

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

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24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 横関 博雄

平成25年(2013)年 3月

【目 次】

I . 平成 2 4 年度構成員名簿

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**
----- ?
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**
----- ?
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**
----- ?
安東嗣修 (富山大学大学院医学薬学研究部応用薬理学)
 3. **アトピー性皮膚炎モデルとかゆみメディエーターとの関わり**
----- ?
宮地良樹 (京都大学医学研究科皮膚科学)
 4. **外因性・内因性アトピー性皮膚炎における臨床症状、かゆみ関連因子の比較検討**
----- ?
戸倉新樹 (産業医科大学皮膚科学)
 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**
----- ?
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**
----- ?
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. **生体皮膚への機能性高分子導入法の開発に関する研究**
----- ?
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)
- . 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- ?
- . ガイドライン委員会議事録・班会議プログラム
----- ?

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	助教
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
	高山 かおる	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
	西澤 綾	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
	宇賀神 つかさ	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

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、紅皮症の発症頻度を明らかにするためのアンケート用紙を作成し検討した。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。痒疹の病理組織像は、表皮の肥厚とともに真皮脈管周囲のリンパ球や好酸球浸潤があり、さらに好塩基球も多数浸潤していることが判明している。一部の痒疹病変の形成過程はマウスにおけるIgE依存性慢性アレルギー性炎症（IgE-CAI）に類似している面があり、また好塩基球はIgE-CAIの成立に必須である。今年度は、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し、その病態を解析し痒疹と同じサイトカインパターンであることが明らかになった。さらに、IgE-CAIを終焉化させる好塩基球の役割も解析して好塩基球由来のIL-4の作用によって炎症性単球がM2マクロファージに分化し抑制に働くことが明らかになった。また、ADモデルマウスを用いて痒みにおける好塩基球が重要な役割をすることが明らかになった。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。フィラグリン遺伝子のみの変異を有するマウスを作製し、免疫学的な解析を実施し、ADモデルとしての可能性を検証した。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ベクターが樹状細胞からのIFN-β産生はToll-like receptor非依存性でRIG-I依存性であることが分かった。

研究分担者

佐藤貴浩 防衛医科大学校皮膚科 教授
片山一郎 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

椋島健治 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

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用紙を作成し検討する。さらに、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、flaky tail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。

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

浜松医大皮膚科通院中のAD患者および産業医大皮膚科にて戸倉が診察した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

A. 研究目的

本研究は重症型アトピー性皮膚炎（AD）にお

臨床症状：Dennie-Morgan fold, 尋常性魚鱗癬, palmar hyperlinearity、(3)合併症：アレルギー性鼻炎、喘息

(4)不安度：STAI(特性, 状態)(5)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) 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。

3) IgE-CAI における好塩基球の機能解析

IgE-CAI 皮膚病変部に浸潤・集積している細胞の種類を Flow cytometry で解析した。それぞれの細胞に発現しているケモカイン受容体を解析した。

4) 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が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。

5) 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、無人環境下にマウスを撮影用ケージにいれ、8mm ビデオカメラでその行動を撮影し、その後、ビデオの再生により行った。マウスは、1秒間に数回後肢で搔くので、足を挙げて降ろすまでの一連の搔き動作を1回として、全身への搔き動作回数を数えた。皮膚内の好塩基球数は、パラフィン切片と好塩基球特異的抗体(TUG8)を用いた免疫染色により行った。

6) フィラグリン遺伝子に変異を有する flaky tail マウスの解析

近年用いられているフィラグリン遺伝子に変異を有する flaky tail マウス(Moniaga CS et al. Am J Pathol.2010)を C57BL/6 マウスでバッククロスし、本マウスの詳細な解析の施行を可能にする。本マウスの免疫学的特徴と痒みの評価を実施する。

7) 生体皮膚への機能性高分子導入法の開発に関する研究

アレルギー性-鼻炎マウスや健常マウスの鼻腔内に HVJ-E のみを滴下して脾臓細胞からのサイトカイン産生を ELISA 法で評価した。脾臓細胞や骨髓由来の樹状細胞を健常マウスや Myd88^{-/-}-TRIF^{-/-}マウスから分離して HVJ-E を作用させ、サイトカインの産生を ELISA で測定した。Polyethylene imine 法を用いて RIG-I siRNA を樹状細胞に導入した。

C. 結果

1) AD 患者は、48人の外因性 AD(29.4±16.2歳、M:F 36:14、VAS 53.6、血清 IgE 13221±15249 IU/L、好酸球 10.1%、LDH 276 IU/L)、14人の内因性 AD(36.1±10.0歳、M:F 4:10、VAS 52.3、血清 IgE 136.7±151.7 IU/L、好酸球 7.4%、LDH 206 IU/L)であった。Dennie-Morgan fold は有意差がないものの内因性で高頻度(25%)、魚鱗癬と palmar hyperlinearity は外因性で高頻度(18%)、痒疹は内因性で高頻度(21% vs 6%)、フィラグリン遺伝子変異は外因性で高頻度、喘息と鼻炎は外因性で高頻度であった。金属パッチテストは、Co で内因性 AD が有意に高頻度(42% vs 13%)、Ni でも内因性で高頻度(31% vs 26%)の傾向があった。

2) TNP-OVA を耳介皮内に高濃度、連続性に反復投与した TNP-IgE マウスでは、耳介腫脹は初回抗原投与から10日前後でピークとなり、1ヶ月以上遷延した。次に、TNP-OVA を背部皮内に反復投与した TNP-IgE マウスでは、初回抗原投与から14日目に角化をともなう充実性の紅色丘疹が出現した。病変部の病理組織学的所見は、表皮肥厚と、真皮上層の密な、単核球、好酸球、肥満細胞、そして好塩基球が浸潤し、pSTAT3、pSTAT6 が表皮細胞核内に染色されていた。さらに、PGP9.5 陽性神経線維が表皮内へ伸張していた。病変部のサイトカインパターンはヒトのサイトカインパターンと同じであった。また、B57BL/6 由来の 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。

3) IgE-CAI 皮膚病変部に浸潤・集積している細胞でもっとも多いのは単球・マクロファージであった。それらは Ly-6C ならびにケモカイン受容体 CCR2 を発現していることから、血中を循環している炎症性単球に由来することがわかった。IgE-CAI 皮膚病変部に浸潤・集積している好塩基球も CCR2 を発現していることから、好塩基球と炎症性単球が CCR2 を介して皮膚病変部に遊走し、その結果アレルギー炎症が誘発されるものと推察された。そこで CCR2 欠損マウスを解析したところ、IgE-CAI は軽減されず、むしろ増悪・遷延化することが判明した。さらなる解析から、IgE-CAI 皮膚病変部において IgE とアレルギーによって活性化された好塩基球から分泌された IL-4 が、浸潤してきた炎症性単球に作用して 2 型マクロファージ (M2) へと分化誘導すること、この炎症性単球の M2 への分化が抗炎症作用発揮には必須であることが明らかとなった。

4) アーテミンがヒトの AD 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。

5) 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掻き動作が誘発した。皮膚における好塩基球に対する免疫染色では、皮膚炎誘発 NC マウスの吻側背部皮膚では、健常マウスと比べて有意に好塩基球の増加が認められた。また、好塩基球除去抗体 (Ba103) の投与により、非選択的コントロール抗体投与群と比べると皮膚炎誘発 NC マウスの自発的掻き動作が有意に抑制された。

6) フィラグリン変異を有するマウスを C57BL/6 マウスヘバッククロス (99.9%以上) した。本マウスでは、自然発症の皮膚炎、皮膚組織への好酸球や肥満細胞の浸潤、TSLP 発現の上昇、Th2 や Th17 サイトカイン発現の上昇や、血清 IgE 値の上昇を認めた。また、scIba real を用いた解析により、そ

う痒行動を起こしていることも明らかとなった。

7) アレルギー性-鼻炎マウスの鼻腔内に HVJ-E のみを滴下して脾臓細胞からの interferon (IFN)- γ の産生が上昇し、interleukin (IL)-4, IL-5 の産生は抑制された。一方、健常マウスの鼻腔内に HVJ-E のみを滴下しても認められなかった。健常マウスの骨髄由来の樹状細胞からは IFN- β は産生された。HVJ-E による樹状細胞からの IFN- β の産生機構を解析するため、Myd88^{-/-}TRIF^{-/-}マウスの樹状細胞に HVJ-E をかけたが、野生型マウスの樹状細胞と同じように産生が見られた。

D. 考察

今回の調査で内因性 AD は女性に多く、その特徴的皮疹として痒疹があることが示唆された。内因性 AD では Co パッチテストの陽性率が有意に高かった。またフィラグリン遺伝子変異は外因性であっても 20% を越えるものではなかった。ヒトにおける痒疹については既に、病変部皮膚において 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。ヒト痒疹では好塩基球の病変部への浸潤が明らかであり、今回のマウスモデルも好塩基球依存性である。マウスモデルにおいて好塩基球を除去すると反応が減弱することから、ヒト痒疹において好塩基球は治療のターゲットとなりうる可能性があると考えられた。また、B57BL/6 由来の 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。さらに、基球由来の IL-4 の作用によって炎症性単球が M2 マクロファージに分化するという新事実が明らかとなった。従来、M2 マクロファージは、アレルギー炎症を誘導あるいは悪化させるものと考えられていたが、本研究により、過剰なアレルギー反応を抑制する働きがあることが判明した。この抑制の働きの欠損が痒疹モデルマウスにおいて STAT6 欠損マウスで反応が増強するメカニズムの一部である可能性が示

唆された。また、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。また、AD誘発 NC マウスでは、健常 NC マウスと比べると掻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。また、好塩基球除去抗体により、自発的掻き動作が抑制されたことから、好塩基球が痒みに関与していることが示唆される。フィラグリン遺伝子異常を有する flaky tail マウスを C57BL/6 マウスへバッククロスすることにより各種遺伝子変異マウスの解析を行うことを可能とした。本マウスはそう痒を認めるため、今後 IL-31、artemin、semaphorin の影響を検証するのみならず、好酸球や肥満細胞などの各種因子がどのように関与しているか検討する。HVJ-E は樹状細胞から IFN- β 産生を促し、これにより脾臓細胞からの IFN- γ を産生させていると考えられる。鼻炎マウスでは、炎症部位の鼻粘膜における樹状細胞の集積があるために、鼻炎マウスでのみ HVJ-E の鼻腔内滴下で脾臓細胞からの IFN- γ 産生を促したのではないかと考えられる。また HVJ-E による樹状細胞からの IFN- β 産生は Toll-like receptor 非依存性で RIG-I 依存性であることが分かった。

E. 結論

難治性皮膚病変の痒疹と内因性 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、病態の解析や新たな治療法の開発などが可能になると考えられる。皮膚アレルギー炎症部位に浸潤した炎症性単球が、好塩基球由来の IL-4 の働きによって、M2 マクロファージへと分化し、アレルギー炎症を終焉に向かわせることが明らかとなった。 さらに好塩基球は、アトピー性皮膚炎の痒みの発生に関与する可能性がある。 C57BL/6 を遺伝背景とする フィラグリン遺伝子異常を有する flaky tail マウス を作成した。本マウスは、マウスアトピー

性皮膚炎モデルとして重要な役割を果たすことが期待される。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。遺伝子導入ベクターの HVJ-E はそれ自身がサイトカイン産生に関与し Th1 シフトを起こすため、アレルギー性鼻炎やアトピー性皮膚炎の治療に適したベクターである。

F.健康危険情報

なし

G.研究発表

1. 論文発表

- 1) Okiyama N, Sugihara T, Oida T, Ohata J, Yokozeki H, Miyasaka N, Kohsaka T : T lymphocytes and muscle condition act like seeds and soil in a murine polymyositis model. *H.Arthritis Rheum.* 2012 Nov;64(11):3741-9. .
- 2) Satoh T, Ikeda H, Yokozeki H : Acrosyringeal Involvement of Palmoplantar Lesions of Eosinophilic Pustular Folliculitis. *Acta Derm Venereol.* 2012 Apr 16.
- 3) Sekine R, Satoh T, Takaoka A, Saeki K, Yokozeki H. : Anti pruritic effects of topical crotamiton, capsaicin, and a corticosteroid on pruritogen-induced scratching behavior. *Exp Dermatol.* 2012 Mar;21(3):201-4.
- 4) Kanai Y, Satoh T, Igawa K, Yokozeki H. : Impaired expression of Tim-3 on Th17 and Th1 cells in psoriasis. *Acta Derm Venereol.* 2012 Jul;92(4):367-71.
- 5) Ito Y, Satoh T, Takayama K, Miyagishi C, Walls AF, Yokozeki H : Basophil recruitment and activation in inflammatory skin diseases. *Allergy*, 66 : 1107-1113, 2011
- 6) Ugajin T, Satoh T, Kanamori T, Aritake K, Urade Y, Yokozeki H : Fc ϵ RI, but not Fc γ R, signals induce prostaglandin D2 and E2 production from basophils. *Am J Pathol*, 17 : 775-82, 2011
- 7) Okiyama N, Kitajima T, Ito Y, Yokozeki H,

Miyasaka N, Kohsaka H. Addition of the collagen binding domain of fibronectin potentiates the biochemical availability of hepatocyte growth factor for cutaneous wound healing., J Dermatol, 61 : 215-7, 2011

- 8) Satoh T, Ito Y, Miyagishi C, Yokozeki H : Basophils infiltrate skin lesions of eosinophilic pustular folliculitis (Ofuji's disease)., Acta Derm Venereol, 91 : 371-372, 2011
- 9) Namiki T, Tanemura A, Valencia JC, Coelho SG, Passeron T, Kawaguchi M, Vieira WD, Ishikawa M, Nishijima W, Izumo T, Kaneko Y, Katayama I, Yamaguchi Y, Yin L, Polley EC, Liu H, Kawakami Y, Eishi Y, Takahashi E, Yokozeki H, Hearing VJ. AMPkinase-related kinase NUA2 affects tumor growth, migration, and clinical outcome of human melanoma., Proc Natl Acad Sci U S A, 108 : 6597-602, 2011

2. 学会発表

- 1) Inoue R, Sohara E, Rai T, Satoh T, Yokozeki H, Sasaki S, Uchida S: Immunolocalization and translocation of AQ5 water channel in sweat glands. The 36th Annual meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, Kyoto, 2011.12.10
- 2) Imai A, Takayama K, Satoh T, Katho T, Yokozeki H: Ingrown nail and pachyonychia of great toes cause impaired lower limb functions: Improvement of limb function by medical foot care. 22th World congress of Dermatology, Seoul, 2011.5.27
- 3) Kataoka N, Satoh T, Yokozeki H. Indomethacin-induced inhibition of eosinophil chemotaxis via CRTH2: proposal of a mechanism of action for eosinophilic pustular folliculitis. The 36th Annual meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, Kyoto, 2011.12.10
- 4) Saeki K, Satoh T, Yokozeki H. L-selectin ligand synthesis by $\alpha(1,3)$ fucosyltransferases is essential for initial recruitment of basophils and development of chronic allergic inflammation. 2011 The Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology, Makuhari, 2011.11.29
- 5) Takehara Y, Satoh T, Nakamura M, Yokozeki H : Inactivated Sendai Virus particles with and IL-2 gene exert anti-tumor effects on murine angiosarcoma. 2011 The Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology, Makuhari, 2011.11.29
- 6) Takehara Y, Satoh T, Nishizawa A, Masuzaya M, Yokozeki H : Inactivated Sendai Virus particles with and IL-2 gene exert anti-tumor effects on murine angiosarcoma. The 36th Annual meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, Kyoto, 2011.12.9
- 7) Hashimoto T, Satoh T, Yokozeki H : Repeated induction of IgE-mediated chronic allergic skin inflammation induces prurigo-like reaction. The 36th Annual meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, Kyoto, 2011.12.9
- 8) Nishizawa A, Satoh T, Yokozeki H. Hyperkeratotic type of palmoplantar eczematous reaction : a variant of dyshidrotic eczema? The 36th Annual meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, Kyoto, 2011.12.9
- 9) Yamamoto Y, Satoh T, Nakamura M, Yokozeki H : Distinct roles of PGD2 receptors in chronic skin inflammation. 2011 The Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology, Makuhari, 2011.11.27

H 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案 なし

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 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

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) の病態解析を進めた。炎症性単球が末梢組織に浸潤すると炎症性の 1 型マクロファージ (M1) に分化することは、これまでよく知られていたが、本研究では好塩基球由来の IL-4 の作用によって炎症性単球が M2 マクロファージに分化するという新事実が明らかとなった。従来、M2 マクロファージは、アレルギー炎症を誘導あるいは悪化させるものと考えられていたが、本研究により、過剰なアレルギー反応を抑制する働きがあることが判明した。今後、M2 マクロファージによるアレルギー炎症抑制のメカニズムを解明することで、アトピー性皮膚炎の新規治療法の開発が進展するものと期待される。

A. 研究目的

私たちは、これまでに、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) の病態解析を進め、その原因細胞が、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をつきとめた。本研究では、好塩基球がどのようにしてアレルギー炎症をひきおこすのか、またどのようにして炎症を収束させていくのか、そのメカニズムを明らかにする。これにより新たな治療標的が同定され、アトピー性皮膚炎の新規治療法の開発が促進されるものと期待される。

B. 研究方法

IgE-CAI 皮膚病変部に浸潤・集積している細胞の種類を Flow cytometry で解析した。それぞれの細胞に発現しているケモカイン受容体を解析した。ケモカイン受容体 CCR2 を欠損するマウスにおいて IgE-CAI を誘導し、炎症の程度、浸潤細胞の種類を調べた。CCR2 欠損マウスに、野生型マウス由来の細胞を移入し、炎症の程度、浸潤細胞の変化を調べた。

（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

IgE-CAI 皮膚病変部に浸潤・集積している細胞でもっとも多いのは単球・マクロファージであった。それらは Ly-6C ならびにケモカイン受容体 CCR2 を発現していることから、血中を循環している炎症性単球に由来することがわかった。IgE-CAI 皮膚病変部に浸潤・集積している好塩基球も CCR2 を発現していることから、好塩基球と炎症性単球が CCR2 を介して皮膚病変部に遊走し、その結果アレルギー炎症が誘発されるものと推察された。そこで CCR2 欠損マウスを解析したところ、当初の予想に反して、IgE-CAI は軽減されず、むしろ増悪・遷延化することが判明した。CCR2 欠損マウスでは、予想通り炎症性単球の浸潤が阻害されていたが、好塩基球浸潤はむしろ亢進していた。次に、CCR2 欠損マウスに野生型マウス由来の炎症性単球を移入したところ、IgE-CAI の増悪・遷延化が寛解した。すなわち、IgE-CAI では、炎症性単球が抗炎症作用を発揮して、炎症を沈静化することが判明した。さらなる解析から、IgE-CAI 皮膚病変部において IgE とアレルギーによって活性化された好塩基球から分泌された IL-4 が、浸潤してきた炎症性単球に作用して 2 型マクロファージ (M2) へと分化誘導すること、この炎症性単球の M2 への分化が抗炎症作用発揮には必

須であることが明らかとなった。

D . 考察

炎症性単球が末梢組織に浸潤すると炎症性の1型マクロファージ(M1)に分化することは、これまでよく知られていたが、本研究では好塩基球由来のIL-4の作用によって炎症性単球がM2マクロファージに分化するという新事実が明らかとなった。従来、M2マクロファージは、アレルギー炎症を誘導あるいは悪化させるものと考えられていたが、本研究により、過剰なアレルギー反応を抑制する働きがあることが判明した。今後、M2マクロファージによるアレルギー炎症抑制のメカニズムを解明することで、アトピー性皮膚炎の新規治療法の開発が進展するものと期待される。

E . 結論

皮膚アレルギー炎症部位に浸潤した炎症性単球が、好塩基球由来のIL-4の働きによって、M2マクロファージへと分化し、アレルギー炎症を終焉に向かわせることが明らかとなった。

G . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sawaguchi, M., Tanaka, S., Nakatani, Y., Harada, Y., Mukai, K., Matsunaga, Y., Ishiwata, K., Oboki, K., Kambayashi, T., Watanabe, N., Karasuyama, H., Nakae, S., Inoue, H., and Kubo, M.: Role of mast cells and basophils in IgE responses and in allergic airway hyperresponsiveness. *J. Immunol.* 188:1809-1818, 2012.
- 2) Ogawa, H., Mukai, K., Kawano, Y., Minegishi, Y., and Karasuyama, H.: Th2-inducing cytokines IL-4 and IL-33 synergistically elicit the expression of transmembrane TNF- α on macrophages through the autocrine action of IL-6. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 420: 114-118, 2012.
- 3) Etori, M., Yonekubo, K., Sato, E., Mizukami, K., Hirahara, K., Karasuyama, H., Maeda, H., Yamashita, M.: Melanocortin Receptors 1 and 5 might mediate inhibitory effects of α -melanocyte-stimulating hormone on antigen-induced chronic allergic skin inflammation in IgE transgenic mice. *J. Invest. Dermatol.* 132: 1925-1927, 2012.
- 4) Mukai, K., BenBarak, M., Tachibana, M., Nishida, K., Karasuyama, H., Taniuchi, I., Galli, S.J.: Critical role of P1-Runx1 in mouse basophil development. *Blood* 120: 76-85, 2012.
- 5) Jin, G., Matsushita, T., Hamaguchi, Y., Le Huu, D., Ishii, T., Hasegawa, M., Obata, K., Karasuyama, H., Takehara, K., and Fujimoto, M.: Basophils and Mast Cells Play Critical Roles for Leukocyte Recruitment in IgE-Mediated Cutaneous Reverse Passive Arthus Reaction. *J. Dermatol. Sci.* 67: 181-189, 2012.
- 6) Kawano, Y., Ouchida, R., Wang, J-Y, Yoshikawa, S., Yamamoto, M., Kitamura, D., and Karasuyama, H.: A novel mechanism for the autonomous termination of pre-B cell receptor expression via induction of lysosomal-associated protein transmembrane 5. *Mol. Cell. Biol.* 32: 4462-4471, 2012.
- 7) Shiraishi, 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.* in press.
- 8) 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 anti-inflammatory M2 phenotype via basophil-derived IL-4. *Immunity* in press.
- 9) 江川真由美、烏山一：「好塩基球研究のアップデート」実験医学 30(6)：905-911, 2012
- 10) 壺岐美紗子、烏山一：「好塩基球研究の進

展」特集「自然免疫 Update-研究最前線」医学のあゆみ 243(1): 78-83, 2012

- 11) 烏山 一: 「免疫系における好塩基球の重要性」免疫学 Update -分子病態の解明と治療への展開 南山堂 pp46-51, 2012

2.学会発表

- 1) Karasuyama, H.: Emerging roles for basophils in immunity: a neglected minority gains new respect. The 2012 Spring Conference of the Korean Association of Immunologists, Seoul, Korea. 2012.04.13.
- 2) Karasuyama, H.: Emerging roles for basophils in protective and pathological immune responses. Innovation Summit Tokyo 2012-Chronic Inflammation and Autoimmune Diseases. Tokyo, 2012.04.18.
- 3) 烏山 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24回アレルギー学会春季臨床大会 大阪 2012.05.12.
- 4) Karasuyama, H.: The role of basophils revisited. EAACI Congress 2012. Geneva, Switzerland, 2011.06.17.
- 5) 烏山 一: 「皮膚のアレルギー炎症ならびに寄生虫感染症における好塩基球の役割」第42回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会 軽井沢 2012.07.14.
- 6) 烏山 一: 「アレルギー疾患ならびに寄生虫感染症における好塩基球の役割～山椒は小粒でもぴりりと辛い」第51回日本鼻科学学会幕張 2012.09.27.
- 7) Karasuyama, H.: Critical roles for basophils in allergy and protective immunity as revealed by the basophil-engineered mice. 29th Symposium CIA. Jeju, Korea, 2012. 10.19.
- 8) 烏山 一: 教育講演「アレルギー疾患ならびに生体防御における好塩基球の役割～日陰者が一気に檜舞台に」第74回日本血液学会学術集会. 2012. 10.21.

- 9) 烏山 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～日陰者が一気に檜舞台に」第76回小児アレルギー同好会 2012.11.10.

- 10) 烏山 一: 教育講演「新たな脚光を浴びる好塩基球～山椒は小粒でもぴりりと辛い」第62回日本アレルギー学会秋季学術大会 2012.11.30.

- 11) Karasuyama, H.: Emerging roles for basophils in immunity: a neglected minority gains new respect. Centennial of Hashimoto Disease International Symposium. Fukuoka, 2012. 12.04.

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 アトピー性皮膚炎患者の皮膚には、多くの炎症性細胞の浸潤が観察される。これら炎症性細胞は、コントロールが非常に難しい痒みの発生に重要な役割を担っていることが推測される。これまでその役割が殆ど知られていなかった好塩基球が、アレルギー反応に重要な役割を担っていることが明らかにされてきている。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に関して検討した。自然発症アトピー性皮膚炎マウスモデル（NC マウス）の炎症部位皮膚には、多数の好塩基球の浸潤が観察された。一方、皮膚炎の発症していない健常マウスでは、皮膚内に好塩基球はほとんど観察されなかった。好塩基除去抗体 Ba103 の投与は、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（痒み関連動作）をコントロール抗体投与群と比較して有意に抑制した。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いる可能性が示唆される。

A．研究目的

アトピー性皮膚炎などの多くの皮膚疾患の主な症状の一つとして「痒み」がある。痒みは、非常に不快な感覚であり、また、痒みによる皮膚の掻爬は、皮膚症状の更なる悪化に加え、皮膚炎治療の妨げにもなっている。アトピー性皮膚炎の痒みに対して、痒みの第一選択としての H_1 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。

好塩基球は、その役割はほとんど知られていなかったが、近年、アレルギー疾患に重要な役割を担っていることが明らかになってきている。また、アトピー性皮膚炎患者の皮膚において、好塩基球の増加が観察されている。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、雄性自然発症アトピー性皮膚炎マウスモデル（NC マウス）を用いた。NC マウスは、specific pathogen free (SPF) 環境下で飼育した場合は、皮膚炎の発症は認められない健常状態を維持する。一方、微生物等制御されていない 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掻き動作を示すようになる。

2) 実験試薬

好塩基球の除去は Ba103 抗体（東京医歯大・烏山教授、二宮（小畑）先生より提供）あるいは、コントロール抗体（rat IgG2b κ ）を尾静脈注射した。

3) 行動実験

Ba103 抗体あるいは、コントロール抗体尾静脈注射後 3 及び 4 日目にマウスの行動を観察した。

マウスを行動撮影ケージ (13×9×40 cm/セル) に 1 時間放置し、馴化した。その後、無人環境下に 8mm 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。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

マウス皮膚パラフィン切片を作製し、1 次抗体として好塩基球特異的抗体 (TUG8) と、続いて 2 次抗体として horseradish peroxidase-conjugated IgG と反応させた。発色は、diaminobenzidine を用いて行い、対比染色としてヘマトキシリンを用いた。

C . 研究結果

1) NC マウス

同週齢の SPF 環境下健常マウスと比べて conventional 環境下飼育マウスでは、後肢による全身 (主に、後肢のとどく頭部並びに吻側背部) への掻き動作数の有意な増加が観察された。また、conventional 環境下飼育マウスにおいて、吻側背部皮膚では、皮膚炎の発症、表皮の肥厚、並びに炎症性細胞浸潤が観察された。

2) アトピー性皮膚炎マウスモデル皮膚における好塩基球浸潤

後肢で掻くことのできる吻側背部皮膚での好塩基球数は、SPF 環境下健常マウスと比べて有意に conventional 環境下飼育皮膚炎発症マウスで増加していた (Fig. 1)。また、掻くことのできない尾側背部皮膚では、SPF 及び conventional 環境下飼育マウスで、好塩基球数は、殆ど観察されなかった。

3) 皮膚炎発症マウスモデルの自発的掻き動作に対する好塩基球除去抗体 Ba103 の効果

Conventional 環境下飼育皮膚炎発症マウスは、個体間に掻き動作数にバラツキがあるため、群分けを行って実験に使用した。

Ba103 投与マウスは、コントロール抗体マウス

投与群と比べて、投与後 3 並び 4 日目での掻き動作数評価において有意に自発的掻き動作数の減少が観察された。

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において、炎症部位皮膚において好塩基球の増加が観察された。また、好塩基球除去抗体の処置により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が抑制された。本抗体による好塩基球除去に関しては、Obata らの報告 (Blood, 2007) の方法に加え、抗体濃度を約 1.7 倍に増加させたことでより確実に好塩基球を減少させたと考えられる。したがって、本モデルの痒み反応への好塩基球の関与が示唆される。

好塩基球は、IL-4 や IL-13 などのサイトカイン類やヒスタミン、プロスタグランジン E₂、セリンプロテアーゼ (mMCP-11、カテプシン G) などを産生・遊離する。本実験に使用した NC マウスは、ヒスタミンに対する感受性は低く、また H₁ histamine 受容体拮抗薬では自発的掻き動作は抑制されないため、ヒスタミンの関与は小さいと考えられる。プロスタグランジン E₂ は、それ自身ほとんど掻き動作を誘発しないが、痒み物質による反応を増強する増強因子として知られている。したがって、好塩基球から遊離されるプロスタグランジン E₂ が痒みの増強に関与しているかもしれない。これまでに NC マウスの自発的掻き動作にセリンプロテアーゼと proteinase-activated receptor 2 (PAR₂) が関与していることを明らかにしてきた。また、トリプターゼ、コンパウンド 8/80 並びにガストリン遊離ペプチド誘発の掻痒反応や蚊アレルギー性掻痒反応、最近ではアトピー性皮膚炎との関連性も指摘されている皮膚系状菌誘発掻痒反応においても PAR₂ が関与していること (Andoh et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 2012) を明らかにしてきた。好塩基球から遊離される mMCP-11 は、セリンプロテアーゼの一つであり、Arg の隣を切断する。PAR₂ の活性化には、受容体 N 末端の-Arg-Ser-間が切断される必要がある。したがって、mMCP-11 は、

PAR₂ を活性化する可能性があり、PAR₂ を介して痒みを誘発するかもしれないことが示唆される。更に、カテプシン G もまた、セリンプロテアーゼであり、痒みへの関与は報告されてないが PAR₂ を活性化することが知れていることから、PAR₂ を介して痒みを誘発する可能性がある。プロテアーゼによる痒み反応は、全て PAR₂ を介しているわけではなく、近年、アスパラギン酸プロテアーゼであるカテプシン E が PAR₂ を介さないでエンドセリン-1 前駆体のプロセッシングを行い、エンドセリン-1 を介して痒み反応を誘発することが明らかにされた (Andoh et al., Eur. J Pharmacol., 2012)。好塩基球から遊離されるプロテアーゼ類には、PAR₂ 活性化以外に、痒み関連因子前駆体のプロセッシングを介して痒みを誘発する可能性が示唆される。今後、好塩基球から遊離される因子と痒みとの関係ならびに好塩基球活性化に関して検討していく予定である。

E . 結論

健常皮膚ではほとんど認められない好塩基球のアトピー性皮膚炎皮膚で増加が難治性の痒みの発生に関与していることが示唆される。

G . 研究発表

1 . 論文発表

- 1) **Andoh T.**, Yoshida T., Lee J.B., Kuraishi Y. Cathepsin E induces itch-related response through the production of endothelin-1 in mice. Eur. J. Pharmacol. 686: 16-21, 2012.
- 2) **Andoh T.**, Takayama Y., Yamakoshi T., Lee J.B., Sano A., Shimizu T., Kuraishi Y. Involvement of serine protease and proteinase-activated receptor 2 in dermatophyte-associated itch in mice. J. Pharmacol. Exp. Ther. 343: 91-96 (2012)
- 3) **安東嗣修**, 倉石 泰 : 温清飲による痒みの抑制機序 . phil 漢方 40: 26-28, 2012 .

2 . 学会発表

- 1) **安東嗣修**, 桑園 崇, 倉石泰 : マウスおける

ガストリン遊離ペプチド誘発の痒みへのマスト細胞の関与 第 85 回日本薬理学会年会, 2012, 3, 14-16, 京都 .

- 2) 吉田哲郎, **安東嗣修**, 倉石泰 : マウスにおいてカテプシン E がエンドセリン-1 を介して痒み関連反応を誘発する . 第 85 回日本薬理学会年会, 2012, 3, 14-16, 京都 .
- 3) 歌 大介, 後藤義一, **安東嗣修**, 倉石 泰, 井本敬二, 古江秀昌 : In vivo パッチクランプ記録法を用いた成熟ラット脊髄後角ニューロンにおける興奮性シナプス伝達 . 第 89 回日本生理学会大会 . 2012, 3, 29-31, 長野 .
- 4) **安東嗣修** : どうしても止めたい「かゆみ」。でも「かゆみ」ってどうやって起こるの? 平成 24 年度富山大学 富山駅前サテライト公開講座 . 2012, 5, 19, 富山 .
- 5) **Andoh T.**, Harada A., Kuraishi Y. Interleukin-31-induced pruritus: involvement of leukotriene B₄ released from epidermal keratinocytes in mice. 42nd Annual Meeting of European Society for Dermatological Research, 2012, 9, 19-22, Venice, Italy.
- 6) 高山祐輔, **安東嗣修**, 倉石 泰 : Keratin 分解酵素 keratinase の proteinase-activated receptor-2 を介した痒み誘発機序 . 第 63 回日本薬理学会北部会, 2012, 9, 14, 新潟 .
- 7) **安東嗣修**, 倉石 泰 : ホスホジエステラーゼ 4 阻害薬 E6005 はマウスの痒み関連反応を抑制する 第 22 回国際痒みシンポジウム 2012, 10, 6, 東京 .
- 8) 佐々木淳, アディカリスバース, **安東嗣修**, 倉石泰 : マウス帯状疱疹性掻痒の薬理学的特徴 . 第 22 回国際痒みシンポジウム, 2012, 10, 6, 東京 .
- 9) **Andoh T.**, Kuraishi Y. Inhibitory effects of a phosphodiesterase 4 inhibitor (E6005) on itch-related behavior and cutaneous nerve activity in mice. The 42th Annual Meeting of the Society for Neuroscience, 2012, 10, 13-17, New Orleans, USA.

10) Uta D., **Andoh T.**, Imoto K., Furue H. In vivo puritic synaptic responses elicited by cutaneous 5-HT application in the superficial spinal dorsal horn of adult rats. The 42th Annual Meeting of the Society for Neuroscience, 2012, 10, 13-17, New Orleans, USA.

H . 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)
なし

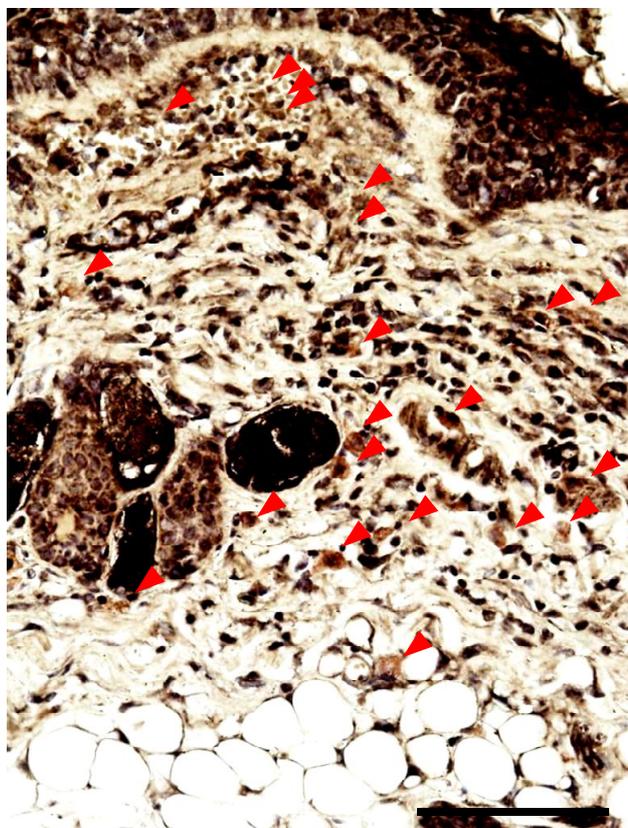


Fig. 1. 皮膚炎発症マウス皮膚における好塩基球
皮膚炎発症マウスの炎症部位における好塩基球
(矢頭)の分布。Scale bar: 100 μ m

アトピー性皮膚炎モデルとかゆみメディエーターとの関わり

研究分担者 宮地良樹 京都大学医学研究科皮膚科学 教授
研究協力者 椛島健治 京都大学医学研究科皮膚科学 准教授
中島沙恵子 京都大学医学研究科皮膚科学 研究員

研究要旨 アトピー性皮膚炎はそう痒を伴う慢性の湿疹である。また、近年、一部のアトピー性皮膚炎の患者にフィラグリン遺伝子の変異が認められ、フィラグリン発現低下によるバリア機能異常がアトピー性皮膚炎の原因と考えられるようになった。

一方、アトピー性皮膚炎のそう痒は、蕁麻疹と異なり抗アレルギー剤のそう痒抑制効果が限られていることからヒスタミン以外のそう痒伝達物質の存在が示唆される。また、シクロスポリンがアトピー性皮膚炎のそう痒抑制に有効であることより T 細胞が産生するそう痒伝達物質の存在の可能性が上げられる。近年 IL-31 が T 細胞から産生されるそう痒誘発サイトカインとして注目されている。本サイトカインはアトピー性皮膚炎で上昇しており、また、シクロスポリン投与によりそう痒の抑制と共に IL-31 の血清中の濃度も低下することを我々は昨年示した(Otsuka A et al.Eur J Dermatol.2011)。以上の結果より、IL-31 は、アトピー性皮膚炎のそう痒誘発に関与している可能性が示唆される。

このようなアトピー性皮膚炎の瘙痒の特徴を考える際に、小動物を用いて解析し、その結果をヒトの臨床との整合性を検証するという作業が重要である。そこで、ヒトの病態に近いフィラグリン遺伝子変異によるマウスアトピー性皮膚炎モデルを開発し、そう痒の評価系を形成し、IL-31 などのそう痒誘発分子の影響を検証することを本研究の目的とする。本年度は、フィラグリン遺伝子のみの変異を有するマウスを作製し、免疫学的な解析を実施し、アトピー性皮膚炎モデルとしての可能性を検証する。

A. 研究目的

アトピー性皮膚炎はそう痒を伴う慢性の湿疹である。また、近年、一部のアトピー性皮膚炎の患者にフィラグリン遺伝子の変異が認められ、フィラグリン発現低下によるバリア機能異常がアトピー性皮膚炎の原因と考えられるようになった。

一方、アトピー性皮膚炎のそう痒は、蕁麻疹と異なり抗アレルギー剤のそう痒抑制効果が限られていることからヒスタミン以外のそう痒伝達物質の存在が示唆される。また、シクロスポリンがアトピー性皮膚炎のそう痒抑制に有効であることより T 細胞が産生するそう痒伝達物質の存在の可能性が上げられる。近年 IL-31 が T 細胞から産生されるそう痒誘発サイトカインとして注目されている。本サイトカインはアトピー性皮膚炎で上昇しており、また、シクロスポリン投与によりそう痒の抑制と共に IL-31 の血清中の濃度も低下することを我々は昨年示した(Otsuka A et al.Eur J Dermatol.2011)。以上の結果より、IL-31 は、アトピー性皮膚炎のそう痒誘発に関与している可能性が示唆される。

このようなアトピー性皮膚炎の瘙痒の特徴を考える際に、小動物を用いて解析し、その結果をヒトの臨床との整合性を検証するという作業が重要である。そこで、ヒトの病態に近いフィラグリン

遺伝子変異によるマウスアトピー性皮膚炎モデルを開発し、そう痒の評価系を形成し、IL-31 などのそう痒誘発分子の影響を検証することを本研究の目的とする。本年度は、フィラグリン遺伝子のみの変異を有するマウスを作製し、免疫学的な解析を実施し、アトピー性皮膚炎モデルとしての可能性を検証する

B. 研究方法

近年アトピーモデルとして用いられているフィラグリン遺伝子に変異を有する flaky tail マウス(Moniaga CS et al. Am J Pathol.2010)を C57BL/6 マウスでバッククロスし、本マウスの詳細な解析の施行を可能にする。本マウスの免疫学的特徴と痒みの評価を実施する。

（倫理面への配慮）

組換えDNA実験は、遺伝子組換え生物などの使用の規制による生物多様性の確保に関する法律と京都大学組換えDNA実験安全管理規定に従って行う。

マウスを使用する実験は、ヘルシンキ宣言に従い、日本実験動物協会が定める「実験動物の飼養及び保管などに関する基準」に記載されている方法により、また、京都大学大学動物実験及び飼育倫理審査にて承認されたプロトコール（承認番号

080150) に則り遂行する。遺伝子改変動物の取り扱いにおいては、第二種使用等拡散防止措置確認申請を行い、そのプロトコールに従って研究を遂行する。

臨床検体を用いる研究では、京都大学の医の倫理委員会に申請し承認を得ており(承認番号 E778番)、研究に参加していただく作業者には文書および口頭で今回の研究内容についての説明を行い、承諾書(検体の取り扱い・個人情報の保護・解析結果の公表・解析後の検体の取り扱い、協力した場合の利益・不利益などに関する項目など)を得た後に研究を遂行した。

C. 研究結果

Flaky tail マウスの皮膚では PH が上昇しており(図 1A)、これにより表皮ケラチノサイトの protease activated receptor-2 (PAR-2)活性が上昇することを確認した。さらにこの PAR-2 の上昇が、表皮ケラチノサイトの TSLP 産生を上昇させ(図 1B)、好塩基球の皮膚局所への浸潤を促進している(図 1C)ことが確認出来た(Moniaga CS et al, Am J Pathol, 2012, in press)。

フィラグリン変異を有するマウスを C57BL/6 マウスヘバッククロス(99.9%以上)した。本マウスでは、自然発症の皮膚炎、皮膚組織への好酸球や好塩基球および肥満細胞の浸潤、TSLP 発現の上昇、Th2 および Th17 サイトカイン発現の上昇や、血清 IgE 値の上昇を認めた。また、sclaba real を用いた解析により、掻破行動を起こしていることも明らかとなった。

D. 考察

フィラグリン遺伝子異常を有する flaky tail マウスを C57BL/6 マウスヘバッククロスすることにより、C57BL/6 マウスをコントロールとした解析、あるいは、各種遺伝子変異マウスを用いた解析を行うことを可能とした。本マウスはそう痒を認めるため、今後 IL-31、semaphorin の影響を検証するのみならず、好酸球や好塩基球、肥満細胞などの各種因子や IL-17A などの炎症性サイトカインが掻痒を含めた AD の病態形成にどのように関与しているかの検討が各種遺伝子改変マウスと掛け合わせるにより可能となる。

E. 結論

C57BL/6 を遺伝背景とするフィラグリン遺伝子異常を有する flaky tail マウスを作成した。本マウスは、マウスアトピー性皮膚炎モデルとして重要な役割を果たすことが期待される。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hara-Chikuma M, Chikuma S, Sugiyama Y, Kabashima K, Verkman AS, Inoue S, Miyachi Y. 2012. Chemokine-dependent T cell migration requires aquaporin-3-mediated hydrogen peroxide uptake. *J Exp Med* 209: 1743-52
- 2) Hara-Chikuma M, Sugiyama Y, Kabashima K, Sohara E, Uchida S, Sasaki S, Inoue S, Miyachi Y. 2012. Involvement of aquaporin-7 in the cutaneous primary immune response through modulation of antigen uptake and migration in dendritic cells. *FASEB J* 26: 211-8
- 3) Nakahigashi K, Doi H, Otsuka A, Hirabayashi T, Murakami M, Urade Y, Tanizaki H, Egawa G, Miyachi Y, Kabashima K. 2012. PGD2 induces eotaxin-3 via PPARgamma from sebocytes: a possible pathogenesis of eosinophilic pustular folliculitis. *J Allergy Clin Immunol* 129: 536-43
- 4) Nakahigashi K, Otsuka A, Doi H, Tanaka S, Okajima Y, Niizeki H, Hirakiyama A, Miyachi Y, Kabashima K. 2012. Prostaglandin E2 Increase in Pachydermoperiostosis without 15-hydroprostaglandin Dehydrogenase Mutations. *Acta Derm Venereol* 2012 Jun 27. [Epub ahead of print]
- 5) Nakajima S, Igyarto BZ, Honda T, Egawa G, Otsuka A, Hara-Chikuma M, Watanabe N, Ziegler SF, Tomura M, Inaba K, Miyachi Y, Kaplan DH, Kabashima K. 2012. Langerhans cells are critical in epicutaneous sensitization with protein antigen via thymic stromal lymphopoietin receptor signaling. *J Allergy Clin Immunol* 129: 1048-55 e6
- 6) Ono S, Otsuka A, Miyachi Y, Kabashima K. 2012. No filaggrin gene mutation in a patient with a combination of atopic dermatitis, alopecia areata and food allergy. *Eur J Dermatol* 2012 Nov 20.

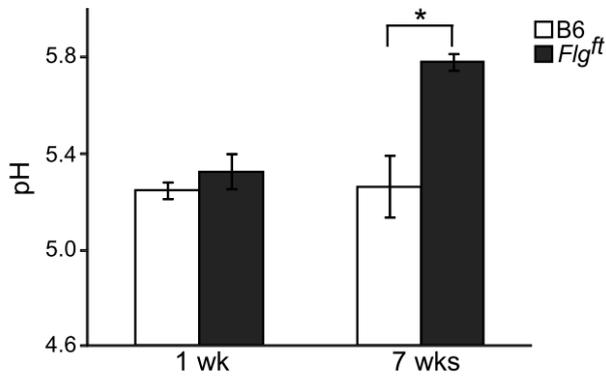
[Epub ahead of print]

- 7) Tanizaki H, Ikoma A, Fukuoka M, Miyachi Y, Kabashima K. 2012. Effects of bepotastine and fexofenadine on histamine-induced flare, wheal and itch. *Int Arch Allergy Immunol* 158: 191-5

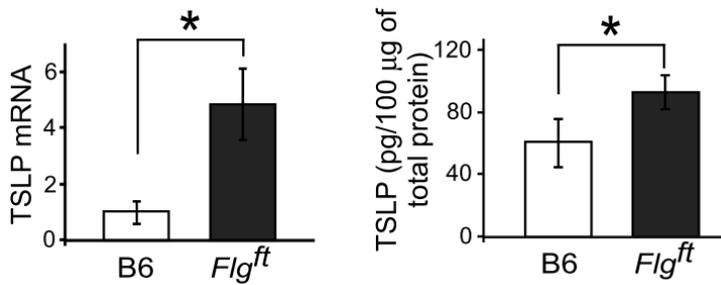
H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
該当せず

図 1

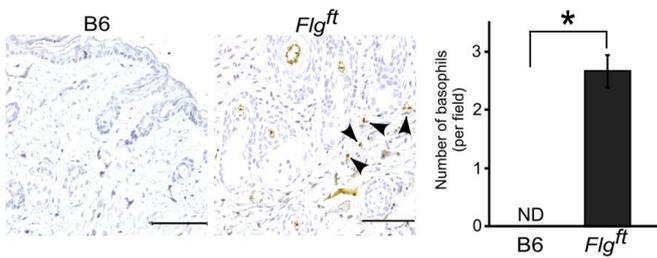
A Flaky tail マウス (Flg^{ft}) の皮膚 pH



B Flaky tail マウスの TSLP 発現 (mRNA、蛋白)



C 皮膚への好塩基球浸潤



厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
（分担）研究報告書

外因性・内因性アトピー性皮膚炎における臨床症状、かゆみ関連因子の比較検討

分担研究者 戸倉新樹 浜松医科大学医学部皮膚科学 教授
研究協力者 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

研究要旨 アトピー性皮膚炎(AD)は外因性と内因性に分別することができる。外因性は IgE 高値で、AD の約 80%を占め、IgE 介在性のアレルギー機序によるタイプである。一方、内因性 AD は IgE が正常域であり、IgE に依存しない反応に基づき、AD の約 20%を占め、女性が多い。外因性 AD はフィラグリン欠乏などにより皮膚バリア機能が障害されており、内因性 AD は皮膚バリア機能が正常でフィラグリン遺伝子変異頻度が高くない。外因性と内因性の AD において皮疹の違いを検討した結果、外因性 AD に有意に頻度が高いものは、尋常性魚鱗癬、palmar hyperlinearity であった。内因性 AD に有意に高頻度のものは痒疹であり、過去の報告で高頻度と言われていた Dennie-Morgan fold は両者に有意差はなかった。フィラグリン遺伝子変異は外因性が内因性に有意に高頻度であった。金属パッチテストにおいて、内因性 AD は外因性 AD に比べ、ニッケルとコバルトに有意に高頻度で陽性を示した。

A . 研究目的

アトピー性皮膚炎(AD)は外因性と内因性に分別することができる。外因性は通常型であり、IgE 高値で、AD の約 80%を占め、IgE 介在性のアレルギー機序によるタイプである。一方、内因性 AD は IgE が正常域であり、IgE に依存しない反応に基づき、AD の約 20%を占め、女性が多い。外因性 AD はフィラグリン欠乏などにより皮膚バリア機能が障害されており、内因性 AD は皮膚バリア機能が正常でフィラグリン遺伝子変異頻度が高くない。日常診療の段階で、皮疹の性状から、両者を鑑別することはほぼ困難である。我々両者の違いを臨床症状、かゆみ関連因子において明らかにし、内因性 AD の本質的事項を浮き上がらせることを試みた。

B . 研究方法

浜松医大皮膚科通院中の AD 患者および産業医大皮膚科にて戸倉が診察した 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
- 3) 合併症：アレルギー性鼻炎、喘息
- 4) 不安度：STAI（特性、状態）
- 5) 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：ニッケル (Ni), コバルト (Co), クロム (Cr) など

C . 研究結果

内因性 AD を、「血清 IgE 値 200 IU/L 未満」または「血清 IgE 値 500 IU/L 未満かつ Df または Dp 特異的 IgE が class 0 または 1」と定義した。AD 患者は、48 人の外因性 AD (29.4±16.2 歳、M:F 36:14、VAS 53.6、血清 IgE 13221±15249 IU/L、好

酸球 10.1%、LDH 276 IU/L)、14人の内因性AD(36.1±10.0歳、M:F 4:10、VAS 52.3、血清IgE 136.7±151.7IU/L、好酸球 7.4%、LDH 206 IU/L)であった。

Dennie-Morgan foldは有意差がないものの内因性で高頻度(25%)、魚鱗癬とpalmar hyperlinearityは外因性で高頻度(18%)、痒疹は内因性で高頻度(21% vs 6%)、フィラグリン遺伝子変異は外因性で高頻度、喘息と鼻炎は外因性で高頻度であった。

金属パッチテストは、Coで内因性ADが有意に高頻度(42% vs 13%)、Niでも内因性で高頻度(31% vs 26%)の傾向があった。さらにIgE値を層別化すると、IgE 100以下のグループでCo 63%、Ni 63%、Cr 38%に陽性率を示し、IgE 500以上のグループでのそれぞれの陽性率(Co 13%、Ni 26%、Cr 22%)と対比された。

D . 考察

今回の調査で内因性ADは女性に多く、その特徴的皮疹として痒疹があることが示唆された。内因性ADではNi、Coパッチテストの陽性率が有意に高かった。また我々の今回の調査ではフィラグリン遺伝子変異は外因性であっても20%を越えるものではなかった。

E . 結論

内因性AD、痒疹、金属アレルギーの関連が明らかとなった。

F . 健康危険情報

特になし。

G . 研究発表

1. 論文発表

原著論文

- 1) Shimauchi T, Yagi H, Sasada K, Kito Y, Ito T, Hirakawa S, Tokura Y: Characterization of malignant T-cell line established from a rare case of CD8⁺ CD56⁺ Sézary syndrome. Br J Dermatol [in press].
- 2) Shimauchi T, Sasada K, Kito Y, Mori T, Hata M,

Fujiyama T, Ito T, Hirakawa S, Tokura Y: CD8⁺ Sézary syndrome with IL-22 production modulated by bacterial sepsis. Br J Dermatol [in press].

- 3) Fukamizu H, Fujiwara M, Kim T, Matsushita Y, Tokura Y: Development of a Three-Microneedle Device for Hypodermic Drug Delivery and Clinical Application. Plastic Reconstr Surg 130 : 451-455 , 2012.
- 4) Sawada Y, Shimauchi T, Hama K, Yoshioka H, Ohmori S, Yamada S, Tajiri M, Kubo-Kabashima R, Yoshioka M, Sugita K, Yoshiki R, Hino R, Kobayashi M, Izu K, Nakamura M, Tokura Y: Combination of skin-directed therapy and oral etoposide for smoldering adult T-cell leukemia/lymphoma with skin involvement. Leuk Lymphoma [in press].
- 5) Sawada Y, Nakamura M, Kabashima-Kubo R, Shimauchi T, Kobayashi M, Tokura Y: Defective epidermal innate immunity and resultant superficial dermatophytosis in adult T cell leukemia/lymphoma. Clin Cancer Res 18 : 3772-3779 , 2012.
- 6) Kabashima-Kubo R, Nakamura M, Sakabe JI, Sugita K, Hino R, Mori T, Kobayashi M, Bito T, Kabashima K, Ogasawara K, Nomura Y, Nomura T, Akiyama M, Shimizu H, Tokura Y: A group of atopic dermatitis without IgE elevation or barrier impairment shows a high Th1 frequency: Possible immunological state of the intrinsic type. J Dermatol Sci 67 : 37-43 , 2012.
- 7) Ohmori S, Hino R, Kobayashi M, Nakamura M, Tokura Y: Inflammatory cytokine expression in the skin lesions of tumour necrosis factor receptor-associated periodic syndrome. Rheumatology (Oxford) 51: 196-199, 2012.
- 8) Ito T, Hashizume H, Shimauchi T, Funakoshi A, Ito N, Fukamizu H, Takigawa M, Tokura Y: CXCL10 produced from hair follicles induces infiltrates of Th1 and Tc1 cells in the acute phase of alopecia

areata followed by sustained accumulation of Tc1 cells in the chronic phase. J Dermatol Sci [in press].

- 9) Kasuya A, Fujiyama T, Shirahama S, Hashizume H, Tokura Y: Decreased expression of homeostatic chemokine receptors in intravascular large B-cell lymphoma. Eur J Dermatol 22:272-3, 2012.
- 10) Sugita K, Kabashima K, Tokura Y: Characterization of Peripheral Natural Killer Cells and their Reduction in Drug-induced Hyper-sensitivity Syndrome. Acta Derm Venereol 92: 83-84, 2012.
- 11) Sugita K, Kabashima K, Sawada Y, Haruyama S, Yoshioka M, Mori T, Ogasawara K, Tokura Y: Blocking of CTLA-4 on lymphocytes improves the sensitivity of lymphocyte transformation test in a patient with nickel allergy. Eur J Dermatol 22:268-269, 2012.
- 12) Ohmori S, Hino R, Kobayashi M, Nakamura M, Tokura Y: Inflammatory cytokine expression in the skin lesions of tumour necrosis factor receptor-associated periodic syndrome. Rheumatology (Oxford) 51: 196-199, 2012.
- 13) Ohmori S, Hino R, Nakamura M, Tokura Y: Heparin serves as a natural stimulant of the inflammasome and exacerbates the symptoms of tumor necrosis factor receptor-associated periodic syndrome (TRAPS). J Dermatol Sci 66:82-4, 2012.
- 14) Kasuya A, Moriki M, Tatsuno K, Hirakawa S, Tokura Y: Clearance Efficacy of Autoantibodies in Double Filtration Plasmapheresis for Pemphigus Foliaceus. Acta Derm Venereol [in press].
- 15) Shimauchi T, Yagi H, Sasada K, Kito Y, Ito T, Hirakawa S, Tokura Y: Characterization of malignant T-cell line established from a rare case of

CD8+ CD56+ Sézary syndrome. Br J Dermatol [in press].

総説

- 1) McGill N-K, Vyas J, Shimauchi T, Tokura Y, Piguet V: HTLV-1 Associated Infective Dermatitis: Updates on the Pathogenesis. Exp Dermatol 21: 815-821, 2012.
- 2) Sugaya M, Hamada T, Kawai K, Yonekura K, Ohtsuka M, Shimauchi T, Tokura Y, Nozaki K, Izutsu K, Suzuki R, Setoyama M, Nagatani T, Koga H, Tani M, Iwatsuki K: Guidelines for the management of cutaneous lymphomas (2011): A consensus statement by the Japanese Skin Cancer Society - Lymphoma Study Group. J Dermatol [in press].
- 3) Bito T, Sawada Y, Tokura Y: Pathogenesis of cholinergic urticaria in relation to sweating. Allergol Int [in press].

2. 学会発表

- 1) Tokura Y: Mechanism of Photo-Allergic Contact Dermatitis from Ketoprofen. 11th Congress of The European Society of Contact Dermatitis (ESCD 2012). 2012.6.13. Malmo, Sweden
- 2) Tokura Y: Innate immunity of the epidermis toward bacterial and fungal infection : lessons from Th17-dysregulated conditions. The 10th Symposium of the Cutaneous Biology Research Institute, Yonsei University College of Medicine. 2012.9.8 . Seoul, Korea

H . 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

該当せず

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

研究分担者 片山一郎 大阪大学大学院医学系研究科皮膚科 教授

室田浩之 大阪大学大学院医学系研究科皮膚科 助教

研究要旨 アトピー性皮膚炎において痒みは主要な症状の1つとして知られる。既存の痒み治療に抵抗性を示す症例は多く、難治化メカニズムの解明と対策方法の立案が患者しいては社会に貢献できるものと期待される。アトピー性皮膚炎の痒み誘起因子には引用可能な報告があり、「温熱、発汗」が最大の悪化因子とされている。本研究ではこれらの悪化因子が誘導する痒みを選択的に抑制するアトピー性皮膚炎の新しい治療戦略確立を目的とする。

A.研究目的

「温もるとかゆい」は皮膚科の日常診療でよく聞かれる訴えの一つであるとともに、経験的に制御困難な症状でもある。アトピー性皮膚炎の痒み誘起因子には引用可能な報告があり、アトピー性皮膚炎患者の96%は「温熱、発汗」が誘起因子と考えており最大の誘因とされている。本研究は温熱が痒みを誘発するメカニズムに着目した。

アトピー性皮膚炎で見られる異常なかゆみ過敏が存在する。このように通常はかゆみに感じられない刺激をかゆみに感じる現象がアロネシスと表現され存在することが知られている。実際にアトピー性皮膚炎では通常疼痛に感じる熱刺激やアセチルコリン投与でかゆみが誘発されると報告されている。しかしこれまでにアロネシスが生じるメカニズムは明らかにされていない。

B.研究方法

本研究ではアロネシスと増感因子が温もった時の痒みを誘発するという仮説をもとに、申請者らが近年見出した神経栄養因子アーテミンに焦点を当てた検討を行う。アーテミンの発現メカニズムを

in vitro の細胞培養系で確認し、増感作用アーテミンが熱痛覚過敏に与える影響を in vivo における動物実験によって確認する。

C.研究結果

アーテミンはサブスタンス P 刺激によって真皮線維芽細胞から発現誘導され、in vitro において神経芽細胞の増殖活性を亢進させることを見出した（図1）。さらにアーテミンはアトピー性皮膚炎病変部真皮に蓄積し（図2）、末梢神経の sprouting を誘導することを確認しており、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 wipng 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。

D.考察

artemin は皮膚の温度過敏および痒みの誘発に関与すると考えられた。また artemin を皮下注射したマウスは暖かい環境下で搔破行動と思われる異常

を示したことから artemin が「温もるとかゆい」メカニズムにおいて重要な役割を果たしているものと想像された。しかし、artemin を注射した場所ではなく、顔面付近を搔破したことは以外な結果であり、現時点でその原因を説明するデータはないが、末梢神経全体あるいは中枢神経系に作用した結果ではないかと推察している。

E. 結論

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。

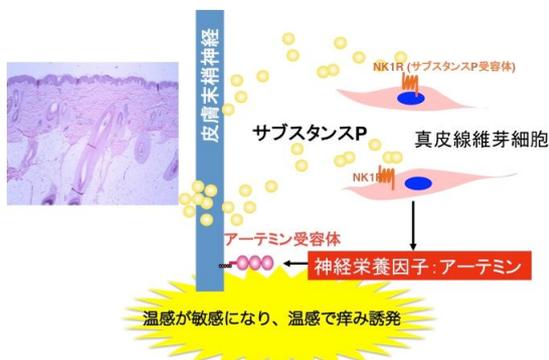


図1：真皮線維芽細胞からサブスタンス p によってアーテミンが分泌される。

ヒト健常部皮膚とアトピー性皮膚炎病変部におけるアーテミンの免疫組織学的検討結果。アトピー性皮膚炎の真皮にアーテミンが蓄積している。

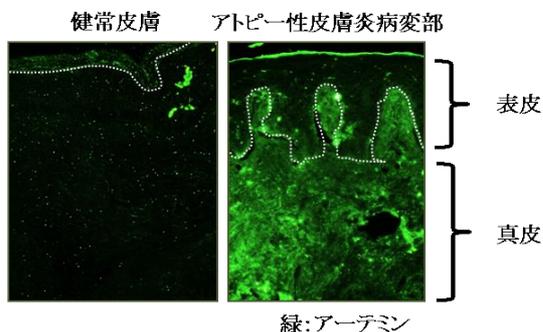


図2：アトピー性皮膚炎病変部の真皮内にアーテミンの沈着を認める。

F.健康危険情報
なし

G.研究発表

1.論文発表

- 1) Yang L, Serada S, Fujimoto M, Terao M, Kotobuki Y, Kitaba S, Matsui S, Kudo A, Naka T, Murota H, Katayama I. Periostin facilitates skin sclerosis via PI3K/Akt dependent mechanism in a mouse model of scleroderma. PLoS One. 2012;7(7):e41994.
- 2) Schmitt J, Spuls P, Boers M, et al (35名中27番目). Towards global consensus on outcome measures for atopic eczema research: results of the HOME II meeting. Allergy. 2012 Sep;67(9):1111-7.
- 3) Kijima A, Murota H, Matsui S, Takahashi A, Kimura A, Kitaba S, Lee JB, Katayama I. Abnormal axon reflex-mediated sweating correlates with high state of anxiety in atopic dermatitis. Allergol Int. 2012 Sep;61(3):469-73.
- 4) Murota H, Izumi M, Abd El-Latif MI, Nishioka M, Terao M, Tani M, Matsui S, Sano S, Katayama I. Artemin causes hypersensitivity to warm sensation, mimicking warmth-provoked pruritus in atopic dermatitis. J Allergy Clin Immunol. 2012 Sep;130(3):671-682.
- 5) Kimura A, Terao M, Kato A, Hanafusa T, Murota H, Katayama I, Miyoshi E. Upregulation of N-acetylglucosaminyltransferase-V by heparin-binding EGF-like growth factor induces keratinocyte proliferation and epidermal hyperplasia. Exp Dermatol. 2012 Jul;21(7):515-9.
- 6) Kondo Y, Umegaki N, Terao M, Murota H, Kimura T, Katayama I. A case of generalized

- acanthosis nigricans with positive lupus erythematosus-related autoantibodies and antimicrosomal antibody: autoimmune acanthosis nigricans? Case Rep Dermatol. 2012 Jan;4(1):85-91.
- 7) Otsuka K, Kotobuki Y, Shiraiishi H, Serada S, Ohta S, Tanemura A, Yang L, Fujimoto M, Arima K, Suzuki S, Murota H, Toda S, Kudo A, Conway SJ, Narisawa Y, Katayama I, Izuhara K, Naka T. Periostin, a matricellular protein, accelerates cutaneous wound repair by activating dermal fibroblasts. Exp Dermatol. 2012 May;21(5):331-6.
- 8) Arase N, Igawa K, Senda S, Terao M, Murota H, Katayama I. Morphea on the breast after a needle biopsy. Ann Dermatol. 2011 Dec;23(Suppl 3):S408-10.
- 9) Hanafusa T, Azukizawa H, Nishioka M, Tanemura A, Murota H, Yoshida H, Sato E, Hashii Y, Ozono K, Koga H, Hashimoto T, Katayama I. Lichen planus-type chronic graft-versus-host disease complicated by mucous membrane pemphigoid with positive anti-BP180/230 and scleroderma-related autoantibodies followed by reduced regulatory T cell frequency. Eur J Dermatol. 2012 Jan-Feb;22(1):140-2.
- 10) Kotobuki Y, Tanemura A, Yang L, Itoi S, Wataya-Kaneda M, Murota H, Fujimoto M, Serada S, Naka T, Katayama I. Dysregulation of melanocyte function by Th17-related cytokines: significance of Th17 cell infiltration in autoimmune vitiligo vulgaris. Pigment Cell Melanoma Res. 2012 Mar;25(2):219-30.
- 11) Kitaba S, Murota H, Terao M, Azukizawa H, Terabe F, Shima Y, Fujimoto M, Tanaka T, Naka T, Kishimoto T, Katayama I. Blockade of interleukin-6 receptor alleviates disease in mouse model of scleroderma. Am J Pathol. 2012 Jan;180(1):165-76.
- (日本語論文)
- 1) 室田浩之：アレルギー皮膚疾患日常診療トピックス アトピー性皮膚炎における生活指導と蕁麻疹の薬物使用戦略：高崎医学 (0916-121X)62： 82-86,(2012.08)
- 2) 室田浩之：【小児アトピー性皮膚炎】小児アトピー性皮膚炎の痒みの管理と指導(解説/特集) 臨床免疫・アレルギー科 57:663-667, 2012.
- 3) 室田浩之：【慢性痒疹と皮膚そう痒症の病態と治療】慢性痒疹・皮膚そう痒症の疫学と労働生産性．アレルギー・免疫 19 920-925, 2012.
- 4) 片山一朗：包括的カユミ対策をスキンケアはアレルギーマーチを阻止できるか？．日本小児皮膚科学会雑誌 30(1):1-7,2011
- 5) 片山一朗：アトピー性皮膚炎の病因．日本医師会雑誌, 140(5):978-982,2011
- 6) 片山一朗：アトピー性皮膚炎の診断と治療．日本医師会雑誌, 140(5):945-958,2011
- 7) 片山一朗：アレルギー性皮膚炎と診療ガイドライン．アレルギー, 40:2011
- 8) 片山一朗：中毒疹・紅斑の考え方と治療の進め方．日本臨床皮膚科医会雑誌, 28(5):2011
- 9) 片山一朗：中毒疹・紅斑の考え方と治療の進め方．Asahi Medical 40(11):2011
- 10) 片山一朗：序～「アトピー性皮膚炎の病態と治療 アップデート」特集にあたって.アレルギー免疫,18(10):9.2011
- 11) 片山一朗：アトピー性皮膚炎の診療ガイドライン.アレルギー免疫,18(10):10-20.2011

- 12) 片山一朗：神経原性炎症の増幅のメカニズムとアトピー性皮膚炎,アレルギーと神経ペプチド,日本医学館,7,12,2011
- 13) 片山一朗：皮膚バリア機能とアレルギー.アレルギーと神経ペプチド.日本医学館,7,28-31,2011
- 14) 片山一朗：皮膚科からみた総合アレルギー医.アレルギー免疫,医薬ジャーナル社,18(7) 34-41.2011

2.学会発表

- 1) 北場俊、室田浩之、高橋 彩、松井佐起、片山一朗．乳児期早期のスキンケアによるアトピー性皮膚炎発症予防効果の検討．第24回アレルギー学会春季臨床大会、2012, 5
- 2) 楊 伶俐、室田浩之、仲 哲治、片山一朗 リモデリングの新たな視点 アレルギー疾患と組織リモデリング ペリオスチンの新たな役割 第24回アレルギー学会春季臨床大会、2012, 5
- 3) 片山一朗、生体の恒常性とアレルギー．第24回アレルギー学会春季臨床大会、2012, 5
- 4) Murota H. Artemin causes hypersensitivity to warm sensation, similar to warmth-provoked pruritus in atopic dermatitis. 38th Japanese Society of Investigative Dermatology annual meeting. 2012, 12

H.知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
（分担）研究報告書

痒疹マウスモデル作成と病態に関する研究

研究代表者 横関博雄 東京医科歯科大学大学院皮膚科学分野 教授

研究分担者 佐藤貴浩 防衛医科大学校皮膚科学講座 教授

研究協力者 端本宇志 防衛医科大学校皮膚科学講座 助教

研究要旨 IgE 依存性の痒疹反応マウスモデルを作成した。反応は持続性で丘疹性変化が誘導され、組織学的には不規則な表皮肥厚と単核球、好酸球、好塩基球の浸潤、さらにマスト細胞の増加から成っていた。また病変部では IL-4, IL-13, IL-17, IL-22, IL-31, TGF β , nerve growth factor の産生が観察された。この反応は好塩基球除去抗体によってほぼ完全に抑制された。本研究で確立されたモデルはヒト痒疹の病態の理解と新規治療法の確立において有用である。

A．研究目的

痒疹は痒みを伴う孤立性の丘疹である。慢性的に続く痒みにより患者のQOLは著しく損なわれる。しかしその病態はいまだ明らかでない。痒疹は慢性腎不全をはじめとする種々の基礎疾患に関連して生じることが多いが、アトピー性皮膚炎患者にもしばしば痒疹病変が形成されることが知られている。痒疹の一部は蕁麻疹様病変ではじまりやがて持続性の丘疹ないし結節性病変へと変化する。今回はこの現象に着目して IgE 依存性に痒疹病変マウスモデルの作成を試みた。

B．研究方法

IgE トランスジェニックマウス(IgE-Tg マウス)の耳介や背部皮膚に TNP(trinitrophenyl)-OVA(ovalbumin)を反復皮下または皮内投与し、その肉眼的および組織学的変化を観察した。

C．研究結果

IgE-Tg マウスの耳介に TNP-OVA を Day 1,4,7 に反復皮下投与したところ強い耳介腫脹反応がみられ、その反応は1か月以上持続した。Wild-type である BALB/c マウスでは軽度の耳介腫脹がみられたが、その反応はすみやかに収束した。次に IgE-Tg マウ

ス背部皮膚に同様に TNP-OVA を皮内投与したところ丘疹性病変が形成された。組織学的には不規則な表皮肥厚、真皮の単核球、好酸球浸潤がみられ、またマスト細胞が増加していた。さらに真皮や表皮内に mast cell protease 8 陽性好塩基球の浸潤がみられた。さらにこれらのマウスでは病変部への自発的搔破行動が確認された。病変部組織抽出蛋白を用いて ELISA 法による解析を行ったところ、IL-4, IL-5, IL-13, IL-17, IL-22, TGF β などのサイトカイン産生が確認された。さらに Type I collagen や nerve growth factor、そして痒みサイトカインである IL-31 mRNA も増加していた。病変部周辺表皮では PGP9.5 (+)神経線維の sprouting が観察された。またこの病変の反応は好塩基球除去抗体によってすみやかに収束した。

D．考察

今回 IgE 依存性反応を利用してマウス皮膚に持続性のアレルギー炎症を誘導し、肉眼的に丘疹を作成することに成功した。その組織所見はヒト慢性痒疹病変に類似していた。局所のサイトカインでは IL-4, 17, 22, 31 の増加がみられた。興味深いことにこのサイトカインプロファイルはヒト慢性痒疹のものとは一致している(Park K, et al., Eur J

Dermatol 2011)。以上のことからわれわれがマウスで誘導した反応はヒト痒疹のモデルに相当すると考えられた。

病変部では好塩基球浸潤がみられ、好塩基球除去抗体で反応が収束した。すでにわれわれの研究室において、ヒト痒疹は好塩基球浸潤を多く伴う皮膚疾患であることを報告している (Ito Y, et al., Allergy 66: 1107, 2011)。このことはヒト痒疹においても好塩基球が大きく関わっており、好塩基球が痒疹治療の新たな標的となりうる可能性を示唆していた。

E . 結論

IgE 依存性の反応を用いて痒疹反応マウスモデルを作成した。このモデルは痒疹病態の解明と治療薬の開発において有用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

- 1) Yu R, Satoh T, Wakabayashi T, Ueda N, Yokozeki H: Disseminated BCG infection in severe combined immunodeficiency. ActaDermVenereol92: 158-159, 2012.
- 2) Matsushima Y, Satoh T, Yamamoto Y, Nakamura M, Yokozeki H. Distinct roles of prostaglandin D2 receptors in chronic skin inflammation. MolImmunol 49: 304-310, 2012.
- 3) Tanaka T, Satoh T, Tanaka A, Yokozeki H. Congenital insensitivity to pain with anhidrosis: a case with preserved itch sensation to histamine and partial pain sensation. Br J Dermatol 166: 888-891, 2012.
- 4) Sekine R, Satoh T, Takaoka A, Saeki K, Yokozeki H. Anti-pruritic effects of topical crotamiton, capsaicin, and a corticosteroid on pruritogen-induced scratching behavior. ExpDermatol 21: 201-204, 2012.
- 5) Kanai Y, Satoh T, Yokozeki H. Impaired

expression of Tim-3 on Th17 and Th1 cells in psoriasis. ActaDerm-Venereol 92: 367-371, 2012.

- 6) Nishizawa A, Satoh T, Yokozeki H. Erythrodermic psoriasis improved by panitumumab. ActaDermVenereol 92: 360-361, 2012.

2 . 学会発表

- 1) 宇賀神つかさ, 佐藤貴浩: ヒト皮膚疾患における好塩基球浸潤と活性化 第42回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会 軽井沢 7月14日 2012 (シンポジウム)
- 2) 佐藤貴浩: 痒疹の考え方と諸問題 日本皮膚科学会岩手地方会学術大会第360回例会 盛岡 11月11日, 2012 (特別講演)
- 3) 端本宇志, 片岡直子, 佐藤貴浩, 横関博雄: インドメタシンが奏功した木村氏病, 第42回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会, 軽井沢, 2012/7/13
- 4) 端本宇志, 佐藤貴浩, 横関博雄: IgE と好塩基球によって誘導されるマウス痒疹反応モデルの解析, 第24回日本アレルギー学会春季臨床大会, 大阪, 2012/5/13

H . 知的財産権の出願・登録状況

なし

生体皮膚への機能性高分子導入法の開発に関する研究

研究分担者 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

研究要旨 HVJ-Eは樹状細胞からのinterferon- β の誘導を促し、これにより脾臓細胞よりinterferon- γ を産生させる。Interferon- β の産生はToll-like receptor非依存性でRIG-I依存性である。HVJ-Eは、Th1シフトを促進するため、アトピー性皮膚炎治療には適したベクターである。

A．研究目的

HVJ-E ベクターは Sendai virus (hemagglutinating virus of Japan; HVJ)を紫外線等で不活化した粒子に遺伝子や 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。何故このベクターがアトピー性皮膚炎等のアレルギー疾患に効果があるのか、その作用機構の解明を目指した。

B．研究方法

アレルギー性-鼻炎マウスや健常マウスの鼻腔内にHVJ-Eのみを滴下して脾臓細胞からのサイトカイン産生をELISA法で評価した。脾臓細胞や骨髄由来の樹状細胞を健常マウスやMyd88^{-/-}TRIF^{-/-}マウスから分離してHVJ-Eを作用させ、サイトカインの産生をELISAで測定した。Polyethylene imine法を用いてRIG-I siRNAを樹状細胞に導入した。

（倫理面への配慮）

動物実験は、大阪大学医学系研究科で承認された実験計画に基づいて行った。

C．研究結果

アレルギー性鼻炎マウスの鼻腔内にHVJ-Eのみを滴下して脾臓細胞からのinterferon (IFN)- γ の産生が上昇し、interleukin (IL)-4, IL-5の産生は抑制された。一方、健常マウスの鼻腔内にHVJ-Eのみを滴下しても脾臓細胞でのIFN- γ の産生は誘導さ

れず、またIL-4, IL-5の産生もなかった。健常マウスの脾臓細胞にHVJ-EをかけてもIFN- β , - γ は産生されないが、骨髄由来の樹状細胞からはIFN- β は産生された。そこでHVJ-E処理した樹状細胞の培養液で脾臓細胞を培養するとIFN- γ の産生が見られた。HVJ-Eによる樹状細胞からのIFN- β の産生機構を解析するため、Myd88^{-/-}TRIF^{-/-}マウスの樹状細胞にHVJ-Eをかけたが、野生型マウスの樹状細胞と同じように産生が見られた。一方、RIG-I siRNAを導入した樹状細胞ではHVJ-EによるIFN- β 産生は著明に抑制された。

D．考察

HVJ-E は樹状細胞から IFN- β 産生を促し脾臓細胞に IFN- γ を産生させると考えられる。鼻炎マウスでは、炎症部位の鼻粘膜における樹状細胞の集積があり、HVJ-E の鼻腔内滴下で脾臓細胞からの IFN- γ 産生を促した可能性がある。HVJ-E による樹状細胞からの IFN- β 産生は Toll-like receptor 非依存性で RIG-I 依存性であることが分かった。

E．結論

HVJ-E自身がサイトカイン産生に関与しTh1シフトを起こすため、アトピー性皮膚炎の治療に適したベクターである。

F．健康危険情報
なし

G . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kaneda, Y.: Future directions for gene therapy.
E-book on "Gene therapy: Technologies and applications" (Ed. By Morishita, R and Nakagami, H.) Future Science Group (London, UK)[in press]

2. 学会発表

- 1) 金田安史:新規抗癌剤としての不活化ウイルス粒子のポテンシャル 日本脳神経外科学会第 71 回学術集会 (特別医学セミナー) 平成 24 年 10 月 18 日 大阪

H . 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Kaneda Y.	Future directions for gene therapy	Morishita R, Nakagami H.	E-book on “Gene Therapy; Technologies and applications”	Future Science Group	London	2012	[in press]
烏山 一	免疫系における好塩基球の重要性	審良静男、熊ノ郷淳、竹田潔	免疫学 Update -分子病態の解明と治療への展開-	南山堂	東京	2012	46-51
栴島健治	アレルギー疾患研究最前線	審良静男、熊ノ郷淳、竹田潔	免疫学 UPDATE	南山堂	東京	2012	146-151
栴島健治	アレルギー	熊ノ郷淳	免疫学コア講義	南山堂	東京	2012	219-224
宮地良樹	一冊でわかる皮膚アレルギー	塩原哲夫、宮地良樹、清水宏	一冊でわかる皮膚アレルギー	文光堂	東京	2012	
宮地良樹	抗ヒスタミン薬：増量か変更か	宮地良樹、岡本美孝、谷内一彦	ファーマナビゲーター 抗ヒスタミン薬	メディカルレビュー社	東京	2012	226-228
戸倉新樹	皮膚科用薬	高久史磨、堀正二、菅野健太郎、森脇孝、乾賢一、林冒洋	治療薬ハンドブック 2012	じほう	日本	2012	234-238
戸倉新樹	アダパレンの作用に関する最新の知見	古江増隆、林伸和	皮膚科臨床アセット 8 変貌するざ瘡マネージメント	中山書店	日本	2012	288-291
戸倉新樹	ステロイド外用剤を長く使う場合に気を付けることは？	塩原哲夫	正しいステロイドの使い方 2 . 外用剤編 改訂 3 版	医薬ジャーナル社	日本	2012	74-79
戸倉新樹	光線過敏テスト	塩原哲夫	1冊でわかる皮膚アレルギー	文光堂	日本	2012	65-67
戸倉新樹	外因性アトピー性皮膚炎と内因性アトピー性皮膚炎	塩原哲夫	1冊でわかる皮膚アレルギー	文光堂	日本	2012	125-126
戸倉新樹	光線過敏症はなぜ起こる	塩原哲夫	1冊でわかる皮膚アレルギー	文光堂	日本	2012	193-197
戸倉新樹	職業アレルギー	塩原哲夫	1冊でわかる皮膚アレルギー	文光堂	日本	2012	282-286

戸倉新樹	全身の潮紅と落屑 (紅皮症)をきたす 疾患 Diseases presenting with generalized diffusecaly erythema (reythroderma)	塩原哲夫	今日の皮膚疾患治 療指針 第4版	医学書院	日本	2012	41-43
戸倉新樹	光アレルギー性接触 皮膚炎 Photoallergic contact dermatitis	宮地良樹	今日の皮膚疾患治 療指針 第4版	医学書院	日本	2012	285-287
戸倉新樹	原発性皮膚未分化大 細胞型リンパ腫 Primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma	渡辺晋一	今日の皮膚疾患治 療指針 第4版	医学書院	日本	2012	746-747
戸倉新樹	リンパ腫様丘疹症 Lymphomatoid papulosis	佐藤伸一	今日の皮膚疾患治 療指針 第4版	医学書院	日本	2012	748-749
戸倉新樹	Chapter2 抗ヒスタ ミン薬の薬理作用 5. 抗アレルギー作 用	宮地良樹、 岡本美孝、 谷内和彦	ファーマナビゲー ター 抗ヒスタミ ン薬編	メディカルレ ビュー社	日本	2012	68-73
戸倉新樹	Chapter3 抗ヒスタ ミン薬の適応疾患 8. 接触皮膚炎	宮地良樹、 岡本美孝、 谷内和彦	ファーマナビゲー ター 抗ヒスタミ ン薬編	メディカルレ ビュー社	日本	2012	130-137
戸倉新樹	薬物治療と副作用の 指針 / 光接触皮膚炎 の診断・治療指針	中村耕三	運動器診療 最新 ガイドライン	総合医学社	日本	2012	74-75
戸倉新樹	5. 乾癬の病態(2) - T細胞(Th17)を 中心に) -	大槻 マミ 太郎、古江 増隆	診る・わかる・治 す皮膚科臨床アセ ット10 ここまで わかった乾癬の病 態と治療	中山書店	日本	2012	20-25
戸倉新樹	4. 皮膚リンパ腫の 診断手順	岩月啓氏	皮膚科臨床アセッ ト13 皮膚のリン パ腫 最新分類 に基づく診療ガイ ド	中山書店	日本	2012	16-22
島内隆寿、 戸倉新樹	母乳でうつる皮膚疾 患にはどんなもの がある?	宮地良樹	女性の皮膚トラブ ルFAQ	診断と治療社	日本	2012	147-150

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Abd El-Latif MI, Murota H, Terao M, Katayama I.	Effects of a 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor and low-density lipoprotein on proliferation and migration of keratinocytes.	Br J Dermatol.	163	128-37	2010
Murota H, El-latif MA, Tamura T, Amano T, Katayama I.	Olopatadine hydrochloride improves dermatitis score and inhibits scratch behavior in NC/Nga mice.	Int Arch Allergy Immunol.	153	121-32	2010
Murota H, Kitaba S, Tani M, Wataya -Kaneda M, Azukizawa H, Tanemura A, Umegaki N, Terao M, Kotobuki Y, Katayama I.	Impact of sedative and non-sedative antihistamines on the impaired productivity and quality of life in patients with pruritic skin diseases.	Allergol Int.	59	345-54	2010
Murota H, Takahashi A, Nishioka M, Matsui S, Terao M, Kitaba S, Katayama I.	Showering reduces atopic dermatitis in elementary school students.	Eur J Dermatol.	20	410-1	2010
Hayashi H, Kohno T, Yasui K, Murota H, et al.	Characterization of dsRNA-induced pancreatitis model reveals the regulatory role of IFN regulatory factor 2 (Irf2) in trypsinogen5 gene transcription.	Proc Natl Acad Sci U S A.	108	18766-71	2011
Hosoya K, Satoh T, Yamamoto Y, Saeki K, Igawa K, Okano M, Moriya T, Imamura O, Nemoto Y, Yokozeki H.	Gene silencing of STAT6 with siRNA ameliorates contact hypersensitivity and allergic rhinitis.	Allergy.	66	124-131	2011
Ito Y, Satoh T, Takayama K, Miyagishi C, Walls AF, Yokozeki H.	Basophil recruitment and activation in inflammatory skin diseases.	Allergy.	66	1107-1113	2011
Matsushima Y, Satoh T, Yamamoto Y, Nakamura M, Yokozeki H.	Distinct roles of prostaglandin D2 receptors in chronic skin inflammation.	Mol Immunol.	49	304-10	2011
Namiki T, Tanemura A, Valencia JC, Coelho SG, Passeron T, Kawaguchi M, Vieira WD, Ishikawa M, Nishijima W, Izumo T, Kaneko Y, Katayama I, Yamaguchi Y, Yin L, Polley EC, Liu H, Kawakami Y, Eishi Y, Takahashi E, Yokozeki H, Hearing VJ.	AMPkinase-related kinase NUA2 affects tumor growth, migration, and clinical outcome of human melanoma.	Proc Natl Acad Sci U S A.	108	6597-602	2011
Okiyama N, Kitajima T, Ito Y, Yokozeki H, Miyasaka N, Kohsaka H.	Addition of the collagen binding domain of fibronectin potentiates the biochemical availability of hepatocyte growth factor for cutaneous wound healing.	J Dermatol.	61	215-7	2011
Satoh T, Ito Y, Miyagishi C, Yokozeki H.	Basophils infiltrate skin lesions of eosinophilic pustular folliculitis (Ofuji's disease)	Acta Derm Venereol.	91	371-372	2011

Terao M, Murota H, Kimura A, Kato A, Ishikawa A, Igawa K, Miyoshi E, Katayama I.	11 β -Hydroxysteroid dehydrogenase-1 is a novel regulator of skin homeostasis and a candidate target for promoting tissue repair.	PLoS One.	6(9)	e25039	2011
Ugajin T, Satoh T, Kanamori T, Aritake K, Urade Y, Yokozeki H.	Fc ϵ RI, but not Fc γ R, signals induce prostaglandin D2 and E2 production from basophils.	Am J Pathol.	17	775-82	2011
Yamagishi H, Mochizuki Y, Hamakubo T, Obata K, Ugajin T, Sato S, Kawano Y, Minegishi Y, Karasuyama H.	Basophil-derived mouse mast cell protease 11 induces microvascular leakage and tissue edema in a mast cell-independent manner.	Biochem Biophys Res Commun.	415	709-13	2011
Yamamoto Y, Otani S, Hirai H, Nagata K, Aritake K, Urade Y, Narumiya S, Yokozeki H, Nakamura M, Satoh T.	Dual functions of prostaglandin D2 in murine contact hypersensitivity via DP and CRTH2.	Am J Pathol.	179	302-314	2011
Andoh T, Takayama Y, Yamakoshi T, Lee J.B, Sano A, Shimizu T, Kuraishi Y.	Involvement of serine protease and proteinase-activated receptor 2 in dermatophyte-associated itch in mice.	J Pharmacol Exp Ther.	343	91-96	2012
Andoh T, Yoshida T, Lee J.B, Kuraishi Y.	Cathepsin E induces itch-related response through the production of endothelin-1 in mice.	Eur J Pharmacol.	686	16-21	2012
Egawa G, Doi H, Miyachi Y, Kabashima K.	PCR-RFLP analysis for S2889X in filaggrin harbors the risk of a typing error.	Journal of Dermatological science.	[in press]		2012
Etori M, Yonekubo K, Sato E, Mizukami, Hirahara K, Karasuyama H, Maeda H, Yamashita M.	Melanocortin Receptors 1 and 5 might mediate inhibitory effects of α -melanocyte-stimulating hormone on antigen-induced chronic allergic skin inflammation in IgE transgenic mice.	J Invest Dermatol.	132	1925-1927	2012
Fukamachi S, Kawasami C, Kabashima R, Sawada Y, Sugita K, Nakamura M, Yatera K, Tokura Y.	Tuberculosis verrucosa cutis with elevation of circulating T-helper 1 and 17 cells and their reductions after successful treatment.	J Dermatol.	39	507-509	2012
Hara-Chikuma M, Chikuma S, Sugiyama Y, Kabashima K, Verkman AS, Inoue S, Miyachi Y.	Chemokine-dependent T cell migration requires aquaporin-3-mediated hydrogen peroxide uptake.	Journal of experimental medicine.	209(10)	1743-1752	2012
Hayami C, Ishiguro N, Fukuya Y, Tokura Y, Kawashima M.	Churg-Strauss syndrome presenting with severe cutaneous and intestinal ulcers.	Eur J Dermatol.	22	397-399	2012
Ikawa T, Kasuya A, Ito T, Hirakawa S, Tokura Y.	Intramuscular metastasis of malignant melanoma mimicking leg cellulitis.	Eur J Dermatol.	22	156	2012

Ito T, Tokura Y.	Alopecia areata triggered or exacerbated by swine flu virus infection.	J Dermatol.	39	863-864	2012
Jin, G., Matsushita, T., Hamaguchi, Y., Le Huu, D., Ishii, T., Hasegawa, M., Obata, K., Karasuyama, H., Takehara, K., and Fujimoto, M.	Basophils and Mast Cells Play Critical Roles for Leukocyte Recruitment in IgE-Mediated Cutaneous Reverse Passive Arthus Reaction.	J. Dermatol. Sci.	67	181-189	2012
Kanai Y, Satoh T, Yokozeki H.	Impaired expression of Tim-3 on Th17 and Th1 cells in psoriasis.	ActaDerm-Venerol.	92(4)	367-371	2012
Kasuya A, Hashizume H, Hirakawa S, Tokura Y.	Haemodialysis-induced pseudoporphyria successfully treated with glutathione.	Eur J Dermatol.	22	137-138	2012
Kasuya A, Hirakawa S, Tokura Y.	Primary cutaneous aggressive epidermotropic CD8+ T-cell lymphoma: Transformation from indolent to aggressive phase in association with CCR7-positive conversion.	Dermatol Online J.	18	5	2012
Kawano, Y, Ouchida, R, Wang, J-Y, Yoshikawa, S, Yamamoto, M, Kitamura D, and Karasuyama, H.	A novel mechanism for the autonomous termination of pre-B cell receptor expression via induction of lysosomal-associated protein transmembrane 5.	Mol Cell Biol.	32	4462-4471	2012
Kijima A, Murota H, Matsui S, Takahashi A, Kimura A, Kitaba S, Lee JB, Katayama I.	Abnormal axon reflex mediated sweating correlates with high state of anxiety in atopic dermatitis.	Allergol Int.	61	469-73	2012
Kitaba S, Murota H, Terao M, Azukizawa H, Terabe F, Shima Y, Fujimoto M, Tanaka T, Naka T, Kishimoto T, Katayama I.	Blockade of interleukin -6 receptor alleviates disease in mouse model of scleroderma.	Am J Pathol.	180	165-76	2012
Matsushima Y, Satoh T, Yamamoto Y, Nakamura M, Yokozeki H.	Distinct roles of prostaglandin D2 receptors in chronic skin inflammation.	MolImmunol.	49	204-310	2012
Mukai K, BenBarak M, Tachibana M, Nishida K, Karasuyama H, Taniuchi I, Galli SJ.	Critical role of P1-Runx1 in mouse basophil development.	Blood.	120	76-85	2012
Murota H, Izumi M, Abd El-Latif MI, Nishioka M, Terao M, Tani M, Matsui S, Sano S, Katayama I.	Artemin causes hypersensitivity to warmth sensation, mimicking warmth provoked pruritus in atopic dermatitis.	J Allergy Clin Immunol.	130	671-682	2012
Nakahigashi K, Doi H, Otsuka A, Hirabayashi T, Murakami M, Urade Y, Tanizaki H, Egawa G, Miyachi Y, Kabashima K.	PGD(2) induces eotaxin-3 via PPAR γ from sebocytes: A possible pathogenesis of eosinophilic pustular folliculitis.	Journal of allergy and clinical immunology.	129(2)	536-543	2012

Nakajima S, Igyártó BZ, Honda T, Egawa G, Otsuka A, Hara-Chikuma M, Watanabe N, Ziegler SF, Tomura M, Inaba K, Miyachi Y, Kaplan DH, Kabashima K.	Langerhans cells are critical in epicutaneous sensitization with protein antigen via thymic stromal lymphopoietin receptor signaling.	Journal of allergy and clinical immunology.	129(4)	1048-55	2012
Nishida K, Tateishi C, Tsuruta D, Shimauchi T, Ito T, Hirakawa S, Tokura Y.	Contact urticaria caused by a fish-derived elastin-containing cosmetic cream.	Contact Dermatitis.	67	171-172	2012
Nishizawa A, Satoh T, Yokozei H.	Erythrodermic psoriasis improved by panitumumab.	ActaDermVenereol.	92	360-361	2012
Ogawa H, Mukai K, Kawano Y, Minegishi Y, and Karasuyama H.	Th2-inducing cytokines IL-4 and IL-33 synergistically elicit the expression of transmembrane TNF- α on macrophages through the autocrine action of IL-6.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	420	114-118	2012
Ohmori S, Mori T, Haruyama S, Sawada Y, Hino R, Nakamura M, Tokura Y.	Occupational skin cancer arising in a patient with a high frequency of circulating regulatory T cells.	Int J Dermatol.	51	1104-1106	2012
Okiyama N, Sugihara T, Oida T, Ohata J, Yokozei H, Miyasaka N, Kohsaka H.	T lymphocytes and muscle condition act like seeds and soil in a murine polymyositis model.	H.Arthritis Rheum.	64(11)	3741-9	2012
Ono S, Otsuka A, Miyachi Y, Kabashima K.	No filaggrin gene mutation in a patient with a combination of atopic dermatitis, alopecia areata and food allergy.	European journal of dermatology.	22(6)	809-811	2012
Sakabe JI, Yoshiki R, Sygita K, Haruyama S, Sawada Y, Kabashima R, Bito T, Nakamura M, Tokura Y.	Connexin 26 (GJB2) mutations in keratitis-ichthyosis-deafness syndrome presenting with squamous cell carcinoma.	J Dermatol.	39	814-815	2012
Sasada K, Sakabe JI, Tamura A, Kasuya A, Shimauchi T, Ito T, Hirakawa S, Tokura Y.	Photosensitive drug eruption induced by bicalutamide within the UVA action spectrum.	Eur J Dermatol.	22	402-403	2012
Satoh T, Ikeda H, Yokozei H.	Acrosyringal Involvement of Palmoplantar Lesions of Eosinophilic Pustular Folliculitis.	Acta Derm Venereol.	[in press]		2012
Sawada Y, Nakamura M, Hama K, Hino R, Tokura Y.	A high serum concentration of chemerin in pustular dermatitis paradoxically induced by etanercept.	J Am Acad Dermatol.	66	e182-184	2012
Sawaguchi M, Tanaka S, Nakatani Y, Harada Y, Mukai K, Matsunaga Y, Ishiwata K, Oboki K, Kambayashi T, Watanabe N, Karasuyama H, Nakae S, Inoue H, and Kubo M.	Role of mast cells and basophils in IgE responses and in allergic airway hyperresponsiveness.	J. Immunol.	188	1809-1818	2012

Sekine R, Satoh T, Takaoka A, Saeki K, Yokozeki H.	Anti pruritic effects of topical crotamiton, capsaicin, and a corticosteroid on pruritogen-induced scratching behavior.	Exp Dermatol.	21(3)	201-4	2012
Tanaka T, Satoh T, Tanaka A, Yokozeki H.	Congenital insensitivity to pain with anhidrosis: a case with preserved itch sensation to histamine and partial pain sensation.	Br J Dermatol.	166	888-891	2012
Tanizaki H, Ikoma A, Fukuoka M, Miyachi Y, Kabashima K.	Effects of Bepotastine and Fexofenadine on Histamine-Induced Flare, Wheal and Itch.	Internal Archives of Allergy and Immunology.	158(2)	191-195	2012
Tatsuno K, Yagi H, Tokura Y.	Eruptive milium-like Syringoma showing eccrine duct origin of milia.	J Dermatol.	39	878-879	2012
Yagi Y, Muroga E, Naitoh M, Isogai Z, Matsui S, Ikehara S, Suzuki S, Miyachi Y, Utani A.	An Ex Vivo Model Employing Keloid-Derived Cell-Seeded Collagen Sponges for Therapy Development.	Journal of Investigative Dermatology.	133(2)	386-393	2012
Yu R, Satoh T, Wakabayashi T, Ueda N, Yokozeki H.	Disseminated BCG infection in severe combined immunodeficiency.	ActaDermVenereol.	92	158-159	2012
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 anti-inflammatory M2 phenotype via basophil-derived IL-4.	Immunity.		[in press]	
Ikeya S, Urano S, Tokura Y.	Linear IgA bullous dermatosis following human papillomavirus vaccination.	Eur J Dermatol.		[in press]	
Ito T, Shimomura Y, Ogai M, Sakabe J-I, Tokura Y.	Identification of a novel heterozygous mutation in the first Japanese case of Marie Unna hereditary hypotrichosis.	J Dermatol.		[in press]	
Shiraishi Y, Jia Y, Domenico J, Joetham A, Karasuyama H, Takeda K, and Gelfand E. W.	Sequential engagement of FcεRI on mast cells and basophil histamine H4 receptor and FcεRI in allergic rhinitis.	J. Immunol.		[in press]	
坂部純一, 黒田悦史, 戸倉新樹	PI3 キナーゼ経路による好塩基球における Th2 サイトカインの産生制御	臨床免疫・アレルギー科	56	622-627	2011
池谷茂樹, 浦野聖子, 小出まさよ, 戸倉新樹	顕著な炎症を伴った汗孔角化症	皮膚病診療	33	813-816	2011
澤田雄宇, 戸倉新樹	成人 T 細胞性白血病 / リンパ腫 皮疹型と 予後判定への重要性	日本皮膚科学会雑誌	121	3091-3093	2011

安東嗣修, 倉石 泰	温清飲による痒みの抑制機序	phil 漢方	40	26-28	2012
壱岐美紗子, 烏山 一	好塩基球研究の進展	医学のあゆみ	243(1)	78-83	2012
鬼頭由紀子, 笹田久美子, 八木宏明, 大島昭博, 戸倉新樹	アトピー性皮膚炎との鑑別を要した若年発症 S e Z a r y 症候群	Visual Dermatology	11	912-914	2012
吉木竜太郎, 中村元信, 戸倉新樹	紫外線による皮膚における免疫抑制とその役割	J UOEH (産業医科大学雑誌)	34	77-83	2012
戸倉新樹	Bowen 病と好酸球性膿疱性毛包炎	皮膚科の臨床	54	7-12	2012
戸倉新樹	低悪性度T細胞性リンパ腫に対する薬物療法-菌状息肉症	臨床腫瘍プラクティス	8	258-261	2012
戸倉新樹	皮膚バリアからみるアトピー性皮膚炎の全体像	臨床免疫・アレルギー科	58	295-299	2012
戸倉新樹	Th17 細胞と皮膚疾患	日本臨床免疫学会誌	35	388-392	2012
戸倉新樹	IgE 値正常の内因性アトピー性皮膚炎の成因は如何に	皮膚アレルギーフロンティア	10	19-23	2012
戸倉新樹, 小林美和	掌蹠膿疱症の治療 / ロキシスマイシン内服療法	Visual Dermatology	11	1071-1072	2012
戸倉新樹, 澤田雄宇, 島内隆寿	成人T細胞性白血病 / リンパ腫 (adlt T-cell leukemia/lymphoma : ATLL)	Visual Dermatology	11	940-945	2012
江川真由美, 烏山 一	好塩基球研究のアップデート	実験医学	30(6)	905-911	2012
佐藤孝浩, 横関博雄, 片山一郎, 室田浩之, 戸倉新樹, 朴紀央, 椛島健治, 中溝 聡, 高森建二, 塩原哲夫, 三橋善比古, 森田栄伸	慢性痒疹診療ガイドライン	日本皮膚科学会雑誌	122	1-16	2012
坂部純一, 秦 まき, 平川聡史, 戸倉新樹	PCR 法による単純および帯状疱疹ウイルス感染症の迅速診断: 成人および小児例	日小皮会誌	31	47-50	2012
菅谷誠, 河井一浩, 大塚幹夫, 濱田利久, 米倉健太郎, 島内隆寿, 谷 守, 古賀弘志, 野崎浩二, 伊豆津宏二, 戸倉新樹, 瀬戸山充, 長谷哲男, 岩月啓氏	皮膚リンパ腫診療ガイドライン 2011年改訂版	日本皮膚科学会雑誌	122	1513-1531	2012

大日輝記,川口淳,上田説子,内小保理,占部和敬,小林美和,下田貴子,十亀良介,高守史子,田中倫子,寺原慶子,中園亜矢子,文森健明,師井美樹,山本有紀,渡邊徹心,須賀康,古江増隆,戸倉新樹,川名誠司,古川福実,山元修,橋本 隆	サリチル酸マクロゴールピーリングによる尋常性痤瘡の治療効果 -多施設無作為化二重盲検ハーフサイド対照比較試験-	Aesthetic Dermatology (日本美容皮膚科学会雑誌)	22	31-39	2012
中島沙恵子,椛島健治	Langerhans 細胞への TSLP の作用とアトピー性皮膚炎	臨床免疫・アレルギー科	58(3)	334-340	2012
田村愛子,富田浩一,鈴木陽子,戸倉新樹	小児の顔面に生じた Mycobacterium chelonae 感染症の 1 例	日小皮会誌	31	59-61	2012
島内隆寿,戸倉新樹	感染性肉芽腫との鑑別を要した肉芽腫性菌状息肉症	Visual Dermatology	11	922-923	2012
鈴木健晋,鈴木陽子,富田洋一,平川聡史,戸倉新樹	Osler 病との鑑別を要した抗セントロメア抗体高値陽性の多発毛細血管拡張	皮膚病診療	34	481-484	2012
中島沙恵子,椛島健治	マスターレギュレーターとしての TSLP	Modern Physician	33(2)	198-202	2013