

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

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. アトピー性皮膚炎におけるインターロイキン17Aの果たす役割の検討

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

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

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 -

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

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

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

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

V. 班会議プログラム・議事録・抄録

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。

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

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 (TAL Effector Nucleases) を利用するシステムを構築。

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。

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)。

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。

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 (1.5×10^7 粒子)を脾臓細胞(2×10^5 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

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。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、サイトカインなどに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, Yokozeki 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, Yokozeki 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, Yokozeki 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, Yokozeki 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, Yokozeki 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, Yokozeki 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, Yokozeki 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, Yokozeki 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, Yokozeki 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, Yokozeki 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, Yokozeki 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, Yokozeki 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, Yokozeki H. Fc ϵ RI, but not Fc γ R, 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, Yokozeki 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, 椛島健治, 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験法」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., Yokozeki 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 かつお: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 かつお: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 かつお, 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 かつお: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 かつお: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(型、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 - アトピー性皮膚炎の合併との関連について - . 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

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ギーを投与し、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 とアレルギーで刺激し、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。

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。

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) 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.* 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

- 11) orchestrated immune cascade. *Nat. Commun.* 4:2847, 2013.
- 12) 吉川 宗一郎、烏山 一:「好塩基球とアレルギー」
アレルギー 62(7): 797-804, 2013.
- 13) 壹岐美紗子、烏山 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.
- 14) 江川真由美、烏山 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) 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～山椒は小粒でもびりりと辛い」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（掻き動作）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）。

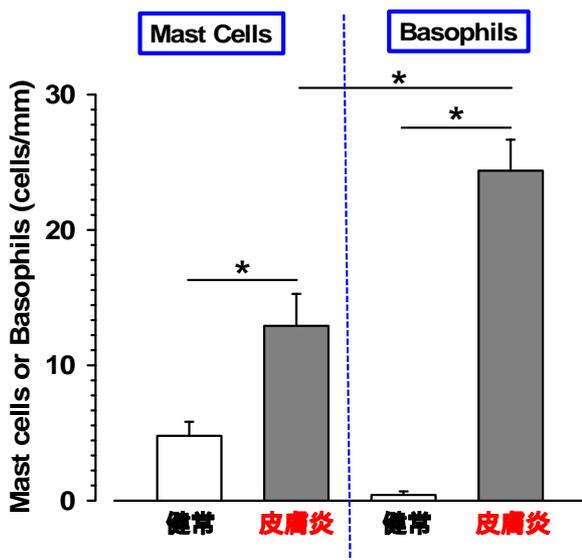


図 1 健常マウス及び皮膚炎マウス皮膚でのマスト細胞並びに好塩基球数

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一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，烏山一，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)

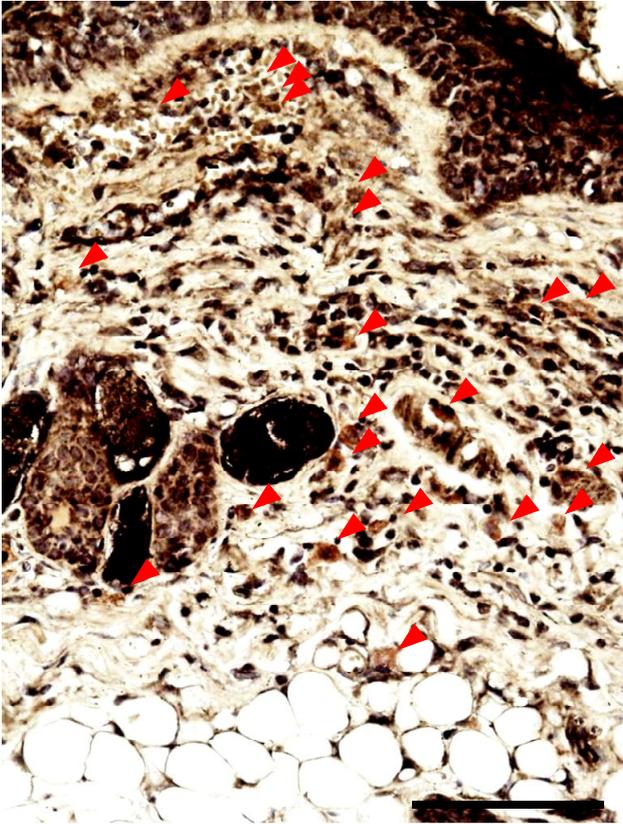


Fig. 1. 皮膚炎発症マウス皮膚における好塩基球
皮膚炎発症マウスの炎症部位における好塩基球（矢
頭）の分布。Scale bar: 100 μ m

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

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 椋島健治 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 フィラグリン遺伝子の発見以降、アトピー性皮膚炎（Atopic Dermatitis, AD）の病態において、バリア破壊による刺激性皮膚炎の側面が注目されている。一方で、免疫細胞によるアレルギー性皮膚炎という側面も、AD の病態を理解する上で非常に重要である。しかしながら、バリア破壊以降の詳細な起炎機序は不明であり、Th2 以外の T 細胞サブセットや皮膚樹状細胞の関与が示唆されているものの、その詳細は未だ不明である。

インターロイキン 17A（Interleukin-17A, IL-17A）は主に Th17 細胞から分泌される炎症性サイトカインの一つで、慢性関節リウマチや乾癬などの疾患の病態に関与している。我々はこれまでに、AD 患者の末梢血中の Th17 細胞のパーセンテージが疾患重症度と相関すること、また急性期病変部における IL-17A 産生細胞が慢性期病変部や健常皮膚と比較して増加していることを報告してきた（Koga et al. *JID*, 128, 2625–2630, 2008）。このことから、IL-17A は AD の病態に関与していることが示唆されるが、その詳細なメカニズムは不明であった。そこで、本研究では AD における IL-17A の果たす役割を検討することを目的とし、IL-17A 欠損マウス、マウス AD モデルを用いて検討を行った。

A. 研究目的

アトピー性皮膚炎（Atopic Dermatitis, AD）は幼少期に始まり、顔面などの特徴的な部位に皮疹を生じ、掻痒を伴い慢性の経過をとる湿疹病変と定義される。近年バリア異常による刺激性皮膚炎の側面が強調され始めている一方、病変部での Th2 の活性化による好酸球増多・高 IgE 血症を伴うことが多く、アレルギー性炎症の性格も持ち合わせている。しかしながら、バリア破壊以降の詳細な起炎機序は不明であり、Th2 以外の T 細胞サブセットや皮膚樹状細胞の関与が示唆されているものの、その詳細は未だ不明である。

インターロイキン 17A（Interleukin-17A, IL-17A）は主に Th17 細胞から分泌される炎症性サイトカインの一つで、慢性関節リウマチや乾癬などの疾患の病態に関与している。Th17 細胞が病態の中核を成しているとされる乾癬とは異なり、AD における Th17 細胞、IL-17A 産生細胞の関与については不明であった。我々はこれまでに、AD 患者の末梢血中の Th17 細胞のパーセンテージが疾患重症度と相関すること、また急性期病変部における IL-17A 産生細胞が慢性期病変部や健常皮膚と比較して増加していることを報告してきた（Koga et al. *JID*, 128, 2625–2630, 2008）。このことから、IL-17A はアトピー性皮膚炎の病態に関与していることが示唆されるが、その詳細なメカニズムは不明であった。

そこで、本研究では AD における IL-17A の果たす役割を、マウス AD モデルおよび IL-17A 欠損マウスを用いて検討することを目的とする。

B. 研究方法

IL-17A 欠損マウスと野生型マウスにマウス AD モデルを適用し、IL-17A の AD 病態に果たす役割を詳細に検討する。マウス AD モデルとしてハプテン反復塗布モデル、およびフィラグリン遺伝子変異を有する Flaky tail マウスを用いる。

（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、京都大学動物実験及び飼育倫理審査にて承認されたプロトコル（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

ハプテン反復塗布モデルにおいて、IL-17A 欠損マウスは野生型マウスと比較して耳介腫脹の軽減を認めた。さらに、IL-17A 欠損マウスは、組織スコアの低下、血清中の抗原特異的 IgE/IgG1 産生の低下、所属リンパ節での IL-4 産生の低下を認めた(図 1-A、B、C)。IL-17A 欠損マウスの皮膚局所では Th2 誘導に重要なケモカインである TSLP (thymic stromal lymphopoietin) や CCL17 (TARC) の産生低下を認めた。IL-17A は、*in vitro* において Th2 細胞の IL-4 産生を促進した。このことから IL-17A がハプテン反復塗布モデルにおいて Th2 誘導に促進的に作用していることが示唆された。さらに、このモデルにおける IL-17A 産生細胞をフローサイトメトリーにて解析したところ、所属リンパ節では V γ 4 陽性 $\gamma\delta$ T 細胞が、また皮膚では真皮 $\gamma\delta$ T 細胞がその主な産生源であった。次に、IL-17A 欠損マウスと flaky tail マウス(C57BL/6 にバッククロスしたもの)を交配し、flaky tail マウスでの IL-17A の果たす役割を検討した。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 (Moniaga 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、皮膚炎の軽減やクリニカルスコアの低下、血清中の IgE 産生の低下を認めた (図 2 - A、B)。

D. 考察

IL-17A はマウス AD 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。*In vitro* においても IL-17A は Th2 細胞の IL-4 産生ならびに B 細胞の IgE 産生を促進した。また、IL-17A の主な産生細胞は $\gamma\delta$ T 細胞であった。表皮での IL-17A 産生 $\gamma\delta$ T 細胞は真皮 $\gamma\delta$ T 細胞であったことから、真皮 $\gamma\delta$ T 細胞が表皮に侵入し IL-17A を産生している可能性が示唆された。

E. 結論

IL-17A はマウス AD モデルにおいて Th2 誘導に促進的に作用した。IL-17A は AD の新規治療ターゲットとなり得ることが期待される。

G. 研究発表

- 1) Sugita K, Nomura T, Ikenouchi-Sugita A, Ito T, Nakamura M, Miyachi Y, Tokura Y, Kabashima K. Influence of Th2 cells on hair cycle/growth after repeated cutaneous application of haptens. *Clin Exp Dermatol*. 2013 Nov 22.
- 2) Ono S, Nakajima S, Otsuka A, Miyachi Y, Kabashima K. Pigmented purpuric dermatitis with high expression levels of serum TARC/CCL17 and

epidermal TSLP. *Eur J Dermatol*. 2013 Oct 30.

- 3) Sugita K, Ikenouchi-Sugita A, Nakayama Y, Yoshioka H, Nomura T, Sakabe J, Nakahigashi K, Kuroda E, Uematsu S, Nakamura J, Akira S, Nakamura M, Narumiya S, Miyachi Y, Tokura Y, Kabashima K. Prostaglandin E2 is critical for the development of niacin-deficiency-induced photosensitivity via ROS production. *Sci Rep*. 2013 Oct 17;3:2973.
- 4) Otsuka A, Doi H, Egawa G, Maekawa A, Fujita T, Nakamizo S, Nakashima C, Nakajima S, Watanabe T, Miyachi Y, Narumiya S, Kabashima K. Possible new therapeutic strategy to regulate atopic dermatitis through upregulating filaggrin expression. *J Allergy Clin Immunol*. 2013 Sep 19.
- 5) Shiraishi N, Nomura T, Tanizaki H, Nakajima S, Narumiya S, Miyachi Y, Tokura Y, Kabashima K. Prostaglandin E2-EP3 axis in fine-tuning excessive skin inflammation by restricting dendritic cell functions. *PLoS One*. 2013 Jul 29;8(7):e69599.
- 6) Akagi A, Kitoh A, Moniaga CS, Fujimoto A, Fujikawa H, Shimomura Y, Miyachi Y, Kabashima K. Case of Netherton syndrome with an elevated serum thymus and activation-regulated chemokine level. *J Dermatol*. 2013 Sep;40(9):752-3.
- 7) Otsuka A, Nakajima S, Kubo M, Egawa G, Honda T, Kitoh A, Nomura T, Hanakawa S, Sagita Moniaga C, Kim B, Matsuoka S, Watanabe T, Miyachi Y, Kabashima K. Basophils are required for the induction of Th2 immunity to haptens and peptide antigens. *Nat Commun*. 2013;4:1739.
- 8) Nomura T, Kayama T, Okamura E, Ogino K, Uji A, Yoshimura N, Kikuchi T, Fujisawa A, Tanioka M, Miyachi Y, Kabashima K. Severe atopic dermatitis accompanied by autoimmune retinopathy. *Eur J Dermatol*. 2013 Apr 1;23(2):263-4.
- 9) Egawa G, Doi H, Miyachi Y, Kabashima K. Skin tape

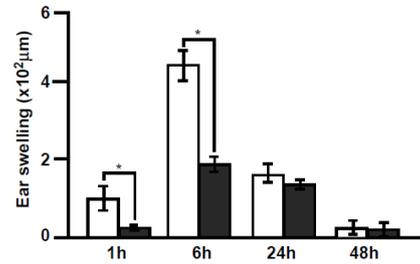
10) stripping and cheek swab method for a detection of filaggrin. *J Dermatol Sci.* 2013 Mar;69(3):263-5.

11) Moniaga CS, Jeong SK, Egawa G, Nakajima S, Hara-Chikuma M, Jeon JE, Lee SH, Hibino T, Miyachi Y, Kabashima K. Protease activity enhances production of thymic stromal lymphopoietin and basophil cumulation in flaky tail mice. *Am J Pathol.* 2013 Mar;182(3):841-51.

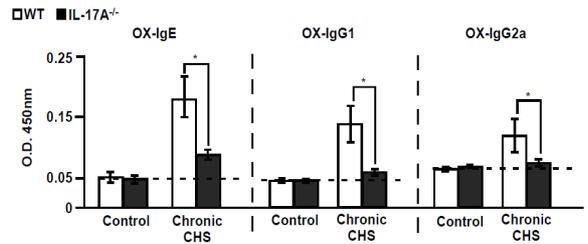
H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）
該当せず

図 1

A ハプテン反復塗布モデルにおける耳介腫脹の推移(野生型マウス、IL-17A 欠損マウス)



B 抗原特異的免疫グロブリン産生量(血清中)



C サイトカイン産生(皮膚・所属リンパ節)

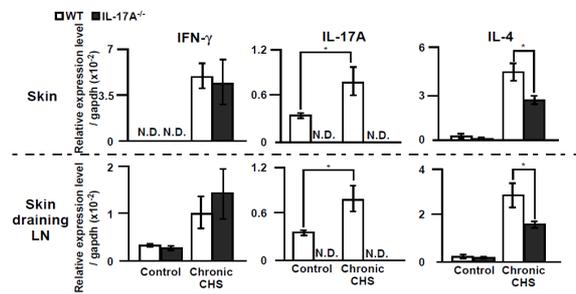


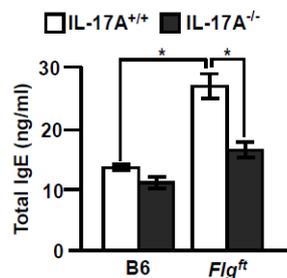
図 2

A IL-17A 欠損 Flaky tail マウスの臨床像と臨床スコア

IL-17A^{+/+} IL-17A^{-/-}



B 血清総 IgE 産生量



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

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低い。外因性と内因性のADにおいて、金属パッチテストを行った結果、内因性AD（31名）は外因性AD（55名）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、クロムもその傾向があった。また、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結果、内因性ADの汗中ニッケル濃度は外因性ADに比べ、有意に高いことが判明した。以上のことから、内因性ADの病態におけるニッケルあるいはコバルトアレルギーの関与が示唆された。

A．研究目的

アトピー性皮膚炎（AD）は「内因性」「外因性」と大別して捉えることができる。AD全体の約20%を占める「内因性」ADでは、表皮バリア機能は保たれており、血清IgEは上昇せず、ダニなどの抗原特異的IgEは有意には認められない。内因性ADは、女性に多く、金属アレルギーを有する患者が多い。AD全体の約80%を占める「外因性」ADを特徴付けるのは、フィラグリンに代表される皮膚構造蛋白質の異常、かゆみによる物理的搔破により生じる表皮バリア機能の異常、それに伴う環境中のアレルギーに対するTh2型の免疫応答である。よって血清IgE高値、ダニなどの環境中の抗原特異的IgE高値である。内因性AD患者および外因性AD患者それぞれの末梢血単核球を分離し、PMAとCaイオノフォアで刺激後、細胞内サイトカイン染色を行い、フローサイトメトリーで解析したところ、Th2サイトカイン（IL-4, IL-5）産生細胞数に有意差は無く、Th1サイトカイン（IFN- γ ）産生細胞割合は内因性AD患者で有意に高い。金属はTh1に変調した免疫応答を引き起こすことから、汗を通じた金属の排出が内因性

ADの発症要因として密接に関与していると考えられる。本研究では、ADを内因性と外因性に分け、金属アレルギーの陽性率を検討し、患者の汗中の金属イオン濃度を測定することで、内因性ADと金属アレルギーの関連を解明することを目的とした。

B．研究方法

浜松医大皮膚科通院中の戸倉が診察した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

以上のデータをもとに、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。分別の方法として、血清IgEと日本人のAD患者におい

て生活上身近で重要な抗原であるヤケヒョウダニに対する特異的 IgE を使用した。血清 IgE 200 (IU/ml) 未満、あるいは血清 IgE 200 (IU/ml) 以上 400 (IU/ml) 未満でダニ特異的 IgE が class 0 または 1 である群を内因性 AD とした。血清 IgE 400 (IU/ml) 以上、あるいは血清 IgE 200 (IU/ml) 以上 400 (IU/ml) 未満でダニ特異的 IgE が class 2 以上の群を外因性 AD とした。各患者に、ニッケル (Ni)、コバルト (Co)、クロム (Cr) について金属パッチテストを施行し、その陽性率を比較した。また、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。

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。

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 (Ni 陽性率は内因性 16.4% に対して外因性 41.9%、Co 陽性率は内因性 38.7% に対して外因性 10.9%、Cr 陽性率は内因性 22.6% に対して外因性 12.7%。いずれか 1 つ以上の金属に対して陽性を示す割合は内因性 61.3% に対して外因性 25.5%)。また、血清 IgE の値が 100 以下の群と 400 以上の群でパッチテストの陽性率を比較したところ、特に血清 IgE 100 以下の内因性 AD の群では、3 種類の金属のいずれか 1 つ以上に陽性を示す割合が 63.6% に及んだ。外因性 AD のいずれかの金属に対する陽性率が 25% であることを考慮すると、内因性 AD への金属アレルギーへの関与が強く想定された。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。

D . 考察

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。内因性 AD が女性に多い理由に、日常生活上でピアスなどの装飾品に含まれる金属に暴露される機会が男性に比べて多いことが挙げられる。表皮バリア機能正常の内因性 AD においては、タンパク抗原は角層を通過しにくく、ハプテンや金属が反応を誘発する。汗でイオン化した金属は、表皮細胞の MHC 分子のペプチド結合溝に存在するオリゴペプチドとイオン結合を生じ、ペプチドの立体構造を変化させることで抗原性を獲得することは知られていた。金属が湿疹反応を誘導する機序として、近年、Ni イオンが抗原提示細胞上の Toll-like receptor 4 (TLR4) を直接刺激する機序が示された。TLR4 により刺激された抗原提示細胞が IL-12 を産生し、ナイーブ T 細胞を Th1 産生細胞へと分化誘導し、アレルギー反応を誘導する可能性が示されている。Co も同様に直接 TLR4 を刺激する機序を有し、金属アレルギーを起こしうることが提示されている。ニッケルの体内動態は、消化管から約 1% が体内に吸収され、血中の Ni 濃度は Ni 含有食品の摂取に影響を受ける。サプリメントをはじめとした健康食品や、一般的な食品 (ピーナッツ、チョコレートなど) にも金属を多く含む場合があり、個人の習慣によっては過剰摂取になることも多いと予想される。経口摂取に由来しない抗原としては、体表に直接触れる金属は汗により大量に溶出することが知られており、汗により金属アレルギーが起こりやすくなっている可能性が考えられる。

E . 結論

内因性 AD の発症に、ニッケルとコバルトアレルギー

ーが深く関与していることが示された。金属は汗を通じて排泄されることを考えると、金属を多量に含む汗により皮疹が悪化している可能性がある。

G . 研究発表

1. 論文発表

原著論文

- 1) 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* 69: 140-147, 2013.
- 2) Sawada Y, Nakamura M, Bito T, Sakabe JI, Kabashima-Kubo R, Hino R, Kobayashi M, Tokura Y: Decreased expression of acetylcholine esterase in cholinergic urticaria with hypohidrosis or anhidrosis. *J Invest Dermatol* (in press).
- 3) Mori T, Kabashima K, Fukamachi S, Kuroda E, Sakabe J, Kobayashi M, Nakajima S, Nakano K, Tanaka Y, Matsushita S, Nakamura M, Tokura Y: D1-like dopamine receptors antagonist inhibits cutaneous immune reactions mediated by Th2 and mast cells. *J Dermatol Sci* 71: 37-44, 2013.
- 4) Sakabe JI, Yamamoto M, Hirakawa S, Motoyama A, Ohta I, Tatsuno K, Ito T, Kabashima K, Hibino T, Tokura Y: Kallikrein-related peptidase 5 functions in proteolytic processing of profilaggrin in cultured human keratinocytes. *J Biol Chem* 288: 17179-17189, 2013.
- 5) Shiraishi N, Nomura T, Tanizaki H, Nakajima S, Narumiya S, Miyachi Y, Tokura Y, Kabashima K: Prostaglandin E2-EP3 Axis in Fine-tuning Excessive Skin Inflammation by Restricting Dendritic Cell Functions. *PLoS ONE* (in press).
- 6) Yamaguchi H, Kabashima-Kubo R, Bito T, Sakabe J-I, Shimauchi T, Ito T, Hirakawa S, Hirasawa N, Ogasawara K, Tokura Y: High frequencies of positive nickel/cobalt patch tests and high sweat nickel concentration in patients with intrinsic atopic dermatitis. *J Dermatol Sci* (in press).
- 7) Sugita K, Nomura T, Ikenouchi-Sugita A, Sakabe JI, Nakahigashi K, Kuroda E, Uematsu U, Nakamura J, Akira S, Nakamura M, Narumiya S, Miyachi Y, Tokura Y, Kabashima K: Prostaglandin E2 is critical for the development of niacin-deficiency-induced photosensitivity via ROS production. *Sci Rep* (in press).
- 8) Sakabe J-I, Umayahara T, Hiroike M, Shimauchi T, Ito T, Tokura Y: Calcipotriol increases hCAP18 mRNA expression but inhibits extracellular LL37 peptide production in IL-17/IL-22-stimulated normal human epidermal keratinocytes. *Acta Derm Venereol* (in press).
- 9) Kubo A, Shiohama A, Sasaki T, Nakabayashi K, Kawasaki H, Atsugi T, Sato S, Shimizu A, Mikami S, Hideaki Tanizaki, Uchiyama M, Maeda T, Ito T, Sakabe J, Heike T, Okuyama T, Kosaki R, Kosaki K, Kudoh J, Hata K, Umezawa A, Tokura Y, Ishiko A, Niizeki H, Kabashima K, Mitsuhashi Y, Amagai M: Mutations in SERPINB7, encoding a member of the serine protease inhibitor superfamily, cause Nagashima-type palmoplantar keratosis. *Am J Hum Genet* 93: 1-12, 2013.
- 10) Sawada Y, Nakamura M, Kabashima-Kubo R, Shimauchi T, Kobayashi M, Tokura Y: Defective epidermal induction of S100A7/psoriasis associated with low frequencies of skin-infiltrating

Th17 cells in dermatophytosis-prone adult T cell leukemia/lymphoma. Clin Immunol (in press).

- 11) Ito T, Fujiyama T, Hashizume H, Tokura Y: Antihistaminic drug olopatadine downmodulates T cell chemotaxis toward CXCL10 by reducing CXCR3 expression, F-actin polymerization and calcium influx in patients with alopecia areata. J Dermatol Sci (in press).
- 12) Sugita K, Nomura T, Ikenouchi-Sugita A, Ito T, Nakamura M, Miyachi, Tokura Y, Kabashima K: Influence of Th2 cells on the hair cycle/growth after repeated cutaneous application of hapten. Clin Exp Dermatol (in press).
- 13) Ito T, Bertolini M, Funakoshi A, Ito N, Takayama T, Biro T, Paus R, Tokura Y: Birth, life, and death of the MAGE3 hypothesis of alopecia areata pathobiology. J Dermatol Sci (in press).
- 14) Fujiyama T, Kawakami C, Suigita K, Kubo-Kabashima R, Sawada Y, Hino R, Nakamura M, Shimauchi T, Ito T, Kabashima K, Hashizume H, Tokura Y: Increased frequencies of Th17 cells in drug eruptions. J Dermatol Sci (in press).

総説

- 15) Bito T, Sawada Y, Tokura Y: Pathogenesis of cholinergic urticaria in relation to sweating. Allergol Int 61: 539-544, 2012.
- 16) Fujiyama T, Tokura Y: Clinical and histopathological differential diagnosis of eosinophilic pustular folliculitis. J Dermatol 40: 419-423, 2013.

2. 学会発表

- 1) Tokura Y: Effects of Th17-derived cytokines on keratinocyte production of antimicrobial peptides in psoriasis and adult T cell leukemia / lymphoma. The 23rd Annual Meeting of the Korean Society for Investigative Dermatology. 2013.3.22, 2013. Seoul, Korea.

- 2) Tokura Y: Adult-cell leukaemia / Lymphoma: Impaired innate immunity of the skin. CUTANEOUS LYMPHOMAS (2nd World Congress of Cutaneous Lymphomas, 6th International Symposium on the Biology and Immunology of Cutaneous Lymphoma) 2013.2.7. Berlin, Germany.
- 3) Tokura Y: Profilaggrin processing and metal allergy: Novel aspects of atopic dermatitis. International Immunodermatology Symposium(Post-IID 2013). 2013.5.13. Heidelberg, Germany.

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 片山一朗 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 講師

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。またアーテミン投与と暑熱環境、熱刺

激が中枢神経の興奮に与える影響を MRI によって検討した。

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（図3）。

アーテミンは背部皮膚に投与したにも関わらずマウスは全身の熱過敏を来したことから、皮膚への限局的なアーテミンの蓄積が中枢神経の増感を介して全身の温度過敏を誘導しているのではないかと考えた（図3）。実際に背部皮膚限局的にアーテミンを投与したマウスを室温あるいは暑熱環境下におき、脳の興奮状態を MRI にて評価した（図4）。アーテミン投与マウスは室温でも中枢神経が増感しており、その興奮程度は暑熱環境下でより顕著になった。

D. 考察

アーテミンは皮膚の温度過敏および痒みの誘発に
 与すると考えられた。またアーテミンの皮膚にお
 ける限局的な蓄積は中枢神経の増感を介して全身の
 「温もるとかゆい」を来すものと想像された。

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。

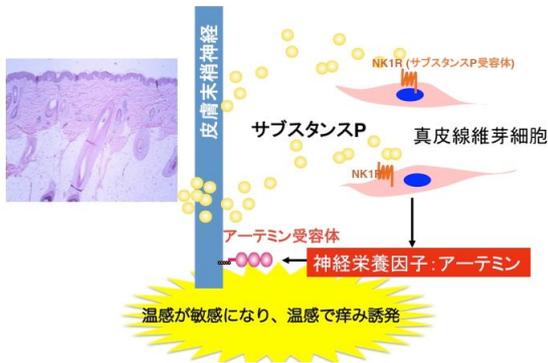


図1：真皮線維芽細胞からサブスタンス p によってアーテミン
 が分泌される。

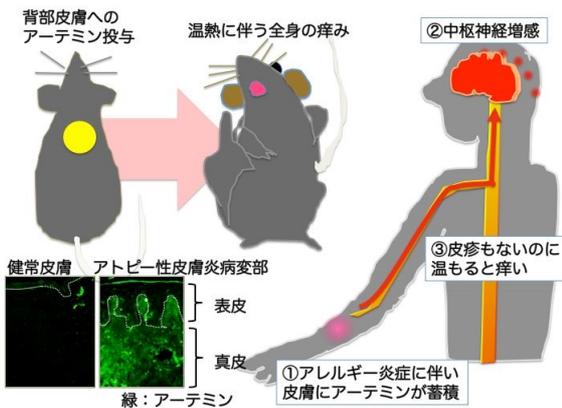


図2：アトピー性皮膚炎病変部の真皮内にアーテミンの沈着
 を認める。アーテミン皮膚投与マウスは全身の温度過敏をきた
 ことから、アーテミンは中枢神経の増感を介して皮疹も
 ないのに「温もると痒い」を引き起こす可能性が考えられた。

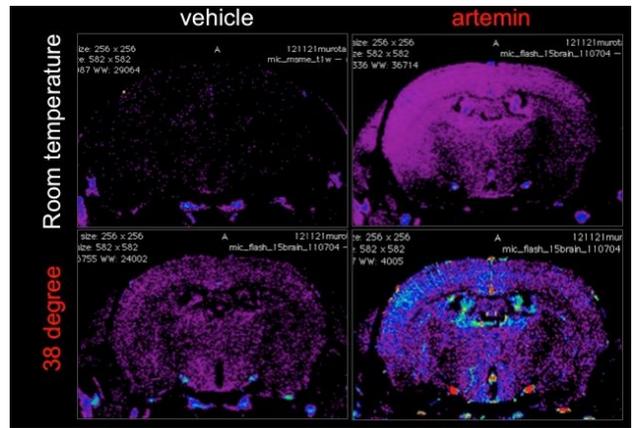


図3：マウスの中脳の興奮の程度をMRIにて評価した。興奮
 した領域は enhance して確認できる。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 1: Murota H, Itoi S, Terao M, Matsui S, Kawai H, Satou Y, Suda K, Katayama I. Topical cholesterol treatment ameliorates hapten-evoked cutaneous hypersensitivity by sustaining expression of 11 β -HSD1 in epidermis. *Exp Dermatol.* 2013 Nov 13. doi: 10.1111/exd.12284
- 2) 2: Takahashi A, Murota H, Matsui S, Kijima A, Kitaba S, Lee JB, Katayama I. Decreased Sudomotor Function is Involved in the Formation of Atopic Eczema in the Cubital Fossa. *Allergol Int.* 2013 Sep 25.
- 3) 3: Itoi S, Terao M, Murota H, Katayama I. 11 β -Hydroxysteroid dehydrogenase 1 contributes to the pro-inflammatory response of keratinocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013 Oct 18;440(2):265-70.
- 4) 4: Inoue T, Yamaoka T, Murota H, Yokomi A, Tanemura A, Igawa K, Tani M, Katayama I. Effective Oral Psoralen Plus Ultraviolet A Therapy for Digital Ulcers with Revascularization in Systemic Sclerosis. *Acta Derm Venereol.* 2013 Aug 8. doi: 10.2340/00015555-1678.
- 5) 5: Matsui S, Murota H, Takahashi A, Yang L, Lee JB, Omiya K, Ohmi M, Kikuta J, Ishii M, Katayama I. Dynamic Analysis of Histamine-Mediated Attenuation of Acetylcholine-Induced Sweating via

- GSK3 β Activation. *J Invest Dermatol.* 2013 Jul 30. doi: 10.1038/jid.2013.323.
- 6) Murota H, El-Latif MA, Tamura T, Katayama I. Olopatadine Hydrochloride Decreases Tissue Interleukin-31 Levels in an Atopic Dermatitis Mouse Model. *Acta Derm Venereol.* 2013 Jul 1. doi: 10.2340/00015555-1648.
- 7) Nakajima K, Terao M, Takaishi M, Kataoka S, Goto-Inoue N, Setou M, Horie K, Sakamoto F, Ito M, Azukizawa H, Kitaba S, Murota H, Itami S, Katayama I, Takeda J, Sano S. Barrier abnormality due to ceramide deficiency leads to psoriasiform inflammation in a mouse model. *J Invest Dermatol.* 2013 Nov;133(11):2555-65.
- 8) Hanafusa T, Matsui S, Murota H, Tani M, Igawa K, Katayama I. Increased frequency of skin-infiltrating FoxP3+ regulatory T cells as a diagnostic indicator of severe atopic dermatitis from cutaneous T cell lymphoma. *Clin Exp Immunol.* 2013 Jun;172(3):507-12.
- 9) Tanaka R, Fukushima S, Sasaki K, Tanaka Y, Murota H, Matsumoto T, Araki T, Yasui T. In vivo visualization of dermal collagen fiber in skin burn by collagen-sensitive second-harmonic-generation microscopy. *J Biomed Opt.* 2013 Jun;18(6):61231.
- 10) Yasui T, Yonetsu M, Tanaka R, Tanaka Y, Fukushima S, Yamashita T, Ogura Y, Hirao T, Murota H, Araki T. In vivo observation of age-related structural changes of dermal collagen in human facial skin using collagen-sensitive second harmonic generation microscope equipped with 1250-nm mode-locked Cr:Forsterite laser. *J Biomed Opt.* 2013 Mar;18(3):031108.
- 11) Terao M, Itoi S, Murota H, Katayama I. Expression profiles of cortisol-inactivating enzyme, 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase-2, in human epidermal tumors and its role in keratinocyte proliferation. *Exp Dermatol.* 2013 Feb;22(2):98-101. doi: 10.1111/exd.
- 12) Murota H, Katayama I. Reply: To PMID 22770266. *J Allergy Clin Immunol.* 2013 Mar;131(3):928-9.
- 13) Yasui T, Yonetsu M, Tanaka R, Tanaka Y, Fukushima S, Yamashita T, Ogura Y, Hirao T, Murota H, Araki T. In vivo observation of age-related structural changes of dermal collagen in human facial skin using collagen-sensitive second harmonic generation microscope equipped with 1250-nm mode-locked Cr:Forsterite laser. *J Biomed Opt.* 2013 Mar;18(3):31108.
- (日本語論文)
- 1) 室田 浩之：【アトピー性皮膚炎の病態と治療】アトピー性皮膚炎の悪化因子対策. *臨床免疫・アレルギー科 臨床免疫・アレルギー科* (1881-1930)60巻3号Page302-308
- 2) 木嶋 晶子, 室田 浩之, 熊谷 一代, 瀧原 圭子, 片山 一郎 思春期におけるアレルギー疾患に関する実態調査：CAMPUS HEALTH(1341-4313)50巻1 Page313-315(2013.03)
- 3) 室田浩之他．【アトピー性皮膚炎治療の新たな展開】汗とアトピー性皮膚炎(解説/特集)．*臨床免疫・アレルギー科*(1881-1930)59巻2号 Page187-190(2013.02)
- 4) 木嶋晶子、室田浩之、片山一郎 【総合アレルギー診療を目指して】《アレルギー疾患の病因・病態における最近の話題》 思春期アレルギー疾患の悪化因子とその対策．*Modern Physician*(0913-7963)33巻2号 Page189-192(2013.02)
- 2.学会発表
- 1) 木嶋晶子、室田浩之、他．思春期におけるアレルギー疾患に関する実態調査．第25回アレルギー学会春季臨床大会、2013、5
- 2) 小野慧美、室田浩之他．アトピー性皮膚炎患者を対象とした発汗に関する実態調査アンケート 第25回アレルギー学会春季臨床大会、2013、5
- 3) 永田 由子, 中野 真由子, 松井 佐起, 木嶋 晶子, 高橋 彩, 室田 浩之, 片山 一郎アトピー性

皮膚炎におけるネコアレルギーとイヌアレルギー
の影響第25回アレルギー学会春季臨床大会、
2013,5

- 4) 中野真由子、室田浩之他．アトピー性皮膚炎の
診断基準から見た高齢者紅皮症の臨床的検討と
問題点 日本皮膚科学会総会 2013,5
- 5) 室田浩之 アトピー性皮膚炎の悪化因子対策
汗と温度の指導箋 日本皮膚科学会総会
2014,5
- 6) 室田浩之 アトピー性皮膚炎 up-to-date アトピー
性皮膚炎と汗 発汗は増悪因子か？ 日本臨
床皮膚科学会 2013 5

H . 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）
なし

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 -

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 C57BL/6 マウスを特異 IgE で繰り返し授動感作することによって IgE トランスジェニックマウスと同様に痒疹病変を誘導することに成功した。また STAT6 欠損マウスでは wild-type (C57BL/6) マウスに比して痒疹反応が増強した。反応の増強は wild-type マウスに STAT6siRNA を投与することによっても確認された。STAT6 を介した Th2 型サイトカインシグナルは病変形成に抑制的に作用していると思われる。

A．研究目的

痒疹は代表的な難治性そう痒性皮膚疾患であり、慢性的な痒みは患者の QOL を大きく損なう。しかしその病態は全く不明である。われわれは昨年 IgE トランスジェニックマウス(IgE-Tg マウス)を用いて痒疹モデルを樹立した。今回は wild-type (WT) マウスにおいて痒疹反応の誘導を試みるとともに、痒疹病変における Th2 型サイトカインの意義について解析した。

B．研究方法

BALB/c マウスおよび C57BL/6、さらに STAT6 欠損マウス(STAT6 (-/-))を TNP(trinitrophenyl)-特異 IgE にて繰り返し授動感作し、同時に TNP-OVA(ovalbumin)を反復皮下（耳介）または皮内（背部皮膚）投与した。

C．研究結果

Day 0, 3, 6 に TNP-IgE を C57BL/6 マウスの腹腔内に投与し、TNP-OVA を Day 1,4,7 に耳介に反復皮下投与したところ持続性の耳介腫脹反応がみられた。組織学的には表皮肥厚、単核球、好酸球、好塩基球の浸潤からなっており、痒疹反応に相当すると思われたが、反応の強さは IgE-Tg マウスに匹敵するほどではなかった。また BALB/c マウスではさらに弱い反応しか得られなかった。次に Th2 型サイトカインの関与を検討するため、STAT6(-/-)を用いて痒疹反応を

誘導したところ、意外なことに WT (C57BL/6)マウスに比してその耳介腫脹は大きく増強していた。同様の病変を背部皮膚を用いて行ったが、やはり STAT6 (-/-)マウスでは WT マウスよりもより明瞭な結節性病変が形成された。また WT マウスで誘導される痒疹病変は STAT6siRNA の局所投与によっても増強した。

D．考察

今回の研究で、C57BL/6 マウスに特異 IgE の繰り返し投与することで、IgE-Tg マウスの場合と同様に痒疹反応を誘導することができた。痒疹反応モデルでは Th2 型優位の免疫反応が起こっていることが昨年の研究でわかっており、このことはヒト痒疹病変においても確認されている。したがって当初われわれは痒疹病変の形成に Th2 型サイトカインが重要であると予測した。しかし意外なことに STAT6(-/-)マウスや STAT6siRNA 投与時における皮膚反応は増強した。このことは STAT6 を介した Th2 型サイトカインシグナルは病変形成に対して抑制的に作用していることを示している。同時に Th2 型サイトカインを標的とした治療法は病変を悪化させるリスクがあることを示唆する結果となった。今後は Th2 型サイトカインによる炎症抑制作用の機序の詳細を検討する予定である。

E . 結論

マウス痒疹反応モデルにおいて Th2 型サイトカインは抑制的に作用していると考えられた。

G . 研究発表

1.論文発表

- 1) Satoh T, Ikeda H, Yokozeki H. Acrosyringal involvement of palmoplantar lesions of eosinophilic pustular folliculitis. Acta Derm Venereol 93: 99, 2013.
- 2) Nishizawa A, Satoh T, Yokozeki H. Close association between metal allergy and nail lichen planus: detection of causative metals in nail lesions. J Eur Acad Derm Venereol 27: 231-234, 2013.
- 3) 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 N-Q, Weisshaar E, Yosipovitch G, Staonder S. Verbalizing extremes of the visual analogue scale for pruritus- a consensus statement-. Acta Derm-Venereol 93: 214-215, 2013.
- 4) Takahashi E, Yokozeki H, Satoh T. Atrophic fibrous hamartoma of infancy with epidermal and adnexal changes. J Dermatol 40: 212-214, 2013.
- 5) Kato K, Satoh T, Tanaka-Fujimoto T, Ueda N, Yokozeki H. IgG4-positive cells in skin lesions of cutaneous and systemic plasmacytosis. Eur J Dermatol 23: 255-256, 2013.
- 6) Inazawa M, Satoh T, Yokozeki H. Hyperkeratotic variant of inflammatory disseminated superficial porokeratosis with lichenoid reaction and extensive amyloid deposition. Int J Dermatol (doi: 10.1111/j.1365-4632.2012.05506.x.in press).
- 7) Kataoka N, Satoh T, Hirai A, Saeki K, Yokozeki H. Indomethacin inhibits eosinophil migration to prostaglandin D2: therapeutic potential of CRTH2 desensitization for eosinophilic pustular folliculitis. Immunology 140: 78-86, 2013.
- 8) Inoue R, Sohara E, Rai T, Satoh T, Yokozeki H, Sasaki S, Uchida S. Immunolocalization and translocation of aquaporin-5 water channel in sweat glands. J Dermatol Sci 70: 26-33, 2013.
- 9) Saeki K, Satoh T, Yokozeki H. $\alpha(1,3)$ fucosyltransferases-IV and VII are essential for initial recruitment of basophils in chronic allergic inflammation. J Invest Dermatol 133: 2161-2169, 2013.
- 10) Higuchi T, Satoh T, Yokozeki H. Using CD40 ligand expression to detect antigen-specific T cells in patients with drug eruptions. Acta Derm Venereol (doi: 10.2340/00015555-1617).
- 11) Takehara Y, Satoh T, Nishizawa A, Saeki K, Nakamura M, Masuzawa M, Kaneda Y, Katayama I, Yokozeki H. Anti-tumor effects of inactivated Sendai virus particles with an IL-2 gene on angiosarcoma. Clin Immunol 149: 1-10, 2013.
- 12) 佐藤貴浩：好酸球性血管性浮腫の病態と治療 診る・わかる・治す 皮膚科臨床アセット：16 蕁麻疹・血管性浮腫パーフェクトマスター 総編集 古江増隆 中山書店 東京 pp280-282, 2013
- 13) 佐藤貴浩：皮膚癢痒症 高齢者によくみられる皮膚疾患アトラスー鑑別と治療のポイントー 編集 横関博雄 片山一朗 医薬ジャーナル 大阪 pp12-13, 2013
- 14) 佐藤貴浩：多形慢性痒疹 高齢者によくみられる皮膚疾患アトラスー鑑別と治療のポイントー 編集 横関博雄 片山一朗 医薬ジャーナル 大阪 pp41-43, 2013

2.学会発表

- 1) Hashimoto T, Satoh T, Yokozeki H. Inhibition of STAT6 signals exacerbates IgE-mediated, basophil-dependent prurigo-like reactions. International Investigative Dermatology 2013. Edinburgh, 11, May 2013.
- 2) Hirai A, Kataoka N, Satoh T, Yokozeki H. Indomethacin inhibits eosinophil migration to prostaglandin D2: Proposal of a mechanism of action for eosinophilic pustular folliculitis. International Investigative Dermatology 2013.

Edinburgh, 10, May 2013.

(教育講演)

- 3) 佐藤貴浩：好塩基球と皮膚炎症 第3回 Saitama Allergy Workshop (川越市) 7月11日, 2013
- 4) 佐藤貴浩：Pathological etiology and therapeutic approaches for prurigo Invited lecture 国際かゆみシンポジウム 大阪市 10月26日, 2013

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

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

研究協力者氏名 井川 健 東京医科歯科大学皮膚科 講師

研究責任者氏名 横関博雄 東京医科歯科大学皮膚科 教授

研究要旨 アトピー性皮膚炎は多因子性の疾患と考えられるが、その中には遺伝的要因も含まれていると考えられている。そのような遺伝的要因のひとつにフィラグリン遺伝子の変異がある。本研究においては、その変異の有無によって角化細胞にどのような変化が生じるのかを、ヒト iPS 細胞を利用して検討することを考え、その研究を行うためのシステムを構築した。

A．研究目的

皮膚疾患の多くは多因子性の疾患であると考えられ、遺伝的要因もそれに含まれると考えられる。これまでもアトピー性皮膚炎におけるフィラグリン遺伝子の変異などの報告がなされているが、それらの変異が実際の病態形成にどのような役割を果たしているのかをヒトの系で詳細に検討できるシステムはなかった。そこで、我々は、ヒト iPS 細胞を利用して、このような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考え、まず、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うこととした。

B．方法

目的を達成するために下記のような手順を踏むこととした。

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 (TAL Effector Nucleases) を利用するシステムを構築。

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。

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)。

のヒト iPS 細胞を角化細胞に分化させ、検討を行う。

なお、使用するヒト iPS 細胞は研究協力者により、piggybac トランスポゾンシステムを利用して作製し、transgene-free かつ mutation-free であることが確認されたものを使用する。

C．結果

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。

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 ならびに E . 結論

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。

G . 研究発表

1: Inoue T, Yamaoka T, Murota H, Yokomi A, Tanemura A, Igawa K, Tani M, Katayama I. Effective Oral Psoralen Plus Ultraviolet A Therapy for Digital Ulcers with Revascularization in Systemic Sclerosis. Acta Derm Venereol. 2013 Aug 8.

2: Takehara Y, Satoh T, Nishizawa A, Saeki K, Nakamura M, Masuzawa M, Kaneda Y, Katayama I, Yokozeki H. Anti-tumor effects of inactivated Sendai virus particles with an IL-2 gene on angiosarcoma. Clin Immunol. 2013 Oct;149(1):1-10.

3: Saeki K, Satoh T, Yokozeki 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.

4: Hanafusa T, Matsui S, Murota H, Tani M, Igawa K, Katayama I. Increased frequency of skin-infiltrating FoxP3⁺ regulatory T cells as a diagnostic indicator of severe atopic dermatitis from cutaneous T cell lymphoma. Clin Exp Immunol. 2013 Jun;172(3):507-12.

5: Kataoka N, Satoh T, Hirai A, Saeki K, Yokozeki H. Indomethacin inhibits eosinophil migration to prostaglandin D₂ : therapeutic potential of CRTH2 desensitization for eosinophilic pustular folliculitis. Immunology. 2013 Sep;140(1):78-86.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
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(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ポリペプチドウイルス粒子表面に有する高機能型HVJ-Eの開発を行い、その作用機構を解析した。

A．研究目的

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ポリペプチドウイルス粒子表面に有する高機能型HVJ-Eの開発を行い、その作用機構を解析した。

B．研究方法

一本鎖IL12ポリペプチドとHVJ-Eを併用することにより、マウス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。次にIL12蛋白質をウイルス粒子表面に有する高機能型HVJ-Eの構築を試みた。

（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

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scIL12ではIFN- γ の産生は検出できなかった。しかしscIL12(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。細胞から産生されたHVJ由来のHVJ-E（膜融合活性なし）と野生型のHVJ-E（融合活性あり）をそれぞれ別々にscIL12とともに脾臓細胞に加えると、どちらのHVJ-EでもIFN- γ の産生増強を認めた。次にscIL12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 (1.5×10^7 粒子)を脾臓細胞(2×10^5 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。マウス樹状細胞に加えると24時間で40 pg/mlのIFN- γ が分泌された。IL12結合型HVJ-Eに含まれるIL12と同じ量のZZ-scIL12やscIL12ではIFN- γ はほとんど検出されなかった。著明に抑制された。

D．考察

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。

E．結論

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。

G．研究発表

1. 論文発表

- 1) Tanemura A, Kiyohara E, Katayama I, Kaneda Y. Recent advances and developments in the antitumor effect of the HVJ envelope vector on malignant melanoma: from the bench to clinical application. Cancer Gene Ther. In press..

2. 学会発表

- 1) 金田安史: 第19回日本遺伝子治療学会 理事長講演 “What will be needed for gene therapy in Japan?” 2013/07/04 岡山

H．知的財産権の出願・登録状況

なし

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

研究分担者氏名 井川 健 東京医科歯科大学皮膚科 講師
研究協力者氏名 野老翔雲 東京医科歯科大学皮膚科 助教

研究要旨 アトピー性皮膚炎(AD)は様々な遺伝的・環境的要因が複雑に絡み合って発症する疾患であるが、近年いくつかの subgroup の集まりとする考え方が報告されるようになった。代表的には血中 IgE 値により分類する方法がある。今回我々はアトピー性皮膚炎を IgE の低い内因性と IgE の高い外因性の病型に分類し、アトピー性皮膚炎でみられる皮膚症状、特に痒疹反応などを含めた難治性皮膚症状との関連を詳細に検討した。Dennie-Morgan fold、紅皮症、頸部色素沈着、結節性痒疹などの難治性皮膚症状は外因性 AD で多くみられ、今後それらの病変の発症メカニズムを検討していくことでターゲットを絞った新規治療法の開発につながっていくことが期待される。

A. 研究目的

アトピー性皮膚炎を IgE の低い内因性と IgE の高い外因性の病型に分類し、アトピー性皮膚炎でみられる皮膚症状、特に痒疹反応などを含めた難治性皮膚症状との関連を詳細に検討する。本研究にはフィラグリン遺伝子変異の有無や皮膚でのプロテアーゼ発現の有無についても含まれる。このような検討を多施設にわたって大規模に行った例はなく、今後アトピー性皮膚炎の病型と難治性皮膚病変の関連が明らかになれば、そのような病変の発症メカニズムを検討していく上で大きな利点となり、ひいては、ターゲットを絞った新規治療法の開発につながっていくことが期待される。

B. 研究方法

日本皮膚科学会アトピー性皮膚炎ガイドラインの診断基準を満たし、東京医科歯科大学、浜松医科大学、京都大学、大阪大学、防衛医科大学の皮膚科外来通院

中の AD 患者のうち同意が得られたものを対象とした。AD を IgE <200 の内因性と IgE >200 の外因性の病型に分類し、痒疹等の難治性皮膚病変、血中 IgE 抗体値などの各種検査値や金属アレルギー（Ni、Co、Cr）、フィラグリン遺伝子変異の有無等について調査を行った。

C. 研究成果

対象は 168 例が登録された。内因性 AD19 例（男 5、女 14）、外因性 AD149 例（男 90、女 59）。難治性皮膚症状としては Dennie-Morgan fold、紅皮症、頸部色素沈着、結節性痒疹が外因性 AD に多くみられた。内因性 AD では金属パッチテスト陽性例が多くみられたが、逆にフィラグリン遺伝子変異例は少なかった。

D. 考察

IgE 値に基づいて内因性、外因性の病型に AD を分け

たとき、臨床症状に違いがみられた。それらの違いには金属アレルギーやフィラグリン遺伝子変異による皮膚バリア機能が関係している可能性が予測され、今後さらなる検討が必要である。

E. 結論

Dennie-Morgan fold、紅皮症、頸部色素沈着、結節性痒疹などの難治性皮膚症状は外因性 AD で多くみられた。今後それらの病変の発症メカニズムを検討していくことでターゲットを絞った新規治療法の開発につながっていくことが期待される。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Inoue T, Yamaoka T, Murota H, Yokomi A, Tanemura A, Igawa K, Tani M, Katayama I. Effective Oral Psoralen Plus Ultraviolet A Therapy for Digital Ulcers with Revascularization in Systemic Sclerosis. Acta Derm Venereol. 2013 Aug 8.
2. Hanafusa T, Matsui S, Murota H, Tani M, Igawa K, Katayama I. Increased frequency of skin-infiltrating FoxP3+ regulatory T cells as a diagnostic indicator of severe atopic dermatitis from cutaneous T cell lymphoma. Clin Exp Immunol. 2013 Jun;172(3):507-12.

2. 学会発表

なし。

H. 知的財産出願・登録状況

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
○佐藤貴浩	2.紅斑の発症メカニズム	古江増隆 横関博雄	皮膚科臨床アセット18「紅班症と痒疹群」	中山書店.	東京	2013	p7-11
○高山かおる	17.成人Still病に伴う紅斑の症状・診断・治療	古江増隆 横関博雄	皮膚科臨床アセット18「紅班症と痒疹群」	中山書店.	東京	2013	p91-95
○岡 恵子	27.点状紅斑の概念・病態・診断・治療	古江増隆 横関博雄	皮膚科臨床アセット18「紅班症と痒疹群」	中山書店.	東京	2013	p149-152
○沢田泰之	28.手掌紅斑の概念・病態・診断・治療	古江増隆 横関博雄	皮膚科臨床アセット18「紅班症と痒疹群」	中山書店.	東京	2013	p153-157
○佐藤貴浩	30.痒疹の定義・分類	古江増隆 横関博雄	皮膚科臨床アセット18「紅班症と痒疹群」	中山書店.	東京	2013	p166
○宇賀神つかさ	31.痒疹発症における好塩基球の役割.	古江増隆 横関博雄	皮膚科臨床アセット18「紅班症と痒疹群」	中山書店.	東京	2013	p167-171
○佐藤貴浩	32.急性痒疹・亜急性痒疹の概念・病態・症状.	古江増隆 横関博雄	皮膚科臨床アセット18「紅班症と痒疹群」	中山書店.	東京	2013	p172-173
○西澤 綾	33.急性痒疹・亜急性痒疹の診断・治療・生活指導.	古江増隆 横関博雄	皮膚科臨床アセット18「紅班症と痒疹群」	中山書店.	東京	2013	p174-178
○横関博雄	34.慢性痒疹の定義・分類・症状・病理・診断・鑑別診断	古江増隆 横関博雄	皮膚科臨床アセット18「紅班症と痒疹群」	中山書店.	東京	2013	p179-183
○佐藤貴浩	第1章 各疾患の診断と治療. I.湿疹と類症. 1.皮膚癢痒症	横関博雄 片山一朗	高齢者によくみられる皮膚疾患アトラス	医薬ジャーナル	東京	2013	p12.
○高山かおる	第1章 各疾患の診断と治療. I.湿疹と類症. 2.接触皮膚炎	横関博雄 片山一朗	高齢者によくみられる皮膚疾患アトラス	医薬ジャーナル	東京	2013	p14.
○井川 健	第1章 各疾患の診断と治療. I.湿疹と類症. 6.ピダール苔癬.	横関博雄 片山一朗	高齢者によくみられる皮膚疾患アトラス	医薬ジャーナル	東京	2013	p28.
○佐藤貴浩	第1章 各疾患の診断と治療. I.湿疹と類症. 9.多形慢性痒疹.	横関博雄 片山一朗	高齢者によくみられる皮膚疾患アトラス	医薬ジャーナル	東京	2013	p41-43.

○沢田泰之	第1章 各疾患の診断と治療. III.物理的障害および薬剤による疾患 1.下腿潰瘍、静脈瘤、慢性色素性紫斑	横関博雄 片山一朗	高齢者によくみられる皮膚疾患アトラス	医薬ジャーナル	東京	2013	p70-78.
○高山かおる	第1章 各疾患の診断と治療. III.物理的障害および薬剤による疾患 6.胼胝・鶏眼	横関博雄 片山一朗	高齢者によくみられる皮膚疾患アトラス	医薬ジャーナル	東京	2013	p97-99.
○西澤 綾	第1章 各疾患の診断と治療. III.物理的障害および薬剤による疾患 8.扁平苔癬	横関博雄 片山一朗	高齢者によくみられる皮膚疾患アトラス	医薬ジャーナル	東京	2013	p104-107.
○高山かおる	第1章 各疾患の診断と治療. IV.老化に伴う皮膚変化 6.爪の変化	横関博雄 片山一朗	高齢者によくみられる皮膚疾患アトラス	医薬ジャーナル	東京	2013	p127-129.
○高河慎介・沢田泰之	第1章 各疾患の診断と治療. VIII.デルマトローム 1.糖尿病性皮膚症	横関博雄 片山一朗	高齢者によくみられる皮膚疾患アトラス	医薬ジャーナル	東京	2013	p206-211.
○井川 健	第2章 外用剤の種類と使い方. I.ステロイド外用剤.	横関博雄 片山一朗	高齢者によくみられる皮膚疾患アトラス	医薬ジャーナル	東京	2013	P224-230.
○井川 健	肉芽腫性皮膚疾患サルコイドーシス・他の肉芽腫. V.リポイド類壊死症. 3 8. リポイド類壊死症の治療と経過.	横関博雄 片山一朗	皮膚科臨床アセット14	中山書店	東京	2013	P221-223.
椋島健治	アレルギー学への招待状	椋島健治	実験医学増刊・アレルギー疾患研究	羊土社	東京都	2013年	2698-2705
宮地良樹	保湿薬の使い方	五十嵐敦之、宮地良樹、清水宏	一冊で分かる最新皮膚科治療、皮膚科サブスペシャリティシリーズ	文光堂	東京都	2013年	13-16
宮地良樹	抗ヒスタミン薬でかゆみを止める意義は？	宮地良樹	抗ヒスタミン薬:達人の処方箋	メディカルレビュー社	東京	2013年	24-25
宮地良樹	抗ヒスタミン薬の効果と眠気は相関するの？	宮地良樹	抗ヒスタミン薬:達人の処方箋	メディカルレビュー社	東京	2013年	38-39
宮地良樹	なぜ血が出るまで掻いても掻破をやめないの？	宮地良樹	抗ヒスタミン薬:達人の処方箋	メディカルレビュー社	東京	2013年	70-71
戸倉新樹	皮膚科疾患 最近の動向	山口徹, 北原光夫, 福井次矢	今日の治療指針2013年版	医学書院	東京	2013	pp1024-1026
織茂弘志, 戸倉新樹	皮膚科用薬	高久史磨(監), 堀正二, 菅野健太郎, 門脇孝, 乾賢一, 林昌洋	治療薬ハンドブック2013	じほう	東京	2013	pp240-243
戸倉新樹	Gibertばら色靴糠疹	瀧川雅治, 渡辺晋一	皮膚疾患最新の治療2013-2014	南江堂	東京	2013	P142

島内隆寿, 戸倉新樹	FILE008 誤診? アトピー性皮膚炎→本当は悪性リンパ腫(禁状息肉症)	宮地良樹	皮膚科フォトニクスシリーズ 誤診されている皮膚疾患	メディカルレビュー社	東京	2013	pp44-47
戸倉新樹	紅皮症	富田靖(監), 橋本隆, 岩月啓氏, 照井正	標準皮膚科学第10版	医学書院	東京	2013	pp119-123
戸倉新樹	皮膚悪性腫瘍/悪性リンパ腫とその類症	富田靖(監), 橋本隆, 岩月啓氏, 照井正	標準皮膚科学第10版	医学書院	東京	2013	pp380-398
戸倉新樹	抗ヒスタミン薬の抗炎症作用はどのようなものが期待できるのか?	宮地良樹	抗ヒスタミン薬~達人の処方箋Rx~	メディカルレビュー社	東京	2013	pp68-69
戸倉新樹	新しい血圧のお薬で光線過敏症が起こると聞きました。私の降圧薬は大丈夫でしょうか?	宮地良樹	続・患者さんから浴びせられる皮膚疾患100の質問	メディカルレビュー社	東京	2013	pp84-85
戸倉新樹	職業性皮膚疾患の定義は?	(日本職業・環境アレルギー学会(監))	職業性アレルギー疾患診療ガイドライン2013	協和企画	東京	2013	p63
戸倉新樹	職業性皮膚疾患の分類は?	日本職業・環境アレルギー学会(監))	職業性アレルギー疾患診療ガイドライン2013	協和企画	東京	2013	pp63-64
戸倉新樹	職業性刺激性接触皮膚炎とは?	日本職業・環境アレルギー学会(監))	職業性アレルギー疾患診療ガイドライン2013	協和企画	東京	2013	pp64-65
戸倉新樹	接触皮膚炎□病態と治療戦略が見える□	田中良哉	免疫・アレルギー疾患イラストレイテッド	羊土社	東京	2013	pp332-339

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
Takahashi E, Yokozeki H, Satoh T.	Atrophic fibrous hamartoma of infancy with epidermal and adnexal change.	<i>J Dermatol.</i>	40(3)	212-4	2013
Nishizawa A, Satoh T, Yokozeki H.	Close association between metal allergy and nail lichen planus: detection of causative metals in nail lesions.	<i>J Eur Acad Dermatol Venereol.</i>	27(2)	e231-4	2013
Satoh T, Ikeda H, Yokozeki H.	Acrosyringeal Involvement of Palmoplantar Lesions of Eosinophilic Pustular Folliculitis.	<i>Acta Derm Venereol.</i>	10	93(1)	2013
Inoue R, Sohara E, Rai T, Satoh T, Yokozeki H, Sasaki S, Uchida S.	Immunolocalization and translocation of aquaporin-5 water channel in sweat glands.	<i>J Dermatol Sci.</i>	70(1)	26-33.	2013
Fujimoto T, Kawahara K, Yokozeki H.	Epidemiological study and considerations of primary focal hyperhidrosis in Japan: From questionnaire analysis.	<i>J Dermatol.</i>	40(11)	886-890	2013

Sakaguchi M, Bito T, Oda Y, Kikusawa A, Nishigori C, Munetsugu T, Yokozeki 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.	<i>Dermatol.</i>	149(11)	1308-13	2013
Takehara Y, Satoh T, Nishizawa A, Saeki K, Nakamura M, Masuzawa M, Kaneda Y, Katayama I, Yokozeki H.	Anti-tumor effects of inactivated Sendai virus particles with an IL-2 gene on angiosarcoma.	<i>Clin Immunol.</i>	149(1)	1-10	2013
Saeki K, Satoh T, Yokozeki H.	$\alpha(1,3)$ Fucosyltransferases IV and VII are essential for the initial recruitment of basophils in chronic allergic inflammation.	<i>J Invest Dermatol</i>	133(9)	2161-9	2013
Kataoka N, Satoh T, Hirai A, Saeki K, Yokozeki H.	Indomethacin inhibits eosinophil migration to prostaglandin D2 : therapeutic potential of CRTH2 desensitization for eosinophilic pustular folliculitis.	<i>Immunology</i>	140(1)	78-86.	2013
Kato K, Satoh T, Tanaka-Fujimoto T, Ueda N, Yokozeki H.	IgG4-positive cells in skin lesions of cutaneous and systemic plasmacytosis.	<i>Eur J Dermatol.</i>	23(2)	255-6	2013
横関 博雄	ガイドラインに沿った接触皮膚炎の診方・考え方	東海花粉症研究会誌	24	73-74	2013
横関 博雄	【皮膚アレルギーの研究 アップデート～経皮感作とアレルギー～】 スギ花粉の経皮感作による皮膚炎.	アレルギー・免疫	20	862-871	2013
横関 博雄	【主訴から診断へ-臨床現場の思考経路】 全身的な訴え 発汗異常 発汗異常を訴える患者が来たら.	診断と治療	101;Suppl	56-61	2013
横関 博雄	【経皮感作とアレルギー】 スギ花粉の経皮感作による皮膚炎の病態と治療.	臨床免疫・アレルギー科	59	591-597	2013
横関 博雄	【日常診療に役立つ皮膚アレルギー入門forフレッシューズ】 (Part3.)アトピー性皮膚炎.アトピー性皮膚炎の問診と診断手順.	Visual Dermatology	12	378-382	2013
横関 博雄	【総合アレルギー診療を目指して】 《アレルギー疾患ガイドラインとその使い方》接触皮膚炎	Modern Physician	33	183-187	2013
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.	<i>J. Immunol.</i>	190	539-548	2013
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.	<i>Immunity</i>	38	570-580	2013
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.	<i>Allergy</i>	68	732-738	2013
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.	<i>J. Allergy Clin. Immunol.</i>	132	881-888	2013

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-Whitely, T., de Waal Malefyt, R., Sleiman, P.M., Hakonarson, H., Cianferoni, A., Falk, G.W., Wang, M-L., Spengel, J.M., and Artis, D.	TSLP-elicited basophil responses can mediate the pathogenesis of eosinophilic esophagitis.	<i>Nat. Med.</i>	19	1005-1013	2013
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.	<i>J. Exp. Med.</i>	210	2583-2595	2013
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.	<i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA.</i>	110	18620-18625	2013
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.	<i>Nat. Commun.</i>	4	2847	2013
Yamakoshi T, Andoh T, Makino T, Kuraishi Y, Shimizu T.	Clinical and histopathological features of itch in alopecia areata patients.	Acta Derm. Venereol.	93	575-576	2013
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
Inami Y, Andoh T, Sasaki A, Kuraishi Y.	Topical surfactant-induced pruritus: Involvement of histamine released from epidermal keratinocytes.	J Pharmacol Exp Ther.	344	459-466	2013
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	242-245	2013
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
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
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	466	754-76	2013
Sugita K, Nomura T, Ikenouchi-Sugita A, Ito T, Nakamura M, Miyachi Y, Tokura Y, Kabashima K.	Influence of Th2 cells on hair cycle/growth after repeated cutaneous application of haptens.	Clinical and Experimental Dermatology	未定	未定	2013年
Ono S, Nakajima S, Otsuka A, Miyachi Y, Kabashima K.	Pigmented purpuric dermatitis with high expression levels of serum TARC/CCL17 and epidermal TSLP.	European Journal of Dermatology	未定	未定	2013年

Sugita K, Ikenouchi-Sugita A, Nakayama Y, Yoshioka H, Nomura T, Sakabe J, Nakahigashi K, Kuroda E, Uematsu S, Nakamura J, Akira S, Nakamura M, Narumiya S, Miyachi Y, Tokura Y, Kabashima K.	Prostaglandin E2 is critical for the development of niacin-deficiency-induced photosensitivity via ROS production.	Scientific Reports			2013年
Otsuka A, Doi H, Egawa G, Makawa A, Fujita T, Nakamizo S, Nakashima C, Nakajima S, Watanabe T, Miyachi Y, Narumiya S, Kabashima K.	Possible new therapeutic strategy to regulate atopic dermatitis through upregulating filaggrin expression.	Journal of Allergy and Clinical Immunology	未定	未定	2013年
Shiraishi N, Nomura T, Tanizaki H, Nakajima S, Narumiya S, Miyachi Y, Tokura Y, Kabashima K.	Prostaglandin E2-EP3 axis in fine-tuning excessive skin inflammation by restricting dendritic cell functions.	Plos One			2013年
Akagi A, Kitoh A, Moniaga CS, Fujimoto A, Fujikawa H, Shimomura Y, Miyachi Y, Kabashima K.	Case of Netherton syndrome with an elevated serum thymus and activation-regulated chemokine level.	Journal of Dermatology	40(9)	752-753	2013年
Otsuka A, Nakajima S, Kubo M, Egawa G, Honda T, Kitoh A, Nomura T, Hanakawa S, Sagita Moniaga C, Kim B, Matsuoka S, Watanabe T, Miyachi Y, Kabashima K.	Basophils are required for the induction of Th2 immunity to haptens and peptide antigens.	Nature Communications			2013年
Nomura T, Kayama T, Okamura E, Ogino K, Uji A, Yoshimura N, Kikuchi T, Fujisawa A, Tanioaka M, Miyachi Y, Kabashima K.	Severe atopic dermatitis accompanied by autoimmune retinopathy.	European journal of Dermatology	23(2)	263-264	2013年
Egawa G, Doi H, Miyachi Y, Kabashima K.	Skin tape stripping and cheek swab method for a detection of filaggrin.	Journal of Dermatological Science	69(3)	263-265	2013年
Moniaga CS, Jeong SK, Egawa G, Nakajima S, Hara-Chikuma M, Jeon JE, Lee SH, Hibino T, Miyachi Y, Kabashima K.	Protease activity enhances production of thymic stromal lymphopoietin and basophil accumulation in flaky tail mice.	American Journal of Pathology	182(3)	841-851	2013年
椋島健治	総論：慢性炎症の理解へ向けて	BIO Clinica	28巻12号	1108-1110	2013年
大塚篤司, 椋島健治	ハプテン反復塗布によるTh2型免疫応答の惹起	臨床免疫・アレルギー科	60巻4号	419-427	2013年
椋島健治	皮膚と全身免疫のクロストーク	感染炎症免疫	43巻2号	20-29	2013年
Kasuya A, Hirakawa S, Hashizume H, Tokura Y:	Granulocyte-colony stimulating factor-producing cutaneous anaplastic large cell lymphoma with cerebral metastasis.	Acta Derm Venereol	93	87-88	2013
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	40	2-14	2013
Ito T, Hashizume H, Shimauchi T, Funakoshi A, Ito N, Fukamizu H, Takigawa M, Tokura Y:	CXCL10 produced from hair follicles induces Th1 and Tc1 cell infiltration in the acute phase of alopecia areata followed by sustained Tc1 accumulation in the chronic phase.	J Dermatol Sci	69	140-147	2013

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	54	520-527	2013
Kasuya A, Moriki M, Tatsuno K, Hirakawa S, Tokura Y:	Clearance Efficacy of Autoantibodies in Double Filtration Plasmapheresis for Pemphigus Foliaceus.	Acta Derm Venereol	93	181-182	2013
Shimauchi T, Sasada K, Kito Y, Mori T, Hata M, Fujiyama T, Ito T, Hirakawa S, Tokura Y:	CD8+ Sezary syndrome with IL-22 production modulated by bacterial sepsis.	Br J Dermatol	168	881-883	2013
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	168	885-887	2013
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	40	278-280	2013
Ito T, Shimomura Y, Farooq M, Suzuki N, Sakabe J, Tokura Y:	Trichorhinophalangeal syndrome with low expression of TRPS1 on epidermal and hair follicle epithelial cells.	J Dermatol	40	396-398	2013
Ikeya S, Urano S, Sakabe JI, Ito T, Tokura Y:	Erythrokeratoderma variabilis: First Japanese case documenting GJB3 mutation.	J Dermatol	40	402-403	2013
Hiroike M, Sakabe J, Kobayashi M, Shimauchi T, Ito T, Hirakawa S, Inoh A, Tokura Y:	Acicular, but not globular, titanium dioxide nanoparticles stimulate keratinocytes to produce pro-inflammatory cytokines.	J Dermatol	40	357-362	2013
Ito T, Shimada S, Mori T, Tokura Y:	Alopecia areata possibly induced by autoimmune reaction in a patient with human T-cell lymphotropic virus-1-associated myelopathy.	J Dermatol	40	399-401	2013
Umayahara T, Shimauchi T, Fujiyama T, Ito T, Hirakawa S, Tokura Y:	Paediatric acute generalized exanthematous pustulosis induced by paracetamol with high serum levels of interleukin-8 and -22: a case report.	Acta Derm Venereol	93	362-363	2013
Fujiyama T, Tokura Y:	Clinical and histopathological differential diagnosis of eosinophilic pustular folliculitis.	J Dermatol	40	419-423	2013
Moriki M, Ito T, Hirakawa S, Tokura Y:	Folliculosebaceous cystic hamartoma presenting as a subcutaneous nodule on the thigh.	J Dermatol	40	483-484	2013
Yamaguchi H, Tatsuno K, Sakabe J, Tokura Y:	Second report of FLG R501X mutation in Japanese patients with atopic dermatitis.	J Dermatol	40	498-499	2013
Majima Y, Yagi H, Tateishi C, Groth S, Schmidt E, Zillikens D, Koga H, Hashimoto T, Tokura Y:	A successful treatment with ustekinumab in a case of anti-laminin- γ 1 pemphigoid associated with psoriasis.	Br J Dermatol	168	1367-1369	2013
Sakabe J, Yamamoto M, Hirakawa S, Motoyama A, Ohta I, Tatsuno K, Ito T, Kabashima K, Hibino T, Tokura Y:	Kallikrein-related peptidase 5 functions in proteolytic processing of profilaggrin in cultured human keratinocytes.	J Biol Chem	288	17179-17189	2013
Mori T, Kabashima K, Fukamachi S, Kuroda E, Sakabe J, Kobayashi M, Nakajima S, Nakano K, Tanaka Y, Matsushita S, Nakamura M, Tokura Y:	D1-like dopamine receptors antagonist inhibits cutaneous immune reactions mediated by Th2 and mast cells.	J Dermatol Sci	71	37-44	2013
Tagigawa M, Tokura Y, Shimada S, Furukawa F, Noguchi N, Ito T, The Acne Study Group:	Clinical and bacteriological evaluation of adapalene 0.1% gel plus nadifloxacin 1% cream versus adapalene 0.1% gel in patients with acne vulgaris.	J Dermatol	40	620-625	2013

McElwee KJ, Gilhar A, Tobin DJ, Ramot Y, Sundberg JP, Nakamura M, Bertolini M, Inui S, Tokura Y, King LE, Duque-Estrada B, Tosti A, Keren A, Itami S, Shoenfeld Y, Zlotogorski A, Paus R, Duque-Estrada B, Tosti A, McElwee KJ, Gilhar A, Keren A, Bertolini M, Shoenfeld Y, Nakamura M, Tokura Y, Sundberg JP, King LE, Ramot Y, Zlotogorski A, Tobin DJ, Paus R, Inui S, Itami S:	What causes alopecia areata?: Section Editors: Ralf Paus, Manchester/Lübeck and Raymond Cho, San Francisco.	Exp Dermatol	22	609-626	2013
Ito T, Fujiyama T, Hashizume H, Tokura Y:	Antihistaminic drug olopatadine downmodulates T cell chemotaxis toward CXCL10 by reducing CXCR3 expression, F-actin polymerization and calcium influx in patients with alopecia areata.	J Dermatol Sci	72	68-71	2013
Kubo A, Shiohama A, Sasaki T, Nakabayashi K, Kawasaki H, Atsugi T, Sato S, Shimizu A, Mikami S, Tanizaki H, Uchiyama M, Maeda T, Ito T, Sakabe J, Heike T, Okuyama T, Kosaki R, Kosaki K, Kudoh J, Hata K, Umezawa A, Tokura Y, Ishiko A, Niizeki H, Kabashima K, Mitsuhashi Y, Amagai M:	Mutations in SERPINB7, Encoding a Member of the Serine Protease Inhibitor Superfamily, Cause Nagashima-type Palmoplantar Keratosis.	Am J Hum Genet	93	945-956	2013
Yamaguchi H, Kabashima-Kubo R, Bito T, Sakabe JI, Shimauchi T, Ito T, Hirakawa S, Hirasawa N, Ogasawara K, Tokura Y:	High frequencies of positive nickel/cobalt patch tests and high sweat nickel concentration in patients with intrinsic atopic dermatitis.	J Dermatol Sci	72	240-245	2013
Yamaguchi H, Moriki M, Ito T, Tokura Y:	Cutaneous plasmacytosis as a skin manifestation of IgG4-related disease.	Eur J Dermatol	23	560-562	2013
Yasuma A, Shibagaki R, Yagy R, Ito T, Tokura Y:	Coexistence of linear morphea and nodular mucinosis.	J Dermatol	40	937-938	2013
Moriki M, Tokura Y:	Unilateral widespread lichen planus following Blaschko lines after mycoplasma pneumoniae infection.	J Dermatol	40	929-930	2013
Kasuya A, Fujiyama T, Hashizume H, Inuzuka M, Tokura Y:	Histiocytoid Sweet's syndrome associated with t(9;22)(q34;q11)-positive chronic myelogenous leukemia: Immature granulocytic origin of histiocytic cells.	Int J Dermatol	52	1577-1579	2013
Sawada Y, Nakamura M, Kabashima-Kubo R, Shimauchi T, Kobayashi M, Tokura Y:	Defective epidermal induction of S100A7/psoriasis associated with low frequencies of skin-infiltrating Th17 cells in dermatophytosis-prone adult T cell leukemia/lymphoma.	Clin Immunol	148	(in press)	
Suzuki T, Moriki M, Shimauchi T, Ito T, Hirakawa S, Yokura Y:	Subcutaneous granuloma annulare following influenza vaccination: Case report and review of the literature.	Dermatologica Sinica		(in press)	
Ito T, Mori T, Fujiyama T, Tokura Y:	Dramatic exacerbation of palmoplantar pustulosis following strongly positive nickel patch testing.	Int J Dermatol		(in press)	
Sawada Y, Nakamura M, Bito T, Sakabe JI, Kabashima-Kubo R, Hino R, Kobayashi M, Tokura Y:	Decreased expression of acetylcholine esterase in cholinergic urticaria with hypohidrosis or anhidrosis.	J Invest Dermatol		(in press)	
Iwakura T, Ohashi N, Tsuji N, Naito Y, Isobe S, Ono M, Fujikura T, Tsuji T, Sakao Y, Yasuda H, Kato A, Fujiyama T, Tokura Y, Fujigaki Y:	A case of calcitriol-induced hypercalcemia by granulomatous mycosis fungoides with end-stage renal disease.	World J Nephrol		(in press)	
Shiraishi N, Nomura T, Tanizaki H, Nakajima S, Narumiya S, Miyachi Y, Tokura Y, Kabashima K:	Prostaglandin E2-EP3 Axis in Fine-tuning Excessive Skin Inflammation by Restricting Dendritic Cell Functions.	PLoS ONE		(in press)	
Sugita K, Nomura T, Ikenouchi-Sugita A, Ito T, Nakamura M, Miyachi, Tokura Y, Kabashima K:	Influence of Th2 cells on the hair cycle/growth after repeated cutaneous application of hapten.	Clin Exp Dermatol		(in press)	

Ito T, Bertolini M, Funakoshi A, Ito N, Takayama T, Biro T, Paus R, Tokura Y:	Birth, life, and death of the MAGE3 hypothesis of alopecia areata pathobiology.	J Dermatol Sci		(in press)	
Fujiyama T, Kawakami C, Suigita K, Kubo-Kabashima R, Sawada Y, Hino R, Nakamura M, Shimauchi T, Ito T, Kabashima K, Hashizume H, Tokura Y:	Increased frequencies of Th17 cells in drug eruptions.	J Dermatol Sci		(in press)	
Majima Y, Yagi H, Ito T, Tokura Y:	Two cases of lichen planus pigmentosus inversus: Possible causative role of tightly fitting underclothes.	Eur J Dermatol		(in press)	
Kasuya A, Hamaguchi Y, Fujimoto M, Tokura Y:	TIF1 γ -overexpressing, Highly Progressive Endometrial Carcinoma in a Patient with Dermato-myositis Positive for Malignancy-associated Anti-p155/140 Autoantibody.	Acta Derm Venereol		(in press)	
Tokura Y, Sawada Y, Shimauchi T:	Skin manifestations of adult T-cell leukemia/lymphoma: clinical, cytological, and immunological features.	J Dermatol		(in press)	
Sugita K, Nomura T, Ikenouchi-Sugita A, Sakabe JI, Nakahigashi K, Kuroda E, Uematsu U, Nakamura J, Akira S, Nakamura M, Narumiya S, Miyachi Y, Tokura Y, Kabashima K:	Prostaglandin E2 is critical for the development of niacin-deficiency-induced photosensitivity via ROS production.	Sci Rep		(in press)	
Sakabe J-I, Umayahara T, Hiroike M, Shimauchi T, Ito T, Tokura Y:	Calcipotriol increases hCAP18 mRNA expression but inhibits extracellular LL37 peptide production in IL-17/IL-22-stimulated normal human epidermal keratinocytes.	Acta Derm Venereol		(in press)	
Nakazawa S, Moriki M, Ikeya S, Sakabe J-I, Tokura Y:	Atopic dermatitis presenting as generalized poikiloderma with filaggrin gene mutation.	J Dermatol		(in press)	
Sugaya M, Tokura Y, Hamada T, Tsuboi R, Mori Y, Nakahara T, Amano M, Ishida S, Watanabe D, Tani M, Ihn H, Aoi J, Iwatsuki K:	Phase II study of intravenous interferon- γ in Japanese patients with mycosis fungoides.	J Dermatol		(in press)	
Tsukasaki K, Imaizumi Y, Tokura Y, Ohshima K, Kawai K, Utsunomiya A, Amano M, Watanabe T, Nakamura S, Iwatsuki K, Kamihira S, Yamaguchi K, Shimoyama M:	Meeting report on the possible proposal of an extra-nodal primary cutaneous variant in the lymphoma type of adult T-cell leukemia-lymphoma.	J Dermatol		(in press)	
Yamaguchi H, Hata M, Fujiyama T, Ito T, Hashizume H, Tokura Y:	Psychological aspects of patients with intrinsic atopic dermatitis.	Eur J Dermatol		(in press)	
戸倉新樹	フィラグリン異常とアレルギー疾患の進展.	モダンフィジシャン	33	193-197	2013
坂部純一, 戸倉新樹	知っておきたい基礎用語/フィラグリンとは.	日小皮会誌	32	70-71	2013
戸倉新樹	アトピー性皮膚炎の分別 Up-to-Date.	日本臨床皮膚科医会雑誌	30	23-27	2013
戸倉新樹	タクロリムス軟膏を用いたアトピー性皮膚炎の皮疹改善とQOL向上.	マルホ皮膚科セミナー[ラジオ NIKKEI]放送内容集	222	21-23	2013
戸倉新樹	コリン性蕁麻疹に伴う発汗異常とアセチルコリン受容体発現異常.	発汗学	20	29-32	2013
坂本慶子, 影山葉月, 田島巖, 谷岡書彦, 戸倉新樹	新生児単純ヘルペス感染症の1例.	臨床皮膚科	67	173-176	2013
坂本慶子, 影山葉月, 渡辺規矩夫, 戸倉新樹	外傷を契機に発症した塩酸ミノサイクリンによる色素沈着型薬疹の1例.	臨床皮膚科	67	205-208	2013
吉澤真裕子, 尾藤利憲, 花島利江子, 吉木竜太郎, 中村元信, 戸倉新樹	背部に生じた皮膚平滑筋肉腫(皮膚型)の1例.	Skin Cancer	27	318-321	2013
山本佳世, 日野亮介, 澤田雄宇, 中村元信, 戸倉新樹	蚊唾液腺抽出物による刺激に対して Th2 細胞の増殖を認めた蚊刺過敏症.	臨床皮膚科	67	297-301	2013

鈴木健晋, 青島正浩, 橋爪秀夫, 伊藤泰介, 戸倉新樹	ドロレス顎口虫血清抗体価が治療的效果判定に有用であった日本顎口虫によると考えられる皮膚爬行症の1例.	皮膚の科学	12	122-125	2013
戸倉新樹	皮膚アレルギー疾患とよく間違える疾患・鑑別疾患.	Visual Dermatology	12	350-353	2013
戸倉新樹	今もアトピー性皮膚炎に生きる太藤皮膚科学の潮流.	Visual Dermatology	12	510-516	2013
鬼頭由紀子, 鬼頭芳子, 戸倉新樹	小児アトピー性皮膚炎に対するジルテックドライシロップ(1.25%セチリジン塩酸塩)の臨床効果および患児ならびに保護者アンケートによる有用性の検討.	Progress in Medicine	33	1211-1214	2013
戸倉新樹	光線過敏型薬疹の原因薬剤と診断.	日本医師会雑誌	142	522-526	2013
澤田雄宇, 戸倉新樹	成人T細胞性白血病/リンパ腫(ATLL)の皮膚病変.	Modern Physician	33	972-975	2013
戸倉新樹	各皮膚悪性リンパ腫の診断と治療 セザリー (Sézary)症候群 / (Sézary)症候群の診断と治療.	日本臨牀増刊号 皮膚悪性腫瘍-基礎と臨床の最新研究動向	71	786-788	2013
澤田雄宇, 戸倉新樹	成人T細胞白血病・リンパ腫 / 成人T細胞性白血病・リンパ腫の診断法.	日本臨牀増刊号 皮膚悪性腫瘍-基礎と臨床の最新研究動向	71	825-858	2013
澤田雄宇, 戸倉新樹	成人T細胞白血病・リンパ腫 / 皮膚病変を有する成人T細胞性白血病・リンパ腫の治療.	日本臨牀増刊号 皮膚悪性腫瘍-基礎と臨床の最新研究動向	71	829-832	2013
中島大毅, 深町晶子, 中村元信, 戸倉新樹	地域発症率からみた好酸球性膿疱性毛包炎における衛生仮説の検証.	JUOEH (産業医科大学雑誌)	35	201-205	2013
戸倉新樹	アトピー性皮膚炎の治療 Overview.	臨床免疫・アレルギー科	60	290-294	2013
戸倉新樹	抗ヒスタミン薬の多彩な薬理作用.	皮膚アレルギーフロンティア	11	27-31	2013
伊藤泰介, 島内隆寿, 平川聡史, 八木宏明, 馬屋原孝恒, 馬場佑子, 加茂真理子, 糟谷啓, 青島正浩, 池谷茂樹, 津嶋友央, 秦まき, 橋爪秀夫, 浦野聖子, 杉浦丹, 戸倉新樹	膿疱性および関節症病型を中心とする乾癬に対するインフリキシマブの臨床効果と血清 IL-22 値と血清 VEGF 値によるモニタリング.	Progress in Medicine	33	2005-2011	2013
森達吉, 伊藤泰介, 目黒史織, 馬場聡, 犬塚学, 戸倉新樹	Langerhans 細胞肉腫の1例.	臨床皮膚科	67	803-807	2013
島内隆寿, 藤山俊晴, 山口隼人, 坂部純一, 影山玲子, 中澤慎介, 星野友美, 糟谷啓, 青島正浩, 池谷茂樹, 龍野一樹, 伊藤泰介, 平川聡史, 戸倉新樹	アトピー性皮膚炎に対するレボセチリジンの臨床効果とそれに伴う血中バイオマーカーとT細胞サブセットの変動.	Progress in Medicine	33	2239-2244	2013
池谷茂樹, 戸倉新樹	変動性紅斑角皮症 (erythrokeratoderma variabilis)の臨床症状とコネキシン 31 遺伝子変異.	日小皮会誌	32	211-217	2013
戸倉新樹	アトピー性皮膚炎:皮膚バリアの破綻によるアレルギー.		31	143-149	2013
Hanafusa T, Matsui S, Murota H, et al.	Increased frequency of skin-infiltrating FoxP3+ regulatory T cells as a diagnostic indicator of severe atopic dermatitis from cutaneous T cell lymphoma.	Clin Exp Immunol	172	507-512	2013
Takahashi A, Murota H, et al.	Decreased Sudomotor Function is Involved in the Formation of Atopic Eczema in the Cubital Fossa.	Allergol Int			2013

室田浩之	汗とアトピー性皮膚炎	臨床免疫・アレルギー科	59	187-190	2013
室田浩之	アトピー性皮膚炎の治療と患者指導	日本医事新報	4661	17-24	2013
室田浩之	発汗とスキンケア	デルマ	210	37-44	2013
Murota H, El-Latif MA, Tamura T, et al	Olopatadine Hydrochloride Decreases Tissue Interleukin-31 Levels in an Atopic Dermatitis Mouse Model.	Acta Derm Venereol.		doi: 10.2340/00015555-1648.	2013
室田浩之	アトピー性皮膚炎	小児外科	45	1139-1142	2013
Tanemura A, Kiyohara E, Katayama I, Kaneda Y.	Recent advances and developments in the antitumor effect of the HVJ envelope vector on malignant melanoma: from the bench to clinical application.	Cancer Gene Ther.	In press	In press	2013
Kaneda, Y.	The RIG-I/MAVS signaling pathway in cancer cell-selective apoptosis.	Oncoimmunology	2(4)	e23566-1~3	2013