

分担研究報告書

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 1. 脊髄内痒み神経の同定に関する研究 2. 石垣島コホート研究、 3. 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

研究分担者 古江増隆（九州大学大学院医学研究院皮膚科学 教授）

研究協力者 竹内聡（九州大学病院 特別教員）、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（同 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）、玉利 真由美、広田 朝光（理化学研究所統合生命医科学研究センター）、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）、佐伯秀久（東京慈恵会医科大学皮膚科）

研究要旨

1. アトピー性皮膚炎で重要なかゆみに対し、ラットモデルを用いてその痒み特異的神経の伝導路を明らかにした。より中枢でのかゆみ伝導路を見出し、かゆみの制御につなげたい。

2. 卵アレルギーの既往が乳幼児期のアトピー性皮膚炎の危険因子のひとつであり、また、アンケート上での卵アレルギーの既往やオボムコイド IgE 卵アレルギーの既往がアトピー性皮膚炎の危険因子のひとつであり、乳幼児期のアトピー性皮膚炎には卵アレルギーが深く関わっていることが示唆された。また、アンケート上での卵アレルギーの既往がある群がより重症であることが分かり、卵白への特異的血清 IgE 検査（オボムコイド）でも関与が示された。

3. GWAS の結果、過去に報告されたヨーロッパあるいは中国から報告された領域に加え、新たに 8 領域が同定された。GWAS は、アトピー性皮膚炎のメカニズム及び治療を切り開くうえで重要な強力な手法であると考えられる。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。

A. 研究目的

1. 痒みという感覚は「掻きたいという欲求を引き起こす不快な感覚」であり、皮膚における痒みを伝達する一次求心性神経線維に関しては C 線維がその役割を担っていることが知られている。一方で、C 線維は痛みや冷温覚をはじめとした痒みとは異なる感覚を伝達することも知られている。我々はこれまでに、痒み特異的な一次求心性神経線維の同定のため、ラットにセロトニン（5-HT）塗布による痒み知覚モデルを作製して脊髄後根神経節における電気生理学的記録を行い、5-HT による痒み刺激に特異的に反応する C 線維を同定した。本研究では後根神経節で記録した一次求心性神経線維が脊髄後角の入力部と、その後の神経伝導路を検討したい。

2. アトピー性皮膚炎の発症寄与因子の解明は重要な課題であるが、我が国におけるコホート研究は数少ない。我々は平成 13 年度より沖縄県石垣島の保育園児の集団検診と保護者へのアンケート調査、採血データの解析を開始し、発症頻度・IgE 値・感染症の合併・本症発症の寄与因子などを報告してきた。今回は、CCL17/TARC や CCL22/MDC などの Th2 ケモカインの推移とアトピー性皮膚炎の発症および卵アレルギーの関与を明らかに

したい。

3. アトピー性皮膚炎の有病率は上昇しており、現在、社会問題化している。本疾患の解明は未だ進んでおらず、分子生物学的アプローチを含めた、幅広い視点に立った病因の解明と新規治療薬の開発が切望されている。わが国でも IgE 産生能や気道過敏性に関する候補遺伝子や、最近ではフィラグリン遺伝子の転突然変異が高率に発見されるなどの報告がされつつあるが、未だ疾患を包括的に説明する決定的なものはない。より正確な候補遺伝子の探索のためには、ある地域に生活する集団を全体として解析するコホート解析を用いる必要があり、また複数の地域集団でゲノム解析を行うことでより関連の高い疾患候補遺伝子を同定できる。

我々は平成 13 年度から沖縄県石垣島の保育園児の集団検診と採血、アンケート調査によるコホート解析を開始しているが、現在までにデータ固定されている 2011 までに延べ 7856 人の 0 - 6 歳時を診察し、平記入社率は 6.3%であった。この検診は毎年継続されており、石垣島の乳幼児コホートの前向き調査を可能としている。H15-16 年にかけては最近保険適応となったアトピー性皮膚炎の重症度マーカー、TARC の血清値がアトピー患児での発症、持続、消退などの自然経過と強く関連することを見いだした。さらにアトピー疾患関連遺伝子の解明を進めるべくこのコホート群における遺伝

子解析を行うため、血液サンプルの採取を行っている。

最近、日本人が SNP タイピングにより大きく Ryukyu- と Hondo クラスターの 2 つに分けられることが判明した。石垣島のコホート群における追跡調査、血液検査、遺伝子研究などで得られた成果 すなわち様々な臨床的アトピー関連因子や数々の候補遺伝子群やまた将来的にそれらを元にした病因の解明・新規治療などが日本人に広く応用可能であるかどうか、またはある特定の疾患サブグループや地域特異性（石垣島など）に認められる傾向にあるのかなどをより正確に検討するには、次なるステップとして同様の採血検査、遺伝子調査を本邦の他地域においても実施し、石垣島で得られた結果の有意性を確認する必要がある。そこで九州・山口地域一円からの人口流入地域である福岡と、全国からの人口流入地域である東京地域において得られる結果を、石垣スタディの結果と比較・検討したい。

B . 研究方法

1. SD ラットの胸髄を麻酔下に露出し、末梢に 5-HT を塗布してパッチクランプ法にて脊髄後角部の膜電流を測定することで、脊髄後角における 5-HT による痒み刺激の入力部位を検討した。

2. 園児検診、アンケート結果、血清データ解析を行った。

3. 九州大学病院皮膚科、同総合診療部、慶応義塾大学病院皮膚科、東京大学にてアトピー性皮膚炎患者、健常者各 1000 人を目標に血液検体、アンケート調査票、ゲノムタイピングの結果を用いて解析する

（倫理面への配慮）

本研究での動物実験あるいは臨床研究は施設の倫理委員会にて承認されている。

C . 研究結果

1. 5-HT による痒み刺激に応答する C 線維は、応答しない C 線維と比較すると有意に脊髄後角の浅層に入力していた。また、5-HT による痒み刺激に反応する脊髄後角ニューロンは、後根神経節ニューロンと同じく機械的刺激に反応する性質を持っていた。

2. データ固定された 2011 年までに、のべ 7856 人の園児を診察し、平均有病率は 6.3% で男女差はなかった。また 2009 までの解析で、男児の血清 IgE が高いこと、気管支喘息合併が高いことが判った。アンケート調査の多変量解析の結果、患児のアトピー性皮膚炎罹患の危険因子として、本人の気管支喘息とは卵アレルギーの既往、父親や同胞のアトピー性皮膚炎の既往が挙げられた。卵アレルギー歴のあるアトピー性皮膚炎園児は有意に血清 TARC 値が高く、またオボムコイド特異的 IgE 値高値（クラス 2 以上）のアトピー性皮膚炎園児で有意に血清 TARC 値が高かった。

3. GWAS の結果、過去に報告されたヨーロッパあるい

は中国から報告された領域に加え、新たに 8 領域が同定された。（Hirota T, et al. Genome-wide association study identifies eight new susceptibility loci for atopic dermatitis in the Japanese population. Nat Genet 2012;44(11):1222-6.）。また、本ゲノム解析で遺伝子多型とアトピー発症の関連が確認された Th 2 ケモカイン MDC は石垣島園児でアトピー性皮膚炎園児は対照群に比して有意に検査値が高いことがわかり、また健常人でも成人に比して非常に数値が高いことが判った。さらに、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。

D . 考察

1. 5-HT による痒み刺激に反応する 1 次求心性神経線維は、後根神経節において C 線維の中で機械的刺激にも反応する多様的なニューロンであり、脊髄後角においても同様の性質を持っていた。脊髄後角での入力部位に関しては浅層であることから、侵害刺激や温熱刺激の伝導路と同一部位であることが確認された。

2. 卵アレルギーの既往がアトピー性皮膚炎の危険因子のひとつであり、乳幼児期のアトピー性皮膚炎には卵アレルギーが深く関わっていることが示唆された。また、アンケート上での卵アレルギーの既往がある群が血清 TARC 値（アトピーの疾患重症度マーカー）が高値、すなわちより重症であることが判った。オボムコイド（卵白の主要アレルゲン）特異的 IgE 検査でも同様の知見が示されており、より確からしいことが判った。ミルクやコムギなどの 3 大食餌アレルゲンの他の抗原とやダニアレルギーと重症度との関連は見られず、興味深い。

3. 新たに同定された 8 領域は、気管支喘息における GWAS と同様に好塩基球活性化因子を含んでおり、また免疫調節因子であるビタミン D 代謝経路に関わる因子が含まれていた。実集団で関連を検証したい。

E . 結論

1. より中枢における痒み特異的神経の伝導路に関する検討を行う必要がある。

2. 男児の気管支喘息の高合併率なども見られているため、食物アレルゲンに加え、カビなど他の環境因子と AD に関連疾患の発症、重症度との関連解析が必要と思われる。

3. 今後、GWAS で同定された因子についてさらなる検討が必要である。GWAS の結果は、アトピー性皮膚炎のメカニズム及び治療を切り開くうえで重要な強力な手法であると考えられる。

F . 健康危険情報

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, Kajiwara 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ペ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

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

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。