

考 案

表皮角化細胞は基底細胞として誕生し、有棘細胞、顆粒細胞を経て物理的、化学的に強靱な構造を有する角質細胞へと変貌する。これらの各細胞層は、ケラチン K5/14 (基底細胞)、K1/10 (有棘細胞) といった分化特有のケラチンを発現する。角化の最終段階においては、全ての細胞内小器官は消失し、形質膜直下には loricrin、involucrin 等を基質として、TGase の触媒により安定な蛋白の被膜 cornified cell envelope (CCE) が形成される。一方、臍帯は羊膜より連続する立方上皮により被われており、胎児皮膚へと連続する。羊膜上皮は、一部の重層化した領域を除いては終始単層構造を維持するが⁶⁾、臍帯上皮においては、上皮細胞は5～6層に重層化し胎生28週頃までにその分化は終了する⁷⁾。その上層部では細胞は扁平化し、核は消失し、細胞質内には密にパックされた線維状構造を形成し、形態学的に表皮角質細胞に類似する⁷⁾。

今回の検索結果では、臍帯上皮では羊膜上皮同様、単純上皮型ケラチン K8/18 を発現しており、扁平上皮型ケラチン K14、皮膚型ケラチン K1/10 をも発現していた。また、粘膜型ケラチン K4/13 の発現も認め、これらは胎児表皮の分化過程においても発現する。興味あることに、臍帯上皮の上層部では CCE associated protein である TGaseI、loricrin、involucrin を発現しており、中でも TGaseI は表皮角層同様、細胞壁に強陽性を示した。すなわち、この所見は臍帯上皮上層部における CCE の形成を示唆するものと考えられる。これらの分化マーカーの発現から推察すると、臍帯上皮は、羊膜と表皮いずれものポテンシャルをもった上皮であると考えられ、これは臍帯が羊膜から連続する上皮によって被われ胎児皮膚へと連続することを考えれば不思議なことではない。以上の所見から、臍帯上皮細胞は、ある特殊な培養条件下では表皮へ分化誘導される細胞であることが示唆された。今後、今回分離し得た培養細胞を各種条件下で分化誘導し、その分化形成について検討する予定である。

参考文献

- 1) O'Conner NE, Mulliken JB, Banls-Schegel S, Keinde O, Green H : Grafting of burns with cultured epithelium prepared from autologous epidermal cells, *Lancet*, 1 : 75-58, 1981
- 2) 橋本公二、松井善彦、東山真里、安東侑美 : 培養表皮シート移植を用いた先天性表皮水疱症における難治性潰瘍の治療について、厚生省特定疾患稀少難治性皮膚疾患調査研究班平成5年度研究報告書、p51-56、1994
- 3) 橋本公二、白方裕二、久保亮治他 : 先天性表皮水疱症の病型診断と培養表皮シート移植による治療の研究、厚生省特定疾患稀少難治性皮膚疾患調査研究班平成7年度研究報告書、p89-92、1996
- 4) Bennett JP, Matthews R, Faulk WP : Treatment of chronic ulceration of the legs with human amnion, *Lancet*, 1 : 1153-1156, 1980
- 5) Ward DJ, Bennett JP, Burgos H, Fabre J : The healing of chronic venous leg ulcers with prepared human amnion, *Br J Plast Surg*, 42 : 463-467, 1989
- 6) Sinha AA : Ultrastructure of human amnion and amniotic plaques of normal pregnancy, *Z. Zellforsch*, 122 : 1-14, 1971
- 7) Hoyes AD : Ultrastructure of the epithelium of the human umbilical cord. *J. Anat*, 105 : 149-162, 1969

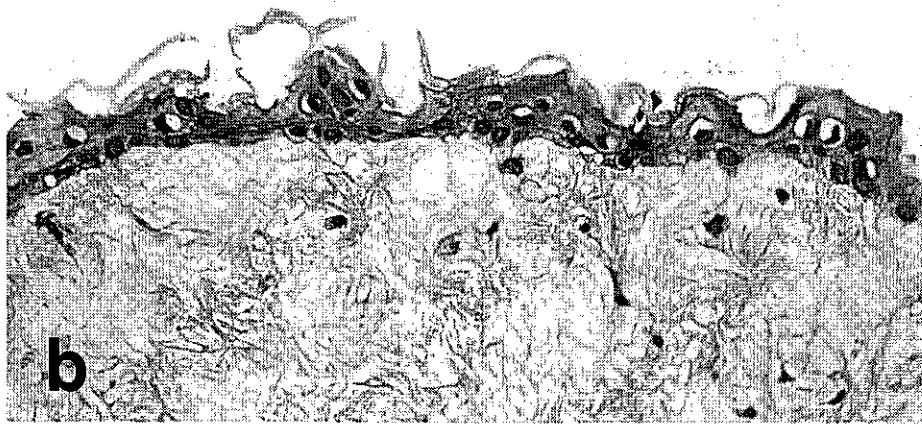
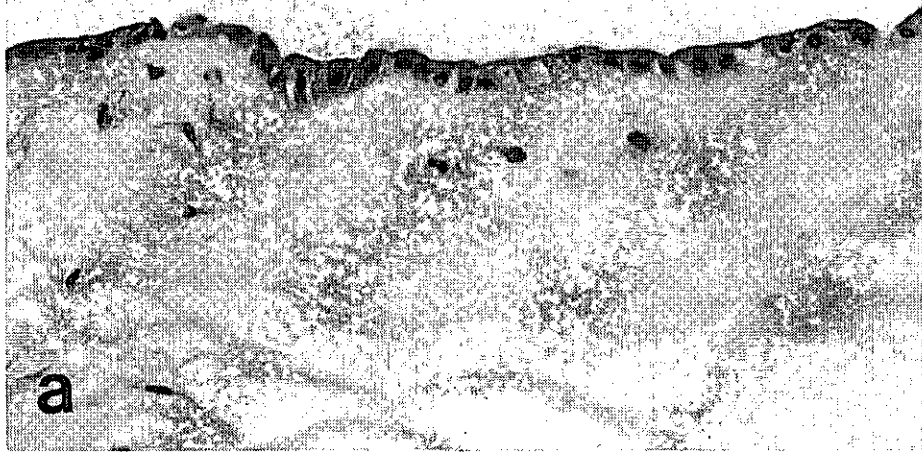


図1 羊膜および臍帯上皮の HE 染色像 : (a)羊膜、(b)臍帯

表1 臍帯上皮及び羊膜上皮における各種ケラチン、分化マーカーの発現

	Amnion	UC	Epidermis (fetus)	Epidermis (adult)
Keratin K1	—	+	+	+
Keratin K2e	—	—	+	+
Keratin K4	—	+	+	—
Keratin K6	+	+	+	+
Keratin K8	+	+	+	—
Keratin K10	—	+	+	+
Keratin K13	+	+	+	—
Keratin K14	+	+	+	+
Keratin K18	+	+	+	—
TGase I	+ (weak)	+	+	+
Involucrin	—	+	+	+
Loricrin	—	+	+	+

8) 単純型表皮水疱症の細胞モデルの確立

研究協力者：真 鍋 求 (秋田大学皮膚科)

要 約

ケラチン病の病体形成機序を解明するためには、変異ケラチンが発現すると何故ケラチンネットワークの破綻がおこるのかを解明することが重要であろう。我々はこの課題に明解な回答を得るために、変異ケラチン遺伝子を発現する培養細胞を確立し、ケラチン病の細胞モデルを確立することを試みている。具体的には、点突然変異を持つケラチン 14 遺伝子を Ecdysone-inducible Expression Vector に組み込んだコンストラクトを作製し、これを培養角化細胞にトランスフェクションし、stable transformant を得る。さらに、培養液中の Ecdysone 濃度を調節すると、変異ケラチン遺伝子の転写がおこり、細胞質内にはケラチンの凝集物が見られるようになるものと予想される。この状態における s の諸性質を、細胞生物学的に検索する予定である。

は じ め に

単純型表皮水疱症において点突然変異を持つケラチンが発現すると何故細胞内に水疱形成がおこるのか？そしてこれを如何にして阻止するか？これらはケラチンの異常と病態形成を結び付ける重要な課題であるとともに、臨床研究の究極の目的である治療法の開発に直接関わるものである。この疑問に明解な解答を与えるためには、点突然変異を挿入したケラチン遺伝子を培養細胞に発現させるのが最も効果的な方法であろう。そこで我々はこの細胞をケラチン遺伝子の異常によって発症する遺伝性皮膚疾患の細胞モデルとすることを試みる予定である。この研究はこれまで掴み所の無かった単純型表皮水疱症の病態解明と治療法の開発への端緒となろう。

材 料 と 方 法

(1) 変異ケラチン発現型 vector の作製

まず点突然変異を挿入するケラチン 1/4 遺伝子はジョンホプキンス大皮膚科より入手した。次に、単純型先天性表皮水疱症の家系において実際に見つかっている (Coulombe PA et al. Cell, 66, 1301-1311, 1991) ケラチン 14 蛋白の 125 番目のアルギニンをシステインに置換 (Arg-125→Cys) するため、overlapping PCR の手法を用いて、ケラチン 14 をコードする遺伝子に点突然変異を導入した。すなわち、pET ベクター中のケラチン 14cDNA をテンプレートにして 4 個のプライマーを用いて PCR を行った。4 個のプライマーのうちプライマー 1 と 2 を用いて、360bp の PCR プロダクトを得、プライマー 3 と 4 を用いて 1 kb の PCR プロダクトを得た。これらのプロダクトをテンプレートにしてもう一度プライマー 1 とプライマー 4 を用いて変異ケラチン cDNA をえた。PCR の条件は 2ng の cDNA をテンプレートに使い、100pmol のプライマーを使用し、1U の Taq polymerase を使用して、94°C 2 分の熱変性を行い、94°C 30 秒、55°C 45 秒、72°C 2 分の PCR を 30 サイクル行った。こうして得られた変異ケラチン 14 遺伝子を pIND/V5-His ベクターにサブクローニングした (以後このコンストラクトを pIND/MutK14-V5-His と呼ぶ)。このコンストラクトはシーケンスを行い、PCR によって目的とする部位以

外に変異が導入されていないことを確認した。

(2) 培養細胞への遺伝子導入

DJM-1 細胞を低カルシウム培地 (KGM) で培養し、60%コンフルエントになった状態において、0.75 μg の pIND/MutK14-V5-His と 0.75 μg の pVgRXR と 2 μg のドスパーリポソーマルリエージェントを混合したものを培地中に添加することにより遺伝子導入をおこなった。トランスフェクションは6時間施行した。

(3) 変異ケラチンの一過性発現

pVgRXR ベクターには、レチノイドXレセプターとエクデイソンレセプターをコードする2個の遺伝子が組み込まれている。レチノイドXレセプターとエクデイソンレセプターより形成されるヘテロダイマーに存在するポナステロンA (エクデイソン同族体) が結合し、pIND/V5-His ベクターに存在するエクデイソンリスポンスエレメントに結合することにより、その顆粒行に組み込まれている MutK14 の転写が開始される。そこで、トランスフェクション開始後 22 時間後に 5 μM のポナステロンAを培地に添加し、MutK14 の発現誘導を行った。pIND/V5-His ベクターから発現される蛋白質にはタグ (His tag および V5 tag) が付着がするので、今回は抗 V5 抗体を用いて免疫組織化学染色を行った。DJM-1 細胞は -20°C メタノールにより固定した。1次抗体としてマウス抗 V5 抗体 (Invitrogen 社製) をもちい、2次抗体には FITC 標識ヤギ抗マウス IgG (Cappel 社製) を使用し、室温で 30 分反応させた。

結 果

DJM-1 細胞質内に抗 V5 抗体にて染色される凝集塊が観察された (図1、矢印)。細胞質の中心寄りにやや大きな凝集塊がみられ、細胞質の辺縁に小さなドット状の凝集塊が存在した。

考 察

点突然変異を持つケラチンが発現すると何故細胞内に水疱形成がおこるのか?そしてこれを如何にして阻止するか?これらはケラチンの異常と病態形成を結び付ける重要な課題であるとともに、臨床研究の究極の目的である治療法の開発に直接関わるものである。それではこの疑問に明解な解答を与えるためには如何なる方法論があるだろうか。それは点突然変異を挿入したケラチン遺伝子を培養細胞に発現させるのが最も効果的な方法であろう。

しかしながら、通常発現ベクターを用いて変異ケラチン14 遺伝子をトランスフェクションした場合、細胞内にケラチン蛋白質凝集物が出現すると、その細胞は細胞の構造維持が困難となり、継代培養ができなくなる。そのため、通常は変異ケラチンを発現せず、ある条件下においてのみ特異的に変異ケラチンを発現する細胞を作成する必要がある。そのため、この研究計画では Ecdysone Inducible Mammalian Expression システムを用いることとした。すなわち、培養角化細胞に点突然変異を持つケラチン14 遺伝子を Ecdysone inducible Expression Vector に組み込んだコンストラクトをトランスフェクションし satble transformant を得たのち、培養液中の Ecdysone 濃度を調節することにより変異ケラチン14が発現され、単純型表皮水疱症の病態が再現されるものと期待される。

我々はこの細胞をケラチン遺伝子の異常によって発症する単純型表皮水疱症の細胞モデルとし

て、来年度に多くの実験を試みる予定である。特に、単純型表皮水疱症患者の基底細胞の細胞質ではケラチン蛋白の異常凝集物が観察されるが、有棘層より上層の細胞では、そのような凝集物は観察されない。それでは如何にして変異ケラチンが細胞内において処理されているのであろうか？変異ケラチンは速やかにリン酸化されるのか、ユビキチンシステムは何らかの役割を果たしているのか、さらに有棘細胞で発現される K1/K10 などの分化特異性ケラチンは変異ケラチンとトノフィラメント構造を構築できるのか、等に注目していきたい。この研究はこれまで掴み所の無かった単純型表皮水疱症の病態解明と治療法の開発に多大な貢献をできるものと思われる。



9) 遺伝性角化異常症における遺伝子変異の解析

研究協力者：藤 本 亘（岡山大学皮膚科）

要 約

Linear eidermolytic hyperkeratosis (LEH) の男児例および紅斑角皮症の2家系について遺伝子変異解析を試みた。生検にて診断確定した LEH の患者および家族の gDNA にはケラチン K10 遺伝子の変異は同定されなかった。患者の LEH 病変部および正常表皮の遺伝子解析は実施できなかった。紅斑角皮症の患者は臨床像から変動性紅斑角皮症か進行性紅斑角皮症かを確定することが困難であった。2家系では gDNA に connexin31 遺伝子の変異のないことが明らかとなり、1家系ではロリクリン遺伝子の変異も検出できなかった。

紅斑角皮症は heterogeneous な疾患であり、それらとは別の責任遺伝子により発症する病型と考えた。

は じ め に

Linear eidermolytic hyperkeratosis (LEH) は顆粒変性を伴う列序性疣状母斑もしくは豪猪皮状魚鱗癬母斑とも称されているまれな角化異常症であり、ケラチン K10 の接合後突然変異により発症すると考えられている。紅斑角皮症はロリクリン遺伝子の変異が確認された進行性紅斑角皮症とコネキシン 31 遺伝子の変異が同定された変動性紅斑角皮症の2型のほか、いくつかの分類困難な病型をふくむ heterogeneous な角化異常症である。今回われわれは稀な遺伝性角化異常症である linear epidermolytic hyperkeratosis の一例、および紅斑角皮症の2家系を経験したので、それぞれの疾患について原因遺伝子の変異を確認することを試みた。

症例・方法・結果

1) Linear eidermolytic hyperkeratosis

症例は4歳男児。生後4ヶ月ころより右足外踝に角化性丘疹が集族する病変に気づき、その後、頸部、腋窩、腹部などに同様の皮疹を生じてきた。両親は血族結婚ではなく、兄を含めて家系内に同症なし。当科受診時、両大腿後面から臀部、右腹部から臍に表面疣状、褐色で Blaschko 線に沿う列序性丘疹を認め、膝蓋、外踝には白色ないし紅色の丘疹が集族する局面、左腋窩、左項部から耳後部にも表面乾燥性でザラザラする局面を認めた。左腋窩より生検を施行。組織学的には著名な角質増殖、表皮肥厚、乳頭腫症を認め、顆粒層から有棘層にかけていわゆる顆粒変性 epidermolytic hyperkeratosis を認めた。電顕組織では表皮上層のケラチノサイト細胞質内にケラチン凝集塊を多数認めた。

両親、兄、患者より採決し、末梢血より genomic DNA を分離し、PCR にて K10 のロッドドメインを増幅し、塩基配列を調べたところ、全員の DNA が正常の塩基配列を示していた。患者の病変部、非病変部を再度生検し、ケラチノサイト、線維芽細胞の培養を予定していたが、患者が若年であり局所麻酔下での生検に協力が得られなかったためこれ以上の解析は実施できなかった。

2) 紅斑角皮症

一例目の症状は、当科初診が1991年、3歳時で、現在、12歳の男児。生後まもなくハイハイをするようになってから下腿、膝、肘に紅色のザラザラする局面を生じ、この皮疹が以後次第に拡大。1歳ころより掌蹠に角化を伴うようになってきた。両親に血族結婚なし。父の手背、前腕伸側、大腿、膝、足首に同様の角化性皮疹を認める。1991年、当科初診時、肘頭、膝から下腿、大腿後面に境界明瞭、小葉状の鱗屑を付す紅斑局面がみられ、大腿では辺縁が内側に弧を描く奇妙な形を呈する。手背の境界明瞭な不整型紅斑が手掌の角化に連なり、足蹠にも角化を認める。大腿部の紅斑を生検。組織学的に、角質増殖と表皮肥厚を認めた。1999年12月、再来時には3歳時にみられた角化性局面が拡大し、臀部から腰部にも褐色で境界明瞭なザラザラする角化性局面を形成していた。患者からの再生検は承諾が得られなかったので、父親の手背部から生検。組織学的に著名な角質増殖があり、顆粒層肥厚を伴う表皮肥厚を認めた。電顕組織では角質細胞の辺縁帯形成に異常を認めず、顆粒細胞から角質細胞への移行細胞細胞質内に大小の空胞形成および海綿状ケラトピアリンの遺残が観察された。

二例目の症状は、当科初診が1992年、2歳時で、現在、10歳の女児。生後3ヶ月ころより上肢に紅斑出現。1歳を過ぎたころから顔面、四肢に角化性紅斑が出現してきた。血族結婚なく、家系内に同症なし。1992年、当科初診時、顔面、耳介、肩、上肢、臀部、下肢に境界明瞭な紅斑角化性病変を左右対称性に認めた。掌蹠に軽度の角質増殖を伴う。右上腕の角化性紅斑を生検。組織学的に表皮肥厚を認めたが角層の増殖はめだたなかった。

一例目の家系の患者を含む5名と一例目の家系の患者を含む4名について、末梢血より genomic DNA を分離し、PCR にて connexin 31 の翻訳領域全長を増幅し、塩基配列を調べたところ、一例目、二例目の全員の DNA で connexin31 の遺伝子変異は同定されなかった。一例目の家系ではロリクリン遺伝子を増幅して塩基配列を解析したが、遺伝子変異は検出しなかった。

考 案

Linear eidermolytic hyperkeratosis (LEH) は顆粒変性を伴う列序性疣状母斑もしくは豪猪皮状魚鱗癬母斑とも称されているまれな角化異常症である。本症をもつ父親もしくは母親から、全身に顆粒偏性を伴う魚鱗癬である水疱型先天性魚鱗癬様紅皮症 (BCLE, eidermolytic hyperkeratosis) の患児が生まれることが報告されていた。Epidermolytic hyperkeratosis は表皮有棘層に発現するケラチンであるケラチン K10 もしくは K1 の遺伝子変異が原因であることが判明していたため、LEH の一家系についても発症の分子遺伝学的解析がおこなわれた。その結果、病変部では表皮細胞の 50% に K10 遺伝子の変異を認めるも、末梢血や線維芽細胞の変異はまれで、健常部表皮細胞では K10 遺伝子の変異はなかった。このことから、LEH では生殖細胞と体細胞の一つである表皮細胞の両者に起源を同じくする胚細胞に接合後突然変異がおこったものと考えられている。自験例は患者の両親に検査の意義を理解していただきインフォームドコンセントも得られていたが、患児が若年であったため病変部、非病変部の生検に協力が得られず、さらなる解析をおこなうことができなかった。分子遺伝学解明がただちに治療にむすびつかない現状では、検査を強行することに倫理的な問題があると考え、解析を断念した。

紅斑角皮症はロリクリン遺伝子の変異が確認された進行性紅斑角皮症とコネキシン 31 遺伝子の変異が同定された変動性紅斑角皮症の 2 型のほか、いくつかの分類困難な病型をふくむ heter

ogeneous な角化異常症である。自験二例は初診時の臨床像より変動性紅斑角皮症が疑われたので、最近の報告に基づきまず connexin31 遺伝子の塩基配列を調べたが、変異は見いだせなかった。臨床的に変動性紅斑角皮症とされているもののなかにも、connexin31 遺伝子に変異のない家系が存在するので、今回の結果は自験例もそのような症例である可能性を示唆している。ただ、自験一例目はわずか 2 回しか受診されておらず、二例目は最近全く受診されていないので、紅斑が変動性紅斑角皮症に特徴的とされる〈大きさや形をかえながら数時間から数日で出没を繰り返す動きのある紅斑〉であったか十分に確認できていない。従って、典型的な変動性紅斑角皮症ではない可能性もある。一例目については進行性紅斑角皮症の家系で変異が同定されたロリクリン遺伝子の解析もおこなったが変異は検出できなかった。この 2 症例もいくつかの病院を受診され検査はされるも、現時点では根本的治療法がないということを知らされてからは病院での検査に積極的ではなく、遺伝子解析の意義を理解していただくのに苦慮した。遺伝子治療法を含む有効な治療法の確立が切に望まれるところである。

参考文献

1. Paller AS, Syder AJ, Chan Y-M, Yu Q-C, et al. Genetic and clinical mosaicism in a type of epidermal nevus. *New Engl J Med* 1994 ; 331 : 1408-1415.
2. Richard G, Smith LE, Bailey RA, Itin P et al. Mutations in the human connexin gene GJB3 cause erythrokeratoderma variabilis. *Nat Genet* 1998 ; 20 : 366-9.
3. Ishida-Yamamoto A, Takahashi H, Iizuka H, Loricrin and human skin diseases : molecular bases of loricrin keratodermas. *Histol Histopatol* 1998 ; 13 : 819-26.

Mutation analyses in some hereditary keratinizing disorders

Wataru Fujimoto (Okayama University Medical School)

Summary

Mutation analyses were performed in a patient with biopsy-proved linear epidermolytic hyperkeratosis (LEH) and in two unrelated patients with erythrokeratoderma (EK). Mutation in the 1A domain in the keratin 10 gene was not identified in genomic DNAs from the patient with LEH and his family members. Gene analysis in lesional and normal epidermis of the patient could not be performed. Clonical phenotype of the patients with EK was difficult to determine whether it is EK variabilis or EK progressiva. Mutation in the connexin 31 gene was not found in genomic DNAs from two patients with EK. Further studies to elucidate the loricrin gene mutation in one family did not reveal any abnormality.

IV 膿疱性乾癬

1) 小児汎発性膿疱性乾癬に体するタカルシトール外用、 コルヒチン内服併用療法

研究協力者：三 橋 善比古（山形大学皮膚科）

共同研究者：齋 藤 寛 幸、川 口 雅 一、石 澤 俊 幸（山形大学皮膚科）

要 約

小児汎発性膿疱性乾癬（GPP）は難治性で、治療に困難をきたすことが多い。現在、エトレチナート、副腎皮質ステロイド、サイクロスポリンなどの内服療法の有用性が報告されているが、これらの全身療法には副作用が多く、特に小児に対しては問題が多いため、より副作用の少ない治療法が求められる。

今回、12歳、男児で右下肢の線状の角化性紅斑ではじまり、皮疹が全身に拡大した後に膿疱化した小児汎発性膿疱性乾癬に対して、タカルシトール外用、コルヒチン内服併用療法をおこなったところ、皮疹および全身状態が短期間の内に著明に改善した。コルヒチンは用量が少なければ副作用の出現は少ない。タカルシトールの外用も副腎皮質ステロイド外用に比べれば、副作用は少ないと思われる。小児膿疱性乾癬に対して、この治療法は有用と考える。

は じ め に

小児汎発性膿疱性乾癬（GPP）は難治性で、治療に困難をきたすことが多い。現在、エトレチナート、副腎皮質ステロイド、サイクロスポリンなどの内服療法の有用性が報告されている¹⁾が、これらの全身療法には副作用が多く、特に小児に対しては問題が多いため、より副作用の少ない治療法が求められる。

今回、以上の観点から、小児のGPPに対して比較的副作用の少ないコルヒチン内服と活性型ビタミンD₃外用の併用治療を行ったところ、有効であったので報告する。

症 例

患 者：12歳、男児

初 診：1999年4月2日

主 訴：右下肢の角化性紅斑

既往歴：特記事項なし

家族歴：伯母が尋常性乾癬

生活歴：3年前、一家で中国から帰国した。

現病歴：初診の2か月前、特に誘因なく、右大腿部に線状の角化性紅斑が出現。下腿を経て右足内顆まで延長し、また右大腿伸側には手拳大の角化性紅斑が出現してきたため当科を受診した。

初診時現症：右大腿内側から右下腿内側を経て右足内顆まで線状に延びる角化性紅斑がみられた（図1）。また、右大腿伸側にも手拳大で境界明瞭な角化性紅斑がみられた。紅斑は触れるとやや硬く、わずかに盛りあがっており、軽度の掻痒を認めた。

組織所見：線状の角化性紅斑部を生検した。表皮は、不全角化と軽度の過角化を示し、顆粒層が減少している部位と不全角化も過角化もなく、顆粒層が正常な部位が混在していた。真皮には両部位ともに軽度の小円形細胞浸潤がみられた。

その後の経過：臨床像、組織像から乾癬、炎症性線状疣状表皮母斑、線状苔癬などを考えて very strong クラスの副腎皮質ステロイド軟膏とタカルシトール軟膏（ボンアルファ[®]）を部位を変えて外用を開始した。1ヶ月後には両部位ともに軽快傾向を示したが、この頃より全身に小豆大までの角化性紅斑が出現した。その後中国に帰って治療していたため来院せず、10月25日発熱、全身倦怠感、全身に汎発した角化性紅斑および小膿疱を主訴に再来し、精査・加療のため入院した。

入院時現症：全身に環状および網状の角化性紅斑があり、所々融合し局面を形成していた。紅斑上に小膿疱の集簇がみられた（図2）。

入院時検査所見：WBC9950/mm²、赤沈（1時間値）47mm、CRP 2.7mg/dl、ASLO<49IU/ml、IgG943mg/dl、IgA227mg/dl、TP5.7g/dl、Ca9.0mg/dl、HLA A30(19)、B13、B35、Cw6、Cw3、DR6、DR8、膿疱内容の細菌培養は陰性。

組織所見：膿疱部より生検した組織のH-E染色所見は、角層下に好中球性膿瘍と、その周辺にKogojの海綿状膿疱を認めた（図3）。

治療と経過（表1）：小児GPPと診断し、タカルシトール外用単独療法を開始した。紅斑、膿疱は徐々に軽快したが発熱が続き、膿疱新生が増加してきたので、11月6日からコルヒチン1mg/day内服を追加したところ、内服3日目より発熱が徐々に軽快し、新生膿疱も見られなくなった。15日から0.5mg/day、23日から0.25mg/dayに減量。14日から発熱はなくなり、25日より膿疱は消失したため30日よりコルヒチンを中止した。その後、タカルシトール外用を続けているが、平成12年2月8日現在、皮疹および全身状態の再燃をみていない。

考 察

GPPにたいする治療はエトレチナート、PUVA療法、副腎皮質ステロイド内服、サイクロスポリン内服が一般的に行われ⁴⁾、最近ではタカルシトール外用の有効性も報告されている⁵⁾。また、小児GPPについても同様の治療が行われ¹⁾、なかでも、エトレチナート、副腎皮質ステロイド、サイクロスポリンの内服のような全身療法の有効性が報告されている¹⁾。しかしながら、これらの薬剤には比較的副作用が多く、比較的副作用の少ない薬剤による全身療法を行う目的で、コルヒチン内服を行った。

コルヒチンの副作用には、消化器症状（特に下痢）、急性中毒症（出血性胃腸炎、ミオパチー）、生殖系への影響（催奇形性、精子欠乏症）、長期連用による副作用（白血球減少、再生不良性貧血、脱毛）があり、消化器症状や急性中毒症は用法・用量が守られれば回避できる⁶⁾。今回の場合、投与量が比較的少量であり、投与期間も短期間であったため、生殖細胞への影響が最も心配されることであるが、コルヒチン投与が精子濃度に影響を及ぼさないと報告もあり⁷⁾、また、低濃度であれば副作用はほとんど無いともされており、比較的安全な薬剤と思われる。

今回の症例ではコルヒチン内服3日目より全身状態、および皮疹の改善がみられ、徐々に減量し約3週間の内服にて膿疱は消失した。また、膿疱のみならず角化性紅斑も著明に改善した。

コルヒチンの薬理作用には、1) 微小管機能抑制（白血球走化性能の抑制、肥満細胞からのヒスタミン遊離抑制、膵β細胞からのインスリン分泌抑制など）、2) 細胞分裂抑制、3) コラー

ゲン合成抑制、コラゲナーゼ活性亢進（線維化の制御）などがある⁶⁾。GPP に対しては白血球走化性能の抑制による効果が推測される。

今回の経験から、小児 GPP にみならず、尋常性乾癬についてのコルヒチンの有効性についても、今後、検討すべきと考える。

参考文献

- 1) 安田 秀美ほか：日皮会誌、104:759-766, 1994
- 2) 溝口 昌子：皮膚臨床、38 特：36；1203-1205, 1996
- 3) 大河原 章：厚生省特定疾患稀少難治性調査研究班、昭和 63 年度研究報告書、9-12, 1989
- 4) 大河原 章：厚生省特定疾患稀少難治性疾患調査研究班、平成 7 年度研究報告書、147-161, 1996
- 5) 大山 正俊ほか：皮膚臨床、41：1289-1293, 1999
- 6) 宮地 良樹：皮膚臨床、38 特：36；1291-1295, 1996
- 7) Bromner WJ, Paulsen CA：N Engl J Med, 294：1384-1385, 1976



図1 右下肢の線状の角化性紅斑

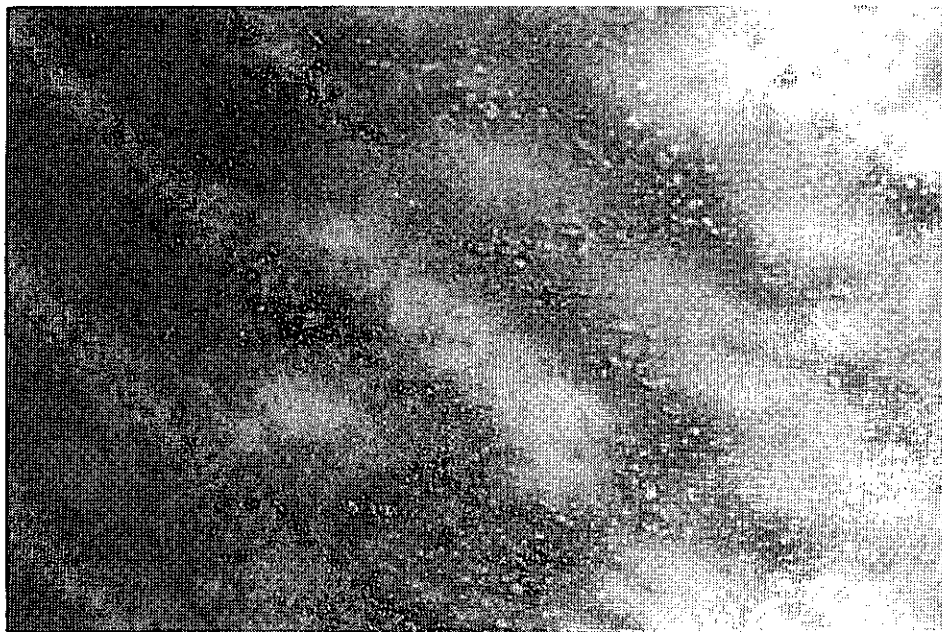


図2 紅斑上の小膿疱の集族



図3 角層下の好中球性膿瘍と、その周辺の Kogoj 海綿状膿疱

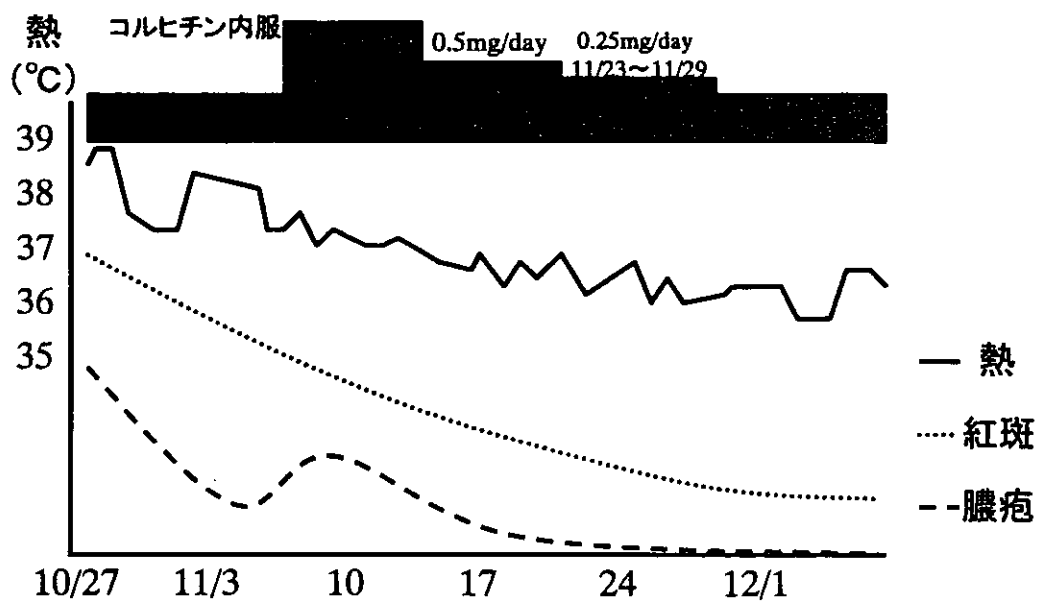


表1 治療及び経過

2) 乾癬患者を対象としたマクロライド系抗生物質内服の 治療効果に対する検討

研究協力者：中 村 晃一郎（東京大学皮膚科）

抄 録

乾癬ならびに膿疱性乾癬は、その病態としてT細胞やケラチノサイトによるサイトカイン産生異常が関与していることが報告されている。とくに膿疱性乾癬は乾癬の最重症型であり、血中サイトカイン濃度も上昇も著明に認められる。マクロライド系抗生物質は、抗菌作用とともに、その抗炎症作用が注目されている。今回乾癬患者を対象としてマクロライド系抗生物質の内服を試み、皮疹の変化、掻痒の軽快について検討した。その結果、3週間投与で、皮疹についてはPASIスコアが23.6から15.3へと減少し、掻痒については約60%軽快した。以上からマクロライド系抗生物質は乾癬患者の治療の一つとなりうる可能性が示唆された。今後二重盲検法などによってさらに検討する必要があると思われた。

はじめに

乾癬ならびに膿疱性乾癬は、その病態としてT細胞やケラチノサイトによるサイトカイン産生異常が関与していることが報告されている。とくに膿疱性乾癬は乾癬の最重症型であり、血中サイトカイン濃度も上昇も著明に認められる。マクロライド系抗生物質は、12-16 因環の大ラク톤環を基本骨格として、一つ以上のアミノ酸あるいは中性糖を有する抗生物質である。最近その抗菌作用とともに、その抗炎症作用が注目されており、種々のサイトカインの抑制作用などが報告されている。たとえばT細胞に対しては、ConA 刺激下でIL-2 産生を抑制すること、さらに抗原提示細胞のB7-1、B7-2 などの接着分子の発現も抑制することが報告されている(1)。今回乾癬患者を対象としてマクロライドの内服を試み、皮疹の変化、掻痒の軽快について検討した。その結果、4週間投与（最長2ヶ月間施行）で、PASIスコアが23.6から15.3へと減少し、掻痒については約60%の減少を認めたことから、マクロライドの乾癬に対する有効性が示唆された。

対象と方法

東大病院外来を受診した乾癬患者15名について、口頭で同意を得た後、マクロライド系抗生物質（エリスロマイシン）800mg/日を連日、三週間内服し、その効果について検討した。効果は皮疹のスコア、掻痒スコア、外用剤の使用ランクをもとに判定した。外用剤のランクに関しては、strongestからweakまでの副腎皮質含有軟膏をそれぞれランク10から6までとし、軟膏スコアとして計測した。掻痒については最高10ポイントとして、患者の自覚症状をもとにスコア値した。皮疹については患者ごとのPASIスコアを計測し、治療前後の推移をもとに計測した。併用薬として抗真菌剤（イトリゾール、ジフルカン）、第2世代抗ヒスタミン剤（エバステル）を過去1ヵ月以上内服している患者は対象外とした。

結果と考察

エリスロマイシン（800mg/日）の内服投与（三週間）によって、皮疹の軽快を認めた。皮疹

については、患者の PASI スコアは、平均 23.6 ± 15.6 から 15.3 ± 13.8 へと減少し、対応のある t 検定によっては $P < 0.05$ と有意差を認めた。皮疹の変化については、乾癬の皮疹が紅皮症を呈する症例に関して、その有効性が顕著である傾向が認められた。strongest から weak までの副腎皮質含有軟膏をそれぞれランク 10 から 6 までとし、軟膏スコアとして計測した。外用剤の使用については、軟膏使用は平均 218.3 ± 77.8 から 143.9 ± 88.1 へと減少し、 $P < 0.05$ と有意差を認めた。患者の自覚症状をもとに計測した掻痒スコアについては、治療前に比べ治療後で平均約 60% の掻痒スコアの軽減を認めた。

結果とまとめ

以上の結果から、マクロライド系後抗生物質は尋常性乾癬に対して、有効な治療法のひとつとなりうる可能性が考えられた。さらに今後、二重盲検法などを行うことによって、本治療が乾癬、さらに膿疱性乾癬の治療となるかを評価していく必要があると考えられた。

謝 辞

本研究は共同研究者小宮根真弓講師との協力によって行われたものであり、ここに深謝します。

参考文献

1) C Salgado, K Nakamura, M Komine and K Tamaki. The effects of macrolides on the expression of B7-1, B7-2 and CD40 of murine epidermal Langerhans cells. Jpn J Antibiotics, p27-28, 1997

Key Word : 乾癬、マクロライド、PASI スコア

ET=Administration of macrolide for the treatment of psoriasis

AU=Koichiro Nakamura (University of Tokyo, Department of Dermatology)

AB= [Purpose] In order to examine the immunomodulating effect of macrolide in psoriasis, the administration of erythromycin was tried to the patients with psoriasis.

[Purpose] Erythromycin (800mg/day) was administered in patients with psoriasis (15 cases) for 4 weeks, and the change of PASI score and the severity of itchness was evaluated before and after the treatment. [Results] PASI scores changed from 23.6 to 15.3 after 4 weeks of administration of erythromycin. Severity of itchness reduced up to 60% after the treatment.

[Conclusion] These results suggest the possibility of the usefulness of macrolide in the treatment of psoriasis. Further analysis such as double blind tests including other antibiotics or placebo will be required for the evaluation and establishment of this treatment in psoriasis, especially in pustular psoriasis.

平成 11 年度研究報告

Nakamura K, Saitoh S, Yasaka N, Furue M, Tamaki K. Molecular mechanisms

involved in the migration of epidermal dendritic cells in the skin. J Invest Dermatol. Symposium Proceeding. 4 : 169-172, 1999

Nakamura K, Tamaki K. Adhesion molecules on dendritic cells and Langerhans cells. J Dermatol Sci, 20 (1), 14-20, 1999

Nakamura K, Imakado S, Takizawa M, Makoto Adachi M, Sugaya M, Wakugawa M, Asahina A, Tamaki K. Exacerbation of pustulosis palmaris et plantaris after topical application of metals accompanied by elevated levels of leukotriene B4 in pustules. J Am Acad Dermatol, in press.

C Vestergaard, H Yoneyama, M Murai, K Nakamura, K Tamaki, Y Terashima, T Imai, O Yoshie, T Irimura, H Mizutani, K Matsushima. Overproduction of Th2 CC chemokines TARC and MDC in the skin of the NC/Nga mouse correlates with exacerbation of atopic dermatitis. J Clin Invest, 104 : 1097-105, 1999

M Sugaya, K Nakamura, K Tamaki, IFN- γ production from dendritic epidermal T cells by IL-12 and IL-18. J Invest Dermatol, 113 : 350-354, 1999

C Salgado, K Nakamura, M Sugaya, A Asahina, K Tamaki. Functional CD40 ligand (CD40L) is expressed on epidermal Langerhans Cells. J Leukocyte Biol. 66 : 281-285, 1999

Salgado CG, Nakamura K, Sugaya M, Tada Y, Asahina A, Fukuda S, Koyama Y, Irie S, Tamaki K. Differential effects of cytokines and immunosuppressive drugs on CD40, B7-1 and B7-2 expression on purified epidermal Langerhans cells, J Invest Dermatol. 113 : 1021-1027, 1999

3) 膿疱性乾癬表皮における SKALP/elafin の免疫組織学的局在

研究協力者：飯 塚 一 (旭川医科大学皮膚科)

KEY WORD : 膿疱性乾癬、尋常性乾癬、SKALP、elafin

抄 録

〔目的〕膿疱性乾癬における SKALP/elafin の局在について検討した。〔方法〕膿疱性乾癬 5 例、尋常性乾癬 11 例につき抗ヒト elafin 家兎ポリクロナル抗体を用いて免疫組織染色をおこなった。〔結果〕尋常性乾癬では SKALP/elafin の強い発現が認められた。その染色性には極性が存在し、上方にむかって染色性の増強が認められ、さらに上方では細胞辺縁に陽性所見を認めた。膿疱性乾癬では elafin の反応性は低下し極性もはっきりしなかった。SKALP/elafin の発現の減弱は、好中球浸潤が多い部位で著明であった。また膿疱性乾癬の膿疱周囲では部分的に SKALP/elafin の核周囲の凝集像が認められた。〔結論〕膿疱性乾癬における elafin の染色性の低下は好中球浸潤が多い部位で著明であり、これは好中球プロテアーゼとの相互作用による消費を示す可能性が考えられた。

ET=Immunohistochemical localization of SKALP/elafin in pustular psoriasis.

AU=Iizuka Hajime (Asahikawa Medical College. Department of Dermatology)

AB= [Purpose] In order to determine the localization of anti-leukoproteinase, SKALP/elafin, in pustular psoriasis, immunohistochemical analysis was performed. [Method] Samples of pustular psoriasis and psoriasis vulgaris were analyzed immunohistochemically. Anti-human rabbit polyclonal anti-elafin antibody was used as the primary antibody. [Results] In pustular psoriasis, the staining of SKALP/elafin was markedly diminished. This was remarkably distinct from the staining pattern in psoriasis where SKALP/elafin was detected in the upper layers of epidermis with more intense staining pattern to the outer side of the cell. The decreased staining of SKALP/elafin was more conspicuous in the leukocyte infiltrating area. [Conclusion] The diminished staining of SKALP/elafin in pustular psoriasis might indicate the consumption of this proteinase inhibitor by markedly infiltrating polymorphonuclear leukocytes.

は じ め に

SKALP/elafin は、塩基性の低分子量 serine proteinase inhibitor で、その主な機能は好中球プロテアーゼ阻害作用であり、それによって急性期炎症細胞による過剰な障害から生体組織を防御することが想定されている。SKALP/elafin は正常表皮では発現せず尋常性乾癬など炎症性皮膚疾患において病変部で発現することが知られている。SKALP/elafin の前駆体であるプ

レプロエラフィンには3つのサブドメインに分けられ、アミノ末端に疎水性のシグナルペプチドを有し、これに続いてセメントインとよばれるトランスグルタミナーゼの基質ドメインがあり、カルボキシル末端にプロテアーゼ阻害作用を有するエラフィン配列がある。プレプロエラフィンにはシグナルペプチドがあるため、表皮細胞間に放出され、好中球プロテアーゼを阻害すると考えられるが、一方、セメントイン部分はトランスグルタミナーゼ基質として表皮細胞辺縁帯の構成成分となることも想定されている。

膿疱性乾癬、尋常性乾癬のいずれも好中球浸潤で特徴づけられ、これらの疾患における表皮内SKALP/elafinの存在様式は、好中球由来のプロテアーゼ阻害作用からも、周辺帯形成の面からも興味あるところであるが、現時点ではほとんど知られていない。今回、われわれは膿疱性乾癬におけるSKALP/elafinの表皮細胞内局在に検討を加えた。

対象と方法

膿疱性乾癬5例、尋常性乾癬11例につき抗ヒトelafin家兎ポリクロナル抗体を用いて免疫組織染色を行った。2次抗体はDAB法により発色を行った。SKALP/elafinの局在は特に好中球浸潤部位との関連で検討を加えた。

結 果

膿疱性乾癬では、SKALP/elafinの染色性の低下が認められた(図1)。発現の減弱は、好中球浸潤が多い部位で著明であった。膿疱性乾癬では、尋常性乾癬でみられる外方へ向かっての極性を示す鱗状の配列は認められなかった。また膿疱性乾癬の膿疱周囲では部分的にSKALP/elafinの核周囲の凝集像が認められた(図2)。

考 察 、 結 論

膿疱性乾癬ではSKALP/elafinの発現の低下(図1)と外方へ向かっての極性の消失、部分的な核周囲の凝集像が認められた(図2)。発現の低下は好中球浸潤部位で著明で、分泌されたSKALP/elafinが、好中球プロテアーゼと複合体を作ることによる消費が低下の原因と推定された。部分的に認められたSKALP/elafinの核周囲の凝集像は(図2)、膿疱性乾癬においてSKALP/elafinの産生そのものは、むしろ増強していることを想定させるが、今後の検討課題である。一方、尋常性乾癬では、SKALP/elafinの強い発現が認められ、すでに報告したように外方へ向かっての、鱗状の染色性が認められた。SKALP/elafinの免疫染色における極性は前駆体であるプレプロエラフィンが、おそらくマイクロソーム分画に属する細胞内小器官を介して外方に分泌されることを考えさせるが、厳密な意味の証明はなされておらず、今後、免疫電顕的な手法を用いた検索が必要と思われる。

謝 辞

研究に協力していただいた中根宏先生、山本明美先生に深謝します。

参考文献

Iizuka H, Honda H, Ishida-Yamamoto A : Epidermal remodeling in psoriasis II. A quantitative analysis

of the epidermal architecture. *J Invest Dermatol* 109 : 806-810, 1997

Takahashi H, Asano K, Kinouchi M, Ishida-Yamamoto A, Wuepper KD, Iizuka H : Structure and transcriptional regulation of human cystatin A gene : The 12-o-tetradecanoyl (phorbol-13-acetate) TPA responsive element-2 site (-272 to -278) on cystatin A gene is critical for TPA-dependent regulation. *J Biol Chem* 273 : 17375-17380, 1998

Ishida-Yamamoto A, Yamauchi T, Tanaka H, Nakane H, Takahashi H, Iizuka H : Electron microscopic in situ DNA nick end-labeling in combination with immunoelectron microscopy. *J Histochem Cytochem* 47 : 711-717, 1999

Iizuka H, Honda H, Ishida-Yamamoto A : Epidermal remodeling in psoriasis : a hexagonally-arranged cylindrical papilla model reveals the nature of psoriatic architecture. *J Dermatol Sci* 21 : 105-112, 1999

Takahashi H, Nakamura S, Asano K, Kinouchi M, Ishida-Yamamoto A, Iizuka H : Fas antigen modulates ultraviolet B-induced apoptosis of SVHK cells : sequential activation of caspases 8, 3, and 1 in the apoptotic process. *Exp Cell Res* 249 : 291-298, 1999

Takahashi H, Asano K, Nakamura S, Ishida-Yamamoto A, Iizuka H : Interferon- γ -dependent stimulation of human involucrin gene expression : STAT-1 protein activates involucrin promoter activity. *Biochem J* 344 : 797-802, 1999

Ishida-Yamamoto A, Senshu T, Takahashi H, Akiyama K, Nomura K, Iizuka H : Decreased deiminated K1 in psoriatic hyperproliferative epidermis. *J Invest Dermatol* 114 : 701-705, 2000