

## アトピー性皮膚炎患者皮膚におけるモノアミン 及びその代謝産物の定量

大 島 治 子<sup>1)</sup>  
池 田 良 一<sup>2)</sup>

加 藤 雪 彦<sup>1)</sup>

古 賀 道 之<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>東京医科大学皮膚科学講座

<sup>2)</sup>東京医科大学精神医学講座

【要旨】 目的: アレルギー性疾患にはしばしば自律神経異常を伴うことが知られている。アトピー性皮膚炎患者には蒼白で毛孔性丘疹が目立つ、いわゆる atopic skin があり、白色皮膚描記症、Acetyl-choline 皮内注射後の delayed blanch phenomenon などの血管神経系の異常を認める。その原因を神経伝達物質のレベルで明らかにしようとした。方法: アトピー性皮膚炎患者と健康人の側胸部無疹部皮膚を生検、ホモジネートし、多種目神経化学物質分析装置 (Neurochem<sup>®</sup>) で 15 種類のモノアミン系神経化学物質について定量した。結果: アトピー性皮膚炎患者では健康人に比し Tyrosine の有意な減少, Noradrenaline, Vanillic acid の有意な増加があった。結論: Noradrenaline の貯留がアトピー性皮膚炎患者の血管神経系の異常に関連していると思われる。

### はじめに

アトピー性皮膚炎 (以下 AD) は様々な免疫学的、非免疫学的要因で惹起され、心理的ストレス、掻爬等の機械的刺激、発汗によって悪化する事が知られている。Th<sub>2</sub> 優位で高 IgE 血症を伴い、ダニ抗原をはじめとする多くの環境抗原に過敏反応を示す AD 患者の免疫学的偏位は、しばしば病因と結びつけられてきた。しかし、患者の約 2 割では IgE 抗体の上昇が見られないという事実は、IgE 依存性 I 型アレルギーが AD の一次病因ではあり得ないことを示している。一方、AD 患者ではしばしば蒼白で毛孔性角化性丘疹が目立つ、いわゆるアトピー性皮膚を伴っており、白色皮膚描記症がしばしばみられる現象である。患者の皮膚にアセチルコリンを皮内注射すると遅延蒼白反応がみられるが、これらは AD の血管神経系の異常を示すものであり、実際に AD 患者の皮膚における、例えば Substance P (以下 SP), Protein gene product (以下

PGP), Calcitonin gene-related peptide (以下 CGRP), Vasoactive intestinal polypeptide (以下 VIP) などの神経伝達物質の発現異常が報告されている<sup>1-4)</sup>。皮膚知覚神経及び自律神経末端より分泌される神経伝達物質は種々の皮膚疾患の病態に関与しており<sup>1-3,5-7)</sup>、神経因性炎症反応の主要な mediator と考えられている<sup>4)</sup>。しかしながら過去に行われた多くの免疫組織学的手法は定量性に欠け、判定に主観が入りやすい方法である事は一般に認められている。神経伝達物質の RIA 法等による定量的検討もいくつかはみられるがその数は少なく、一定の結論は得られていない。そこで我々は AD 皮膚にみられる血管収縮傾向に着目し、ヒト皮膚血管収縮運動を支配する主たる神経伝達物質である Noradrenaline (以下 NA) を中心に AD 患者の無疹部皮膚におけるモノアミン及びその代謝産物の高速液体クロマトグラフィーを用いた定量を行い、健康人と比較検討した。

2002 年 1 月 15 日受付, 2002 年 1 月 28 日受理

キーワード: アトピー性皮膚炎, 神経伝達物質, Noradrenaline

(別刷請求先: 〒160-0023 東京都新宿区西新宿 6-7-1 東京医科大学病院皮膚科学教室 大島治子)

## 対象と方法

### 1) 対象患者

患者群は当科受診の13人(男性11人,女性2人,年齢16歳~38歳,平均年齢28.3歳)のAD患者であり,平均血清IgE RIST値は15,814 U/ml(分布幅5~68,000 U/ml)であった.対照群はアトピー素因のない健常人16人(男性11人,女性5人,年齢13歳~81歳,平均年齢44.0歳)でADの診断はHanifinとRajka<sup>8)</sup>の診断基準に従った.

### 2) 検体採取法

十分なインフォームドコンセントのもとAD患者の側胸無疹部及び健常人の側胸部の皮膚を生検した.麻酔には1%キシロカインを用い,得られた検体は直ちに液体窒素で凍結保存した.

### 3) 神経伝達物質の定量法

凍結状態の検体をマイクロウェーブ照射(TMW-6402<sup>®</sup> TOSHIBA Co Ltd., Tokyo JAPAN)した後,再度液体窒素で凍結しクライオプレス<sup>®</sup>((株)マイ

クロテック・ニチオン)で破碎した.これに4倍量の0.1 mM ピロ亜硫酸ナトリウム, 0.02 mM エチレンジアミン4酢酸2ナトリウムを含む0.1 M HClO<sub>4</sub>液を加えて,テフロンホモジナイザー<sup>®</sup>でホモジネートした.4°Cで4,500 G,20分間遠心分離後,上清をフィルター(MILLEX<sup>®</sup>-GP 0.22 μm Filter Unit)で濾過して-80°Cで保存し,測定に供した.測定には多種目神経化学物質分析装置(Neurochem<sup>®</sup> ESA, Inc., Chelmsford, MA, USA)を用い,0 mV から 900 mV にいたる60 mV ずつ段階的に増加する電圧をおおのの検出器に負荷した.HPLC用のカラムには逆層カラム(Neurocolumn<sup>®</sup>, C18DF-5-120A, 4.6φ×150 mm, 二光バイオサイエンス)を用いた.前記の凍結保存サンプルは4~6°Cで融解後,オートサンプラーを用いて本装置に注入した.

測定対象とした物質はTyrosine, Tyramine, L-DOPA, 3-o-methyl dopa, Dopamine, 3-Methoxytyramine, Homovanillic acid, 3,4-dihydroxyphenylacetic acid, NA, Normetanephrine, 3-methoxy-4-hydroxyphenylethyleneglycol, Vanillic acid (以下VA), Adrenaline (以下Adr), Metanephrine, Vanillylman-

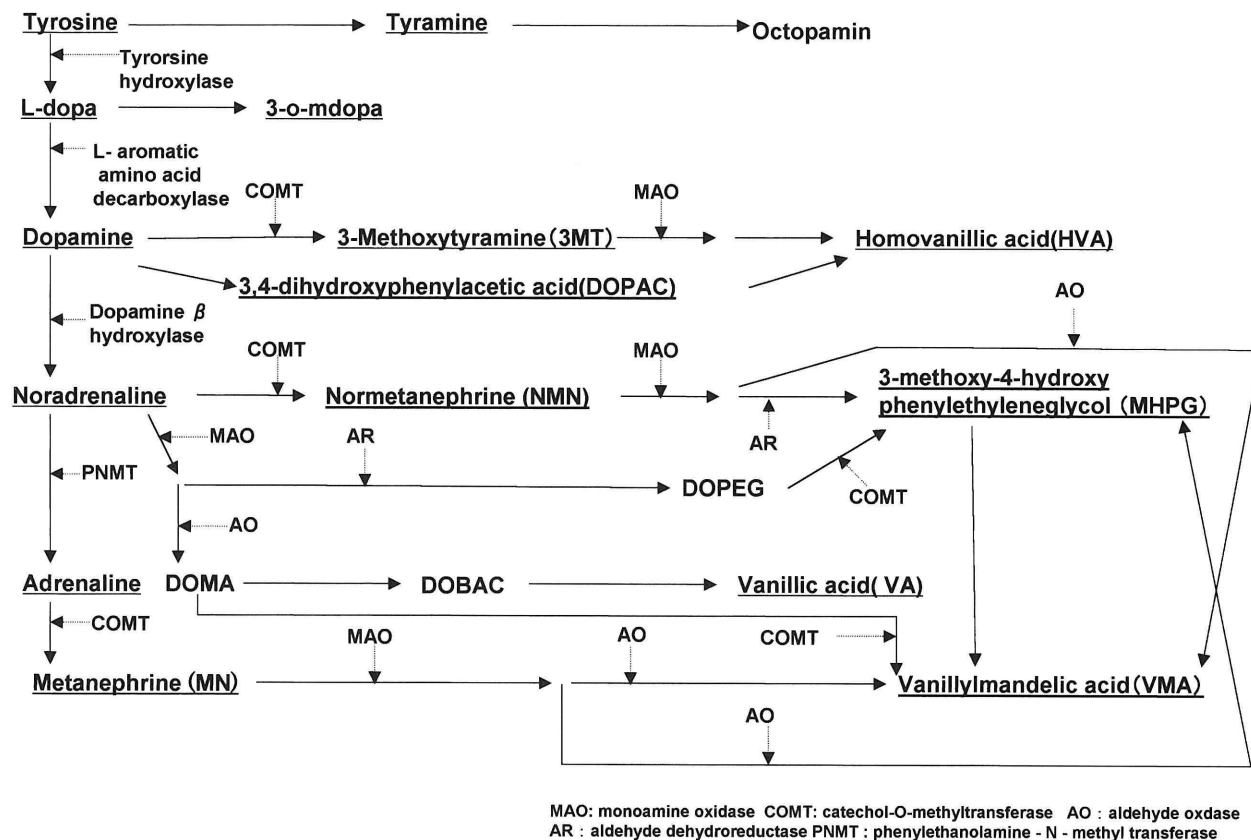


Fig. 1 Metabolic pathway of monoamine. Underlined materials were measured.

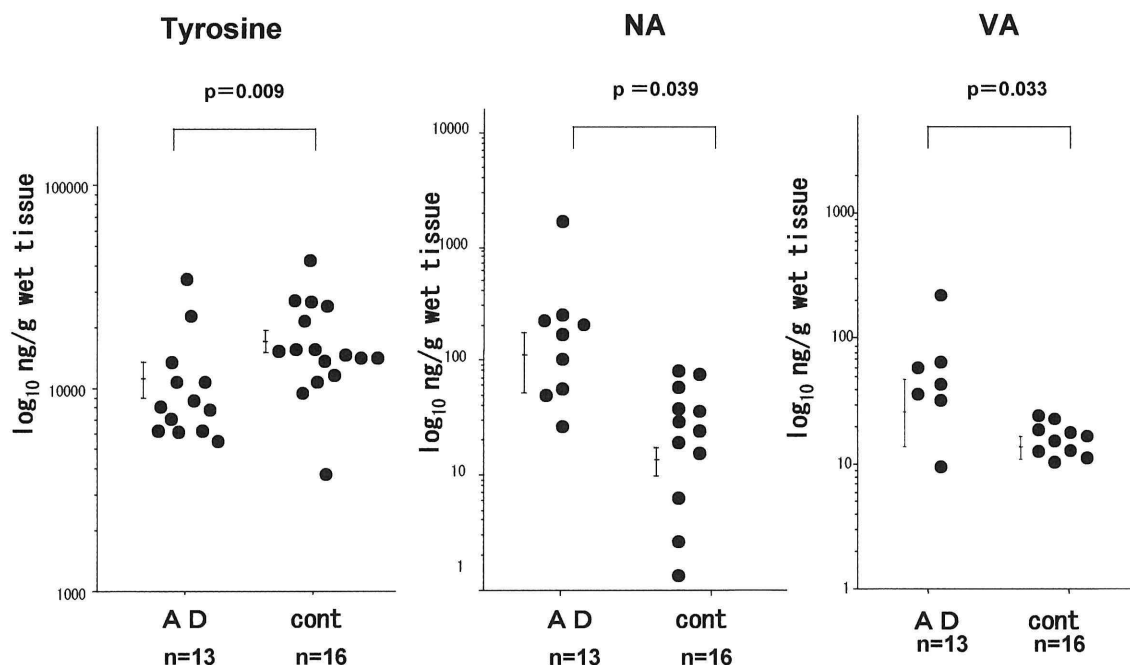


Fig. 2 Quantitative analysis of monoamine of the skin with AD patients and healthy controls. Noradrenaline and vanillic acid were significantly increased in patients with AD compared with normal controls, whereas tyrosine was significantly decreased in patients with AD. P values of these materials were under 0.05.

Table 1 Concentrations of neurotransmitters (ng/g wet tissue: mean±SD)

	Tyrosine	NA	VA
AD (n=13)	11170.46±8093.7	188.348±288.02	33.15±60.75
control (n=16)	17205.36±8578.1	24.60±27.43	18.79±23.17
p value	0.009	0.039	0.033

delic acid (以下 VMA) の 15 種類でありこれらを一括して同時に測定した。その代謝系路を Fig. 1 に示す。試薬は HPLC のスタンダード (全て Sigma Chemical Company, St. Louis USA, より購入) と多種目神経化学物質分析装置に使用される 2 種類の勾配移動層 (gradient mobile phase) A<sup>®</sup> および B<sup>®</sup> (ESA, Inc, Chelmsford, MA, USA) を用いた。

測定値の統計的検定には non-paired Mann-Whitney's U test を用いた。

## 結 果

今回測定した 15 種類のモノアミン系神経化学物質のうち、AD 患者と対照健常人間で差があったものを (平均値±標準偏差) で示す。Tyrosine は健常人 (17,205.36±8,578.1 ng/g wet tissue) より AD 患者 (11,170.46±8,093.7 ng/g wet tissue) では減少しており、NA は健常人 (24.60±27.43 ng/g wet tissue) より

AD 患者 (188.348±288.02 ng/g wet tissue) で増加していた。VA でも健常人 (18.79±23.17 ng/g wet tissue) より AD 患者 (33.15±60.75 ng/g wet tissue) では増加していた (Fig. 2, Table 1)。その他の物質では有意差はみられなかった。

## 考 察

AD は様々な免疫学的、非免疫学的要因で惹起ないし増悪が見られる。その要因の中には情動ストレスもある事が注目されている<sup>9)</sup>。また、AD 患者の多くは機械的刺激に対して白色皮膚描記症を生じ、血管反応の発現も遅く、持続時間は短い特徴がある<sup>10)</sup>。AD 患者に特徴的な蒼白な皮膚は治療により紅色調を呈するようになるが、その場合に皮膚反応を行っても健常人と同じ速度と持続時間にはならない。すなわち AD 患者では血管反応自体に異常が認められる<sup>10)</sup>。

このような血管運動の調節に関わる神経伝達物質

を、免疫組織学的に検討した報告はいくつか見られる。すなわち Ostlere<sup>2)</sup>らは PGP9.5で染色される末梢神経線維は AD 患者の無疹部皮膚では、皮疹部および正常者皮膚より著明に増加していること、CGRP, VIP, neuropeptide Y (以下 NPY) の三者は AD 患者と正常者間に差はないが、SP 陽性線維は AD 患者の皮疹部、無疹部で共に増えていることを報告した。Sugiura<sup>3)</sup>は PGP 陽性末梢神経線維は AD 皮疹がはじまると共に増えはじめ、遷延化と共に増加しつづけるが、SP 陽性線維は極めて少なかったと述べている。豊田<sup>4)</sup>は PGP9.5 陽性末梢神経線維は AD 患者の皮疹部、無疹部共に密にみられたが、シクロスポリン (以下 CyA) 5 mg/kg/day を 1ヶ月間投与した所、正常対照者と同程度に減少した。さらに、AD 患者では、CGRP, SP, VIP 陽性線維も皮疹部、無疹部共に対照者より増加しているが、CyA 投与後減少し、もともと対照者と同程度の発現する NPY は CyA 投与後は増加したと報告した。すなわち AD 患者皮膚では皮疹部、無疹部を問わず PGP9.5 陽性末梢神経線維が増加している事は間違いないが、個々の神経ペプチドの動態については報告者により一定せず、これは免疫組織学的手法が、生検部位、皮疹の状態、染色法、観察・判定法など多くの要因の影響を受け、定量的検討の為には限界のある方法である事を示していると言えよう。

これに対して Giannetti<sup>4)</sup>は AD 患者皮疹部皮膚と健常対照者皮膚をホモジネートして VIP と SP を RIA 法で定量し、AD 皮疹部では VIP は著明に増加していたが、SP は逆に減少していると報告した。VIP や SP は血管拡張<sup>11)</sup>や肥満細胞の脱顆粒<sup>12)</sup>など炎症惹起に関与している神経ペプチドであるが VIP は消炎的に働いている<sup>13)</sup>可能性もあり、その意味付けは難しい。

一方 AD 患者の血漿中カテコールアミン (以下 CA) を測定した所、DA と Adr は健常対照者と有意差はないが NA は有意に上昇しており、DA から NA への代謝酵素 Dopamine-beta-hydroxylase は正常であったとの報告<sup>14,15)</sup>がある。NA 濃度上昇の原因となり得る Monoamine oxidase (以下 MAO) や Catechol-O-methyltransferase (以下 COMT), Phenylethanolamine-N-methyltransferase (以下 PNMT) 等の代謝酵素の異常は全て否定され交感神経系からの NA 過剰遊離が示唆されている<sup>16)</sup>。また AD 皮膚病巣の COMT 活性は無疹部や健常人皮膚より高いがこれは AD に特異的とは言えない<sup>17)</sup>。

ヒト表皮ケラチノサイトは L-phenylalanine から CA を生合成する能力がある<sup>18)</sup>。従って未分化のケラチノサイトには  $\beta_2$  受容体の誘導に必要な量の NA や Adr が含まれている。Schallreuter<sup>ら</sup><sup>19)</sup>は血漿 NA 量の増加を確認した上で AD 患者無疹部皮膚の吸引水疱蓋として得られた表皮中の PNMT, MAO を測定し、PNMT の低下と MAO の上昇を認め、また CA 生合成酵素 Phenylalanine hydroxylase, Tyrosine hydroxylase の律速補酵素である (6R)-L-erythro-5・6・7・8-tetrahydrobiopterin (6BH<sub>4</sub>) の上昇をも認めた。すなわち病巣皮膚では NA の増加があり、Adr への代謝酵素 PNMT は低下している為上昇している MAO で代謝されるが、6BH<sub>4</sub> が上昇している為持続的な CA の過剰生成が続くとしている。そしてこの AD における CA 生成、代謝系の異常は古く Sventivanyi<sup>20)</sup>により唱えられた  $\beta_2$  受容体の異常に起因しており、その後見出された受容体 gene の点突然変異<sup>21)</sup>も関与している可能性があると考えている。

この様に AD 皮膚には CA 代謝の異常があることが認められ、特に NA の増加が考えられているが、実は過去に確認された AD における NA の増量は全て血漿中の濃度であって、皮膚組織において確かに NA の増量がある事を確かめたのは今回の我々の研究がはじめてのものである。この AD 皮膚における NA の増量が Schallreuter<sup>ら</sup><sup>18,21)</sup>の報告の様に表皮ケラチノサイトで過剰産生されたものか、Ionescu<sup>ら</sup><sup>14,16)</sup>の考えるように交感神経に由来するものかは今後の検討を待たなければならない。なぜなら、過剰な NA は  $\beta$  受容体を抑制し得る<sup>22)</sup>からである。また今回の研究結果では AD 皮膚内の VA の上昇と Tyrosine の減少がみられた。VA は CA の最終代謝産物の 1 つで NA から DOMA, DOBAC を経て生成される (Fig. 1) が、その代謝には MAO が関わっており、前述の通りこの酵素活性は病巣において亢進しているので、増加した NA がこれにより代謝され VA が増加するのは理にかなうことである。更に Tyrosine の減少は CA 合成系の亢進の結果と思われる。このような本研究の結果は、AD 皮膚において NA が増量、貯留している事は AD の蒼白な皮膚、立毛筋の持続収縮による毛孔性丘疹、白色皮膚描記症や遅延蒼白反応等の異常な血管反応を説明するのに適切な根拠を与えるものである。

また AD 皮膚には barrier 機能の異常があり、これが皮膚炎の発生や増悪に関与している可能性があるが、barrier 機能異常の本体は角質細胞間脂質中のセラ

ミドの異常にある<sup>23)</sup>と考えられている。角質細胞間脂質はケラチノサイトで生合成されるので、このセラミドの異常も実はNAの貯留に由来している可能性がある。ADにおけるNAの役割については更に精力的に追求する必要があるだろう。

## 結 論

AD患者の無疹部皮膚を生検、ホモジネートし、多種目神経化学物質分析装置でモノアミンおよびその代謝産物を測定し、健常人皮膚のそれと比較した。

AD患者皮膚ではNAとその代謝産物VAの増加があり、NAの前駆物質Tyrosineは減少していた。

AD皮膚におけるNAの貯留は、AD皮膚の血管反応の異常に対応する変化であると思われる。

## 文 献

- 1) 豊田雅彦, 森松 進, 諸橋正昭: アトピー性皮膚炎患者に対するシクロスポリン投与に伴う皮膚神経系の変化: 免疫組織学検討. 日皮会誌 **107**: 1275~1279, 1997
- 2) Ostlere LS, Cowen T, Rustin MHA: Neuropeptides in the skin of patients with atopic dermatitis. Clin Exp Dermatol **20**: 462~267, 1995
- 3) Sugiura H, Omoto M, Hirota Y, Danno K, Uehara M: Density and fine structure of peripheral nerves in various skin lesion of atopic dermatitis. Arch Dermatol Res **289**: 125~131, 1997
- 4) Giannetti A, Fantini F, Cimitan A, Pincelli C: Vasoactive intestinal polypeptide and substance P in the pathogenesis of atopic dermatitis. Acta Derm Venereol suppl **176**: 90~92, 1992
- 5) Rossi R, Del Bianco E, Isolani D, Baccari MC, Cappugi P: Possible involvement of neuropeptidergic sensory nerves in alopecia areata. Neuro report **8**: 1135~1138, 1997
- 6) Naukkarinen A, Jarvikallio A, Lakkakorpi J, Harvima IT, Harvima RJ, Horsmanheimo M: Quantitative histological analysis of mast cells and sensory nerves in psoriatic skin. J Pathol **180**: 200~205, 1996
- 7) Al'Abadie MSK, Senior HJ, Breehen SS, Gawkröger DJ: Neuropeptides and general neural marker in psoriasis-an immunohistochemical study. Clin Exp Dermatol **20**: 384~389, 1995
- 8) Hanifin JM, Rajka G: Diagnostic features of atopic dermatitis. Acta Derm Venereol(Stockh) **92**: 44~47, 1980
- 9) Kodama A, Horikawa T, Suzuki T, Ajiki W, Takashima T, Harada S, Ichihashi M: Effect of stress on atopic dermatitis: Investigation in patients after the Great Hanshin Earthquake. J Allergy Clin Immunol **104**: 173~176, 1999
- 10) Wong SS, Edwards C, Marks R: A study of white dermographism in atopic dermatitis. J Dermatol Sci **11**: 148~153, 1996
- 11) Wallengren J, HaKanson R: Effect of substance P, neurokinin A and calcitonin gene-related peptide in human skin and their involvement in sensory nerve-mediated responses. Eur J Pharmacol **143**: 267~273, 1987
- 12) Piotrowsky W, Foreman JC: On the action of substance P, somatostatin and vasoactive intestinal polypeptide on rat peritoneal mast cells and in human skin. Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol **331**: 364~368, 1985
- 13) Said SI: Neuropeptides as modulators of injury and inflammation. Life Sci **47**: 19~21, 1990
- 14) Ionescu G, Kiehl R: Plasma catecholamine levels in severe atopic eczema. Allergy **43**: 614~616, 1988
- 15) Courage B, Nissen P, Wehrmann W, Biltz H: Influence of polyunsaturated fatty acids on the plasma catecholamines of patients with atopic eczema. Z Hautkr **66**: 509~510, 1991
- 16) Ionescu G, Kiehl R: Letter to the editor. Allergy **45**: 477~478, 1990
- 17) Bamshad J: Catechol-O-methyltransferase in skin of patients with atopic dermatitis. J Invest Dermatol **52**: 100~102, 1969
- 18) Schallreuter KU, Lemke KR, Pittelkow MR, Wood JM, Körner C, Malik R: Catecholamines in human keratinocyte differentiation. J Invest Dermatol **104**: 953~957, 1995
- 19) Schallreuter KU, Pittelkow MR, Swanson NN, Beazley WD, Körner C, Ehrke C: Altered catecholamine synthesis and degradation in the epidermis of patients with atopic eczema. Arch Dermatol Res **289**: 663~666, 1997
- 20) Sventivanyi A: The beta adrenergic theory of the atopic abnormality in bronchial asthma. J Allergy **42**: 203~232, 1968
- 21) Schallreuter KU, Wei Y, Pittelkow MR, Swanson NN, Körner G, Lindsey NJ, Wood JM, Gardner MCG: Atopic eczema can be associated with a mutation in the beta-2-adrenoceptor gene. J Invest Dermatol (abstract) **106**: 902, 1996
- 22) Mukherjee C, Caron MG, Lefkowitz RJ: Catecholamine-induced subsensitivity of adenylate cyclase associated with loss of beta adrenergic receptor binding sites. Proc Natl Acad Sci **72**: 1945~1949, 1975
- 23) Imokawa G, Akasaki S, Hattori M, Yoshizuka N: Selective recovery of deranged water-holding properties by stratum corneum lipids. J Invest Dermatol **87**: 758~761, 1986

## Quantitative analysis of monoamine and its metabolites in the skin of patients with atopic dermatitis

Haruko OSHIMA<sup>1)</sup>, Yukihiro KATO<sup>1)</sup>, Michiyuki KOGA<sup>1)</sup>,  
Ryoichi IKEDA<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Dermatology, Tokyo Medical University

<sup>2)</sup>Department of Psychiatry, Tokyo Medical University

### Abstract

【Purpose】 It is known that patients with allergic disorders have abnormalities of the autonomic nervous system. Patients with atopic dermatitis (AD) have pale skin with keratosis pilaris, and abnormal the peripheral neurovascular reactions, i.e., white dermographism and delayed blanch phenomenon after the injection of acetylcholine. To elucidate the mechanism of these aberrant cutaneous reactions we investigated the levels of neurotransmitters in the skin of patients with AD.

【Methods】 Biopsy specimens were taken from clinically uninvolved lateral chest skin in patients with AD and normal controls. Quantitative analysis was performed using a multiple neurochemical analyzer (Neurochem<sup>®</sup>) on 15 kinds of monoamine and its metabolites.

【Results】 Noradrenaline and vanillic acid significantly increased in the AD patients compared with normal controls, whereas tyrosine was significantly decreased in the AD patients.

【Conclusion】 There is deposition of noradrenaline in the skin of patients with AD, suggesting a causative relations with abnormal neurovascular reaction in patients with AD.

---

〈Key words〉 Atopic dermatitis, Neurotransmitter, Noradrenaline

---