

201322022A

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)

アトピー性皮膚炎の難治性皮膚病変の病態解析と
病態に基づいたピンポイントな新規治療の開発

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 横関 博雄

平成 26 年(2014 年) 3 月

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業(免疫アレルギー疾患予防・治療研究事業)

アトピー性皮膚炎の難治性皮膚病変の病態解析と
病態に基づいたピンポイントな新規治療の開発

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 横関 博雄

平成26年(2014)年 3月

【目 次】

I. 平成25年度構成員名簿	1
II. 総括研究報告	
アトピー性皮膚炎の難治性皮膚病変の病態解析と病態に基づいたピンポイントな新規治療の開発	3
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学分野)	
III. 分担研究報告	
1. アトピー性皮膚炎モデルを用いた好塩基球の機能解析研究	9
鳥山 一 (東京医科歯科大学大学院免疫アレルギー学分野)	
2. アトピー性皮膚炎マウスモデルの自発的痒み関連動作への皮膚好塩基球の関与に関する研究	12
安東嗣修 (富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学)	
3. アトピー性皮膚炎におけるインターロイキン17Aの果たす役割の検討	16
宮地良樹 (京都大学医学研究科皮膚科学)	
4. アトピー性皮膚炎における外因性及び内因性の分別と金属アレルギー頻度の差異	19
戸倉新樹 (浜松医科大学皮膚科学)	
5. アトピー性皮膚炎の難治性皮膚病変の病態解析と病態に基づいたピンポイントな新規治療の開発	23
片山一朗 (大阪大学大学院医学系研究科皮膚科教室)	
室田浩之 (大阪大学大学院医学系研究科皮膚科教室)	
6. 痒疹マウスモデル作成と病態に関する研究—Th2型サイトカインの関与について—	27
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学分野)	
佐藤貴浩 (防衛医科大学校皮膚科学講座)	
7. ヒトiPS細胞を利用してフィラグリン遺伝子変異が角化細胞に与える影響をin vitroで詳細に検討するシステム構築	30
井川 健 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科皮膚科学分野)	
8. 生体皮膚への機能性高分子導入法の開発に関する研究	32
金田安史 (大阪大学大学院医学系研究科遺伝子治療学講座)	
9. アトピー性皮膚炎の病型と難治性皮膚病変の関連に関する疫学調査	33
野老翔雲 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科皮膚科学分野)	
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	35
V. 班会議プログラム・議事録・抄録	95

I. 平成25年度構成員名簿

アトピー性皮膚炎の難治性皮膚病変の病態解析と病態に基づいたピンポイントな新規治療の開発

区分	氏名	所属等	職名
研究代表者	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学分野	教授
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教室	教授
	金田 安史	大阪大学大学院医学系研究科遺伝子治療学講座	教授
	烏山 一	東京医科歯科大学大学院免疫アレルギー学分野	教授
	佐藤 貴浩	防衛医科大学校皮膚科学講座	教授
	戸倉 新樹	浜松医科大学皮膚科学	教授
	宮地 良樹	京都大学医学研究科皮膚科学	教授
	安東 嗣修	富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学	准教授
	室田 浩之	大阪大学大学院医学系研究科皮膚科教室	講師
研究協力者	高森 建二	順天堂大学浦安病院	院長
	塩原 哲夫	杏林大学皮膚科	教授
	三橋 善比古	東京医科大学皮膚科	教授
	森田 栄伸	島根大学皮膚科	教授
	椛島 健治	京都大学医学研究科皮膚科学	准教授
	坂部 純一	浜松医科大学皮膚科学	特任助教
	山口 隼人	浜松医科大学皮膚科	診療従事者
	龍野 一樹	浜松医科大学皮膚科	助教
	羽座 沙都美	富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学	大学院生
	倉石 泰	富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学	教授
	中島 沙恵子	京都大学医学研究科皮膚科学	研究員
	井川 健	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科皮膚科学分野	講師
	野老 翔雲	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科皮膚科学分野	助教
	端本 宇志	防衛医科大学校皮膚科学講座	助教

II. 総括研究報告

アトピー性皮膚炎の難治性皮膚病変の病態解析と病態に基づいたピンポイントな新規治療の開発

研究代表者 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学分野 教授

研究要旨 本研究は重症型アトピー性皮膚炎（AD）における**難治性皮膚病変（痒疹、紅皮症、顔面紅斑）**などの発症頻度及びアトピー性皮膚病変の難治性皮膚病変の診療ガイドラインを作成して適切な標準的治療法の確立を目指している。今年度はADを**内因性と外因性**に分類して各病型における痒疹結節、難治顔面紅斑、紅皮症、異汗性湿疹様病変の発症頻度を各班員の施設にてアンケート調査した。その結果、**結節性痒疹、顔面紅斑、紅皮症、脱毛**などが**外因性AD**に多く、**手湿疹、亜急性痒疹**が**内因性AD**に多いことが明らかになった。また、2つの病型間で**金属アレルギー**の陽性率を検討したところ有意差をもって**内因性AD**が高率であった。さらに、**内因性AD**の汗中に**ニッケル、コバルト**が**外因性AD**の汗中より大量に含まれていることより**内因性AD**の発症に、**ニッケルとコバルトアレルギー**が深く関与していることが示された。ADの難治性皮膚症状である**痒疹**は治療には非常に難渋することが多い。IgE-CAIを持続させることによりマウスに痒疹類似病変を惹起出来る。その病態を解析した結果、**痒疹様反応はTh2優位**であるが、STAT6シグナルは抑制的に作用していることが示された。さらに、好酸球欠損 Δ dblGATAマウスにみとめられた**IgE-CAI**炎症の減弱は、**好塩基球の異常**に起因することが強く示唆された。また、自然発症アトピー性皮膚炎マウスモデルを用いた研究から、健常マウス皮膚に比べ、皮膚炎皮膚において**好塩基球**が増加していることまた、**好塩基球から遊離されるmMCP-11**がアトピー性皮膚炎の痒みの誘発に関与している可能性が示唆された。今後の将来的展望として**好塩基球をターゲットとした痒疹型AD病変の新規治療法**の開発する予定である。**神経栄養因子アーテミン**が熱痛覚過敏に与える影響をマウスによって確認した。**IL-17A**はマウスアトピー性皮膚炎モデルにおけるTh2誘導に促進的に作用した。アトピー性皮膚炎において**IL-17A**は新規治療ターゲットとなることが期待される。遺伝子を導入するために開発したSendai virus (hemagglutinating virus of Japan; HVJ)を紫外線等で不活化した粒子に**mild detergent**と遠心で遺伝子やsiRNAを封入し、膜融合作用によって直接細胞質内に導入できるベクターである**HVJ-E**ベクターを一本鎖IL12蛋白質と併用すると**IFN- γ** が産生増強される。これを1つのベクターで解決したのが**IL12結合型HVJ-E**であり、この**IL12結合型HVJ-E**は強力なアトピー性皮膚炎の治療剤になりうる。さらに、ヒトiPS細胞を利用して、フィラグリンなどの遺伝子変異が実際の病態形成に与える影響について詳細に検討できるシステムの構築を作成中である。

研究分担者

佐藤貴浩 防衛医科大学校皮膚科 教授
 片山一朗 大阪大学大学院医学系研究科情報統合医学講座皮膚科学 教授
 戸倉新樹 浜松医科大学皮膚科 教授
 鳥山 一 東京医科歯科大学大学院免疫アレルギー分野 教授
 安東嗣修 富山大学大学院応用薬理学 准教授
 宮地良樹 京都大学医学研究科皮膚科 教授
 室田浩之 大阪大学大学院医学系研究科情報統合医学講座皮膚科学 講師
 金田安史 大阪大学大学院医学系研究科遺伝子治療学講座 教授

研究協力者

梶島健治 京都大学医学研究科皮膚科学 准教授
 坂部純一 浜松医科大学皮膚科学 特任助教
 山口隼人 浜松医科大学皮膚科 診療従事者
 龍野一樹 浜松医科大学皮膚科 助教
 端本宇志 防衛医科大学校皮膚科 助教
 井川 健 東京医科歯科大学医学部 講師

A. 研究目的

本研究は重症型アトピー性皮膚炎（AD）における**難治性皮膚病変（痒疹、紅皮症、顔面紅斑）**などの発症頻度及びアトピー性皮膚病変の難治性皮膚病変の診療ガイドラインを作成して適切な標準的治療法の確立を目指している。今年度はADを**内因性と外因性**に分類して各病型における痒疹結節、難治顔面紅斑、紅皮症の発症頻度を明らかにするためのアンケート調査を施行し検討する。さらに、各病型ADの汗を解析して金属の濃度を測定する。各種のADの皮膚病変のモデルマウス（痒疹モデルマウス、TNP特異的IgE産生マウス、好酸球欠損マウスとして広く用いられている Δ dblGATAマウス、flaky tailマウス、IL-17欠損マウス、雄性NC系マウス）を用いてADの発症機序を解析する。何故HVJ-Eが効果があるのか、その作用機構を解明し、さらに適した治療剤へ

と改良することを目的とする。また、ヒト iPS 細胞を利用して、アトピー性皮膚炎におけるフィラグリン遺伝子変異の影響について検討を行なった。

B. 方法

1) 外因性・内因性アトピー性皮膚炎 (AD) における臨床症状、かゆみ関連因子の比較検討

東京医科歯科大学、京大、阪大、浜松医大皮膚科通院中の AD 患者において、以下の項目について調査・検討した。(1) 臨床症状重症度: SCORAD, VAS (かゆみ)、(2) 特徴的臨床症状: Dennie-Morgan fold, 尋常性魚鱗癬, palmar hyperlinearity、痒疹、顔面紅斑、異汗性湿疹 (3) 合併症: アレルギー性鼻炎、喘息 (4) 一般血液検査: LDH, 総 IgE 値, 特異的 IgE (Df, Dp), TARC, 好酸球数、(6) 先進的検査 (倫理委員会承認): フィラグリン遺伝子変異, 血中 CCK8. (7) 金属パッチテスト: Ni, Co, Cr など

2) 浜松医大、神戸大学、産業医大の AD 患者を内因性 AD (31 名) と外因性 AD (55 名) の 2 群に分別した。外因性 AD 患者 12 人と内因性 AD 患者 5 名の患者の汗中のニッケルイオンを測定した。患者の前腕をビニール袋で覆い、運動により発生した汗を回収し、ニッケルイオン濃度を計測した。

3) 痒疹モデルの作成

TNP 特異的 IgE 産生マウス (TNP-IgE マウス) の耳介皮内、あるいは背部皮内に TNP-OVA を反復して 3 回投与し、IgE-CAI を持続させた。STAT6 欠損マウスを用いて解析した。

4) IgE-CAI における好酸球の機能解析

Δ dblGATA マウスを IgE で受動感作した後に耳介皮膚にアレルゲンを投与し、耳介腫脹ならびに浸潤細胞を経時的に測定した。 Δ dblGATA マウスから骨髄、脾臓、末梢血を採取し、好塩基球・好塩基球前駆細胞の数を野生型マウスと比較検討した。

5) AD でみられる痒み過敏選択的な治療戦略の確立

近年、神経栄養因子アーテミンの皮膚局所への蓄積が全身皮膚の熱感受性を増感させることを見出した。アーテミンが熱痛覚過敏に与える影響をマウスによって確認する。

6) AD マウスモデルの自発的痒み関連動作への皮膚好塩基球の関与

実験には、AD マウスモデルである雄性 NC 系マウスを用いた。痒み反応の評価は、8mm ビデオカメラでその行動を撮影し、ビデオの再生により行った。一部の実験では、mMCP-11 を SPF 飼育下健常マウスに皮内注射して、注射部位への後肢による掻き動作回数をカウントした。

7) フィラグリン遺伝子に変異を有する flaky tail マウスの解析

マウスアトピー性皮膚炎モデルを用いて IL-17A のアトピー性皮膚炎において果たす役割を検討する。マウスアトピー性皮膚炎モデルとして、ハプテン反復塗布モデル、フィラグリン遺伝子異常を有する flaky tail マウスを用いる。

8) 生体皮膚への機能性高分子導入法の開発に関する研究

HVJ-E (不活性化センダイウイルスエンベロープ) は免疫細胞に作用して Th1 シフトを起こすためアレルギー疾患の治療に適していると考えられる。そこで、さらにその作用を強力にするために一本鎖 IL12 ポリペプチドと HVJ-E を併用することにより、樹状細胞や脾臓細胞からの Interferon- γ (IFN- γ) の産生が亢進するかどうかを、ELISA 法で測定した。

9) iPS 細胞を用いたフィラグリン遺伝子の役割解析

- ① ヒト iPS 細胞において遺伝子ターゲティングをある程度自在に行うために TALENs (TALE Effector Nucleases) を利用するシステムを構築。
- ② ヒト iPS 細胞から表皮角化細胞を誘導する際のモニタリングシステムとして、ケラチン遺伝子の発現状況を可視化してモニターできるシステムを構築。
- ③ 上記システムを導入したヒト iPS 細胞においてフィラグリン遺伝子に変異を導入する (TALENs)。
- ④ ③のヒト iPS 細胞を角化細胞に分化させ、検討を行う。

C. 結果

1) 対象: 168 名 (男性 95、女性 73) で内因性 AD と外因性 AD に分類して臨床的な特徴を検討したところ結節性痒疹、顔面紅斑、紅皮症、脱毛などが外因性 AD に多く、手湿疹、亜急性痒疹が内因性 AD に多いことが明らかになった。

2) 内因性 AD 患者は、外因性 AD よりいずれの金属に関してもパッチテスト陽性率は高いが、特に Ni と Co に関して、内因性 AD のほうが有意差をもって陽性率が高かった。今回の研究ではフィラグリン遺伝子変異の有無でのパッチテスト陽性率に有意差を認めなかった。内因性 AD 患者の汗中のニッケル濃度の平均は 333.8 (ng/g)であったのに対し、外因性 AD 患者では 89.4 (ng/g)であり、有意差を認めた (Yamaguchi H et al: J Dermatol Sci, in press)。

3) TNP-OVA を耳介皮内に反復投与した STAT6 欠損マウスでは、耳介腫脹は WT マウスに比べて著明に増悪していた。さらに、WT マウスの耳介に STAT6 siRNA を投与すると、耳介腫脹は scramble siRNA に比べて増悪した。

次に、STAT6 欠損マウスの背部皮膚に TNP-OVA を反復投与して痒疹様病変を作成したところ、WT マウスに比べて、表皮の肥厚や好酸球、好塩基球の浸潤が極めて顕著となっていた。さらに、病変部では IL-4、IL-13 産生が著明に増加していた。STAT6 欠損マウスの病変部には M2 マクロファージマーカーである CD163(+)細胞、CD206(+)細胞はほとんど存在しなかった。

4) Δ dblGATA マウスでは、IgE-CAI における耳介腫脹が野生型マウスの 2/3 程度に減弱し、皮膚に浸潤する好塩基球数が正常マウスの 1/3-1/2 と減少していた。その原因を探るため、未処置の Δ dblGATA マウスを解析したところ、好酸球の欠損だけではなく末梢好塩基球ならびに骨髄好塩基球前駆細胞の減少がみとられ、*in vitro* での好塩基球生成も低下していた。さらに、 Δ dblGATA 好塩基球では、IgE とアレルギーの刺激によって誘導される脱顆粒ならびにサイトカイン産生が低下していた。 Δ dblGATA 好塩基球における GATA-1 発現を調べたところ、野生型好塩基球の約 1/4 であった。さらに、野生型好塩基球に IL-4 siRNA を発現させるとサイトカイン産生の低下がみとめられた。

5) アーテミンがヒトのアトピー性皮膚炎の皮膚病変部真皮に蓄積していることが確認された。アーテミンを皮下投与したマウスは 38 度の環境下で全身を wiping する行動が確認された。ところが 42 度の環境下では飛び跳ねるなどの異常な行動が確認された。38℃環境下でアーテミン投与マウスの脳の興奮状態を MRI にて観察したところ、通常ではみられない脳の興奮が確認された。

6) 健常 NC マウスと比べて、AD 誘発 NC マウスでは、明らかな皮膚炎及び自発的搔き動作が誘発した。また、好塩基球から遊離される因子の 1 つに、mMCP-11 がある。健常マウスへの mMCP-11 の皮内注射は書き動作を誘発した。一方、熱処理した mMCP-11 では、搔き動作は誘発されなかった。

7) Flaky tail マウスは、フィラグリン遺伝子異常を有し、皮膚炎や血清中の IgE 上昇を自然発症するマウスである (Moriya CS et al. Am J Pathol.2010)。IL-17A 欠損 flaky tail マウスは、flaky tail マウスと比較して、皮膚炎の軽減や血清中の IgE 産生の低下を認めた。

8) HVJ-E のみを樹状細胞やマウス脾臓細胞に加えても IFN- γ の産生はほとんど認められなかった。0.1 ng/ml の sclIL12 では IFN- γ の産生は検出できなかった。しかし sclIL12(0.1 ng/ml)と HVJ-E を併用すると 150~200 pg/ml の IFN- γ が脾臓細胞から産生された。次に sclIL12 と HVJ-E を併用する代わりに IL12 結合型 HVJ-E の機能について解析した。IL12 結合型 HVJ-E (1.5 x 10⁷ 粒子)を脾臓細胞(2 x 10⁵ 粒子)にかけると 24 時間後に 120~150 pg/ml の IFN- γ の産生が検出された。

9) (1) TALENs を利用するシステムの構築ならびにケラチン遺伝子発現可視化システムの構築 Voytas らにより確立しされている Golden Gate Methods を modify した方法を用いて、TALENs を作製するシステムを構築し、それを用いて、ヒト iPS 細胞において、K14 遺伝子の下流に eGFP 遺伝子をノックインすることに成功した。

(2) フィラグリン遺伝子変異挿入のための TALENs の作製

同様に、上記システムを利用して、ヒトフィラグリン遺伝子を切断する TALENs を作製した。

D. 考察

D. 考察

外因性 AD は重症型の発疹である紅皮症、結節性痒疹、顔面紅斑、脱毛が多く見られた。IgE の関与する外因性 AD の方が重症 AD の傾向が示された。内因性 AD の発症機序の一つの可能性として、摂取された金属が汗を通じて経皮的に排泄され、正常な表皮

バリアをも通過することで、金属アレルギーを発症し、皮疹が生じていると推測した。ヒトにおける痒疹については既に、病変皮膚において IL-4, 17, 22, 31 の mRNA 発現が増加し、病変部の表皮核内に pSTAT3, pSTAT6 が局在していることが報告されている。今回作成した痒疹モデルマウスの皮膚病変は、組織学的にも局所サイトカインプロファイルもヒト痒疹と類似していた。また、STAT6 欠損マウスを用いて同様の反応を惹起させたところ、意外なことに反応が増強した。この結果より痒疹様反応は **Th2 優位** であるが、STAT6 シグナルは抑制的に作用していることが示された。さらに、GATA-1 が好塩基球の生成ならびに活性化に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。ΔdblGATA マウスでは好塩基球の減少症ならびに機能低下が存在することが判明した。したがって、ΔdblGATA マウスで認められた表現型を解釈する際には、好酸球だけでなく好塩基球の異常も考慮する必要がある。好酸球欠損 ΔdblGATA マウスにみとめられた IgE-CAI 炎症の減弱は、好塩基球の異常に起因することが強く示唆された。アトピー性皮膚炎では皮膚局所におけるアーテミンの蓄積がなんらかの形で中枢神経を増感させることによって痒みが誘導されるのではないかと考えられた。アーテミンはアトピー性皮膚炎の痒みの治療標的になりうると考えられた。また、AD 誘発 NC マウスでは、健常 NC マウスと比べると搔くことのできる皮膚炎発症部位において、好塩基球の増加が認められた。好塩基球から遊離される mMCP-11 がアトピー性皮膚炎の痒みの誘発に関与している可能性が示唆される。IL-17A はマウスアトピー性皮膚炎モデルにおいて、病変部および所属リンパ節において Th2 促進的に作用することが示された。また、これらの部位での IL-17A の主な産生細胞は $\gamma\delta$ T 細胞であった。HVJ-E と一本鎖 IL12 蛋白質の併用により脾臓細胞や樹状細胞からの IFN- γ 産生が、各々を単独で用いる時よりもはるかに強く増強されることが明らかになった。このとき HVJ-E の膜融合能は必要なかったことから、HVJ-E に含有されるウイルス RNA 断片が細胞質に導入されて RIG-I/MAVS の経路を活性化するという可能性は否定された。膜融合能のない HVJ-E で IFN- γ 産生増強がおり、HN 蛋白質のない IL12 結合型 HVJ-E で同じく IFN- γ の産生が増強されるこ

とから、HVJ-E の F 蛋白質を認識する受容体が脾臓細胞の表面にあり、これが刺激されて起こるシグナル経路によって産生された因子が IL12 と共存することにより IFN- γ の産生を活性化させることが示唆される。ヒト iPS 細胞を利用して、フィラグリンなどの遺伝子変異が実際の病態形成に与える影響について詳細に検討できるシステムの構築を作成中である。この iPS 細胞を用いた 3 次元表皮シートモデルにより遺伝子変異が表皮全体の構築、サイトカインなどどのような影響を与えるか明らかにできる。

E. 結論

難治性皮膚病変の痒疹と外因性 AD、内因性 AD、金属アレルギーの関連が明らかとなった。マウスに IgE-CAI を反復して惹起させることにより、ヒトの痒疹と類似するマウスモデルを作成した。これを痒疹モデルマウスとして解析することで、STAT6 シグナルは抑制的に作用していることが示された。さらに、好酸球欠損 ΔdblGATA マウスにみとめられた IgE-CAI 炎症の減弱は、好塩基球の異常に起因することが強く示唆された。また、アトピー性皮膚炎の痒みに 好塩基球—mMCP-11 系 が関与している可能性があることも明らかになった。IL-17A はマウスアトピー性皮膚炎モデルにおける Th2 誘導に促進的に作用した。アトピー性皮膚炎において IL-17A は新規治療ターゲット となることが期待される。

その他、アーテミン もアトピー性皮膚炎の痒みの治療標的になりうると考えられた。HVJ-E を一本鎖 IL12 蛋白質と併用すると IFN- γ が産生増強される。これを 1 つのベクターで解決したのが IL12 結合型 HVJ-E であり、この IL12 結合型 HVJ-E は強力なアトピー性皮膚炎の治療剤 になりうる。本研究により、フィラグリン遺伝子変異が与える影響を検討するシステムの構築が完了した。今後、分化誘導して得られた表皮角化細胞において、フィラグリン遺伝子変異の有無のみが違う状況の比較検討をすることにより、アトピー性皮膚炎においてフィラグリン遺伝子変異が存在することの意味合いについて、これまでと違った面よりアプローチができると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G.研究発表

1. 論文発表

- 1) Satoh T, Ikeda H, Yokozeiki H. Acrosyringal Involvement of Palmoplantar Lesions of Eosinophilic Pustular Folliculitis. *Acta Derm Venereol.* 10;93(1).2013.
- 2) Inoue R, Sohara E, Rai T, Satoh T, Yokozeiki H. Sasaki S, Uchida S. Immunolocalization and translocation of aquaporin-5 water channel in sweat glands. *J Dermatol.* 70(1):26-33.2013.
- 3) Fujimoto T, Kawahara K, Yokozeiki H. Epidemiological study and considerations of primary focal hyperhidrosis in Japan: From questionnaire analysis. *J Dermatol.* 40(11) 886-890.2013.
- 4) Sakaguchi M, Bito T, Oda Y, Kikusawa A, Nishigori C, Munetsugu T, Yokozeiki H. Itotani Y, Niguma T, Tsuruta D, Tateishi C, Ishii N, Koga H, Hashimoto T. Three Cases of Linear IgA/IgG Bullous Dermatitis Showing IgA and IgG Reactivity With Multiple Antigens, Particularly Laminin-332. *JAMA Dermatol.* 2013 Nov 1;149(11):1308-13.
- 5) Takehara Y, Satoh T, Nishizawa A, Saeki K, Nakamura M, Masuzawa M, Kaneda Y, Katayama I, Yokozeiki H. Anti-tumor effects of inactivated Sendai virus particles with an IL-2 gene on angiosarcoma. *Clin Immunol.* 2013 Oct;149(1):1-10.
- 6) Higuchi T, Satoh T, Yokozeiki H. Using CD40 Ligand Expression to Detect Antigen-specific T Cells in Patients with Drug Eruptions. *Acta Derm Venereol.* 2013 May 27
- 7) Saeki K, Satoh T, Yokozeiki H. $\alpha(1,3)$ Fucosyltransferases IV and VII are essential for the initial recruitment of basophils in chronic allergic inflammation. *J Invest Dermatol.* 2013 Sep;133(9):2161-9.
- 8) Kataoka N, Satoh T, Hirai A, Saeki K, Yokozeiki H. Indomethacin inhibits eosinophil migration to prostaglandin D2 : therapeutic potential of CRTH2 desensitization for eosinophilic pustular folliculitis. *Immunology.* 2013 Sep;140(1):78-86.
- 9) Okiyama N, Sugihara T, Oida T, Ohata J, Yokozeiki H. Miyasaka N, Kohsaka H. T lymphocytes and muscle condition act like seeds and soil in a murine polymyositis model. *Arthritis Rheum.* 64(11): 3741-9.2012.
- 10) Sekine R, Satoh T, Takaoka A, Saeki K, Yokozeiki H. Anti-pruritic effects of topical crotamiton, capsaicin, and a corticosteroid on pruritogen-induced scratching behavior. *Exp Dermatol* 21: 201-204.2012.
- 11) Kanai Y, Satoh T, Igawa K, Yokozeiki H. Impaired expression of Tim-3 on Th17 and Th1 cells in psoriasis. *Acta Derm-Venereol* 92: 367-371.2012.
- 12) Kishi Y, Higuchi T, Phoon S, Sakamaki Y, Kamiya K, Riemekasten G, Akiyoshi K, Weigert MG, Tsubata T. Apoptotic marginal zone deletion of anti-Sm/ribonucleoprotein B cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012 May 15;109(20):7811-6. doi: 10.1073/pnas.1204509109. Epub 2012 Apr 30.
- 13) Matsushima Y, Satoh T, Yamamoto Y, Nakamura M, Yokozeiki H. Distinct roles of prostaglandin D2 receptors in chronic skin inflammation. *Mol Immunol.* 2011 304-310.
- 14) Ugajin T, Satoh T, Kanamori T, Aritake K, Urade Y, Yokozeiki H. FcεRI, but not FcγR, signals induce prostaglandin D2 and E2 production from basophils. *Am J Pathol.* 2011 179:775-82. 2011.
- 15) Yamamoto Y, Otani S, Hirai H, Nagata K, Aritake K, Urade Y, Narumiya S, Yokozeiki H. Nakamura M, Satoh T. Dual functions of prostaglandin D2 in murine contact hypersensitivity via DP and CRTH2. *Am J Pathol* 179:302-14. 2011
- 16) 横関博雄、アクセサリーオーガンとオーラルケアの香粧品学 エチケットのサイエンス 発汗の機序と発汗異常を伴う疾患、日本香粧品学会誌、36巻2号 Page108-113、2012.
- 17) 横関博雄、接触皮膚炎診療ガイドラインダイジェスト、最新の疾患別治療マニュアル、19-20、2012
- 18) 佐藤貴浩, 横関博雄, 片山一朗, 室田浩之, 新樹, 朴 紀央, 梶島健治, 中溝 聡, 高森建二, 塩原哲夫, 三橋善比古, 森田栄伸、日本皮膚科学会ガイドライン 慢性痒疹診療ガイドライン: Source: 日本皮膚科学会雑誌 122: 1-16、2012.
- 19) 横関博雄: 【最新の膠原病診療-そのパラダイムシフト】 ステロイド外用薬の使い方と留意点、日本

医師会雑誌：140、2331-2335、2012.

- 20) 横関博雄：皮膚アレルギー疾患における核酸医薬療法、Jpn J Clin Immunol,35(2)107-111,2012

(2) 学会発表

- 1) 横関博雄：「花粉症とアトピー性皮膚炎」公益財団法人日本アレルギー協会 アレルギー研修会（賛助会員向け）、2013年3月1日、東京（講演）
- 2) 横関博雄：「スギ花粉皮膚炎アップデート」千代田区耳鼻科医会講演会、2013年3月22日、東京（招待講演）
- 3) 横関博雄：「発汗異常を伴う皮膚アレルギー疾患：アップデート」つくば皮膚フォーラム,2013年4月25日、つくば市（招待講演）
- 4) 横関博雄：「アトピー性皮膚炎の病態と新規治療法」第6回 NAGASAKI DERMATOLOGY FORUM,2013年7月4日,長崎市（招待講演）
- 5) 横関博雄：「ガイドラインに沿った接触皮膚炎の診療・考え方」第40回東三河皮膚科フォーラム,2013年9月5日,豊橋市（招待講演）
- 6) 横関博雄：「スギ花粉症皮膚炎の病態と治療」第2回日本眼科アレルギー講習会、2013年10月5日、東京
- 7) 横関博雄：「発汗異常と皮膚アレルギー：アップデート」第43回名古屋しゃちほこ皮膚科セミナー,2013年10月5日,名古屋市（招待講演）
- 8) IGAWA K., HORIE K., YUSA K., YOKOZEKI H., KATAYAMA I., TAKEDA. J.: Efficient keratinocytes differentiation from transgene-free human induced pluripotent stem cell line: Implication for therapeutic application. International Investigative Dermatology. 8th - 11th May 2013, Edinburgh, Scotland
- 9) IGAWA K.: Efficient keratinocytes differentiation from transgene-free human induced pluripotent stem cell line: Implication for therapeutic application. 第8回箱根カンファレンス 2013年8月24、25日 淡路島.(招待講演)
- 10) Saeki K., Satoh T., Yokozeaki H. : Basophils require interaction with CD49b(+)/c-kit(+) cells through L-selectin for induction of

immunoglobulin E-mediated chronic allergic inflammation. 第42回日本免疫学会学術集会. 2013.12.11. 千葉.(一般演題)

- 11) 高山 かおる：職業性アレルギー性皮膚疾患の診療のこつ アレルギーの臨床(0285-6379)34 巻 1 号 Page98-99(2014.01)
 - 12) 高山 かおる：臨床と基礎のクロストークから生まれる接触皮膚炎の新世界 接触皮膚炎ガイドラインを知っていますか？ 活用方法についてJ EDCA (1882-0123)7 巻 5 号 Page379(2013.11)
 - 13) 高山 かおる, 横関博雄, 戸倉 新樹, 松永 佳世子, 片山 一朗, 池澤 善郎, 矢上 晶子：職業アレルギーガイドライン 2013 刊行記念シンポジウム 職業性アレルギー皮膚疾患 日本職業・環境アレルギー学会雑誌 (1349-5461)21 巻 1 号 Page33(2013.06)
 - 14) 高山 かおる：接触皮膚炎診療ガイドライン. 日本皮膚科学会第76回東京支部学術大会,2013年2月16-17日,東京
 - 15) 高山 かおる：接触皮膚炎診療ガイドラインを上手に使おう. 第112回日本皮膚科学会総会,2013年6月14-15日,横浜市（教育講演）
 - 16) 宇賀神つかさ：グローブアレルギー（I型、IV型）：キンバリークラーク株式会社.2013.9.6. 横浜市.（講演）
 - 17) 西田圭吾, 宇賀神つかさ, 山崎哲, 鈴木純子, 三田征治, 久保允人, 横関博雄, 平野俊夫：亜鉛結合蛋白は好塩基球のサイトカイン産生を調節する. メタロバイオサイエンス研究会 2013.9.26. 静岡.
 - 18) 加藤恒平, 西澤綾, 佐藤貴浩, 横関博雄：無汗性外胚葉形成不全症患者に対するアンケート調査ーアトピー性皮膚炎の合併との関連についてー. 第21回日本発汗学会総会. 2013.8.30, 31. 松本市.（一般演題）
- 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

III. 分担研究報告

アトピー性皮膚炎モデルを用いた好塩基球の機能解析研究

分担研究者 鳥山 一 東京医科歯科大学大学院免疫アレルギー学分野 教授

研究要旨 アトピー性皮膚炎のマウスモデルである IgE 依存性皮膚慢性アレルギー炎症 (IgE-CAI) の責任細胞は好塩基球であるが、好塩基球は皮膚浸潤細胞の 1-2% を占めるに過ぎず、好酸球が浸潤細胞の主体である。そこで本研究では、好酸球欠損 Δ dblGATA マウスを用いて、IgE-CAI における好酸球の役割ならびに好塩基球との相互作用を解析した。 Δ dblGATA マウスでは IgE-CAI 炎症の減弱が認められたが、この炎症減弱はこれまで知られていなかった Δ dblGATA マウスにおける好塩基球の機能異常に起因することが明らかとなった。本研究によって転写因子 GATA-1 が好塩基球の発生・機能に重要な役割を果たしていること、 Δ dblGATA マウスを用いたアトピー病態解析では好酸球だけでなく好塩基球の異常も考慮する必要があることが判明した。

A. 研究目的

私たちのこれまでの研究により、アトピー性皮膚炎のマウスモデルである IgE 依存性皮膚慢性アレルギー炎症 (IgE-CAI) の責任細胞が、皮膚浸潤細胞のわずか 1-2% を占めるに過ぎない好塩基球であることが明らかとなった。一方、主たる浸潤細胞のひとつである好酸球の役割ならびに好塩基球との相互作用に関しては不明である。そこで本研究では、好酸球欠損マウスとして広く用いられている Δ dblGATA マウス（転写因子 GATA-1 遺伝子のプロモーターに変異を入れた遺伝子改変マウス）において IgE-CAI を誘発し、好塩基球非存在下における IgE-CAI 炎症ならびに好塩基球動態を解析した。

B. 研究方法

Δ dblGATA マウスを IgE で受動感作した後に耳介皮膚にアレルゲンを投与し、耳介腫脹ならびに浸潤細胞を経時的に測定した。 Δ dblGATA マウスから骨髓、脾臓、末梢血を採取し、好塩基球・好塩基球前駆細胞の数を野生型マウスと比較検討した。さらに、骨髓細胞をサイトカイン IL-3 あるいは TSLP とともに培養し、好塩基球の生成能を調べた。次に、

Δ dblGATA 好塩基球と野生型好塩基球を IgE とアレルゲンで刺激し、脱顆粒ならびにサイトカイン (IL-4, IL-6) 産生を比較した。野生型好塩基球に IL-4 遺伝子に対応する siRNA を導入し、サイトカイン産生に対する影響を調べた。

（倫理面への配慮）

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

C. 研究結果

Δ dblGATA マウスでは、IgE-CAI における耳介腫脹が野生型マウスの 2/3 程度に減弱し、皮膚に浸潤する好塩基球数が正常マウスの 1/3-1/2 と減少していた。その原因を探るため、未処置の Δ dblGATA マウスを解析したところ、好酸球の欠損だけではなく末梢好塩基球ならびに骨髓好塩基球前駆細胞の減少がみとられ、*in vitro* での好塩基球生成も低下していた。さらに、 Δ dblGATA 好塩基球では、IgE とアレルゲンの刺激によって誘導される脱顆粒ならびにサイトカイン産生が低下していた。 Δ dblGATA 好塩基球における GATA-1 発現を調べたところ、野生型好塩基球の約 1/4 であった。さらに、野生型好

塩基球に IL-4 siRNA を発現させるとサイトカイン産生の低下がみとめられた。

D. 考察

これまでの研究で、転写因子 GATA-1 が赤血球、巨核球、好酸球ならびにマスト細胞の分化・成熟に寄与していることが報告されていたが、好塩基球における役割は不明であった。本研究により、GATA-1 が好塩基球の生成ならびに活性化に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。さらに、 Δ dblGATA マウスでは好塩基球の減少症ならびに機能低下が存在することが判明した。したがって、 Δ dblGATA マウスで認められた表現型を解釈するには、好酸球だけでなく好塩基球の異常も考慮する必要がある。

E. 結論

好酸球欠損 Δ dblGATA マウスにみとめられた IgE-CAI 炎症の減弱は、好塩基球の異常に起因することが強く示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Shiraiishi, Y., Jia, Y., Domenico, J., Joetham, A., Karasuyama, H., Takeda, K., and Gelfand, E.W.: Sequential engagement of Fc ϵ RI on mast cells and basophil histamine H4 receptor and Fc ϵ RI in allergic rhinitis. *J. Immunol.* 190: 539-548, 2013.
- 2) Egawa, M., Mukai, K., Yoshikawa, S., Iki, M., Mukaida, N., Kawano, Y., and Minegishi, Y., and Karasuyama, H.: Inflammatory monocytes recruited to allergic skin acquire an anti-inflammatory M2 phenotype via basophil-derived interleukin-4. *Immunity* 38: 570-580, 2013.
- 3) Ramadan, A., Pham, Van L., Machavoine, F.,

Dietrich, C., Alkan, M., Karasuyama, H., Schneider, E., Dy, M., Thieblemont, N.: Activation of basophils by the double-stranded RNA poly(A:U) exacerbates allergic inflammation. *Allergy* 68: 732-738, 2013.

- 4) Torrero, M.N., Morris, C.P., Mitre, B.K., Hübner, M.P., Mueller, E., Karasuyama, H., and Mitre, E.: Basophils help establish protective immunity induced by irradiated larval vaccination for filariasis. *Vaccine* 31: 3675-3682, 2013.
- 5) Reber, L.L., Marichal, T., Mukai, K., Roers, A., Hartmann, K., Karasuyama, H., Nadeau, K.C., Tsai, M., and Galli, S.J.: Selective ablation of mast cells or basophils reduces peanut-induced anaphylaxis in mice. *J. Allergy Clin. Immunol.* 132: 881-888, 2013.
- 6) Noti, M., Tait Wojno, E.D., Kim, B.S., Siracusa, M.C., Giacomini, P.R., Nair, M.G., Benitez, A.J., Ruymann, K.R., Muir, A.B., Hill, D.A., Chikwava, K.R., Moghaddam, A.E., Sattentau, Q.J., Alex, A., Zhou, C., Yearley, J.H., Menard-Katcher, P., Kubo, M., Obata-Ninomiya, K., Karasuyama, H., Comeau, M.R., Brown-Whitehorn, T., de Waal Malefyt, R., Sleiman, P.M., Hakonarson, H., Cianferoni, A., Falk, G.W., Wang, M-L., Spergel, J.M., and Artis, D.: TSLP-elicited basophil responses can mediate the pathogenesis of eosinophilic esophagitis. *Nat. Med.* 19: 1005-1013, 2013.
- 7) Anyan, W.K., Seki, T., Kumagai, T., Obata-Ninomiya, K., Furushima-Shimogawara, R., Kwansa-Bentum, B., Akao, N., Bosompem, K.M., Boakye, D.A., Wilson, M.D., Karasuyama, H., and Ohta, N.: Basophil depletion downregulates *Schistosoma mansoni* egg-induced granuloma formation. *Parasitol. Int.* 62: 508-513, 2013.

- 8) Obata-Ninomiya, K., Ishiwata, K., Tsutsui, H., Nei, Y., Yoshikawa, S., Kawano, Y., Minegishi, Y., Ohta, N., Watanabe, N., Kanuka, H., and Karasuyama, H.: The skin is an important bulwark of acquired immunity against intestinal helminths. *J. Exp. Med.* 210: 2583-2595, 2013.
- 9) Nei, Y., Obata-Ninomiya, K., Tsutsui, H., Ishiwata, K., Miyasaka, M., Matsumoto, K., Nakae, S., Kanuka, H., Inase, N., and Karasuyama, H.: GATA-1 regulates the generation and function of basophils. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 110: 18620-18625, 2013.
- 10) Leyva-Castillo, J.M., Hener, P., Michea, P., Karasuyama, H., Chan, S., Soumelis, V., and Li, M.: Skin TSLP initiates Th2 responses through an orchestrated immune cascade. *Nat. Commun.* 4:2847, 2013.
- 11) 吉川 宗一郎、鳥山 一:「好塩基球とアレルギー」アレルギー 62(7): 797-804, 2013.
- 12) 壹岐美紗子、鳥山 一:「好塩基球による慢性アレルギー炎症の誘導機構」炎症と免疫 21(6): 78-82, 2013.
- 13) 江川真由美、鳥山 一:「好塩基球とマクロファージによるアレルギー炎症の鎮静化」別冊 BIO Clinica 慢性炎症と疾患 2(2): 63-68, 2013
- 2.学会発表
- 1) Karasuyama, H.: Non-redundant roles of basophils in immunity. EAACI-WAO Congress, Milan, Italy. 2013.06.23.
- 2) 鳥山 一:特別講演「アレルギーならびに生体防御における好塩基球の新たな役割～山椒は小粒でもぴりりと辛い」第34回ゲノム創薬フォーラム 東京 2013.07.25.
- 3) Karasuyama, H.: Role of basophils in allergic responses and protective immunity. German-Japan Immunology Seminar. Shizuoka, Japan, 2013.12.08.
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
なし

アトピー性皮膚炎マウスモデルの自発的痒み関連動作への皮膚好塩基球の関与に関する研究

研究分担者 安東嗣修 富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学 准教授

研究協力者 羽座沙都美 富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学 大学院生

倉石 泰 富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学 教授

烏山 一 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科免疫アレルギー分野 教授

研究要旨 自然発症アトピー性皮膚炎マウスモデル（NC マウス）は、皮膚炎と自発的な痒み反応が認められる。これまでに本マウスモデルの炎症部位皮膚には、多数の好塩基球の浸潤が観察されることを明らかにしてきた。本研究では、痒み反応への好塩基球の関与を検討した。健常マウスの皮膚に比べ、皮膚炎マウスの皮膚ではマスト細胞数は約 3 倍の増加に対し、好塩基球は 60 倍も増加していた。また、皮膚炎マウスへの好塩基球除去抗体の処置により皮膚内好塩基球の減少と共に、自発的痒み反応が抑制された。これらのことから、皮膚炎マウスの自発的痒み反応に好塩基球が関与していることが示唆される。好塩基球より遊離される因子の 1 つにセリンプロテアーゼの一つである mMCP-11 がある。健常マウスへの mMCP-11 の皮内注射により痒み反応は誘発され、熱処理し不活化した mMCP-11 では、痒み反応は認められなかった。以上の結果より、アトピー性皮膚炎の痒みに、好塩基球が関与しており、好塩基球から遊離される mMCP-11 が起痒因子の一つであることが示唆される。

A. 研究目的

アトピー性皮膚炎の痒みは、非常に耐え難く、QOL の低下や、社会生産性の低下に繋がっている。また、痒みによる搔破行動により、皮膚炎の更なる悪化に加え、皮膚炎治療を妨げているのも事実である。このようにアトピー性皮膚炎の痒みの制御は臨床的に非常に重要な位置を占めている。しかし、痒みの第一選択としての H₁ histamine 受容体拮抗薬が無効である場合が多く、有効な治療薬がないのが現状である。そこで、新規鎮痒薬開発には、痒みの発生機序を十分理解する必要があるが、未だその機序に関しては明らかになっていない。

アトピー性皮膚炎の皮膚内には、様々な炎症性細胞の浸潤が認められており、多くの研究がなされている。最近、あまり機能がよく知られていなかった好塩基球がアレルギー疾患の病態に重要な役割を担っていることが明らかになってきた。これまで、我々は、アトピー性皮膚炎マウスの皮膚炎部位で好塩基

球が増加していることを明らかにしてきた。そこで、本研究では、アトピー性皮膚炎の痒みへの好塩基球の関与を検討した。

B. 研究方法

1) 実験動物

実験には、雄性 NC 系マウスを用いた。NC マウスは、NC マウスは、specific pathogen free (SPF) 環境下で飼育した場合は健常状態を維持するが、conventional 環境下で飼育した場合は、アトピー様の皮膚炎と自発的な痒み反応（搔き動作）を示すようになる。

2) 実験試薬

好塩基球除去抗体として Ba103 抗体を、コントロール抗体として rat IgG2b κ を用いた。これら抗体は尾静脈注射した。mMCP-11 (R&D 社) は、マウス吻側背部に注射した。

3) 行動実験

行動撮影ケージ (13×9×35cm/セル) にマウスを1時間放置し、馴化した。その後、無人環境下にデジタルビデオカメラでその後の行動を撮影した。行動評価は、ビデオの再生により、後肢による全身への掻き動作数をカウントした。mMCP-11 を皮内注射した実験では、注射部位及びその近傍の後肢による掻き動作数をカウントした。マウスは、1秒間に数回掻くので、足を挙げてから降ろすまでの一連の動作を掻き動作の1回としてカウントした。

4) 免疫組織化学染色

マウス皮膚凍結切片を作製し、1次抗体としてTUG8抗体(好塩基球検出抗体)及びmMCP-7抗体(マスト細胞検出用抗体)を用い、2次抗体として蛍光標識した2次抗体を用いて染色した。

C. 研究結果

1) 皮膚炎マウスにおけるマスト細胞と好塩基球

マスト細胞数は、健常マウス皮膚に比べ、皮膚炎マウス皮膚では、約3倍増加していた。好塩基球に関しては、健常マウス皮膚では、ほとんど観察されなかったが、皮膚炎マウス皮膚では明らかに観察された。特に、皮膚炎マウス皮膚では、健常マウス皮膚と比べ、皮膚内の好塩基球数が約60倍増加していた(図1)。

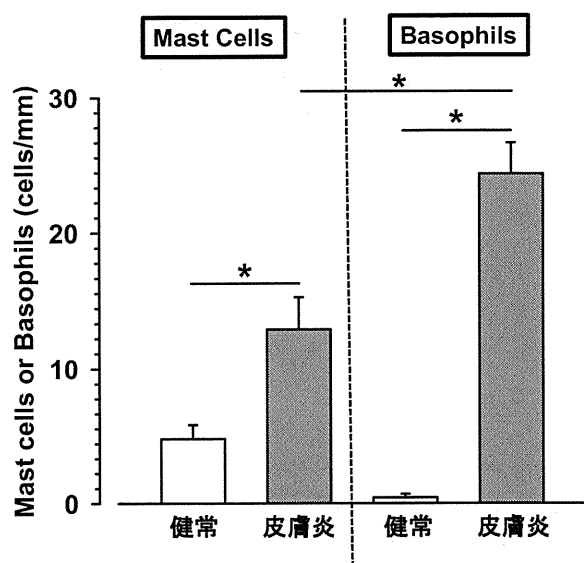


図1 健常マウス及び皮膚炎マウス皮膚でのマスト細胞並びに好塩基球数

2) 皮膚炎マウスの自発的掻き動作に対する好塩基球除去抗体 Ba103 の効果

皮膚炎マウスへの好塩基球除去抗体の投与により、投与後2日目より自発的掻き動作が減少していた。除去抗体投与後4日目に皮膚免疫染色を行い、好塩基球数を数えたところ、コントロール抗体投与マウスに比べ除去抗体投与マウスで有意に減少していた。

3) 健常マウスにおける mMCP-11 皮内注射による掻き動作

健常マウス吻側背部への mMCP-11 の皮内注射は、溶媒注射より明らかに後肢による注射部位及びその近傍への掻き動作回数の増加を認めた。一方、熱処理した mMCP-11 の皮内注射による掻き動作回数は、溶媒注射群と同程度であった。

D. 考察

本研究では、自然発症アトピー性皮膚炎マウスモデルの自発的掻き動作反応に、好塩基球が重要な役割を担っていることを明らかにした。好塩基球からは、マスト細胞と同様に、痒み因子の一つとされるヒスタミンが遊離されることが知られている。しかし、本マウスモデルの自発的掻き動作反応には、H1ヒスタミン受容体拮抗薬が無効であり、更に本マウスと同系の健常マウスにヒスタミンを皮内注射しても痒み反応は誘発されない。これらのことは、本皮膚炎モデルの痒み反応へのヒスタミンの関与は小さいと考えられる。

これまでに本皮膚炎マウスの皮膚ではセリンプロテアーゼ活性が増加していること、またセリンプロテアーゼ阻害薬により痒み反応が抑制されることを報告してきた。そこで、好塩基球より産生遊離される因子の1つでセリンプロテアーゼである mMCP-11 に着目した。mMCP-11 の皮内注射により痒み反応が認められたこと、また、熱処理した mMCP-11 では痒み反応は認められなかったことから mMCP-11 の酵素活性が痒みの発生に重要であることを示唆する。

E. 結論

アトピー様皮膚炎マウスでは、好塩基球-mMCP-11系が痒みの発生重要な役割を担っていることが示唆される。したがって、プロテアーゼ阻害薬が痒みに抑制に有用であるかもしれない。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yamakoshi T., Andoh T., Makino T., Kuraishi Y., Shimizu T. Clinical and histopathological features of itch in alopecia areata patients. *Acta Derma. Venereol.* 93,: 575-576 (2013)
- 2) Inami Y, Andoh T, Kuraishi Y. Prevention of topical surfactant-induced itch-related responses by chlorogenic Acid through the inhibition of increased histamine production in the epidermis. *J. Pharmacol. Sci.* 121:242-5 (2013).
- 3) Yamakoshi T., Andoh T., Makino T., Kuraishi Y., Shimizu T. Clinical and histopathological features of itch in alopecia areata patients. *Acta Derma. Venereol.* 93,: 575-576 (2013)
- 4) Sasaki A., Adhikari S., Andoh T., Kuraishi Y. BB2 receptor-expressing spinal neurons transmit herpes-associated itch by BB2 receptor-independent signaling. *Neuroreport* 24:652-656 (2013)
- 5) Andoh T., Gotoh Y., Kuraishi Y. Milnacipran inhibits itch-related responses in mice through the enhancement of noradrenergic transmission in the spinal cord. *J. Pharmacol. Sci.* 123: 199-202 (2013)
- 6) 安東嗣修：内因性起痒物質と発痛物質. *ペインクリニック* 34: 467-473 (2013).
- 7) 井浪義博, 安東嗣修, 佐々木淳, 倉石泰：界面活性剤によって誘発される痒みとクロロゲン酸の鎮痒効果. *アレルギーの臨床* 446:754-756 (2013)
2. 学会発表
- 1) 安東嗣修, 高山祐輔, 倉石 泰：皮膚糸状菌抽出物誘発搔痒反応へのアラキドン酸代謝産物 leukotriene B₄ の関与. 第 86 回日本薬理学会年会, 2013, 3, 21-23, 福岡
- 2) Bahar MA, Andoh T, Kuraishi Y. Mechanisms of Breast Cancer-Induced Itch. The 3rd International Conference on Pharmacy and Advanced Pharmaceutical Sciences, 2013, 6, 18-19, Yogyakarta, Indonesia
- 3) 歌 大介, 安東嗣修, 倉石泰, 井本敬二, 古江秀昌：痒み求心性入力を受けるラット脊髄後角細胞の in vivo 発火パターン解析. 第 36 回日本神経科学大会, 2013, 6, 20-23, 京都
- 4) 安東嗣修：動物を用いた痒み研究と和漢薬. 第 18 回和漢医薬学総合研究所夏季セミナー, 2013, 8, 22, 富山
- 5) 井浪義博, 安東嗣修, 佐々木淳, 倉石泰：アニオン性界面活性剤ラウリン酸ナトリウム誘発の急性痒み反応に対するクロロゲン酸の効果. 第 30 回和漢医薬学会学術大会, 2013, 8, 31-9, 1, 金沢
- 6) 高橋遼平, 安東嗣修, 宮本隆行, 倉石 泰：乾燥性皮膚搔痒症マウスの表皮ケラチノサイトにおける choline acetyltransferase の発現誘導. 第 64 回日本薬理学会北部会, 2013, 9, 13, 旭川
- 7) 真野陽介, 安東嗣修, 二宮 (小畑) 一茂, 鳥山一, 倉石 泰：蚊アレルギーの痒みにおける好塩基球の関与とプロテアーゼを介した痒みの発生機序. 第 64 回日本薬理学会北部会, 2013, 9, 13, 旭川
- 8) Andoh T, Suzuki K, Kuraishi Y. Pharmacological characterization of a surgically induced mouse model of cholestatic pruritus. 7th World Congress on Itch. 2013, 9, 21-23, Boston, USA.
- 9) Inami Y, Andoh T, Sasaki A, Kuraishi Y. Involvement of keratinocyte-produced histamine in acute and chronic itch-related behaviors induced by topical application of anionic surfactants in mice. 7th World Congress on Itch. 2013, 9, 21-23, Boston, USA.
- 10) 安東嗣修, 本間あずさ, 近藤詠子, 倉石 泰：マウスにおける眼アレルギーによる痒み反応へのマスト細胞由来セリンプロテアーゼの関与. 第 23 回国際痒みシンポジウム, 2013, 10, 26, 大阪.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
登録：(発明の名称) アレルギー性疾患のバイオマーカーおよびその利用
(発明者) 安東嗣修, 倉石 泰, 中野 祐
(出願人) 国立大学法人富山大学
(登録番号) 5297389 (平 25.6.21)

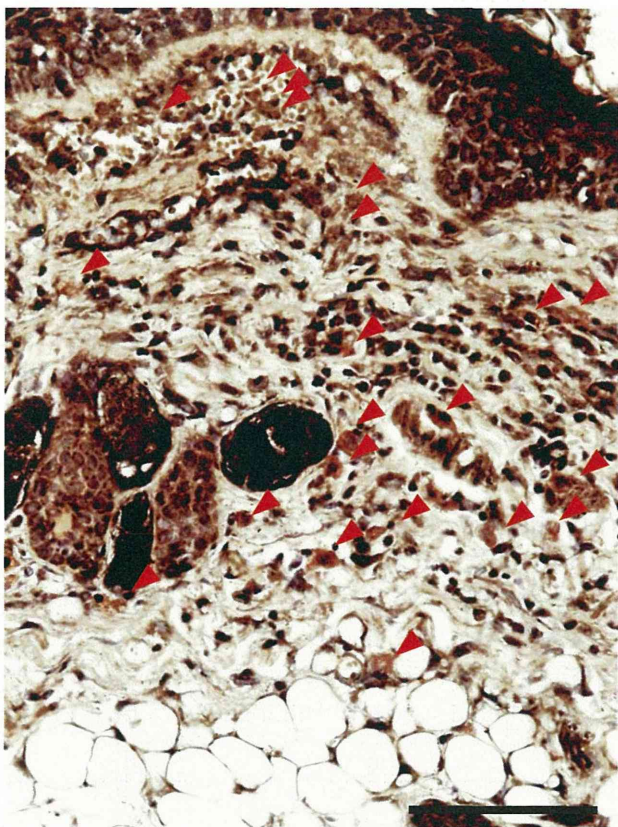


Fig. 1. 皮膚炎発症マウス皮膚における好塩基球
皮膚炎発症マウスの炎症部位における好塩基球（矢
頭）の分布。Scale bar: 100 μ m