(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109073640 A
(43)申请公布日 2018.12.21

(21)申请号 201780026073.X

(22)申请日 2017.04.19

(30)优先权数据
2016-092020 2016.04.28 JP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2018.10.26

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/JP2017/015792 2017.04.19

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2017/188101 JA 2017.11.02

(71)申请人 株式会社资生堂
地址 日本东京都

(72)发明人 田中千华 水本智惠子
小野寺智子 相场节也 菊地克子
山崎研志 小泽麻纪

(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所 11247
代理人 马妮楠 段承恩

(51)Int.Cl.
G01N 33/53(2006.01)
C12Q 1/04(2006.01)
G01N 33/543(2006.01)

权利要求书1页 说明书18页 附图11页

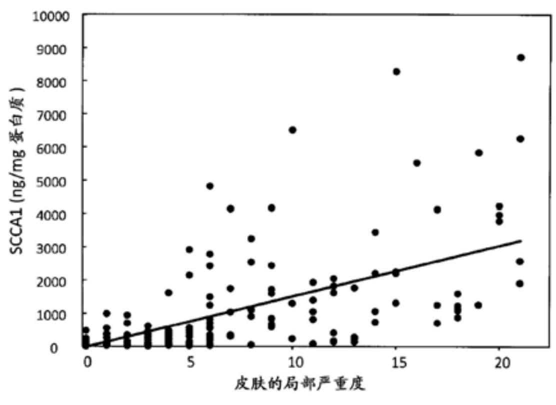
(54)发明名称

特应性皮炎的皮肤局部的重症度及治疗效果的指标

(57)摘要

本发明提供特应性皮炎的痊愈、严重度诊断的客观并且简便的指标。本发明提供一种确定特应性皮炎治疗方针的诊断辅助方法,其是针对正在接受特应性皮炎治疗的对象者确定其治疗方针的诊断辅助方法,该方法测定该对象者的皮肤角质层细胞中的SCCA-1的表达值,i)该SCCA-1的表达值与不具有特应性皮炎的人的值相比,在统计学上不显著高的情况下,确定该疾病不需要通过该治疗而继续治疗,在确定需要继续治疗的情况下,进一步,ii)以该SCCA-1的表达值作为指标而将该对象者的特应性皮炎的严重度分级,确定对该对象者应用与各级相符的特应性皮炎治疗方法。

皮肤SCCA1与皮肤的局部严重度的相关



Spearman的相关系数0.753. p<0.001..

CN 109073640 A

1.一种诊断辅助方法，其是用于针对正在接受特应性皮炎治疗的对象者确定其治疗方针的诊断辅助方法，该方法测定该对象者的皮肤角质层细胞中的SCCA-1的表达值，

i)在该SCCA-1的表达值与不具有特应性皮炎的人的值相比，在统计学上不显著高的情况下，确定中断该治疗，该疾病不需要继续治疗。

2.一种确定特应性皮炎治疗方针的诊断辅助方法，其是针对正在接受特应性皮炎治疗的对象者确定其治疗方针的诊断辅助方法，该方法测定该对象者的皮肤角质层细胞中的SCCA-1的表达值，

ii)以该SCCA-1的表达值作为指标将该对象者的特应性皮炎的严重度分级，确定对该对象者应用与各级相符的特应性皮炎治疗方法。

3.一种判断是否需要进行特应性皮炎的治疗或确定治疗方针的诊断辅助方法，其是针对需要判断是否需要进行特应性皮炎的治疗的对象者或正在接受治疗的对象者，判断是否需要该治疗或在判断需要该治疗的情况下确定治疗方针的诊断辅助方法，该方法测定该对象者的皮肤角质层细胞中的SCCA-1的表达值，

i)在该SCCA-1的表达值与不具有特应性皮炎的人的值相比在统计学上不显著高的情况下，判断为不需要该治疗或在正在接受治疗的情况下确定该疾病不需要通过该治疗而继续治疗，在该SCCA-1的表达值与不具有特应性皮炎的人的值相比在统计学上显著高的情况下，判断需要开始治疗或确定需要继续该治疗，在判断需要开始治疗或确定需要继续该治疗的情况下，进一步，

ii)以该SCCA-1的表达值作为指标而将该对象者的特应性皮炎的严重度分级，确定对该对象者应用与各级相符的特应性皮炎治疗方法。

4.根据权利要求1～3中任一项所述的诊断辅助方法，长期重复进行所述治疗方针的确定。

5.根据权利要求1～4中任一项所述的诊断辅助方法，特应性皮炎的严重度的项目为选自红斑(erythema)、浸润(oozing)、丘疹(papule)、抓痕(excoriation)、苔藓样变(lichenification)、干燥/脱屑(xerosis)和瘙痒感(itch)中的1个或多个。

6.根据权利要求1～5中任一项所述的诊断辅助方法，所述皮肤细胞通过胶带剥离而非侵袭地采集。

7.根据权利要求1～6中任一项所述的诊断辅助方法，通过使用对SCCA-1特异性的抗体的免疫学检测方法来实施所述SCCA-1的表达的测定。

8.根据权利要求7所述的诊断辅助方法，所述免疫学检测方法选自酶免疫测定法(包含ELISA法、EIA法)、荧光免疫测定法、放射免疫测定法(RIA)、发光免疫测定法、表面等离子共振法(SPR法)、石英晶体微天平法(QCM法)、免疫比浊法、胶乳凝集免疫测定法、胶乳比浊法、粒子凝集反应法、胶体金法、毛细管电泳法、石墨烯生物传感器法、电流型生物传感器法、激光光谱法和表面浓缩免疫测定法。

9.根据权利要求6～8中任一项所述的诊断辅助方法，所述皮肤细胞的采集和所述SCCA-1的表达的测定在家进行或通过诊察进行。

10.根据权利要求1～9中任一项所述的诊断辅助方法，对每个对象者在3处以上皮肤部位进行所述通过胶带剥离进行的采集。

特应性皮炎的皮肤局部的重症度及治疗效果的指标

技术领域

[0001] 本发明提供以皮肤角质层细胞中的鳞状上皮细胞癌相关抗原(Squamous Cell Carcinoma Antigen 1,以下称为“SCCA-1”)作为指标的、非侵袭地评价特应性皮炎的局部病态的方法。

背景技术

[0002] 特应性皮炎是皮肤疾病中最多的疾病之一,主要在婴幼儿期频发,但近年来,青春期以后的患者数增加。特应性皮炎为反复恶化、缓解的以具有瘙痒的湿疹作为主病原的疾病,其发病机制仍然不清楚,但认为主要是在遗传体质的基础上加上各种环境因素而发病。所谓遗传体质,表示1)是否有支气管哮喘、过敏性鼻炎、结膜炎、特应性皮炎等的家族史、既往史,或2)易于产生IgE抗体的体质(日本皮肤科学会アトピー性皮膚炎診療ガイドライン(特应性皮炎诊疗指南)(非专利文献1))。特应性皮炎在同一患者中混合存在不同严重度的皮疹,在其病程中因为各种因素而可见缓解、恶化的变动或反复也是特征之一。例如,可见由季节等引起的症状变动、由生活环境的变化引起的变动、或由某种因素引起的重症、难治化等。治疗状况也受病程大幅影响。

[0003] 在特应性皮炎治疗中控制其症状而防止恶化是非常重要的。特应性皮炎为慢性疾病,难以达到真正意义上的痊愈。因此,在治疗中以维持外观和作为患者意识的没有症状的缓解期,不使其恶化作为目标。近年来启示了特应性皮炎与食物过敏反应等其它过敏反应的关联,特别是关于婴幼儿期,有必要早期进行适当治疗而接近缓解期。由于无论是婴幼儿、成人,往往都是需要长期治疗的疾病,因此是应特别考虑对患者的充分说明、对治疗的服从性(compliance)、依从性(adherence)的疾病。

[0004] 现在,特应性皮炎的严重度判断主要依赖肉眼所见。所见项目中,存在干燥症状、红斑、鳞屑、丘疹、抓痕、肿胀、浮肿、痂皮的附着、小水疱、糜烂、痒诊结节等各种项目,但都是考虑主观因素,因此包含根据医生的技能而判断产生差别的可能性,存在特应性皮炎的严重度判断缺乏客观性这样的问题。医生等依赖基于所见的严重度判断,来确定患者的治疗方针。

[0005] 世界上特应性皮炎的重症度分类所常用的是基于European Task Force on Atopic Dermatisis(欧洲特应性皮炎专责小组)的Severity Scoring of Atopic Dermatitis(SCORAD)(特应性皮炎的严重程度评分)、Eczema Area and Severity Index(EASI)(湿疹面积及严重度指数)(非专利文献1)。两者都是通过客观性高的分数将重症度分类,关于SCORAD最高分数为103分,关于EASI最高分数为72分。其中在特别经常利用的SCORAD的情况下,皮肤症状的评分需要下述步骤:求出皮疹的面积(在体表面积中所占的比例)以及红斑、浸润/丘疹、渗出液/痂皮、抓痕、苔藓样变、干燥的各皮疹的程度(0=无,1=轻度,2=中等程度,3=重度)的合计,通过视觉模拟评分法(Visual analogue scale(VAS))来评价被检者的自觉症状,算出SCORAD值。在SCORAD值的算出时具有需要熟练的医生等的专门技能,此外也花费时间和劳力这样的缺陷。在被检者为婴幼儿的情况下,不期望

评价需要时间。因此，需要可以更简便并且客观地分类重症度的方法。与SCORAD相比专门性和复杂性少的严重度判定方法由日本过敏反应学会提出(非专利文献2)。其以皮疹在体表面积中所占的比例进行严重度判定，但如上所述，特应性皮炎为不同严重度的皮疹在同一患者中存在的复杂疾病，因此并不充分。

[0006] 关于特应性皮炎治疗，在皮疹的严重度为轻微的情况下，以补足干燥和屏障功能的降低，并预防炎症复发为目的，可以通过保湿剂、保护剂、皮肤护理来应对，但如果严重度进展，则仅使用保湿剂等得不到充分的效果。特应性皮炎的炎症的抑制可使用类固醇外用药和他克莫司软膏(钙调磷酸酶抑制外用药)。

[0007] 在日常诊疗中持续进行大量类固醇外用的情况等极端例中，有产生肾上腺功能抑制等副作用的例子的报告。如果适当使用类固醇外用药，则日常诊疗中的通常使用量不会产生肾上腺功能不全、糖尿病、满月样容貌等服用内服药而可见的全身副作用。局部副作用之中，类固醇痤疮、类固醇潮红、皮肤萎缩、多毛、细菌、真菌、病毒性皮肤感染症等可能偶尔产生，但通过治疗的中止或适当处置而恢复。然而，由于大多数情况下与类固醇内服药的混淆、特应性皮炎本身的恶化与类固醇外用药的副作用的混淆等，因此对类固醇外用药的误解也多，在患者方面产生对类固醇外用药的恐惧、回避，常常可见服从性降低。因为这样的误解，有时不进行必要的类固醇外用药的涂抹，得不到治疗效果。因此，如果可以对患者提示皮疹的重症度，充分说明与其对应的类固醇的外用的意义，使患者接纳，则能够适当使用所选择的外用剂，达到充分的治疗效果。因此，以客观的皮肤局部的指标对患者提示皮疹的重症度，提高治疗的接纳性，产生出充分的治疗效果是重要的。

[0008] 按照临床效果强的顺序分类的类固醇外用剂的强度、剂型有必要考虑各个皮疹的重症度、和涂抹部位、年龄等来选择。由于类固醇外用药的效果的强度与副作用的产生容易性一般平衡，因此不选择超过必要的强的类固醇外用药，而适当选择与各个皮疹相称的级别的药剂是重要的。因此，期望特应性皮炎的局部严重度的客观指标的提示。

[0009] 此外，如上所述，在皮疹的严重度为轻微的情况下，可以通过使用不含类固醇、他克莫司的保湿剂、保护剂等的皮肤护理进行应对，但对轻微的皮肤症状也有必要持续外用疗法，如果懈怠则有时炎症容易复发，不得不依赖更强的类固醇外用药等的使用。然而，如上所述特应性皮炎的严重度判断依赖肉眼所见，因此尽管实际上不需要给药但继续不需要的治疗的情况、或因为中断必要的治疗而症状复发的情况有很多。最多的是，不仰仗医生的判断，患者通过自身的判断深信特应性皮炎痊愈了而中断或中止治疗。特别是，特应性皮炎有以外观上的所见判断为没有疾病的所谓“缓解”状态。“缓解”是对于患者而言皮疹消失，也没有瘙痒等自觉症状的状态，医生以维持“缓解”作为目的。然而，即使湿疹通过例如抗炎外用药暂时改善而达到“缓解”，也有时在组织图像中存在低水平的血管周围的淋巴细胞等引起的伴有炎症细胞浸润、或内皮细胞的肿胀、基底膜肥厚的轻度病变(Fiset PO,Leung DY.JACI;118:287-290,2006)(非专利文献3)。缓解中的病态把握仅通过外观所见是极其困难的，因此以往采用了在缓解的状态下将治疗切换成使用了保湿剂等的皮肤护理，如果用眼睛可看见的炎症复发，则将治疗药切换成类固醇、他克莫司这样的所谓“反应疗法”。然而，如果能够把握缓解中的病态，则可以采用在症状剧烈复发前通过弱的抗炎剂和皮肤护理进行治疗的、这样的主动疗法(预防性的间歇涂抹法)。因此，强烈期望能够把握肉眼不易判断的病态的客观局部指标。

[0010] 这样,特应性皮炎虽然症状的控制是重要的,但是其病态的把握困难,而且由于所使用的治疗药所具有的副作用、以及患者对该副作用的误解等,因此对患者的充分说明、对治疗的服从性、依从性的考虑是必须的,因此从患者方面和医生方面双方都殷切期望严重度的客观指标的提示。

[0011] 作为成为特应性皮炎的严重度指标的物质,有血液的外周血嗜酸性粒细胞数、血清总IgE值、LDH(乳酸脱氢酶)值、血清中的Thymus and Activation-Regulated Chemokine(TARC)(胸腺和激活可调节趋化因子)(Sugawara et al.,Allergy(2002)57:180-181:非专利文献4)。血清中的TARC的量与特应性皮炎的严重度相关,能够成为显示全身性的疾病状态的指标。然而,虽然有时特应性皮炎在全身发病,但多在局部发病,此外在各个发病位置,严重度不同的情况也有很多。因此,有必要确定与发病的各部位的严重度相适合的治疗方针,在特应性皮炎的诊断时,与全身性的指标相比,能够进行局部诊断的指标是必要的。此外,用于测定血清中的TARC的试样的采血要求侵袭性,缺乏简便性。特别是,在占特应性发病率的约89%的婴幼儿中,也存在伴有疼痛感的采血的患者负担、医疗现场的技术困难,难以实施使用了血液的客观的重症度诊断。进一步,在婴幼儿期中特应性皮炎在短时间恶化,因此锐敏地反映病势的指标是必要的,但现有指标存在不会锐敏地反映病势、或在婴幼儿期显示高值等课题。

[0012] 另一方面,角质层中的TARC(以下,"角质层TARC")作为客观地判断局部严重度的指标是不充分的。原因是,健康者的角质层TARC的测定值与具有特应性疾病的患者的无疹部来源的角质层TARC的值中并未确认到显著性差异(Morita et al.,Allergy(2010)65:1166-1172:非专利文献5的Fig.2)。并且,角质层TARC在严重度为中等程度的患者与严重的患者中并未确认到显著性差异(该非专利文献4的Fig.3),因此与严重度的相关性也低。因此,在将TARC作为特应性疾病的严重度指标的情况下,除测定血清中的TARC以外无其他方法,从血清试样的采集这样的观点考虑缺乏简便性,而且在不能使用于局部诊断方面不可以说是有效的指标。如上所述特应性皮炎的患者中婴幼儿多,采血等这样的侵袭性的试样采集对于患者、医生双方都是困难的,期望可以避免。

[0013] 鳞状上皮细胞癌相关抗原(SCCA)为从鳞状上皮癌细胞提取的抗原,在宫颈部、肺、食道、皮肤的鳞状上皮细胞癌中显示高的血中浓度,在鳞状上皮细胞癌的诊断中经常被利用(H.Kato et al.Cancer 40:1621-1628(1977)非专利文献6;N.Mino et al.Cancer 62:730-734(1988):非专利文献7)。特别是,SCCA的血中水平与鳞状上皮细胞癌的发展阶段、恶性度、肿瘤大小等良好相关,因此不仅在癌的早期发现,而且在癌治疗效果的评价、再发可能性的诊断等中也是特别有效的癌标志物。

[0014] 此外也可知SCCA在银屑病表皮的上层中确认到表达的增强(Takeda A.et al.,J.Invest.Dermatol.(2002)118(1),147-154;非专利文献8)。银屑病为皮肤病之一,有作为以表皮细胞的增殖、分化异常和炎症细胞浸润作为特征的慢性、再发性的炎症性角化不全的银屑病。可以认为银屑病是在遗传体质上加上各种环境因素而发病(Hopso-Havu et al.British Journal of Dermatology(1983)109,77-85:非专利文献9)。

[0015] Mitsuishi et al.,Clin.Exp.,Allergy(2005)35;1327-1333(非专利文献10)中公开了,血清中的SCCA与特应性皮炎的严重度相关。然而,血清中的蛋白质未必与角质层细胞中的该蛋白质具有相关关系。表皮角质形成细胞在基底层增殖,移动到上层进行分化,成

为角质层，最后从皮肤剥落，但该角质层经过通过进行皮肤的正常角化而在角质细胞中核消灭的“脱核”这样的现象等特征性状态而生成。在角质形成细胞分化而核消失的过程中，由于各种内源性蛋白酶的漏出，内源性蛋白质的一部分分解而消失或其量显著减少。因此，有时显示出存在于角质层中的蛋白质的暴露环境与血流中的暴露环境完全不同，其量也与血流中完全不同的行为。血清中的TARC成为特应性皮炎的严重度指标，而角质层TARC不成为该指标的理由也可能在于此。因此，即使有血清中的SCCA与特应性皮炎的严重度相关这样的认识，该认识也没有暗示出角质层中的SCCA与特应性皮炎的严重度相关。特别是，特应性皮炎是严重度不同的多种皮疹混合存在的疾病，医生的所见根据多个项目而成立，由此也表明这一情况。

[0016] 国际公开第2006/098523号(专利文献1)中公开了，皮肤角质层细胞的SCCA(以下，有时称为“角质层SCCA”)成为用于预知以特应性皮炎作为原因的角化不全的指标。该公报示出以角质层SCCA作为指标，可以预知还没有罹患特应性疾病的被检者将来罹患该疾病的风险这样的认识。因此，角质层SCCA参与特应性皮炎的发病是明确的。然而，即使角质层SCCA为特应性皮炎的发病的原因因子，其也未必就是疾病发病后的严重度指标。其原因在于：即使角质层SCCA为特应性皮炎的原因因子，也有其它因子导致发病后的症状进展，而角质层SCCA变得与症状进展无关的可能性，因此疾病的原因因子未必就被使用于疾病的预后标志物。现在，作为疾病的诊断标志物而利用的物质不成为疾病的严重度指标的例子有很多。例如，作为肿瘤标志物的α甲胎蛋白(AFP)为诊断标志物，但其值与肿瘤大小不一致，此外，不能通过数值的上升程度来进行预后判断。

[0017] 如开头所述那样，特应性皮炎为反复恶化、缓解的疾病，不容易痊愈，在治疗过程中其症状的控制是重要的，因此针对其治疗方针的选取，医生、患者双方都期望为非侵袭性，成为局部的严重度指标，由此在对患者的治疗方针的说明中能够成为客观指标的标志物，但并不存在。

[0018] 现有技术文献

[0019] 专利文献

[0020] 专利文献1:国际公开第2006/098523号

[0021] 非专利文献

[0022] 非专利文献1:日皮会誌119(8),151-1534,2009

[0023] 非专利文献2:アレルギー総合ガイドライン(过敏综合指南)2013第6章アトピー性皮膚炎(特应性皮炎)

[0024] 非专利文献3:Fiset PO,Leung DY.JACI;118:287-290,2006

[0025] 非专利文献4:Sugawara et al.,Allergy(2002)57:180-181

[0026] 非专利文献5:Morita et al.,Allergy(2010)65:1166-1172

[0027] 非专利文献6:H.Kato et al.Cancer 40:1621-1628(1977)

[0028] 非专利文献7:N.Mino et al.Cancer 62:730-734(1988)

[0029] 非专利文献8:Takeda A.et al.,J.Invest.Dermatol.(2002)118(1),147-154;

[0030] 非专利文献9:Hopso-Havu et al.British Journal of Dermatology(1983)109,77-85

[0031] 非专利文献10:Mitsuishi et al.,Clin.Exp.,Allergy(2005)35;1327-1333

发明内容

[0032] 发明所要解决的课题

[0033] 提供不依赖于医生、特别是熟练的医生的技能的、特应性皮炎的痊愈、严重度的局部和全身诊断的客观并且简便的指标。

[0034] 用于解决课题的手段

[0035] 本发明人将患有特应性皮炎并且正在接受该疾病治疗的对象者的角质层细胞中的SCCA-1的表达量、与成为特应性皮炎的指标的代表性项目的基于医生的肉眼诊断的皮肤所见一起进行了调查。其结果，发现角质层SCCA-1的值、与皮肤所见的疾病严重度高度相关(图1)。即，随着SCCA-1的值提高，皮肤所见也从缓解变为轻症、中症、重症，严重度也加重。此外，即使是在患者本身的自己所见中自己判断为该疾病在表观上痊愈了的对象者，在医生的所见中具有症状的病例有很多，本发明人发现这样的医生的所见大致与显著量的SCCA-1的表达一致。即，如果以SCCA-1的表达作为指标，则成为用于患者不仰仗医生的诊断，而例如在家由自己本身评价自己的严重度的客观判断材料，其结果，具有下述优点：例如可以防止由即使该疾病仍然需要治疗、医生的观察，但是通过自己所见断定为痊愈，并懈怠继续治疗所引起的疾病的再发、复发。其结果，也具有下述优点：在与健康相比SCCA-1的表达高，例如判断为处于缓解期的情况下，通过保湿剂、保护剂等进行皮肤护理，可以防止由完全不应对而放置所引起的疾病的再发、复发。进一步，如果SCCA-1的表达变高，则可以判断采用类固醇外用药的治疗、采用类固醇以外的具有抗炎效果的外用药的治疗是否必要，因此可以防止症状的恶化。

[0036] 如以上那样，通过以皮肤角质层细胞中的SCCA-1作为指标，能够针对正在接受特应性皮炎治疗的对象者、过去接受治疗且现在处于缓解期的对象者、以及虽然看起来健康但具有特应性发病可能性的对象者等把握局部病态。

[0037] 本申请提供以下发明。

[0038] (1)一种诊断辅助方法，其是用于针对正在接受特应性皮炎治疗的对象者确定其治疗方针的诊断辅助方法，该方法测定该对象者的皮肤角质层细胞中的SCCA-1的表达值，

[0039] i)在该SCCA-1的表达值与不具有特应性皮炎的人的值相比在统计学上不显著高的情况下，确定中断该治疗，该疾病不需要继续治疗。

[0040] (2)一种确定特应性皮炎治疗方针的诊断辅助方法，其是针对正在接受特应性皮炎治疗的对象者确定其治疗方针的诊断辅助方法，该方法测定该对象者的皮肤角质层细胞中的SCCA-1的表达值，

[0041] ii)以该SCCA-1的表达值作为指标而将该对象者的特应性皮炎的严重度分级，确定对该对象者应用与各级相符的特应性皮炎治疗方法。

[0042] (3)一种判断是否需要进行特应性皮炎的治疗或确定治疗方针的诊断辅助方法，其是针对需要判断是否需要进行特应性皮炎的治疗的对象者或正在接受治疗的对象者，判断是否需要该治疗或在判断为需要该治疗的情况下确定治疗方针的诊断辅助方法，该方法测定该对象者的皮肤角质层细胞中的SCCA-1的表达值，

[0043] i)在该SCCA-1的表达值与不具有特应性皮炎的人的值相比在统计学上不显著高的情况下，判断为不需要该治疗或在正在接受治疗的情况下确定该疾病不需要通过该治疗

进行继续治疗，在该SCCA-1的表达值与不具有特应性皮炎的人的值相比在统计学上显著高的情况下，判断需要开始治疗或确定需要继续该治疗，在判断需要开始治疗或确定需要继续该治疗的情况下，进一步，

[0044]　ii）以该SCCA-1的表达值作为指标而将该对象者的特应性皮炎的严重度分级，确定对该对象者应用与各级相符的特应性皮炎治疗方法。

[0045]　(4)根据(1)～(3)中任一项的诊断辅助方法，长期重复进行上述治疗方针的确定。

[0046]　(5)根据(1)～(4)中任一项的诊断辅助方法，特应性皮炎的严重度的项目为选自红斑(erythema)、浸润(oozing)、丘疹(papule)、抓痕(excoriation)、苔藓样变(lichenification)、干燥/脱屑(xerosis)和瘙痒感(itch)中的1个或多个。

[0047]　(6)根据(1)～(5)中任一项的诊断辅助方法，上述皮肤细胞通过胶带剥离而非侵袭地采集。

[0048]　(7)根据(1)～(6)中任一项的诊断辅助方法，通过使用对SCCA-1特异性的抗体的免疫学检测方法来实施上述SCCA-1的表达。

[0049]　(8)根据(7)的诊断辅助方法，上述免疫学检测方法选自酶免疫测定法(包含ELISA法、EIA法)、荧光免疫测定法、放射免疫测定法(RIA)、发光免疫测定法、表面等离子共振法(SPR法)、石英晶体微天平法(QCM法)、免疫比浊法、胶乳凝集免疫测定法、胶乳比浊法、粒子凝集反应法、胶体金法、毛细管电泳法、石墨烯生物传感器法、电流型生物传感器法、激光光谱法和表面浓缩免疫测定法。

[0050]　(9)根据(7)或(8)的诊断辅助方法，上述皮肤细胞的采集和上述SCCA-1的表达的测定在家进行。

[0051]　(10)根据(1)～(9)中任一项的诊断辅助方法，对每个对象者在3处以上皮肤部位进行上述通过胶带剥离进行的采集。

[0052]　发明的效果

[0053]　角质层中的SCCA-1的值能够非侵袭地把握特应性皮炎的局部病态。进一步，成为用于对患有特应性皮炎、并且正在接受该疾病治疗的对象者确定有效的治疗方针的客观指标。于是，提供用于确定与疾病的严重度对应的适当治疗方法的、或用于确定用于使缓解尽量继续的治疗方针的、而且具有对患者的今后治疗方针的说明所需的接纳感的客观指标。由此，具体而言，能够确定是否继续类固醇外用药、是否继续他克莫司等类固醇以外的具有抗炎效果的外用药等治疗方针。此外，如果可以以角质层中的SCCA-1的值作为指标，则通过开发角质层中的SCCA-1的简易测定试剂盒，从而患者不仰仗医生的诊断，不去医院即使在家等也能够通过自己本身客观判断自己的状态是否为需要治疗的状态。或者，能够通过诊察等而早期地把握状态。其结果，可以防止由该疾病仍然处于需要治疗的状态但是通过自己所见断定为不需要治疗而懈怠继续治疗所引起的疾病的再发、复发。或者，能够把握必要的治疗方法，早期应对。而且，也减轻由医生的技能差别引起的治疗差别。进一步，本发明的方法中由于以角质层的SCCA-1作为指标，由此本发明的方法不需要采血，是非侵袭性的。如果考虑婴幼儿占特应性发病率的约89％，则在没有伴有疼痛感的采血的患者负担，没有医疗现场的技术困难方面是极其有效的。此外，每一被检者在多处例如3处以上采集角质层试样，将其平均SCCA-1值作为指标，从而能够提供代替特应性皮炎的严重度分类所常用的SCORAD、EISA的、简易并且可靠度高的特应性皮炎的全身严重度分类方法。

附图说明

[0054] 图1表示角质层SCCA-1的值与特应性皮炎的严重度具有高相关性(皮肤局部)。

[0055] 图2是表示角质层SCCA-1的值与特应性皮炎的严重度具有高相关性的棒图(皮肤局部)。

[0056] 图3-1是表示角质层SCCA-1的值与特应性皮炎的各皮肤所见项目的严重度分别具有高相关性的棒图。

[0057] 图3-2是表示角质层SCCA-1的值与特应性皮炎的各皮肤所见项目的严重度分别具有高相关性的棒图。

[0058] 图4是表示角质层TARC的值与特应性皮炎的严重度的相关低的图(皮肤局部)。

[0059] 图5是表示特应性皮炎的严重度的局部皮肤所见与自己所见的乖离的图。

[0060] 图6-1是表示以SCCA-1和医生的皮肤所见作为指标的患有特应性皮炎的患者的治疗经过的跟踪的图。

[0061] 图6-2是表示以SCCA-1和医生的皮肤所见作为指标的患有特应性皮炎的患者的治疗经过的跟踪的图。

[0062] 图6-3是表示以SCCA-1和医生的皮肤所见作为指标的患有特应性皮炎的患者的治疗经过的跟踪的图。

[0063] 图7是表示以SCCA-1值高的被检者的SCCA-1和医生的皮肤所见作为指标的特应性皮炎的严重度的跟踪的图。

[0064] 图8是表示以SCCA-1值与健康者相比稍微高的被检者的SCCA-1和医生的皮肤所见作为指标的特应性皮炎的严重度的跟踪的图。

具体实施方式

[0065] SCCA-1

[0066] SCCA由在染色体18q21.3上串联排列的二个基因SCCA-1和SCCA-2基因编码。由此被编码的蛋白质、SCCA-1和SCCA-2都为分子量约45,000的蛋白，显示高的相同性，其同源性在核酸水平为95％。这些SCCA属于卵清蛋白丝氨酸蛋白酶抑制剂(ovalbumin-serine protease inhibitor)(ov-serpin)家族。ov-serpin在丝氨酸蛋白酶抑制蛋白(serpin)超家族中也具有独特的特征。一般认为丝氨酸蛋白酶抑制蛋白被分泌而在细胞外起作用，但ov-serpin为主要在细胞内起作用的蛋白酶抑制剂。

[0067] SCCA-1为木瓜蛋白酶样半胱氨酸蛋白酶抑制剂，SCCA-2为胰凝乳蛋白酶样丝氨酸蛋白酶抑制剂，虽然同源性高，但是由于反应部位的氨基酸序列不同，因此有时具有不同特性(Schick et al.J.Biol.Chem.(1997)27213,1849-55)。本发明人发现，特别是SCCA-1，通过非侵袭手段，而成为特应性皮炎的严重度评价的指标。

[0068] 特应性皮炎

[0069] 以下术语的定义、说明基于作为原则的日本皮肤科学会的特应性皮炎诊疗指南。

[0070] ＜特应性皮炎＞

[0071] 是反复恶化、缓解的、以具有瘙痒的湿疹作为主病原的疾病，患者多数具有特应性体质(在同一人内具有不同严重度的皮疹)。

[0072] ＜特应性皮炎的诊断基准＞

[0073] 一般而言，将满足瘙痒、特征性皮疹与分布、慢性/反复的进程(婴儿为2个月以上，其它为6个月以上)这3个基本项目的皮炎判断为特应性皮炎。

[0074] ＜特应性皮炎的皮疹的严重度和外用剂的选择＞

[0075] 根据日本皮肤科学会的特应性皮炎诊疗指南等，特应性皮炎的皮疹的严重度可以分级为缓解、轻微、轻症、中症、重症。以下，显示各严重度的状态和应选择的治疗法。

[0076] 1)重症

[0077] ·皮疹的重症度：以高度的肿胀/浮肿/浸润或伴有苔藓样变的红斑、丘疹的频发、高度的鳞屑、痂皮的附着、小水疱、糜烂、多数的抓痕、痒疹结节等作为主体。

[0078] ·外用剂的选择：以具有必要并且充分的效果的非常强(very strong)或强(strong)级别的类固醇外用剂作为第一选择。对于痒疹结节，在即使是非常强的类固醇外用剂也得不到充分效果的情况下，也限定于该部位而使用最强级别(strongest)的类固醇外用剂。

[0079] 2)中症

[0080] ·皮疹的重症度：以直到中等程度的红斑、鳞屑、少数的丘疹、抓痕等作为主体。

[0081] ·外用剂的选择：以强或中等级别的类固醇外用药作为第一选择。

[0082] 3)轻症

[0083] ·皮疹的重症度：以干燥和轻度的红斑、鳞屑等作为主体。

[0084] ·外用剂的选择：以中等以下的类固醇外用剂作为第一选择。

[0085] 4)轻微：缺乏炎症症状的干燥症状主体。

[0086] ·外用剂的选择：选择不含类固醇的外用剂。

[0087] 5)缓解：是指无论是持久或是暂时的，由病引起的症状好转或基本消失，在临床上受到了控制的状态。即，即使在一般意义上没有痊愈，在临床上状态变好直到“没有问题的程度”。之后也有恶化的可能性的状态。(与治愈、痊愈不同。)

[0088] ·外用剂的选择：选择不含类固醇的外用剂、保湿剂等。

[0089] 当然，上述分级不过是一例，皮疹的严重度也有时分类成无症状、轻症、中等症、重症。在那样的分类的情况下，也有时确定为以下的治疗方针：对轻症者应用不含类固醇的外用剂，对中等症者应用中等级别的类固醇外用药，对重症者应用非常强或强级别的类固醇外用剂；等等(过敏综合指南2013第6章特应性皮炎(非专利文献2))。

[0090] 以下显示上述严重度的说明中使用的术语的定义。

[0091] ·皮疹(eruption)：将皮肤出现的病变总称为皮疹或发疹。

[0092] ·皮炎(dermatitis)：皮肤产生的炎症(占皮肤科门诊的1/3-1/5)。皮肤产生的炎症反应作为湿疹而表现。在临床上，产生瘙痒、发红、脱屑、丘疹。

[0093] ·湿疹(eczema)：与皮炎含义相同。

[0094] ·红斑(erythema)：因为真皮乳头和乳头下层的血管扩张、充血而产生的红色的斑。

[0095] ·丘疹(papule)：是指直径1cm以下的局限性的隆起变化(皮肤的隆起)。

[0096] ·结节(nodule)：结节为与丘疹同样的局限性的皮肤变化且直径1cm以上、并且2～3cm程度。比丘疹深，达到真皮或皮下组织。

[0097] •苔藓(lichen):丘疹持久而成。

[0098] •浸润(oozing):在发生皮炎的病变部位的皮肤内,白细胞、淋巴细胞侵入了的状态。也有时是指病灶在周围向正常组织慢慢侵入的状况。

[0099] •痂皮(crust,crusting):角质、渗出液、血液、脓或坏死组织凝固而成。所谓的疮痂。

[0100] •瘙痒(pruritus):痒。

[0101] 关于类固醇外用剂的药效强度的顺序例,在以下表1中记载。需要说明的是,这些药剂和药效强度的顺序不过是例示。

[0102] [表1]

[0103] 最强

[0104] 0.05%氯倍他索丙酸酯(デルモベート®)

[0105] 0.05%双氟拉松乙酸酯(ジフラール®、ダイアコート®)

[0106] 非常强

[0107] 0.1%莫米松糠酸酯(フルメタ®)

[0108] 0.05%丁酸丙酸倍他米松(アンテベート®)

[0109] 0.05%醋酸氟轻松(トプシム®)

[0110] 0.064%倍他米松二丙酸酯(リンデロンDP®)

[0111] 0.05%二氟泼尼酯(マイザー®)

[0112] 0.1%安西奈德(ビスダーム®)

[0113] 0.1%戊酸二氟可龙(テクスメテン®、ネリゾナ®)

[0114] 0.1%丁酸丙酸氢化可的松(パンデル®)

[0115] 强

[0116] 0.3%地泼罗酮丙酸酯(エクラー®)

[0117] 0.1%丙酸地塞米松(メサデルム®)

[0118] 0.12%地塞米松戊酸酯(ボアラ®、ザルックス®)

[0119] 0.1%哈西奈德(アドコルチン®)

[0120] 0.12%倍他米松戊酸酯(ベトネベート®、リンデロンV®)

[0121] 0.025%倍氯米松丙酸酯(プロパデルム®)

[0122] 0.025%氟轻松(フルコート®)

[0123] 中等

[0124] 0.3%戊酸乙酸泼尼松龙(リドメックス®)

[0125] 0.1%曲安奈德(レダコート®、ケナコルトA®)

[0126] 0.1％阿氯米松丙酸酯(アルメタ®)

[0127] 0.05％氯倍他松丁酸酯(キンダベート®)

[0128] 0.1％氢化可的松丁酸酯(ロコイド®)

[0129] 0.1％地塞米松(グリメサゾン®、オイラゾン®)

[0130] 弱

[0131] 0.5％泼尼松龙(プレドニゾロン®)

[0132] 角质层SCCA-1的表达量的绝对值可能根据所利用的角质层SCCA-1的测定系统的不同而变动。因此，为了根据角质层SCCA-1表达值将被检者划分为适当的严重度，有必要对所利用的角质层SCCA-1的测定系统制作表示角质层SCCA-1表达值与严重度的关系的标准曲线。在标准曲线的制作时，优选首先预先通过医生的诊察而获得皮肤所见。所见项目中，存在例如干燥症状、红斑、鳞屑、丘疹、抓痕、肿胀、浮肿、痂皮的附着、小水疱、糜烂、痒诊结节等多种。关于各个所见，将评价基准设为例如0：无(absence)、1：轻症(mild)、2：中等症(moderate)、3：重症(severe)。用于制作标准曲线的被检者的人数越多越优选，可以为例如50人以上等，但没有限定。进而，将这些各项目的分数合计，例如可以以0点(即，全部项目为评价基准0的情况)到最高点(即，全部项目为评价基准3的情况下)作为横轴，以角质层SCCA-1的测定值作为纵轴，来制作标准曲线。横轴可以适当分级，例如可以从分数少的一方开始划分为健康(正常)、缓解、轻症、中症、重症等严重度。一旦获得被检者的SCCA-1值，则套用到这样的标准曲线，获知该被检者的患部的严重度相当于哪个严重度水平。

[0133] 通过向患者提示这样的严重度的客观指标，能够成为即使是对例如类固醇药具有错误认识的患者，也使之接纳需要使用其的治疗方针的材料，从而可应用与该患者的严重度相符的有效治疗方针。特应性皮炎为治疗持续长期的疾病，医者与患者的可靠关系、患者对接受治疗的动机的维持是重要的，因此可以认为本指标是有效的。

[0134] 一旦制作那样的标准曲线，则仅通过该测定系统来测定被检者的角质层SCCA-1的表达值，就能够判定相当于哪个严重度，能够确定该严重度的适合治疗方针。适于各个严重度的治疗方针例如可以按照特应性皮炎诊疗指南来确定。例如，对于通过角质层SCCA-1的表达值而判定为重症的被检者的患部，可以按照该指南，以最强、非常强或强级别的类固醇外用剂作为第一选择。对于通过角质层SCCA-1的表达值而判定为轻微的被检者的患部，可以按照该指南，选择不含类固醇的外用剂、保湿剂等。

[0135] 特应性皮炎中有通过外观上的所见判断为没有疾病的所谓“缓解”状态。在“缓解”的情况下，即使湿疹通过例如抗炎外用药而暂时改善，在组织图像中也证明了低水平的血管周围的淋巴细胞等所引起的伴有炎症细胞浸润、或内皮细胞的肿胀、基底膜肥厚的轻度病变的存在(Fiset PO,Leung DY.JACI;118:287-290,2006)(非专利文献2)。缓解中的病态的判断通过外观所见是极其困难的，因此以往采用了在缓解的状态下将治疗方法切换成使用了保湿剂等的皮肤护理，一旦用眼睛可看见的炎症复发，则将治疗药切换成类固醇、他克莫司这样的所谓“反应疗法”。

[0136] 利用以前的方法，由于不存在评价特应性皮炎是否需要治疗的客观指标，因此经常仰仗一部分熟练的医生的所见。根据本发明，能够更详细地评价缓解的状态，是极其有利

的。因此，首先测定未罹患特应性皮炎的多个人数的健康者的角质层SCCA-1的值。测定的健康者的数没有特别限定，越多越优选，为例如10人以上，更优选为20人以上，最优选为50人以上，但不限定于此。由此，获知健康者的角质层SCCA-1的值，在被检者的角质层SCCA-1的值相对于该值在统计学上显著高的情况下，可知特应性皮炎处于易于显著复发的状态。

[0137] 本发明可以在下述的主动疗法(预防性的间歇涂抹法)中应用：在缓解期间定期地，通过弱的抗炎剂的间歇涂抹与保湿剂、保护剂等皮肤护理进行治疗，一旦达到不需要治疗的阶段则切换到仅仅通过保湿剂、保护剂进行皮肤护理。

[0138] 优选角质层SCCA-1的表达值的测定利用预先制作了上述标准曲线的角质层SCCA-1测定用的试剂盒例如市售的试剂盒进行。由此，可以省略标准曲线的制作，仅通过该测定系统来测定被检者的角质层SCCA-1的表达值，就能够判定相当于哪个严重度，确定适于该严重度的治疗方针。

[0139] 本发明涉及的SCCA-1的表达的测定可以按照能够测定SCCA-1的任意方法，定量或定性实施。具体而言，可举出利用对SCCA-1特异性的抗体的免疫测定方法，例如利用酶标签的ELISA法、利用放射性标签的RIA法、免疫比浊法、蛋白质印迹法、胶乳凝集法、红细胞凝集法、免疫色谱法、共振等离子共振法、SAW(Surface Acoustic wave;表面声波)器件、电子器件法等各种方法。免疫测定法的方式中可举出竞争法、夹心法。此外，SCCA-1的表达量也可以通过在编码其的基因的细胞内被表达的量的测定来进行。在该情况下，优选SCCA-1的表达通过测定编码细胞内的SCCA-1的mRNA的量来确定。mRNA的提取、其量的定量或定性测定在本领域中也是周知的，可以通过例如PCR法、3SR法、NASBA法、TMA法等各种周知的方法来实施。此外，SCCA-1的表达通过in situ杂交法、其生物活性的测定来定性确定。

[0140] 成为被检体的皮肤角质层试样的采集可以通过任意方法实施，但从简便性的观点考虑优选为胶带剥离法。所谓胶带剥离，是对皮肤表层粘贴胶粘带片，进行剥落，使皮肤角质层附着于该剥落的胶粘带从而采集角质层试样的方法。如果利用胶带剥离法，则仅通过对角质层采集一块胶带，就能够测定SCCA-1表达，能够实现以SCCA-1作为指标的特应性皮炎的病态把握方法。胶带剥离的优选方法如下进行：首先除去皮肤的表层的皮脂、污垢等，将切成适当尺寸(例如2×6cm)的胶粘带片轻轻地载置在皮肤表面上，对胶带整体施加均等的力而按压平，然后用均等的力剥取胶粘带。作为除去皮肤表层的皮脂、污垢等的方法，可举出利用了薄纸的擦拭、使用了肥皂的洗涤、采用水或乙醇的净化等。胶粘带可以为市售的赛璐玢胶带等，可以使用例如Scotch Superstrength Mailing Tape(3M社制)、赛璐玢胶带(セロテープ(注册商标)；ニチバン株式会社)等。附着于胶粘带的皮肤角质层试样中的SCCA-1可以通过将胶带片浸渍在适当的提取液例如Tris-buffer(pH 8.0)(0.1M Tris-HCl,0.14M NaCl,0.1%Tween-20)中提取角质层而从胶带中分离、提取。

[0141] 在本发明的优选方案中，SCCA-1通过免疫测定方法例如ELISA测定。在ELISA中使用的对SCCA-1特异性的抗体可以为单克隆抗体也可以为多克隆抗体。单克隆抗体、多克隆抗体的制作方法是本领域技术人员周知的，例如记载于Lunstrum et el.,J Biol.Chem.1986,261:9042-9048;Hurle et al.J Cell Science 1994,107:2623-2634。

[0142] 在本发明涉及的方法中，特别优选为夹心免疫测定法。夹心免疫测定方法例如可以如下实施。

[0143] 以2种对SCCA-1特异性的抗体的一种作为一次抗体而固定化于载体。作为载体，优

选为固体载体，例如作为固体载体，可以使用在免疫测定法中常用的任意固体载体，例如除了成型为任意大小、形状的苯乙烯、聚苯乙烯等高分子载体以外，还可举出由这些适当材料成型的反应容器、例如ELISA板的孔的内壁等。

[0144] 上述一次抗体向载体的固定化可以按照常规方法进行，例如可以通过将上述一次抗体溶解于缓冲液、例如磷酸缓冲食盐水(PBS)、硼酸缓冲液等并使其吸附于载体来固定化。此外，也可以例如将可与上述一次抗体结合的抗体、其它蛋白质、例如蛋白质C预先固定化于载体，使其与上述一次抗体接触等。进一步，为了抑制非特异性的结合，优选通过在这样操作而固定化有一次抗体的载体中加入适当的封闭剂例如PBS-BSA、市售的封闭剂例如ブロックエース(大日本制药)，在约4～40℃，优选为20～37℃下，培养5分钟～数日，优选为10分钟～24小时，更优选为10分钟～3小时来进行封闭。

[0145] 上述2种对SCCA-1特异性的抗体的另一种抗体作为二次抗体使用，进行标记。作为标记，可举出酶标记、放射线同位素标记、荧光标记等。在进行酶标记的情况下，也可以使酶与二次抗体直接结合而进行标记，或者经由例如抗生物素蛋白-生物素那样的相互反应性蛋白质而间接地用酶进行标记。酶向抗体等的结合可以通过例如利用市售的硫醇导入基试剂对酶和应标记的抗体等各自导入硫醇基后使两者进行S-S结合来进行。作为酶，可举出辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、β-D-半乳糖苷酶等。酶的检测可以使用对该酶特异性的底物来进行。在利用例如辣根过氧化物酶的情况下，可以利用TMB(3,3',5,5'-四甲基联苯胺)、ABTS(2,2'-连氮基-二[3-乙基苯并噻唑啉磺酸盐])等。

[0146] 这样的免疫测定通过将固定了上述一次抗体的载体、上述标记了的二次抗体、被检试样进行混合，进行培养，来使被检试样中的SCCA-1与固定化于载体的一次抗体结合，使标记二次抗体与该SCCA-1分子结合。

[0147] 这样地操作，标记化抗体以反映出试样中的SCCA-1量的量，经由固定化于载体的一次抗体和来源于试样的SCCA-1而固定在载体上。这样的培养在适当的缓冲液例如PBS中在约4～40℃、优选20～37℃下，进行5分钟～数日，优选为10分钟～24小时，更优选为10分钟～3小时。

[0148] 接下来，进行从上述载体分离未结合的标记化抗体的操作。在载体为固体载体的情况下，该分离操作可以通过固液分离简单地进行。在使用了一定已知量的标记二次抗体的情况下，可以测定与载体结合的标记或未结合的标记或这两者。另一方面，在使用了任意的标记抗体的情况下，检测、测定与载体结合的标记。在检测与载体结合的标记时，优选将载体用洗涤液例如加有适当表面活性剂的缓冲液、例如PBS-Tween20进行洗涤而除去未结合的标记化抗体后进行检测。检测可以依存于标记的种类而按照常规方法进行。

[0149] 以下，举出具体例，进一步具体地说明本发明。需要说明的是，本发明不限定于此。

[0150] 实施例

[0151] 1.评价、观察项目

[0152] (1)医生的皮肤局部的所见

[0153] 在各部位，观察(A)红斑(erythema)、(B)浸润(oozing)、(C)丘疹(papule)、(D)抓痕(excoriation)、(E)苔藓样变(lichenification)、(F)干燥/脱屑(xerosis)、(G)瘙痒感(itch)，将重症度记入到病历卡中。

[0154] 评价基准设为，0:无(absence)，1:轻症(mild)，2:中症(moderate)，3:重症

(severe)。将采集了角质层的健康部位、皮疹部位、无疹部位记载于全身图。

[0155] (2)角质层胶带的采集和测定

[0156] 使用セロテープ(注册商标)(2cm×6cm)采集被验部位的角质层。将所得的角质层样品浸渍在蛋白质提取液(0.1M Tris-HCl(pH8.0),0.14M NaCl,0.1%Tween 20)中,利用バイオラプター进行提取。进行离心,将该上清液用于ELISA。

[0157] (3)免疫学的SCCA1测定方法

[0158] 重组人SCCA-1通过将SCCA-1cDNA插入到pQE30载体而获得。利用Ni-Agarose(Ni-琼脂糖)对重组体进行精制后,通过Mono Q chromatography进一步进行精制,制成ELISA测定法的标准品用于SCCA-1测定方法。将兔抗SCCA-1多克隆抗体(Rabbit antiSCCA-1 polyclonal antibody)(资生堂制作)作为一次抗体而固相化于96-孔板而进行使用。用ImmunoBlock(DS Pharma Biomedical,Osaka,Japan)封闭后,将100μl角质层提取液添加到孔中,使板在1h、37℃下反应。使用单克隆抗SCCA1抗体(Monoclonal anti-SCCA1 antibody)(Santa Cruz)作为二次抗体,在1h、37℃下反应。然后,添加辣根过氧化物酶标记抗小鼠F(ab')2(horseradish peroxidase-conjugated anti-mouse F(ab')2)(GE Healthcare),用TMB过氧化物酶EIA底物试剂盒(TMB peroxidase EIA substrate kit)(Bio-Rad)发色。反应用1M H_2SO_4停止,在450nm下测定。

[0159] (4)标准曲线的制作

[0160] 以健康者52人和特应性皮炎患者189人作为对象实施试验。健康者是由医生诊断为不具有过敏性疾病(包含特应性皮炎)的人。特应性皮炎患者的合格条件是,1)过去或现在,由医生诊断为特应性皮炎的人,2)从试验开始前1周以上、能够在被验部位不使用上述药剂的人,3)20岁以上的人。

[0161] 特应性皮炎的排除基准是,1)从试验开始前1个月以上,接受包含类固醇或免疫抑制剂的内服治疗的人;2)从试验开始前1周以上,在被验部位通过类固醇外用剂、他克莫司水合物软膏、非类固醇系抗炎剂、其它外用剂(包含一般用药品)等进行治疗的人。或者,从试验开始前1周以上,不能在被验部位不使用上述药剂的人。然而,保湿剂的涂抹是可以的;3)在被验部位具有特应性皮炎以外的皮肤疾病的人;4)妊娠中、哺乳中的人;5)由试验负责医生、试验承担医生、试验协作医生判断为不适合参加试验的人。

[0162] 对健康者和患有特应性皮炎的患者测定了SCCA-1的值。对特应性皮炎患者,关于(A)红斑(erythema)、(B)浸润(oozing)、(C)丘疹(papule)、(D)抓痕(excoriation)、(E)苔藓样变(lichenification)、(F)干燥/脱屑(xerosis)、(G)瘙痒感(itch),按照标题的"皮肤局部的所见"的栏所记载的评价基准对被验部位的皮肤所见进行评价并打分,由皮肤所见的各个项目的合计值求出被验部位的重症度。将以各被检者的合计值作为横轴,以其SCCA-1值作为纵轴而绘制的图示于图1中。图1表示特应性皮炎中的皮肤的重症度与角质层SCCA-1值的相关性,该Spearman相关系数显示出0.753($p<0.001$)的高值,医生的皮肤所见与皮肤SCCA1显示显著强的相关。

[0163] 进一步,将特应性皮炎的患者的皮肤所见项目的分数的合计值分级成0、1～7、8～14、15～21,计算健康者的SCCA-1的平均值,并且也计算各级的SCCA-1值的平均值。需要说明的是,合计值为0的患者是虽然患有特应性皮炎,但在该部位中所见项目均未观察到的患者。其结果,SCCA-1的平均值在健康者中为19.1ng/mg,在皮肤所见合计值0(缓解)中为

86.3ng/mg,在皮肤所见合计值1～7(轻症)中为415.7ng/mg,在皮肤所见合计值(中症)8～14中为1380.5ng/mg,在皮肤所见合计值15～21(重症)中为1930.9ng/mg。

[0164] 图2是将各级的角质层SCCA-1值的平均值用棒图表示的图。可知由医生的皮肤所见得到的重症度越高,则角质层SCCA-1的值越高。因此通过以SCCA-1作为指标,可以客观地判定该患者的严重度程度,可以有益于治疗方针的确定。此外,有意思的是,医生的皮肤所见的合计值为0的患者群的SCCA-1的值的平均值与健康者的平均值相比在统计学上显著高。即,即使是表观上没有症状的位置,有时也可以通过以SCCA-1作为指标来评价其病态。而且,因此通过以SCCA-1作为指标,能够把握连医生也难以判断的病态。其结果,有时可防止患者停止接受治疗,从而可进行症状的控制。

[0165] 图3-1～3-2是对上述皮肤所见(A)～(G)的各项目依分数计算患者群的SCCA-1值的平均值,使横轴为各项目的分数,使纵轴为SCCA-1的平均,用棒图表示的图。SCCA-1的值与各所见项目的严重度显示极其高的相关。特别是对于丘疹、干燥/脱屑,所见值为0的患者群与健康者在SCCA-1值确认到显著差异($p<0.001$)。因此,通过以SCCA-1作为指标,可对特应性皮炎的症状的全部一般所见项目客观地判定该患者的皮肤局部的严重度程度,可以有益于适合各所见项目的治疗方针的确定。

[0166] 2.TARC的测定

[0167] 标准曲线的制作

[0168] 与SCCA-1同样,也对角质层TARC,研究了其值与皮肤所见的相关。角质层TARC的测定通过将所得的角质层提取液供于ELISA来进行。ELISA使用了Quantikine ELISA Human CCL17/TARC(R&D Systems)。

[0169] 将其结果示于图4中。特应性皮炎中的皮肤的重症度与角质层TARC1值的Spearman相关系数低达0.2750,显示出角质层TARC不成为特应性皮炎的严重度指标。

[0170] 3.皮肤局部的医生的所见和自己所见

[0171] 特应性皮炎的严重度判别有时连熟练的医生也困难,没有医疗经验的一般人判别严重度当然是极其困难的。本实施例中,对于对特应性皮炎的诊察熟练的医生、与患者本身的皮肤所见的乖离也进行了研究。

[0172] 对特应性皮炎的严重度较轻的2名被检者,在各部位,医生和被检者本身各自观察(A)红斑(erythema)、(B)浸润(oozing)、(C)丘疹(papule)、(D)抓痕(excoriation)、(E)苔藓样变(lichenification)、(F)干燥/脱屑(xerosis)、(G)瘙痒感(itch),将重症度记入到病历卡中。评价基准设为,0:无(absence),1:轻症(mild),2:中症(moderate),3:重症(severe)。将采集了角质层的健康部位、皮疹部位、无疹部位记载于全身图。

[0173] 将其结果示于图5中。2名被检者的自己所见与医生所见相比都显示出明显低的值。因此可知,关于特应性皮肤疾病,特别是在严重度轻的情况下,患者容易得出低估严重度的自己所见。其结果可知,特应性皮炎是即使为需要治疗的状态但因为中止、中断治疗而易于发生症状复发的疾病。如上所述,角质层SCCA-1能够通过例如胶带剥离这样的极其简单并且非侵袭的操作来采集。SCCA-1的测定通过简易测定试剂盒的开发,无需在医院、检查设施,在家也能够进行,因此成为评价特应性皮肤疾病的严重度、现在正在实施的治疗效果的极其优异的指标。特别是在特应性皮肤疾病的患者中婴幼儿多,不能亲自诉说症状,此外对于去医院也不容易的对象者而言,简单地在家就可以判别自己的疾病的严重度,是极其

有利的。

[0174] 5.治疗经过的跟踪

[0175] 治疗经过的跟踪1-1

[0176] 患者TA04-1

[0177] 患者TA04的被验部位1的皮肤所见的合计值为10,作为严重度而落入中症的分类。在治疗观察期间,每次来医院都进行观察和角质层的采集。确认了治疗所使用的施与内服药剂及其施与期间、施与外用剂的名称和施与被验部位。治疗开始时的SCCA-1值为6510ng/mg,呈现出很高的值。使该患者连续使用作为抗组胺剂的アレロック(注册商标)OD,并且服用フロモックス(注册商标)片100mg。治疗开始28天后测定的SCCA-1值为415.9ng/mg,与治疗开始时相比显著降低,其结果与皮肤所见(合计值1)联动。将其结果示于图6(A)中。

[0178] 治疗经过的跟踪1-2

[0179] 患者TB03

[0180] 患者TB03的皮肤所见为4,作为严重度而落入轻症的分类。在治疗观察期间,每次来医院都进行了观察和角质层的采集。确认了治疗所使用的施与内服药剂及其施与期间、施与外用剂的名称和施与被验部位。治疗开始时的SCCA-1的值为392.5ng/mg,与健康者相比呈现高的值。使该患者连续使用了类固醇外用剂アンテベート(注册商标)软膏。治疗开始42天后测定板SCCA-1值为112.6ng//mg,与治疗开始时相比显著降低,其结果与皮肤所见(合计值0)联动。将其结果示于图6(B)中。

[0181] 治疗经过的跟踪1-3

[0182] 患者TA03

[0183] 28岁女性患者TA-03的皮肤所见的合计值为7,作为严重度而落入轻症的分类。在治疗观察期间,每次来医院都进行了观察和角质层的采集。确认了治疗所使用的施与内服药剂及其施与期间、施与外用剂的名称和施与被验部位。治疗开始时的SCCA-1值为1745.6ng//mg,呈现很高的值。使该患者从56天后连续使用了アンテベート(注册商标)软膏。治疗开始56天后测定的SCCA-1值为39.6ng//mg,与治疗开始时相比显著降低,其结果与良好的皮肤所见(合计值1)联动。将其结果示于图6(C)中。

[0184] 治疗经过的跟踪1-4

[0185] 患者TA04-2

[0186] 27岁男性患者TA04的被验部位2的皮肤所见的合计值为21,作为严重度而落入重症的分类。在治疗观察期间,每次来医院都进行了观察和角质层的采集。确认了治疗所使用的施与内服药剂及其施与期间、施与外用剂的名称和施与被验部位。治疗开始时的SCCA-1值为9119.9ng//mg,呈现很高的值。使该患者连续使用作为抗组胺剂的アレロック(注册商标)OD,并且服用了フロモックス(注册商标)片100mg。治疗开始28天后测定的SCCA-1值为36.6ng/mg,与治疗开始时相比显著降低,其结果与良好的皮肤所见(合计值1)联动。将其结果示于图6(D)中。

[0187] 治疗经过的跟踪1-5

[0188] 患者TB03-2

[0189] 55岁男性患者TB03的被验部位2的皮肤所见的合计值为4,作为严重度而落入轻症的分类。在治疗观察期间,每次来医院都进行了观察和角质层的采集。确认了治疗所使用的

施与内服药剂及其施与期间、施与外用剂的名称和施与被验部位。治疗开始时的SCCA-1值呈现392.5ng/mg的值。使该患者连续使用了アンテベート(注册商标)软膏。治疗开始42天后测定的SCCA-1值为112.6ng/mg,与治疗开始时相比降低,其结果与极其良好的皮肤所见(合计值0)联动。将其结果示于图6(E)中。

[0190] 治疗经过的跟踪1-6

[0191] 患者TB05

[0192] 21岁男性患者TB05的皮肤所见的合计值为5,作为严重度而落入轻症的分类。在治疗观察期间,每次来医院都进行了观察和角质层的采集。确认了治疗所使用的施与内服药剂及其施与期间、施与外用剂的名称和施与被验部位。治疗开始时的SCCA-1值呈现560.9ng/mg的值。使该患者服用作为抗组胺剂的アレグラ(注册商标)120mg,并且连续使用マイザー(注册商标)乳膏。治疗开始50天后测定的SCCA-1值为64.7ng/mg,与治疗开始时相比降低,其结果与极其良好的皮肤所见(合计值0)联动。治疗开始72天后和113天后测定的SCCA-1值,虽然原因不明但分别上升为125.0ng/mg和176.6ng/mg,皮肤所见也与治疗开始50天后的合计值0相比上升为合计值1,SCCA-1值与皮肤所见联动。将其结果示于图6(F)中。

[0193] 由以上的治疗经过跟踪试验的结果可知,SCCA-1的值与医生的特应性皮肤疾病的严重度联动。如上所述,角质层SCCA-1能够通过例如胶带剥离这样的极其简单并且非侵袭的操作来采集。SCCA-1的测定通过简易测定试剂盒的开发,无需在医院、检查设施,在家也能够进行,因此成为评价特应性皮肤疾病的严重度、现在正在实施的治疗效果的极其优异的指标。通过以SCCA-1作为指标,特别是在特应性皮肤疾病的患者中婴幼儿多,不能亲自诉说症状,此外对于没有照料而去医院也不容易的对象者而言,简单地在家就可以客观地判别自己的疾病的严重度、可以客观地评价治疗效果,是极其有利的。

[0194] 6.经过观察

[0195] 经过的跟踪2-1-1

[0196] 患者AW1-1

[0197] 患者AW1的被验部位No.1为由医生诊断为缓解期的部位。在观察开始时不呈现皮肤症状,医生的皮肤所见值(合计值)为0。在观察期间,每次来医院都进行了观察和角质层的采集。需要说明的是,该患者在观察期间未接受特应性皮肤疾病的治疗。治疗开始时的SCCA-1值为约302.4ng/mg,与健康者相比明显高(19.1ng/mg),显示出不可忽视的程度的值。医生的皮肤所见从开始观察开始直到第15天左右为止的值为0,但随着SCCA-的值的上升,皮肤所见值上升为1,开始恶化。患者的自己所见的值在观察期间中不变动,一直为0。将其观察结果示于图7(A)中。

[0198] 治疗经过的跟踪2-1-2

[0199] 患者AW1-2

[0200] 患者AW1的被验部位No2是由医生在观察开始时诊断为轻症的部位。观察开始时不呈现皮肤症状,医生的皮肤所见值(合计值)为0,但医生的所见随着时间经过而上升。自己所见稍微上升(从0上升到1),与医生的所见相比,自己所见的值低。需要说明的是,该患者在观察期间未接受特应性皮肤疾病的治疗。治疗开始时的SCCA-1值为约227.0ng/mg。医生的皮肤所见也从开始观察开始直到第40天左右为止的值为0,但随着SCCA-的值的上升,皮肤所见值也上升到1,开始恶化。需要说明的是,患者的自己所见的值在观察期间中不变动,

一直为0。将其观察结果示于图7(B)中。

[0201] 治疗经过的跟踪2-1-3

[0202] 患者AW1-5

[0203] 患者AW1的被验部位No.5也是由医生诊断为缓解期的部位。在观察开始时不呈现皮肤症状,医生的皮肤所见值(合计值)为0。在观察期间,每次来医院都进行了观察和角质层的采集。需要说明的是,该患者在观察的期间未接受特应性皮肤疾病的治疗。治疗开始时的SCCA-1值为约313.4ng/mg。医生的皮肤所见也从开始观察开始直到第30天左右为止的值为0,但随着SCCA-的值的上升,皮肤所见值也上升到1,开始恶化。需要说明的是,患者的自己所见的值在观察期间中不变动,一直为0。将其观察结果示于图7(C)中。

[0204] 如以上的观察结果所示那样,由于该患者的被验部位No.1、2、5的疾病复发了,因此确认在观察的开始时为缓解期。SCCA-1的值在观察开始时显示不可忽视的程度的值,因此通过以SCCA-1作为指标,能够判别诊断部位是否缓解。此外,SCCA-1的指标与医生的皮肤所见联动。

[0205] 治疗经过的跟踪2-2-1

[0206] 患者AW3-4

[0207] 患者AW3的被验部位No.4在观察开始时也不呈现皮肤症状。在观察期间,每次来医院都进行了观察和角质层的采集。治疗开始时的SCCA-1值为43.9ng/mg,虽然稍微低但与健康者相比明显高(19.1ng/mg),显示出不可忽视的程度的值。在观察开始43天后SCCA-1值为184.7ng/mg,与观察开始时相比显著增加,其结果与医生的皮肤所见(合计值3)联动。另一方面,自己所见的上升贯穿观察期间是微小的(合计值1)。将其结果示于图8(A)中。

[0208] 患者AW3-6

[0209] 患者AW3的被验部位No.6在观察开始时也不呈现皮肤症状。在观察期间,每次来医院都进行了观察和角质层的采集。治疗开始时的SCCA-1值为82.5ng/mg,虽然稍微低但与健康者相比明显高(19.1ng/mg),显示出不可忽视的程度的值。观察开始85天后SCCA-1值为425.9ng/mg,与观察开始时相比显著增加,其结果与医生的皮肤所见(合计值7)联动。另一方面,自己所见的上升贯穿观察期间是微小的(合计值1)。将其结果示于图8(B)中。

[0210] 患者AW3-7

[0211] 患者AW3的被验部位No.7在观察开始时也不呈现皮肤症状。在观察期间,每次来医院都进行了观察和角质层的采集。治疗开始时的SCCA-1值为50.7ng/mg,即使稍微低也与健康者相比明显高(19.1ng/mg),显示出不可忽视的程度的值。观察开始85天后SCCA-1值为250.6ng/mg,与观察开始时相比显著增加,其结果与医生的皮肤所见(合计值7)联动。另一方面,自己所见的上升贯穿观察期间是微小的(合计值1)。将其结果示于图8(C)中。

[0212] 如以上的观察结果所示那样,该患者的被验部位No.4、6、7的疾病复发了,因此确认在观察开始时为缓解期。SCCA-1的值在观察开始时显示出不可忽视的程度的值,因此显示出通过以SCCA-1作为指标,可以进行没有症状的位置的病态评价的可能性。

[0213] 7.与SCORAD指数的相关

[0214] 特应性皮炎的重症度的分类所常用的是SCORAD值(非专利文献1)。对于对象者的皮肤症状,求出皮疹的面积(A)(在体表面积中所占的比例)以及红斑、浸润/皮疹、渗出液/痂皮、抓痕、苔藓样变、干燥的各皮疹的程度(0=无,1=轻度,2=中等程度,3=重度)的合

计(B)，通过VAS对被检者的自觉症状进行评价(C)，通过A/5+7×B/2+C作为SCORAD值而算出。

[0215]　关于求出了SCORAD值的各对象者，通过胶带剥离来采集角质层试样，也测定了SCCA-1值。此时，皮肤的采集根据对象者而分成仅在1处进行的人(N＝1)、在2处进行的人(N＝2)、在3处进行的人(N＝3)，在2处、3处采集了的情况下的对象者的SCCA-1值分别求出平均值。接下来，求出各对象者的SCORAD值与N＝1、N＝2、N＝3的各对象者的SCCA-1值的相关。

[0216]　以下将其结果汇总。

[0217]　[表2]

[0218]

被验位置数	Spearman的相关系数	P值	N数
N＝1	0.337	0.0683	30
N＝2	0.427	0.1667	12
N＝3	0.587	0.0132*	17

[0219]　由以上的结果可知，在进行3处以上皮肤采集，求出其平均SCCA-1值的情况下，与SCORAD值显示出高的相关性。在SCORAD值的算出时存在需要熟练的医生等的专门操作，此外也花费时间这样的缺陷。因此，通过以角质层SCCA-1值作为指标，可提供代替SCORAD的可以更简便并且客观地将重症度分类的方法。

[0220]　产业可利用性

[0221]　本发明通过以皮肤角质层中的SCCA-1作为指标，能够提供用于针对接受特应性皮炎治疗中的对象者简易并且客观地评价其治疗方针的诊断辅助方法。

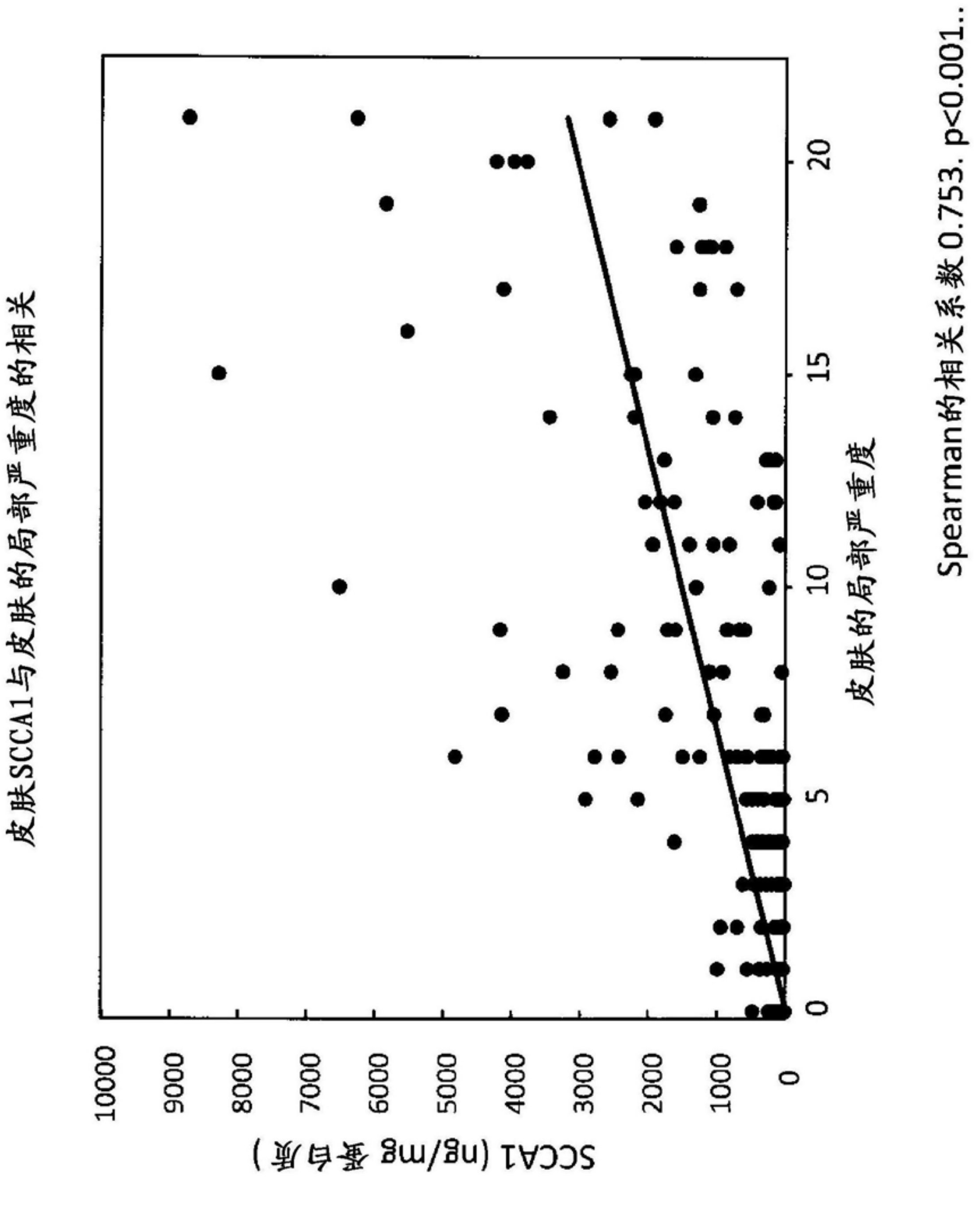

皮肤SCCA1与皮肤的局部严重度的相关
SCCA1 (ng/mg 蛋白质)
10000
9000
8000
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
0
5
10
15
20
皮肤的局部严重度
Spearman的相关系数 0.753. p<0.001..

图1

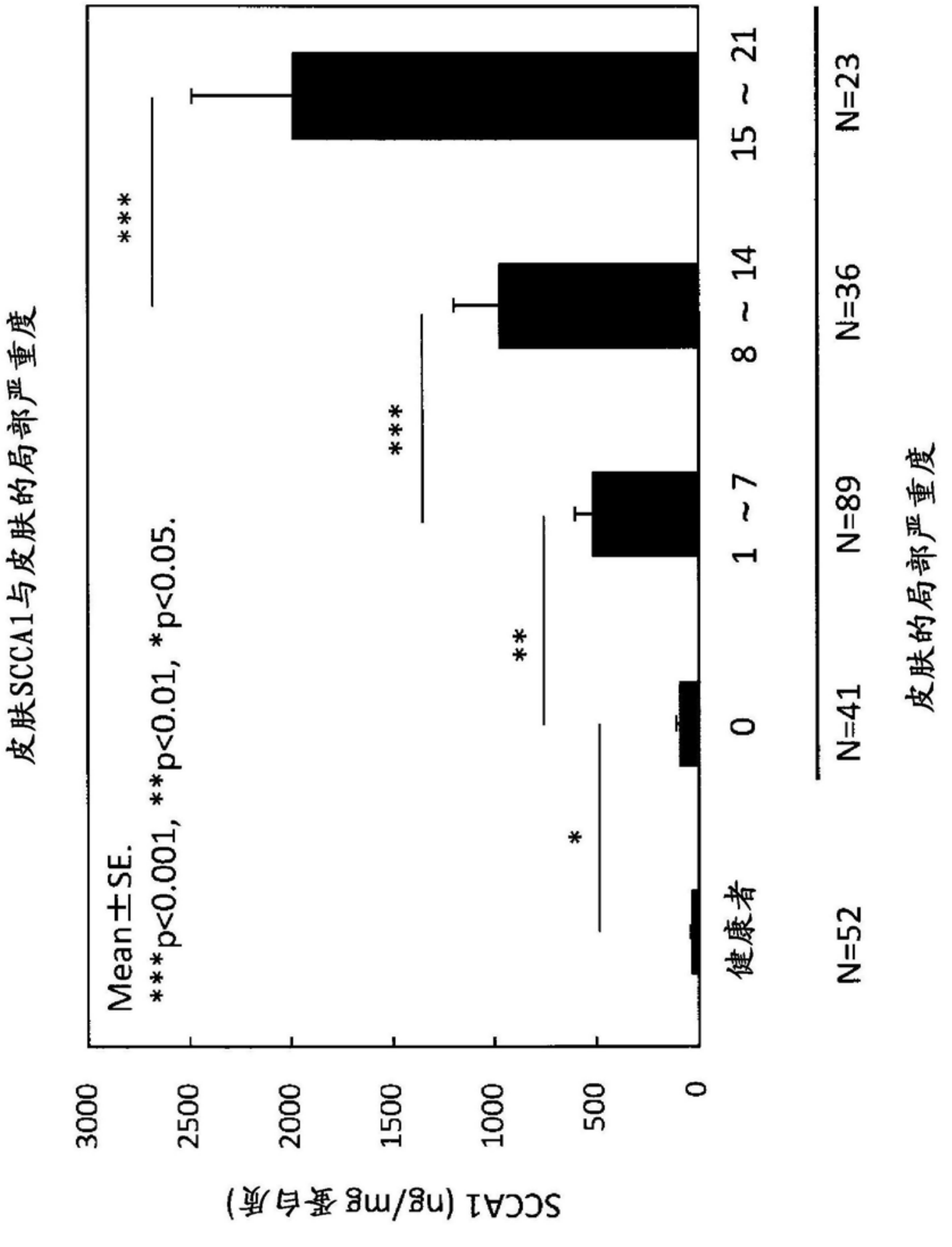

皮肤SCCA1与皮肤的局部严重度
Mean±SE.
***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05.
SCCA1 (ng/mg 蛋白质)
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
*
**
***
***
健康者
0
1 ~ 7
8 ~ 14
15 ~ 21
N=52
N=41
N=89
N=36
N=23
皮肤的局部严重度

图2

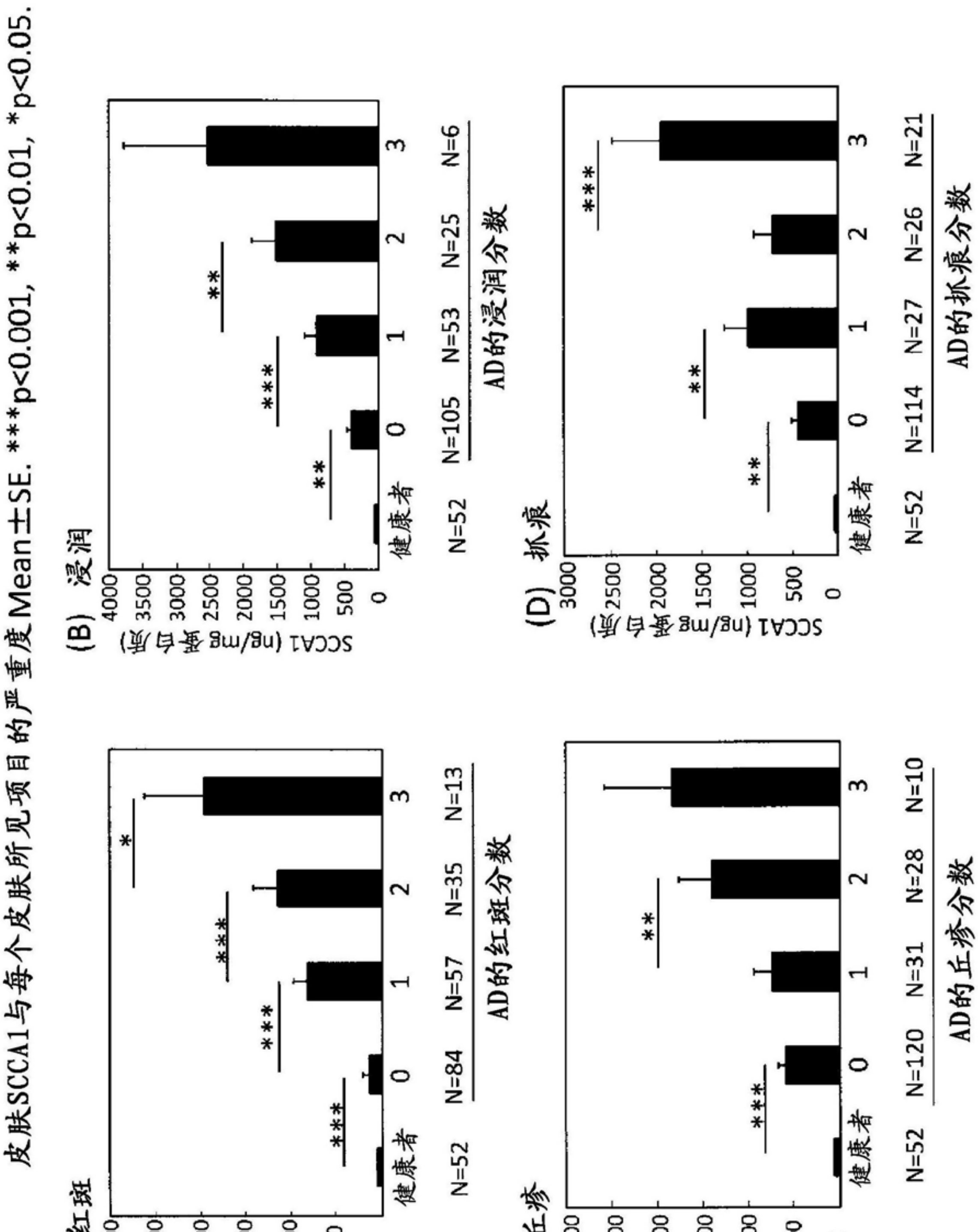

皮肤SCCA1与每个皮肤所见项目的严重度Mean±SE. ***p<0.001, **p<0.01, *p<0.05.
(A) 红斑
SCCA1 (ng/mg蛋白质)
健康者
N=52 N=84 N=57 N=35 N=13
AD的红斑分数
(B) 浸润
SCCA1 (ng/mg蛋白质)
健康者
N=52 N=105 N=53 N=25 N=6
AD的浸润分数
(C) 丘疹
SCCA1 (ng/mg蛋白质)
健康者
N=52 N=120 N=31 N=28 N=10
AD的丘疹分数
(D) 抓痕
SCCA1 (ng/mg蛋白质)
健康者
N=52 N=114 N=27 N=26 N=21
AD的抓痕分数

图3-1

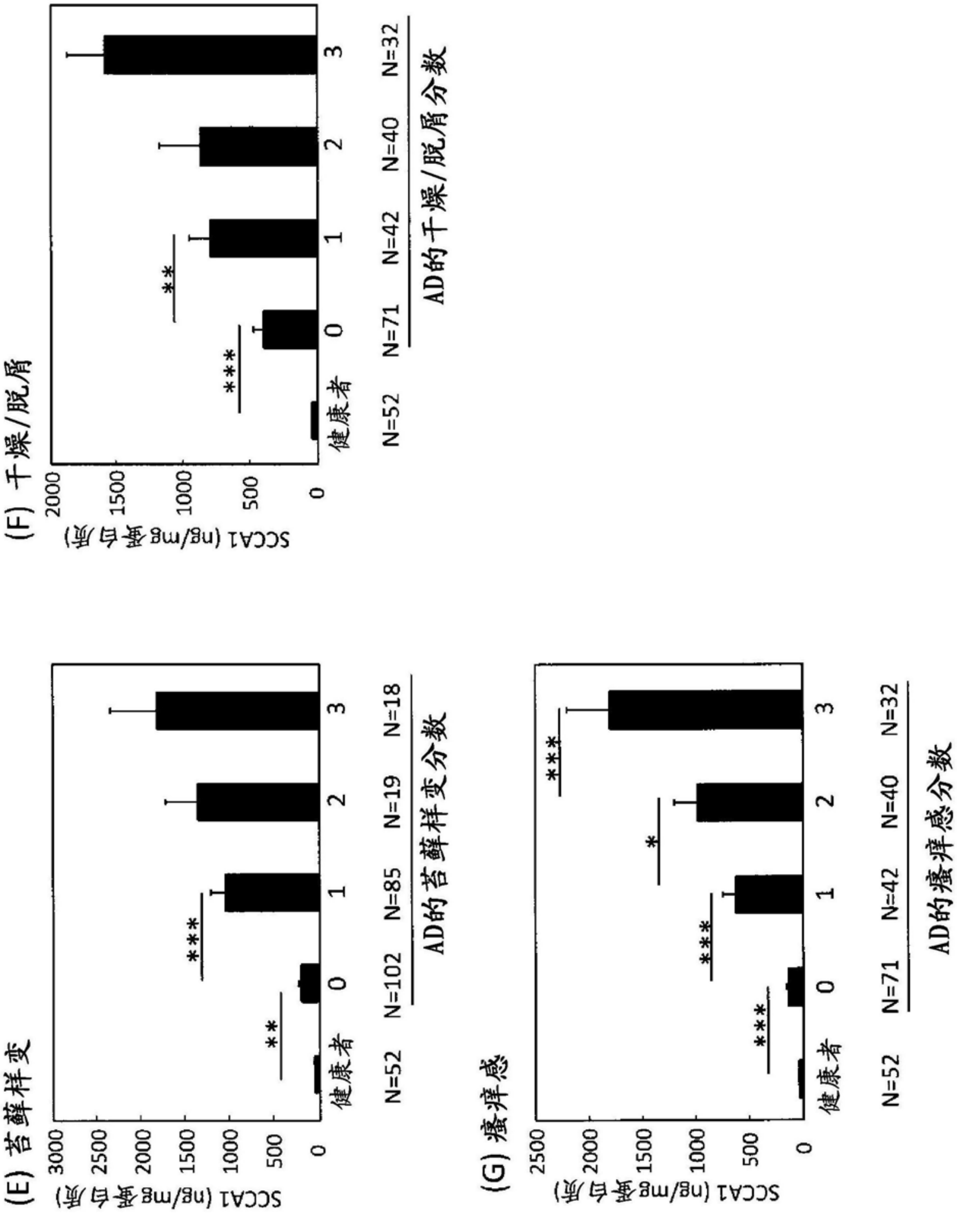

(F) 干燥/脱屑
SCCA1 (ng/mg蛋白质)
2000
1500
1000
500
0
健康者
0
1
2
3
N=52
N=71
N=42
N=40
N=32
AD的干燥/脱屑分数
***
**
(E) 苔藓样变
SCCA1 (ng/mg蛋白质)
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
健康者
0
1
2
3
N=52
N=102
N=85
N=19
N=18
AD的苔藓样变分数
**
***
(G) 瘙痒感
SCCA1 (ng/mg蛋白质)
2500
2000
1500
1000
500
0
健康者
0
1
2
3
N=52
N=71
N=42
N=40
N=32
AD的瘙痒感分数
***
***
*
***

图3-2

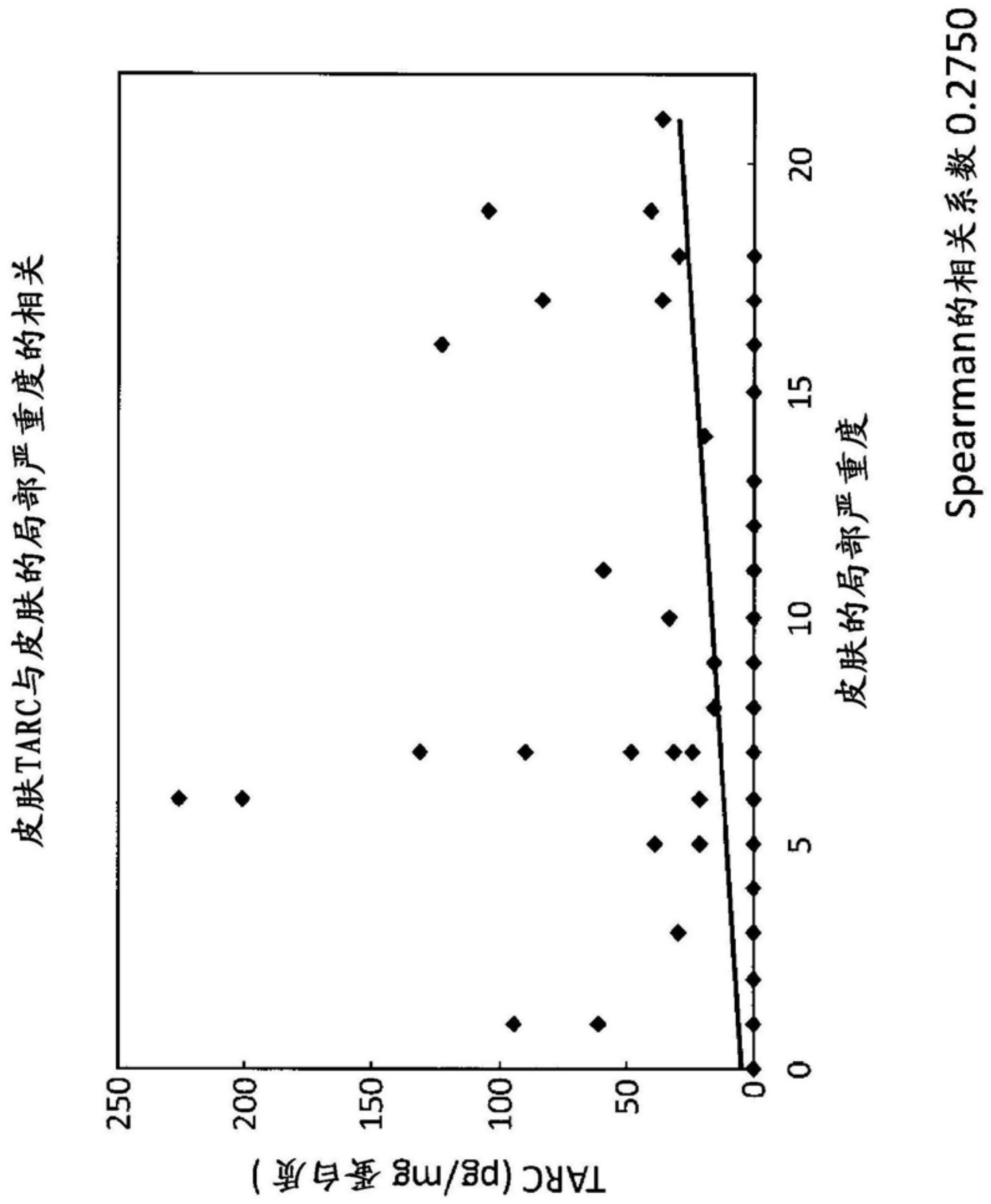

皮肤TARC与皮肤的局部严重度的相关
TARC (pg/mg 蛋白质)
250
200
150
100
50
0
0
5
10
15
20
皮肤的局部严重度
Spearman的相关系数 0.2750

图4

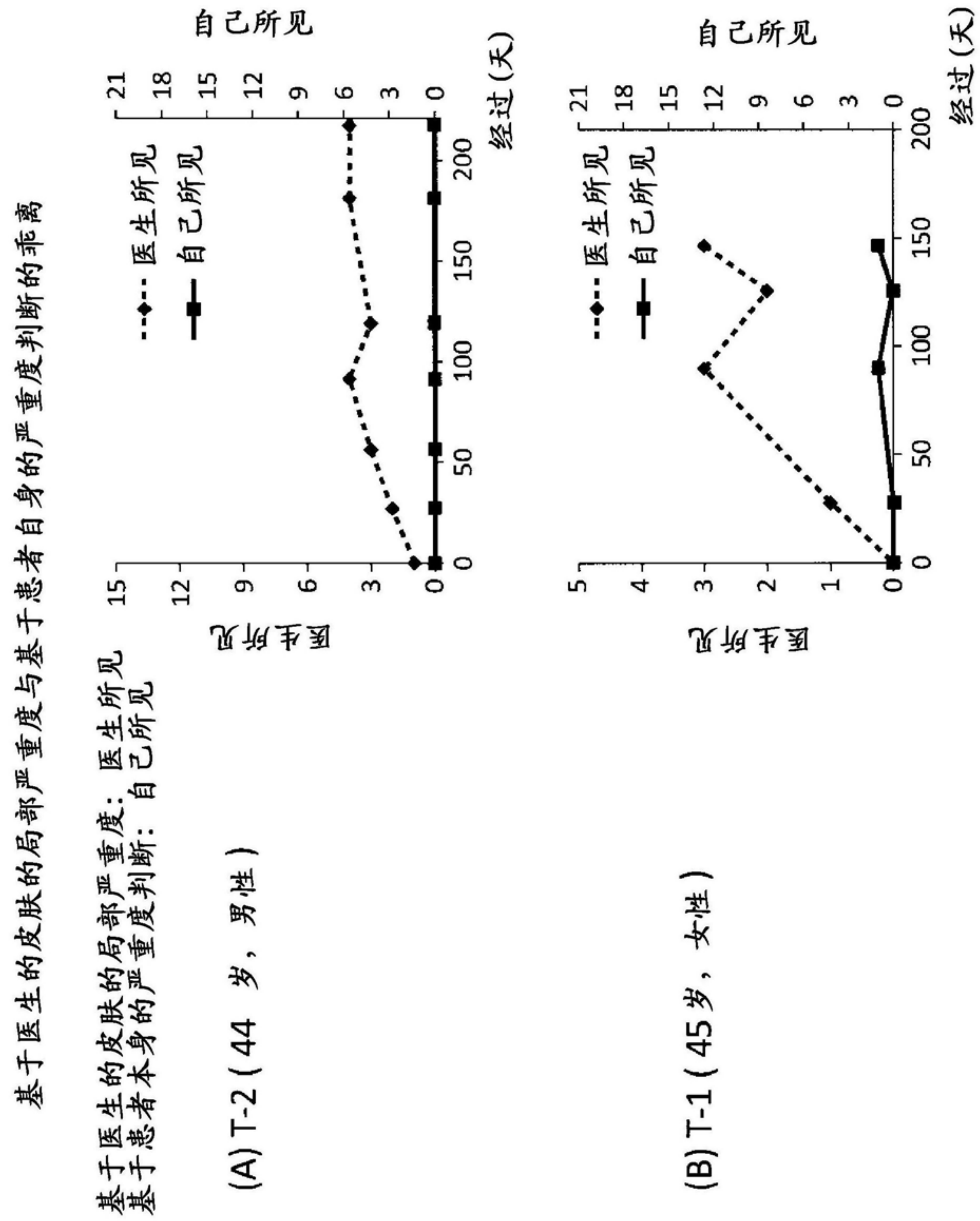
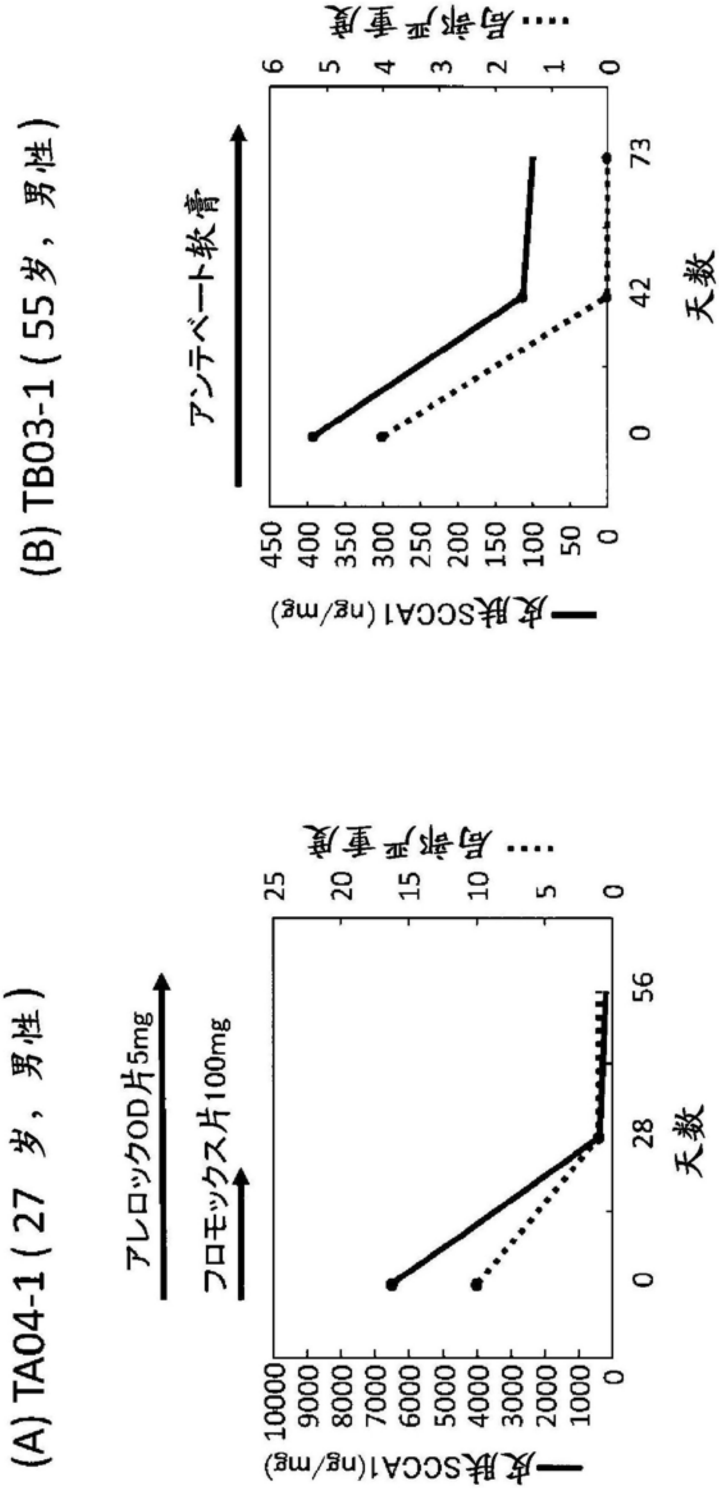

基于医生的皮肤的局部严重度与基于患者自身的严重度判断的乖离
基于医生的皮肤的局部严重度：医生所见
基于患者本身的严重度判断：自己所见
(A) T-2 (44 岁，男性)
医生所见
自己所见
经过(天)
(B) T-1 (45岁，女性)
医生所见
自己所见
经过(天)

图5

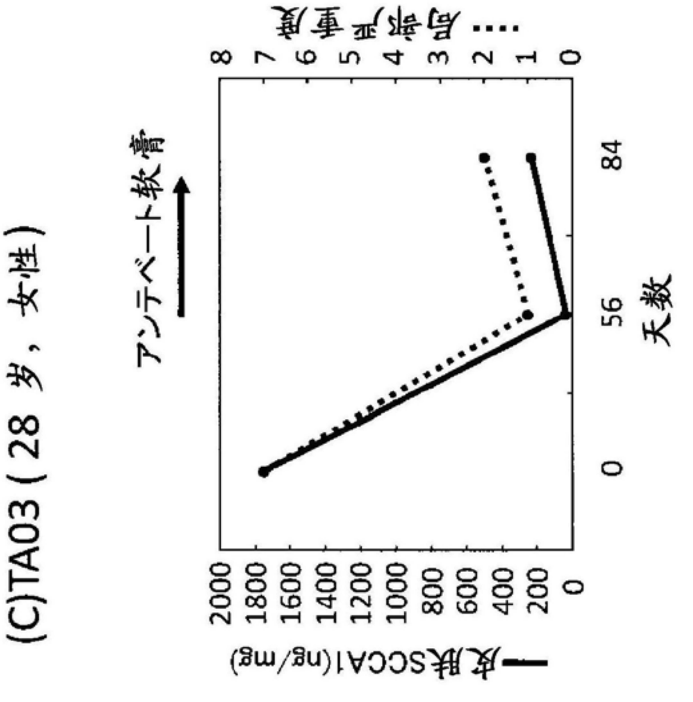
治疗经过中的局部严重度与皮肤SCCA1



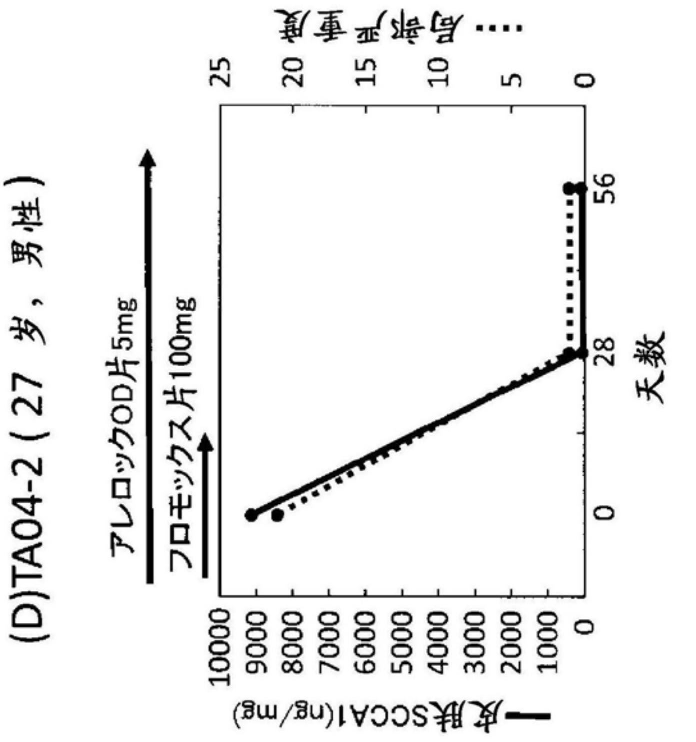
天数	SCCA1 (ng/mg)	局部严重度分数
0	6510	10
28	415.9	1
56	205.3	1

天数	SCCA1 (ng/mg)	局部严重度分数
0	392.5	4
42	112.6	0
73	100.2	0

图6-1



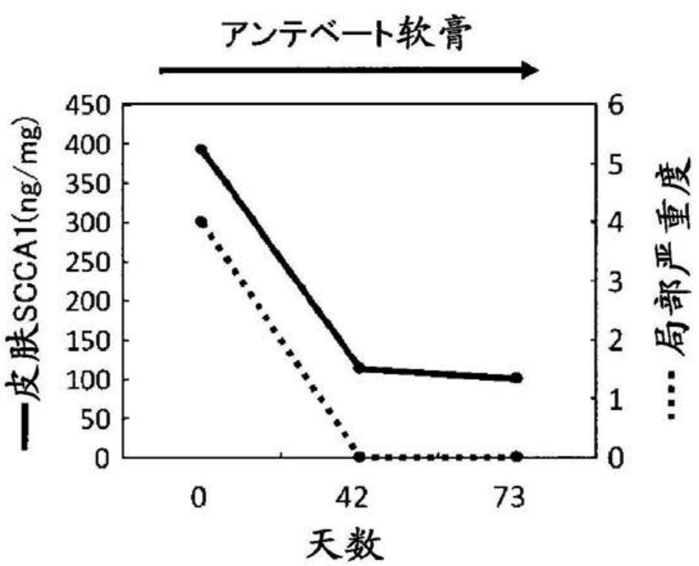
天数	SCCA1 (ng/mg)	局部严重度分数
0	1745.6	7
56	39.6	1
84	232.0	2



天数	SCCA1 (ng/mg)	局部严重度分数
0	9119.9	21
28	36.6	1
56	93.1	1

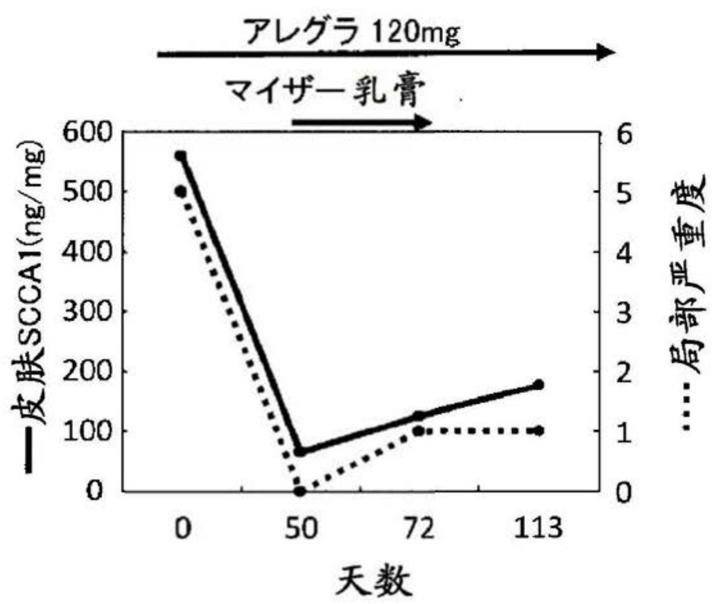
图6-2

(E)TB03-2(55 岁，男性)



天数	SCCA1 (ng/mg)	局部严重度分数
0	392.5	4
42	112.6	0
73	100.2	0

(F)TB05(21 岁，男性)



天数	SCCA1 (ng/mg)	局部严重度分数
0	560.9	5
50	64.7	0
72	125.0	1
113	176.6	1

图6-3

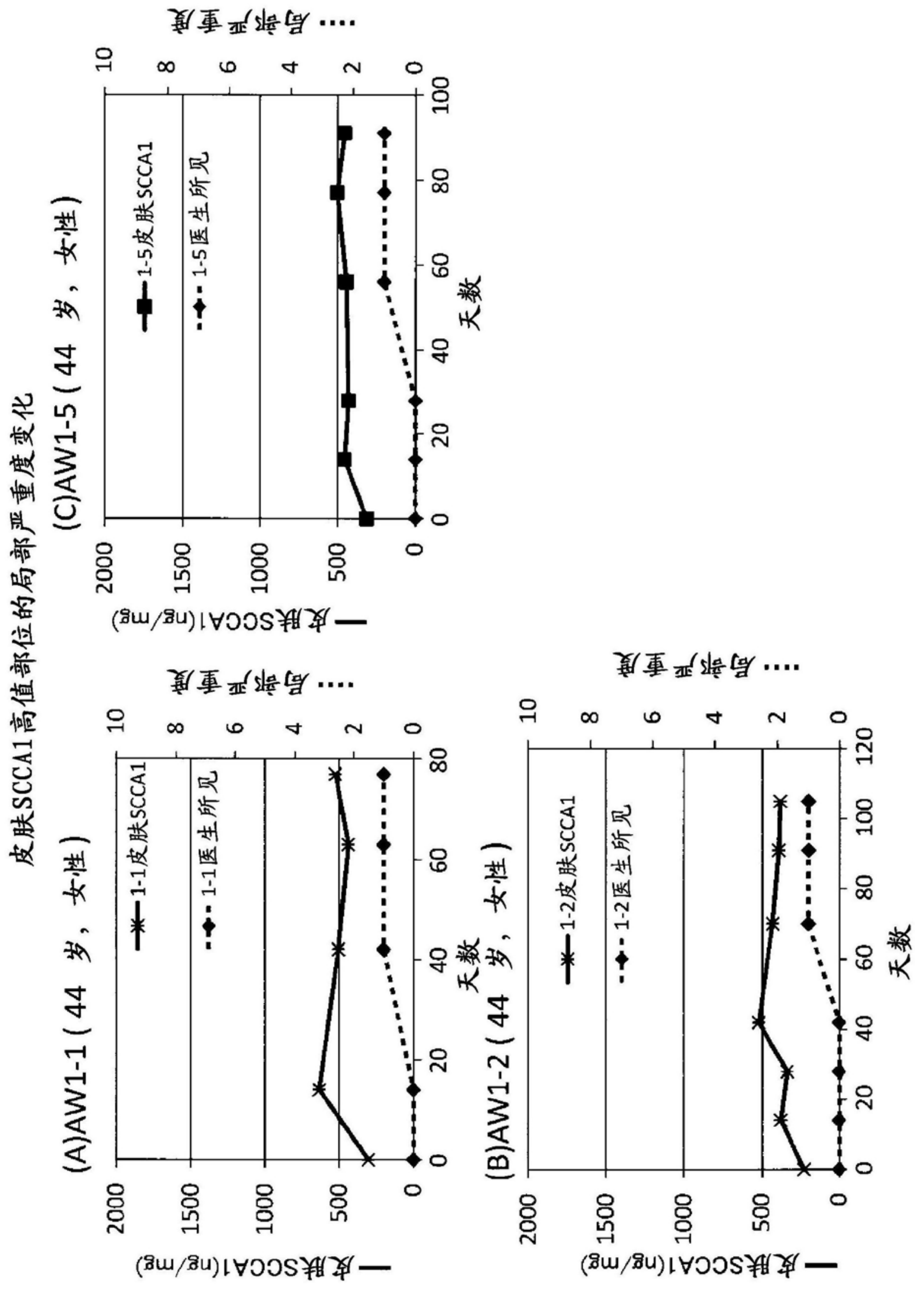

皮肤SCCA1高值部位的局部严重度变化
(A)AW1-1(44 岁，女性)
1-1皮肤SCCA1
1-1医生所见
(B)AW1-2(44 岁，女性)
1-2皮肤SCCA1
1-2医生所见
(C)AW1-5(44 岁，女性)
1-5皮肤SCCA1
1-5医生所见
皮肤SCCA1(ng/mg)
局部严重度
天数

图7

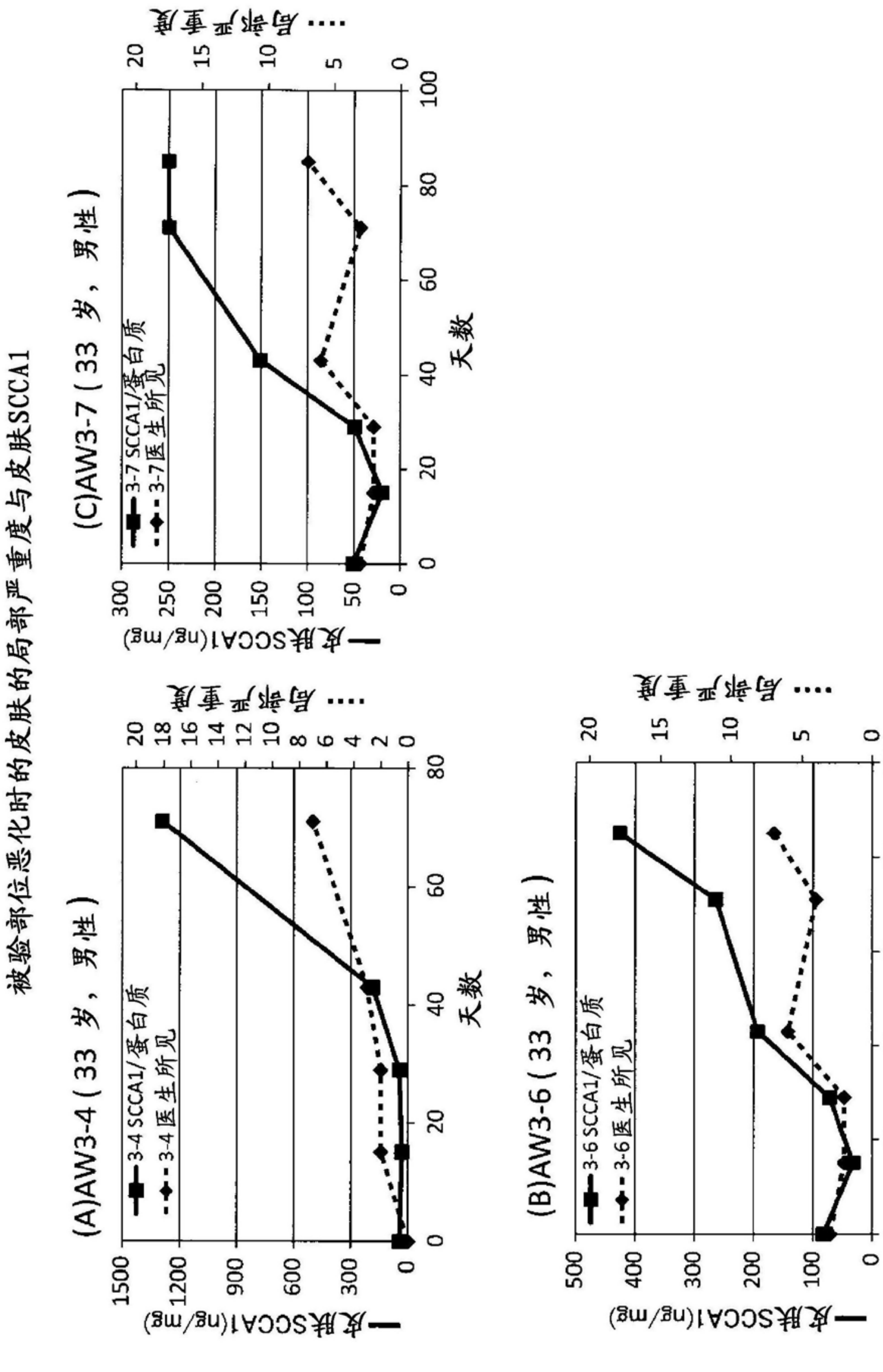

被验部位恶化时的皮肤的局部严重度与皮肤SCCA1
(A)AW3-4（33 岁，男性）
3-4 SCCA1/蛋白质
3-4医生所见
皮肤SCCA1(ng/mg)
局部严重度
天数
(B)AW3-6（33 岁，男性）
3-6 SCCA1/蛋白质
3-6医生所见
皮肤SCCA1(ng/mg)
局部严重度
天数
(C)AW3-7（33 岁，男性）
3-7 SCCA1/蛋白质
3-7医生所见
皮肤SCCA1(ng/mg)
局部严重度
天数

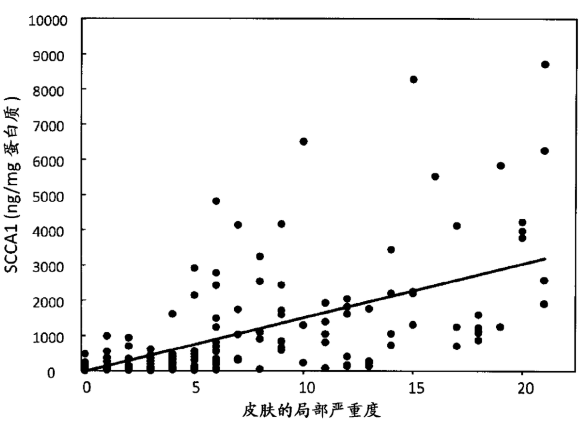
图8

专利名称(译)	特应性皮炎的皮肤局部的重症度及治疗效果的指标		
公开(公告)号	CN109073640A	公开(公告)日	2018-12-21
申请号	CN201780026073.X	申请日	2017-04-19
[标]申请(专利权)人(译)	株式会社资生堂		
申请(专利权)人(译)	株式会社资生堂		
当前申请(专利权)人(译)	株式会社资生堂		
[标]发明人	田中千华 水本智惠子 小野寺智子 相场节也 菊地克子 山崎研志 小泽麻纪		
发明人	田中千华 水本智惠子 小野寺智子 相场节也 菊地克子 山崎研志 小泽麻纪		
IPC分类号	G01N33/53 C12Q1/04 G01N33/543		
代理人(译)	段承恩		
优先权	2016092020 2016-04-28 JP		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供特应性皮炎的痊愈、严重度诊断的客观并且简便的指标。本发明提供一种确定特应性皮炎治疗方针的诊断辅助方法，其是针对正在接受特应性皮炎治疗的对象者确定其治疗方针的诊断辅助方法，该方法测定该对象者的皮肤角质层细胞中的SCCA-1的表达值，i)该SCCA-1的表达值与不具有特应性皮炎的人的值相比，在统计学上不显著高的情况下，确定该疾病不需要通过该治疗而继续治疗，在确定需要继续治疗的情况下，进一步，ii)以该SCCA-1的表达值作为指标而将该对象者的特应性皮炎的严重度分级，确定对该对象者应用与各级相符的特应性皮炎治疗方法。

皮肤SCCA1与皮肤的局部严重度的相关



Spearman的相关系数0.753. p<0.001..