoma A, Takeuchi S, Kataoka Y, Takamori K, Satoh T, Saeki H, Augustin M, Reich A, Szepietowski J, Fleischer A, Blome C, Phan NQ, Weisshaar E, Yosipovitch G, Ständer S. Verbalizing extremes of the visual analogue scale for pruritus: a consensus statement. *Acta Derm Venereol.* 93(2): 214-5, 2013.

Yanagida M, Kawasaki M, Fujishiro M, Miura M, Ikeda K, Nozawa K, Kaneko H, Morimoto S, Takasaki Y, Ogawa H, Takamori K, Sekigawa I. Serum proteome analysis in patients with rheumatoid arthritis receiving therapy with tocilizumab: an anti-interleukin-6 receptor antibody. *Biomed Res Int.* 2013: 607137, 2013.

Araki Y, Nonaka D, Hamamura K, Yanagida M, Ishikawa H, Banzai M, Maruyama M, Endo S, Tajima A, Lee LJ, Nojima M, Takamori K, Yoshida K, Takeda S, Tanaka K. Clinical peptidomic analysis by a one-step direct transfer technology: its potential utility for monitoring of pathophysiological status in female reproductive system disorders. *J Obstet Gynaecol Res.*, 39(10): 1440-8, 2013.

Nakayama H, Ogawa H, Takamori K, Iwabuchi K. GSL-enriched membrane microdomains in innate immune responses. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).*, 61(3): 217-28, 2013.

Nozawa K, Fujishiro M, Kawasaki M, Yamaguchi A, Ikeda K, Morimoto S, Iwabuchi K, Yanagida M,

Ichinose S, Morioka M, Ogawa H, Takamori K, Takasaki Y, Sekigawa I. Inhibition of connective tissue growth factor ameliorates disease in a murine model of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 65(6):1477-86, 2013.

Yamaguchi A, Nozawa K, Fujishiro M, Kawasaki M, Suzuki F, Takamori K, Ogawa H, Takasaki Y, Sekigawa I. CC motif chemokine ligand 13 is associated with rheumatoid arthritis pathogenesis. *Mod Rheumatol.*, 23(5): 856-63, 2013.

(和文原著、総説、著書)

高森建二. 全身性皮膚癢痒症. *JIM.* Vol.23, No.2, 132-134, 2013.

高森建二, 富永光俊. アトピー性皮膚炎の痒みのメカニズムと新たな治療戦略. *臨床免疫・アレルギー科*, 59(2), 191-197, 2013.

高森建二. STIとかゆみ. *日本性感染症学会誌*, Vol.24, No.1, 28-34, 2013.

根木 治, 須賀 康, 高森建二, 高原久嗣, 林野久紀, 鈴木敏江, 矢萩理恵. 透析患者のかゆみに対するツバキ油スプレーの有用性および安全性の検討. *皮膚の科学*, Vol.11, No 6, 538 - 547, 2012.

富永光俊, 高森建二. バリア機能の痒み. *アレルギーの臨床*, No440, 39-43, 2013.

根木 治, 富永光俊, 高森建二. かゆみとスキンケア. *Monthly Book Derma.* No. 210, 23-30, 2013.

富永光俊, 加茂敦子, 高森建二. 老人性乾皮症の痒み発生機序の解明と治療法開発. *加齢皮膚医学セミナー*. Vol. 8, 23-28, 2013.

富永光俊, 高森建二. バリア機能と痒み. *アレルギーの臨床*. Vol. 33, No. 2, 39-43, 2013.

大泉亜美, 春名邦隆, 寒竹正人, 大日方薫, 高森建二, 須賀 康. 単純型先天性表皮水疱症の2例の臨床経験. *日本小児皮膚科学会雑誌*Vol. 32, No. 1, 35-40, 2013.

木下綾子, 高森建二, 須賀 康. 順天堂大学浦安病院を受診した新規HIV感染者における皮膚症状の検討. *日本性感染症学会誌*, Vol. 24, No. 1, 140-147, 2013.

木村有太子, 竹内かおり, 木下綾子, 高森建二, 比留間政太郎, 須賀 康. 爪白癬に対するロングパルスNd :

YAG レーザー治療. 日本美容皮膚科学会雑誌 Vol. 23 No. 4, 280-288, 25, Dec, 2013

川上民裕: 皮脂欠乏症の病態と保湿の意義 日経メディカル Clinical Lecture 2013 No. 3 71-75

Taniguchi K, Yamamoto S, Hitomi E, Inada Y, Suyama Y, Sugioka T, Hamasaki Y. Interleukin 33 is induced by tumor necrosis factor alpha and interferon gamma in keratinocytes and contributes to allergic contact dermatitis. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2013;23(6):428-434

Taniguchi K, Yamamoto S, Hitomi E, Inada Y, Sugioka T, Hamasaki Y. Blockade of Interleukin-33 attenuates allergic contact dermatitis in model mice: possible mechanism via eosinophil infiltration. *Clin Exp Dermatol Res* 2013;4(3):1000183

Takeuchi S, Esaki H, Furue M. Epidemiology of atopic dermatitis in Japan. (Review) *J Dermatol.* 2013 accepted for publication.

Hayashi M, Hirota T, Saeki H, Nakagawa H, Ishiuchi Y, Matsuzaki H, Tsunemi Y, Kato T, Shibata S, Sugaya M, Sato S, Tada Y, Doi S, Miyatake A, Ebe K, Noguchi E, Ebihara T, Amagai M, Esaki H, Takeuchi S, Furue M, Tamari M. Genetic polymorphism in the TRAF3IP2 gene is associated with psoriasis vulgaris in a Japanese population. *J Dermatol Sci.* 2013 Dec 10. pii: S0923-1811(13)00381-2. doi: 10.1016/j.jdermsci.2013.11.012. [Epub ahead of print]

竹内聡 アトピー性皮膚炎 -ステロイド外用剤に抵抗性のかゆみ- *Dermatology Today*, 2014 (in press) (総説)

2. 学会発表

アレルギー疾患のゲノムワイド関連解析-アトピー関連領域と成人喘息関連領域-, 第53回日本呼吸器学会学術講演会 シンポジウム 閉塞性肺疾患の多様性とフェノタイプ 2013, 有楽町 東京. 玉利真由美

Genetic Study of Allergic Diseases, Taiwan-Japan Joint Symposium on BioBank and Genomic Medicine in Academia Sinica 2013, 台北 台湾. Mayumi Tamari

ゲノムワイド関連解析によるアトピー性皮膚炎関連遺伝子の同定, 第112回日本皮膚科学会総会 教育講演23

アトピー性皮膚炎: バリア障害による表皮と免疫のクロストーク 2013, 横浜 神奈川. 玉利真由美

Genomics in Allergic Disease, Symposium 24 World Allergy Forum, Omics in Allergic Disease, European Academy of Allergy and Clinical Immunology & World Allergy Organization World Allergy & Asthma Congress 2013, ミラノ イタリア. Mayumi Tamari

アレルギー疾患のゲノムワイド関連解析, 第34回日本炎症・再生医学会 シンポジウム4 炎症性疾患の再生のゲノム・エピゲノム解析の現状と展望 2013, 宝ヶ池 京都. 玉利真由美

アトピー性皮膚炎のゲノム解析の現状, 特別講演 九州大学皮膚科学教室 かゆみ研究会 2013, 博多 福岡. 玉利真由美

Genome-Wide Association Study of Allergic Diseases, 8th RCAI-JSI International Symposium on Immunology 2013, Interface between Immune System and Environment 2013, 横浜 神奈川. Mayumi Tamari

アレルギー疾患の遺伝的要因 ゲノムワイド関連解析を中心に, 第64回東海小児アレルギー談話会 特別講演 2013, 名古屋 愛知. 玉利真由美

Genome-Wide Association Study of Allergic Diseases, Plenary Lecture 1 第50回日本小児アレルギー学会 2013, 横浜 神奈川. 玉利真由美

中村晃一郎. アトピー性皮膚炎と外用療法. 治療のモチベーション持続の工夫. *日本臨床皮膚科医会雑誌.* 30 (2)203, 2013

稲垣直樹: アトピーの慢性化と最新研究について. *アレルギーケアフォーラム*, 東京, 2013. 6. 13.

稲垣直樹: アトピー性皮膚炎とかゆみ. *日本薬学図書館協議会研究集会*, 名古屋, 2013. 8. 8.

佐伯秀久, 谷野千鶴子, 石地尚興, 石氏陽三, 佐藤純子, 東福有佳里, 中川秀己: アトピー性皮膚炎患者では重症なほど睡眠の質が低下する. 第 64 回日本皮膚科学会中部支部学術大会, 名古屋, 2013 年 11 月 2-3 日

佐伯秀久, 谷野千鶴子, 石地尚興, 石氏陽三, 佐藤純子, 東福有佳里, 中川秀己: アトピー性皮膚炎患者では重症なほど労働生産性や日常活動が低下する. 第 63 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京, 2013 年 11

月 28-30 日

Hiragun M, et al. Establishment of a method to quantify the specific IgE against sweat antigen in sera of patients with atopic dermatitis. 第37回日本研究皮膚科学会 2012年12月7-9日 那覇市

Hiragun M, et al. The specific IgE against sweat antigen in sera of patients with allergic diseases. International Investigative Dermatology 2013, May 8-11, 2013, Edinburgh, UK.

平郡真記子ほか. 精製汗抗原特異的IgEのELISA法の確立とその臨床的意義の検討. 第112回日本皮膚科学会総会 2013年6月14-16日 横浜市

平郡隆明. アトピー性皮膚炎における汗抗原の同定とその解析. 第10回広島免疫アレルギー研究会 2013年6月28日 広島市

平郡隆明ほか. アトピー性皮膚炎患者における汗抗原の同定とその解析. 第3回汗と皮膚の研究会 2013年8月10日 東京都

平郡隆明ほか. アトピー性皮膚炎患者における汗抗原の同定とその解析. 第63回日本アレルギー学会秋季学術大会 2013年11月28-30日 東京都

平郡真記子ほか. MGL_1304特異的IgEのELISA法の確立とその臨床的意義の検討. 第63回日本アレルギー学会秋季学術大会 2013年11月28-30日 東京都

Takamori K: Mechanism of itch in Atopic Dermatitis, The first Annual Scientific Meeting of Cambodia Dermatological Society (1st ASMCDS), Cambodia, Jan11, 2013

Kamo A, Tominaga M, Kamata Y, Takamori K. Eximer lamp induces directly cutaneous nerve degeneration in animal models for pruritus. 22nd Congress of the European Academy of Dermatology and Venereology (EADV), Istanbul, Turkey, October 2-6, 2013.

Kamo A, Tominaga M, Kamata Y, Noguchi A, Kimura U, Osamu N, Taneda K, Takamori K. Anti-pruritic effects of Neurotrophin in NC/Nga mice with atopic dermatitis-like symptoms. 7th World Congress on Itch, Boston, USA, September 21-23, 2013.

Kamata Y, Tominaga M, Umehara Y, Kamo A, Takamori K. Transcriptional regulation of human semaphorin

3A gene in normal epidermal keratinocytes: implication of application to intractable itch in atopic dermatitis. 7th World Congress on Itch, Boston, USA, September 21-23, 2013.

Tominaga M, Kamo A, Osamu N, Tenggara S, Kamata Y, Noguchi A, Takamori K. Histamine H4 receptor antagonists ineffective against itch and skin inflammation in atopic dermatitis mouse model. 7th World Congress on Itch, Boston, USA, September 21-23, 2013

Kamo A, Tominaga M, Kamata Y, Takamori K. Excimer lamp irradiation induces reduction of intraepidermal nerve fibre: implications for possible application to intractable pruritus International Investigative Dermatology (IID) 2013, Edinburgh, Scotland, May 8-11, 2013.

Kamata Y, Tominaga M, Kamo A, Takamori K. Molecular mechanisms of Sema3A gene regulation in human epidermal keratinocytes. International Investigative Dermatology (IID) 2013, Edinburgh, Scotland, May 8-11, 2013.

Tominaga M, Kamo A, Negi O, Tenggara S, Kamata Y, Noguchi A, Takamori K. Histamine H4 receptor antagonists exhibit insufficient anti-pruritic and anti-inflammatory effects on mite extract ointment-induced mouse model of atopic dermatitis. International Investigative Dermatology (IID) 2013, Edinburgh, Scotland, May 8-11, 2013.

高森建二. 透析に伴うかゆみをコントロールする, 第4回沖縄県腎不全看護研究会withかゆみフォーラム, 沖縄, 2013年2月.

高森建二. 透析そう痒症の病態と治療, 滋賀県皮膚科医会学術講演会, 草津, 2013年4月.

高森建二. かゆみのメカニズムと制御—保湿剤の有効性—, 第112回日本皮膚科学会総会教育講演30, 横浜, 2013年6月.

高森建二. 皮膚研究の最前線～皮膚のバリア機能の解明は皮膚所見の見方をどう変えたか～, 日本透析学会, 福岡, 2013年6月.

高森建二. 透析そう痒症はなぜ痒い, 透析患者のかゆみを考える夕べ, 山形, 2013年7月.

高森建二. 透析のかゆみを科学する - メカニズムと対策 -, 練馬区皮膚科医会講演会, 東京, 2013年7月.

高森建二. 小児アトピー性皮膚炎における積極的な治療介入の有用性, 第37回日本小児皮膚科学会学術大会モーニングセミナー, 東京, 2013年7月.

高森建二. かゆみの病態と治療の最近の話題—特にアトピー性皮膚炎のかゆみのメカニズムと対策について—, 第63回関東耳鼻咽喉科アレルギー懇話会, 東京, 2013年9月.

高森建二. 透析そう痒症はなぜ痒い—メカニズムと対策—, 青森レミッチ講演会, 青森, 2013年9月.

高森建二. かゆみの病態と治療の最近の話題—特にアトピー性皮膚炎のかゆみのメカニズムと対策について—, 日本臓器製薬東京第一・横浜支店社内研修会, 千代田区, 2013年10月.

富永光俊. かゆみと皮膚—セマフォリン他について—, 第112回日本皮膚科学会総会, 横浜, 2013年6月.

加茂敦子, 富永光俊, 鎌田弥生, 高森建二. 乾燥皮膚で誘発される表皮内神経の増生に対する保湿性オリゴマーエステルD/DCの影響. 第112回日本皮膚科学会総会, 横浜, 2013年6月.

加茂敦子, 富永光俊, 鎌田弥生, 野口篤, 木村有太子, 根木 治, 種田研一, 高森建二. 皮膚の乾燥を伴う痒みに対するノイロトロピンの有効性の検討. 第9回 加齢皮膚医学研究会, 山口, 2013年7月.

飯泉恭一, 富永光俊, 川崎広明, 重永綾子, 加茂敦子, 鎌田弥生, 高森建二, 山倉文幸. 6-ニトロトリプトフ

ァンはアトピー性皮膚炎患者の血漿バイオマーカーとなり得るか? 第35回日本トリプトファン研究会, 京都, 2013年9月.

鎌田弥生, 富永光俊, 梅原芳恵, 加茂敦子, 高森建二. 正常ヒト表皮角化細胞におけるセマフォリン3Aの発現制御機構. 第23回国際かゆみシンポジウム, 大阪, 2013年10月.

富永光俊. アトピー性皮膚炎—かゆみのメカニズム—. 第43回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会ランチョンセミナー, 金沢, 2013年12月.

川上民裕:プロアクティブ療法(アトピー性皮膚炎の新治療戦略)と食物アレルギー・アレルギーマーチを結ぶ点と線 第63回日本アレルギー学会秋季学術大会 2013年11月29日 東京 教育セミナー アレルギー 62巻(9, 10号) Page 1240, 2013

竹内聡. 基礎・臨床データから見た痒みのマネジメント —タクロリムス軟膏の有用性— 第29回日本臨床皮膚科医会総会 平成25年4月7日 ウェスティンナゴヤキャッスル 星雲の間西(第4会場)(名古屋市)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得:

セマフォリン 3A の発現調節方法(平成 25 年 5 月 2 日出願)特願 2013-097100, 鎌田弥生, 富永光俊, 高森建二(順天堂大学)

2. 実用新案登録: なし。

3. その他: なし。

分担研究報告書

バリア機能破綻に起因するアトピー性皮膚炎の痒みのメカニズムの解明と制御
—知覚神経と表皮ケラチノサイトの相互作用の観点から—

研究分担者 高森 建二 (順天堂大学医学部附属浦安病院)

研究協力者 富永 光俊 (順天堂大学大学院医学研究科環境医学研究所)
鎌田 弥生 (順天堂大学大学院医学研究科環境医学研究所)

研究要旨

アトピー性皮膚炎の難治性の痒みは、不眠や就労障害の原因となり、患者の quality of life を著しく障害する。AD 病変部では神経反発因子の発現減少に伴う表皮内神経の稠密化により、起痒刺激の受容増加が認められ、抗ヒスタミン薬が奏功しない難治性の痒みを発症する。本研究は、神経反発因子セマフォリン3A (Sema3A) に着眼し、正常ヒト表皮角化細胞における内在性 Sema3A の発現制御機構の解明を目指した。その結果、内在性 Sema3A の発現調節に重要な役割を果たす転写因子として、レチノイド関連オーファン受容体 (ROR α) が同定された。そこで、ROR α 作動薬である SR1078 やコレステロール硫酸などを含む条件で正常ヒト表皮角化細胞を培養した結果、いずれの ROR α 作動薬でも *Sema3A* 発現が促進されることが明らかとなった。一方、ROR α 逆作動薬 SR1001 は有意に *Sema3A* 発現を抑制した。したがって、ROR α を標的とした内在性 Sema3A の発現促進剤は AD の新規止痒薬に応用できる可能性が示唆された。

A. 研究目的

既存治療が無効な難治性の痒みは、患者の QOL (quality of life) を低下させる深刻な問題である。皮膚バリア機能の破綻を伴うアトピー性皮膚炎 (AD) 患者では表皮内神経線維が稠密化し、抗ヒスタミン薬が奏功しない難治性の痒みを発症する。バリア機能の破綻は神経線維の伸長と退縮に関わる分子の発現バランスを乱すが、その発現制御機構は全く不明である。本研究は痒みの難治化の鍵となる神経反発因子セマフォリン3A (Sema3A) に着眼し、表皮角化細胞における Sema3A の発現制御機構を分子レベルで解明することで、内在性 Sema3A の発現を誘導する AD の新規止痒薬の開発を目指した。

B. 研究方法

ヒト *Sema3A* 遺伝子の発現制御に関わる領域 (以後、プロモーター領域とする) をクローニング後、PCR 法で 5' 末端欠失変異体を作成し、ルシフェラーゼ発現ベクターに挿入して、簡易的に *Sema3A* 転写量を評価可能なプロモーターアッセイ系を構築した。構築したベクターは正常ヒト表皮角化細胞に導入し、ルシフェラーゼアッセイで遺伝子発現に重要な領域を同定した。転写因子結合配列は、塩基配列解析後に BIOBASE P-Match public で検索した。*Sema3A* 遺伝子発現量は定量的 RT-PCR 法で解析した。

C. 研究結果

ヒト *Sema3A* プロモーター領域を 5' 末端側から数百塩基ずつ欠失させた変異体のルシフェラーゼアッセイにより、*Sema3A* 発現の促進に関わる Positive 領域を同定した。データベース検索の結果、Positive 領域 (-134~-44) にはレチノイド関連オーファン受容体 α (ROR α)、Sox、GA 結合タンパク質 (GABP) 等の転写因子結合配列が存在した。候補転写因子の遺伝子発現を RNA 干渉 (siRNA) によって抑制した結果、いずれの候補転写因子の発現を抑制した際にも、*Sema3A* 発現が 50% 以下まで減少した。さらに、候補転写因子の結合配列を部位特異的に欠失させた変異体を用いてプロモーターアッセイを行ったところ、ROR α 結合部位を欠失させた変異体で *Sema3A* の転写活性が劇的に減少した。そこで、ROR α 作動薬である SR1078 やコレステロール硫酸を含む条件で正常ヒト表皮角化細胞を培養した結果、いずれの ROR α 作動薬でも有意に *Sema3A* 発現が促進された。一方、ROR α 逆作動薬 SR1001 は有意に *Sema3A* 発現を抑制した。

D. 考察・結論

内在性 *Sema3A* の発現に重要な役割を果たす転写因子として ROR α を同定した。このことから、ROR α を標的とした内在性 *Sema3A* の発現促進剤は新規止痒薬の開発に繋がる可能性が示唆された。

E. 健康危険情報

特になし

F. 研究発表

1. 論文発表

(英文原著、総説)

Kamo A, Negi O, Tengara S, Kamata Y, Noguchi A, Ogawa H, Tominaga M, Takamori K. Histamine H4 Receptor Antagonists Ineffective against Itch and Skin Inflammation in Atopic Dermatitis Mouse Model. *J Invest Dermatol*. 2013, in press.

Tominaga M, Takamori K. An update on peripheral mechanisms and treatments of itch. *Biol Pharm Bull.* , 36(8): 1241-7, 2013.

Kamo A, Tominaga M, Taneda K, Ogawa H, Takamori K. Neurotrophin inhibits the increase in intraepidermal nerve density in the acetone-treated dry-skin mouse model. *Clin Exp Dermatol*. 38(6): 665-8, 2013.

Akiyama T, Tominaga M, Takamori K, Carstens MI, Carstens E. Roles of glutamate, substance P, and gastrin-releasing peptide as spinal neurotransmitters of histaminergic and nonhistaminergic itch. *Pain*, 2013, in press.

Shibata A, Sugiura K, Kimura U, Takamori K, Akiyama M. A novel ATP2C1 early truncation mutation suggests haploinsufficiency as a pathogenic mechanism in a patient with Hailey-Hailey disease. *Acta Derm Venereol.*, 93(6): 719-20, 2013.

Furue M, Ebata T, Ikoma A, Takeuchi S, Kataoka Y, Takamori K, Satoh T, Saeki H, Augustin M, Reich A, Szepietowski J, Fleischer A, Blome C, Phan NQ, Weisshaar E, Yosipovitch G, Ständer S. Verbalizing extremes of the visual analogue scale for pruritus: a consensus statement. *Acta Derm Venereol*. 93(2): 214-5, 2013.

Yanagida M, Kawasaki M, Fujishiro M, Miura M, Ikeda K, Nozawa K, Kaneko H, Morimoto S, Takasaki Y, Ogawa H, Takamori K, Sekigawa I. Serum proteome analysis in patients with rheumatoid arthritis receiving therapy with tocilizumab: an anti-interleukin-6 receptor antibody. *Biomed Res*

Int. 2013: 607137, 2013.

Araki Y, Nonaka D, Hamamura K, Yanagida M, Ishikawa H, Banzai M, Maruyama M, Endo S, Tajima A, Lee LJ, Nojima M, Takamori K, Yoshida K, Takeda S, Tanaka K. Clinical peptidomic analysis by a one-step direct transfer technology: its potential utility for monitoring of pathophysiological status in female reproductive system disorders. *J Obstet Gynaecol Res.* , 39(10): 1440-8, 2013.

Nakayama H, Ogawa H, Takamori K, Iwabuchi K. GSL-enriched membrane microdomains in innate immune responses. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. , 61(3): 217-28, 2013.

Nozawa K, Fujishiro M, Kawasaki M, Yamaguchi A, Ikeda K, Morimoto S, Iwabuchi K, Yanagida M, Ichinose S, Morioka M, Ogawa H, Takamori K, Takasaki Y, Sekigawa I. Inhibition of connective tissue growth factor ameliorates disease in a murine model of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* , 65(6):1477-86, 2013.

Yamaguchi A, Nozawa K, Fujishiro M, Kawasaki M, Suzuki F, Takamori K, Ogawa H, Takasaki Y, Sekigawa I. CC motif chemokine ligand 13 is associated with rheumatoid arthritis pathogenesis. *Mod Rheumatol.* , 23(5): 856-63, 2013.

(和文原著、総説、著書)

高森建二. 全身性皮膚癢痒症. *JIM*. Vol.23, No.2 , 132-134 , 2013.

高森建二, 富永光俊. アトピー性皮膚炎の痒みのメカニズムと新たな治療戦略. *臨床免疫・アレルギー科*, 59(2), 191-197, 2013.

高森建二. STIとかゆみ. *日本性感染症学会誌*, Vol.24, No.1, 28-34, 2013.

根木 治, 須賀 康, 高森建二, 高原久嗣, 林野久紀, 鈴木敏江, 矢萩理恵. 透析患者のかゆみに対するツバキ油スプレーの有用性および安全性の検討. *皮膚の科学*, Vol.11, No 6, 538 - 547, 2012.

富永光俊, 高森建二. バリア機能の痒み. *アレルギーの臨床*, No440, 39-43, 2013.

根木 治, 富永光俊, 高森建二. かゆみとスキンケア. Monthly Book Derma. No. 210, 23-30, 2013.

富永光俊, 加茂敦子, 高森建二. 老人性乾皮症の痒み発生機序の解明と治療法開発. 加齢皮膚医学セミナー. Vol. 8, 23-28, 2013.

富永光俊, 高森建二. バリア機能と痒み. アレルギーの臨床. Vol. 33, No. 2, 39-43, 2013.

大泉亜美, 春名邦隆, 寒竹正人, 大日方薫, 高森建二, 須賀 康. 単純型先天性表皮水疱症の 2 例の臨床経験. 日本小児皮膚科学会雑誌 Vol. 32, No. 1, 35-40, 2013.

木下綾子, 高森建二, 須賀 康. 順天堂大学浦安病院を受診した新規 HIV 感染者における皮膚症状の検討. 日本性感染症学会誌, Vol. 24, No. 1, 140-147, 2013.

木村有太子, 竹内かおり, 木下綾子, 高森建二, 比留間政太郎, 須賀 康. 爪白癬に対するロングパルス Nd:YAG レーザー治療. 日本美容皮膚科学会雑誌 Vol. 23 No. 4, 280-288, 25, Dec, 2013

2. 学会発表 (国際学会)

Takamori K: Mechanism of itch in Atopic Dermatitis, The first Annual Scientific Meeting of Cambodia Dermatological Society (1st ASMCDS), Cambodia, Jan11, 2013

Kamo A, Tominaga M, Kamata Y, Takamori K. Eximer lamp induces directly cutaneous nerve degeneration in animal models for pruritus. 22nd Congress of the European Academy of Dermatology and Venereology (EADV), Istanbul, Turkey, October 2-6, 2013.

Kamo A, Tominaga M, Kamata Y, Noguchi A, Kimura U, Osamu N, Taneda K, Takamori K. Anti-pruritic effects of Neurotrophin in NC/Nga mice with atopic dermatitis-like symptoms. 7th World Congress on Itch, Boston, USA, September 21-23, 2013.

Kamata Y, Tominaga M, Umehara Y, Kamo A, Takamori K. Transcriptional regulation of human semaphorin 3A gene in normal epidermal keratinocytes: implication of application to intractable itch in

atopic dermatitis. 7th World Congress on Itch, Boston, USA, September 21-23, 2013.

Tominaga M, Kamo A, Osamu N, Tenggara S, Kamata Y, Noguchi A, Takamori K. Histamine H4 receptor antagonists ineffective against itch and skin inflammation in atopic dermatitis mouse model. 7th World Congress on Itch, Boston, USA, September 21-23, 2013

Kamo A, Tominaga M, Kamata Y, Takamori K. Excimer lamp irradiation induces reduction of intraepidermal nerve fibre: implications for possible application to intractable pruritus International Investigative Dermatology (IID) 2013, Edinburgh, Scotland, May 8-11, 2013.

Kamata Y, Tominaga M, Kamo A, Takamori K. Molecular mechanisms of Sema3A gene regulation in human epidermal keratinocytes. International Investigative Dermatology (IID) 2013, Edinburgh, Scotland, May 8-11, 2013.

Tominaga M, Kamo A, Negi O, Tenggara S, Kamata Y, Noguchi A, Takamori K. Histamine H4 receptor antagonists exhibit insufficient anti-pruritic and anti-inflammatory effects on mite extract ointment-induced mouse model of atopic dermatitis. International Investigative Dermatology (IID) 2013, Edinburgh, Scotland, May 8-11, 2013.

(国内学会)

高森建二. 透析に伴うかゆみをコントロールする, 第 4 回沖縄県腎不全看護研究会 with かゆみフォーラム, 沖縄, 2013 年 2 月.

高森建二. 透析そう痒症の病態と治療, 滋賀県皮膚科医会学術講演会, 草津, 2013 年 4 月.

高森建二. かゆみのメカニズムと制御—保湿剤の有効性—, 第 112 回日本皮膚科学会総会教育講演 30, 横浜, 2013 年 6 月.

高森建二. 皮膚研究の最前線—皮膚のバリア機能の解明は皮膚所見の見方をどう変えたか—, 日本透析学会, 福岡, 2013 年 6 月.

高森建二. 透析そう痒症はなぜ痒い, 透析患者のかゆみを考える夕べ, 山形, 2013 年 7 月.

高森建二. 透析のかゆみを科学する - メカニズムと対策 -, 練馬区皮膚科医会講演会, 東京, 2013 年 7 月.

高森建二. 小児アトピー性皮膚炎における積極的な治療介入の有用性, 第 37 回日本小児皮膚科学会学術大会モーニングセミナー, 東京, 2013 年 7 月.

高森建二. かゆみの病態と治療の最近の話題—特にアトピー性皮膚炎のかゆみのメカニズムと対策について—, 第 63 回関東耳鼻咽喉科アレルギー懇話会, 東京, 2013 年 9 月.

高森建二. 透析そう痒症はなぜ痒い—メカニズムと対策—, 青森レミッチ講演会, 青森, 2013 年 9 月.

高森建二. かゆみの病態と治療の最近の話題—特にアトピー性皮膚炎のかゆみのメカニズムと対策について—, 日本臓器製薬東京第一・横浜支店社内研修会, 千代田区, 2013 年 10 月.

富永光俊. かゆみと皮膚—セマフォリン他について—, 第 112 回日本皮膚科学会総会, 横浜, 2013 年 6 月.

加茂敦子, 富永光俊, 鎌田弥生, 高森建二. 乾燥皮膚で誘発される表皮内神経の増生に対する保湿性オリゴマーエステル D/DC の影響. 第 112 回日本皮膚科学会総会, 横浜, 2013 年 6 月.

加茂敦子, 富永光俊, 鎌田弥生, 野口篤, 木村有太子, 根木 治, 種田研一, 高森建二. 皮膚の乾燥を伴う痒みに対するノイロトロピンの有効性の検討. 第 9 回加齢皮膚医学研究会, 山口, 2013 年 7 月.

飯泉恭一, 富永光俊, 川崎広明, 重永綾子, 加茂敦子, 鎌田弥生, 高森建二, 山倉文幸. 6-ニトロトリプトファンはアトピー性皮膚炎患者の血漿バイオマーカーとなり得るか? 第 35 回日本トリプトファン研究会, 京都, 2013 年 9 月.

鎌田弥生, 富永光俊, 梅原芳恵, 加茂敦子, 高森建二. 正常ヒト表皮角化細胞におけるセマフォリン 3A の発現制御機構. 第 23 回国際かゆみシンポジウム, 大阪, 2013 年 10 月.

富永光俊. アトピー性皮膚炎—かゆみのメカニズム—. 第 43 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会ランチョンセミナー, 金沢, 2013 年 12 月.

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

セマフォリン3Aの発現調節方法 (平成25年5月2日出願) 特願2013-097100, 鎌田弥生, 富永光俊, 高森建二 (順天堂大学)

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

分担研究報告書

アトピー性皮膚炎のかゆみに影響する各種パラメータの解析—治療前後の比較について

研究協力者氏名 川 上 民 裕 (聖マリアンナ医科大学皮膚科准教授)
京 谷 樹 子 (聖マリアンナ医科大学皮膚科助教)
分担研究者氏名 相 馬 良 直 (聖マリアンナ医科大学皮膚科教授)

研究要旨

成人アトピー性皮膚炎、特にその癢痒における、Interleukin-31(IL-31)やヘキサノイルリジン、TARC、IgE、好酸球、ヒスタミン、トリプターゼとの関連を検討した。対象は、当大学病院を受診した12人(男性8人、女性4人、平均年齢33.1歳)で、2週間以上未治療のアトピー性皮膚炎の患者である。エントリー時と比較して、治療2週後、4週後のSCORAD、癢痒VASは、有意差を持って低下した。エントリー時と比較して、治療2週後は、血中好酸球数、血中LDH値、血中TARC値、血中トリプターゼ値、血中ヘキサノイルリジン値が有意に減少した。トリプターゼ値、ヒスタミン値、好酸球数の3者はお互いに正の相関を示した。IL-31値は、LDH値と正の相関を示した。血中IL-31値は、LDH値が高いアトピー性皮膚炎患者での関与が示唆された。酸化ストレスがアトピー性皮膚炎の癢痒に関係し、ヘキサノイルリジンはその評価マーカーになる可能性が示された。こうした結果は、アトピー性皮膚炎の病態解明に繋がると考えた。

A. 研究目的

成人アトピー性皮膚炎患者の癢痒において重要な役割を果たすとして最近、注目されているInterleukin-31(IL-31)、ヘキサノイルリジンに焦点をあて、併せてすでに一定の評価がなされているTARC(Thymus and activation-regulated chemokine)、IgE、好酸球、ヒスタミン、トリプターゼの血中濃度を、未治療アトピー性皮膚炎患者の治療前後で測定し、これらのパラメータがアトピー性皮膚炎の症状、特に癢痒の推移とどう関与するかを検討する。

こうした値の変動が、アトピー性皮膚炎の病勢、特に癢痒の原因に反映することがわかれば、病状の把握に繋がる。さらに、健常人との比較から今後のアトピー性皮膚炎を含めた治療法の確立へとつながる可能性がある。

B. 研究方法

対象は、聖マリアンナ医科大学病院を受診した20歳以上、2週間以上未治療のアトピー性皮膚炎の患者である。アトピー性皮膚炎の診断は、Hanifin & Rajkaの診断基準を用い、皮膚科専門医が行う。重篤な合併症をもつ患者は、除外する。治療は、通常のアトピー性皮膚炎治療に順じ、担当医の判断で処方された抗ヒスタミン薬・抗アレルギー薬と副腎皮質ステロイド外用薬のみであり、ステロイド内服薬および注射薬、免疫抑制薬の併用はしない。保湿外用薬については、必要に応じて併用可とする。ただし、試験期間中は原則としてその薬剤の変更および用量の変更は、不可とする。

アトピー性皮膚炎の病状の評価は、医師サイドからのSCORAD(Severity Scoring of Atopic Dermatitis)と患者サイドからの癢痒のVAS(Visual Analogue Scale)を使用した。一方、エントリー時(治療前)と治療2週後、4週後に採血し、IL-31、ヘキサノイルリジン、好酸球、TARC、IgE、トリプターゼ、ヒスタミンを測定した。

(倫理面への配慮)

本試験においてプロトコルを作成し、院内倫理委員会に申請し、承認を得た。本試験では、患者のプライバシー保護のため、患者の全てのデータは症例登録番号、イニシャル、カルテ番号、生年月日で識別、同定、照会される。また、試験成績の公表などに関しても、患者のプライバシー保護に十分配慮する。データの二次利用は行わない。被験者のデータ等を病院外に出す場合は、個人情報管理者を置く。

C. 研究結果

条件を満たし、治験を完了した対象患者は、12人(男性8人、女性4人、平均年齢33.1歳(20歳~59歳))で、臨床研究中の治療薬は、内服薬がオロパタジン6人、フェキソフェナジン4人、クロルフェニラミンマレイン酸塩3人、ヒドロキシジン3人、外用薬が副腎皮質ステロイド全例12人、保湿外用薬全例12人、タクロリムス2人であった。

エントリー時と比較して、治療2週後、4週後のSCORAD、癢痒VASは、有意差を持って低下した。エントリー時と比較して、治療2週後は、血中好酸球数、血中LDH値、

血中TARC値、血中トリプターゼ値、血中ヘキサノイルリジン値が有意に減少した。好酸球数、LDH値は治療4週後も有意な減少を継続した。log₁₀TARC値を計測すると、エントリー時と比較して、治療2週後・4週後は有意な低下を示した。

全体の統計では、TARC値は、SCORAD、瘙痒VAS、好酸球数、LDH値と正の相関を示した。トリプターゼ値、ヒスタミン値、好酸球数の3者はお互いに正の相関を示した。IL-31値は、LDH値と正の相関を示した。

D. 考察

われわれは以前、本研究と同様の形式で、治療前後のヒスタミン値、トリプターゼ値を測定し、これらがアトピー性皮膚炎患者の瘙痒と関連し治療で低下すること (Imaizumi A, et al. J Dermatol Sci. 2003) やトリプターゼ値の抑制に成功したアトピー性皮膚炎患者ほど治療効果が良い (Kawakami T, et al. J Dermatol Sci. 2006) 等の有意なデータをだしてきた。

IL-31は、Th2型のCD4陽性T細胞から産生されるサイトカインとして発見され、最近、起痒作用の発現に関与することが明らかにされつつある。

活性酸素種による脂質の過酸化は、酸化ストレスとして生体機能の障害、疾病、老化に深くかかわる。その初期段階を捉える安定な物質としてヘキサノイルリジンが注目されている。

今回の臨床研究では、エントリー時と治療2週後、4週後のSCORAD、瘙痒VASに有意差を認め、臨床研究の対象として理想的な母集団を得ることができた。アトピー性皮膚炎治療で瘙痒を含む症状の改善に成功した患者では、ヘキサノイルリジンが有意に低下したことから、酸化ストレスから解放されたことが推測できる。すなわち、酸化ストレスがアトピー性皮膚炎の特に瘙痒に深い関係があり、ヘキサノイルリジンは、その評価マーカーになりうる可能性がある。また、IL-31値は、LDH値が高いアトピー性皮膚炎患者での関与がより強いことが考えられた。対して、トリプターゼ値は好酸

球数と関連して瘙痒を起こしている可能性が示唆された。一方、TARC値は、アトピー性皮膚炎病勢と瘙痒に関する幅広い範囲で作用・関与している可能性が推察された。TARCは樹状細胞や免疫系細胞等の、より根本の病因と関連しているのかもしれない。

E. 結論

血中IL-31値は、LDH値が高いアトピー性皮膚炎患者での関与が示唆された。酸化ストレスがアトピー性皮膚炎の瘙痒に関係し、ヘキサノイルリジンはその評価マーカーになりうる。

こうした各種パラメータの測定により、アトピー性皮膚炎の病勢や瘙痒の現状を数値化でき、アトピー性皮膚炎の病態理解につながる事が期待できる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

川上民裕: 皮脂欠乏症の病態と保湿の意義 日経メディカル Clinical Lecture 2013 No.3 71-75

2. 学会発表

川上民裕: プロアクティブ療法 (アトピー性皮膚炎の新治療戦略) と食物アレルギー・アレルギーマーチを結ぶ点と線 第63回日本アレルギー学会秋季学術大会 2013年11月29日 東京 教育セミナー アレルギー 62巻(9, 10号) Page 1240, 2013

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

2. 実用新案登録

3. その他

現在のところなし。

分担研究報告書

アトピー性皮膚炎における汗アレルギーの解析と有効性の高いスキンケア方法の開発

研究分担者	秀 道広	広島大学大学院医歯薬保健学研究院皮膚科学
研究協力者	信藤 肇	広島大学大学院医歯薬保健学研究院皮膚科学
	平郡 隆明	広島大学大学院医歯薬保健学研究院皮膚科学
	平郡 真記子	広島大学大学院医歯薬保健学研究院皮膚科学
	石井 香	広島大学大学院医歯薬保健学研究院皮膚科学

研究要旨

アトピー性皮膚炎(AD)において汗は主要な悪化因子の一つである。我々は、これまでヒト汗に含まれ、AD患者好塩基球からヒスタミン遊離を起こす物質を精製し(精製汗抗原)、その特性について報告してきたが、今回、精製汗抗原をさらに2種類の逆相クロマトグラフィーにより精製し、ヒスタミン遊離活性と一致する単一のUV吸収ピークを得た。質量分析の結果、そのアミノ酸配列は*Malassezia globosa*の産生するMGL_1304と一致した。大腸菌および動物細胞で作製した組換えMGL_1304蛋白は、AD患者好塩基球にヒスタミン遊離を起こし、免疫ブロットやマスト細胞の脱顆粒において精製汗抗原とほぼ完全な交差性を示した。ヒト汗中に含まれるMGL_1304は高いヒスタミン遊離活性を持ち、ADにおける重要な悪化因子と考えられた。

A. 研究目的

アトピー性皮膚炎(AD)において汗は主要な悪化因子の一つであり、AD患者は自己汗に対する即時型アレルギー反応を高率に示すことが知られている。我々はこれまでに、ヒト汗からヒスタミン遊離活性を指標に精製した抗原(精製汗抗原)について検討をしてきたが、物質としての同定ができていなかった。今回はドイツのKiel大学の協力により更に精製を加え、汗抗原の物質としての同定と解析を行った。

B. 研究方法

精製汗抗原に対してさらに2種類の逆相クロマトグラフィーによる精製を追加し、AD患者好塩基球を用いたヒスタミン遊離と一致する蛋白ピークを質量分析にて解析した。得られたアミノ酸配列と一致する物質の遺伝子配列を元に、発現ベクターを作製し、大腸菌(JM109)および動物細胞(COS7)を用いて組換え蛋白質を作製した。ヒト好塩基球によるヒスタミン遊離試験、AD患者血清での免疫ブロット、ヒト高親和性IgE受容体を発現するRBL-48細胞を用いた脱顆粒実験などにより、組換え蛋白の解析を行った。

(倫理面への配慮)

ヒト血清、血球を用いた実験については広島大学医学部倫理委員会に承認済み。

C. 研究結果

質量分析で検出された汗抗原の部分的なアミノ酸配列(HKMSVGDSESPGNMRSFCTKPYSSK)は*Malassezia globosa*由来の分泌蛋白であるMGL_1304と一致した。大腸菌を用いて作製した組換えMGL_1304には、AD患者血清IgEが結合した(図1)。また、組換えMGL_1304はAD患者好塩基球にヒスタミン遊離を起こしたが、健康人好塩基球からはヒスタミン遊離を起こさなかった(図2)。AD患者血清を用いた免疫ブロットでは、AD患者血清を組換えMGL_1304で前処理すると、精製汗抗原に対するIgEの結合が阻害され、逆に血清を精製汗抗原で前処理すると、組換えMGL_1304に対するIgEの結合が阻害された(図3)。同様に、RBL-48細胞を用いた脱顆粒実験においても、組換えMGL_1304で前処理した血清で細胞を感作すると、精製汗抗原に対する脱顆粒反応が消失した。このように、組換えMGL_1304は、我々がこれまで報告してきた精製汗抗原とほぼ完全な交差性を示した。MGL_1304は汗中、またはマラセチア培養上清中では17 kDaの蛋白として存在するが、マラセチア菌体内では29 kDaであり、菌体外に分泌される際に一部が切断されていると考えられた(図4)。またマラセチアの上清や菌体破碎物をcrudeの状態免疫ブロットを行うと、MGL_1304は他の多くのIgE結合蛋白に隠れてしまい、検出できなかった。

D. 考察

これまでAD患者における*Malassezia globosa*の主要

抗原は42 kDaの蛋白と言われていたが、我々の検討では汗中のヒスタミン遊離活性はその分子量の範囲には存在しない。またMGL_1304に対するヒスタミン遊離活性とマラセチア特異的IgE抗体価の相関は弱いことから、MGL_1304に対する過敏性は、単なるマラセチアアレルギーとは異なる。

E. 結論

ヒト汗中に含まれるMGL_1304は高いヒスタミン遊離活性を持ち、ADにおける重要な悪化因子と考えられた。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Hiragun T, et al. Fungal protein MGL_1304 in sweat is an allergen for atopic dermatitis patients. *J Allergy Clin Immunol* 132: 608-615, 2013.

Hiragun M, et al. Elevated serum IgE against MGL_1304 in patients with atopic dermatitis and cholinergic urticaria. *Allergol Int*, *in press*.

2. 学会発表

Hiragun M, et al. Establishment of a method to quantify the specific IgE against sweat antigen in sera of patients with atopic dermatitis. 第37回日本研究皮膚科学会 2012年12月7-9日 那覇市

Hiragun M, et al. The specific IgE against sweat antigen in sera of patients with allergic diseases. *International Investigative Dermatology* 2013, May 8-11, 2013, Edinburgh, UK.

平郡真記子ほか. 精製汗抗原特異的IgEのELISA法の確立とその臨床的意義の検討. 第112回日本皮膚科学会総会 2013年6月14-16日 横浜市

平郡隆明. アトピー性皮膚炎における汗抗原の同定とその解析. 第10回広島免疫アレルギー研究会 2013年6月28日 広島市

平郡隆明ほか. アトピー性皮膚炎患者における汗抗原の同定とその解析. 第3回汗と皮膚の研究會 2013年8月10日 東京都

平郡隆明ほか. アトピー性皮膚炎患者における汗抗原

の同定とその解析. 第63回日本アレルギー学会秋季学術大会 2013年11月28-30日 東京都

平郡真記子ほか. MGL_1304特異的IgEのELISA法の確立とその臨床的意義の検討. 第63回日本アレルギー学会秋季学術大会 2013年11月28-30日 東京都

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

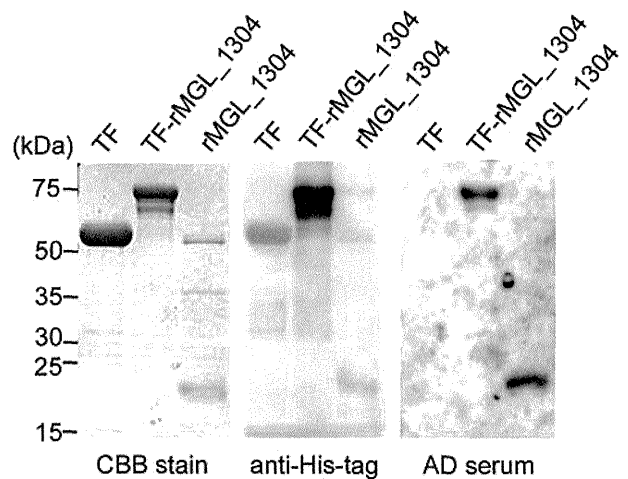


図1 組換え蛋白のクマシー染色、Hisタグ抗体、AD患者血清でのウェスタンブロット。AD患者血清のIgEはMGL_1304に結合した (右)。

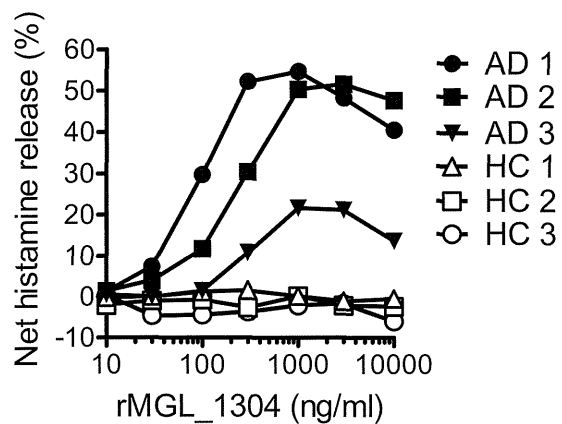


図2 組換えMGL_1304によるAD患者および健常人(HC)末梢血好塩基球を用いたヒスタミン遊離試験。AD患者