

## 7) 膿疱蓋の角層と白血球との反応： 掌蹠膿疱症の単房性膿疱をモデルとした組織学的検討

分担研究者：田 上 八 朗（東北大学皮膚科）

共同研究者：高 橋 和 宏（東北大学皮膚科）

### 要 約

掌蹠膿疱症の無菌性膿疱における角層の脱落現象と構成細胞を病理組織学的、免疫組織化学的に検討した。断片化し膿疱内に脱落した角層片は、膿疱蓋の角層が菲薄化している中央部に最も多く存在し、その断片化角層数に比例するかのようによく好中球が接着する現象も膿疱の中央浅層で多く認められた。これは C5<sub>a</sub>濃度の高い角層周辺に好中球が集積した結果、角層に接着した好中球の活性化による活性酸素の放出と、蛋白分解酵素の働きにより膿疱浅層中央の角層が削り取られるためと考えた。

### はじめに

皮膚膿疱性疾患である膿疱性乾癬、尋常性乾癬、掌蹠膿疱症、アポロー稽留性肢端皮膚炎の患者でみられる角層下膿疱の病理組織学的所見で、好中球と単核細胞の攻撃により膿疱蓋の角層細胞が剥がれる現象がみられる。これはTリンパ球の表皮への細胞浸潤に惹起された組織破壊に基づく膿疱形成に大きな起爆剂的役割を果たす現象である。パラフィン切片でも形態がよく保たれている掌蹠膿疱症の完成された典型的膿疱をみると、膿疱蓋の角層は中央が削られたように薄くなっており、周囲になるにしたがって健常部と同じ厚さになって行く印象があり、また膿疱内容は、単層または何個かが集まった状態の角層があり、その周囲を取り囲んで好中球や単核球が浸潤している像がみられる。今回私たちはこれまであまり検討されたことのないこの角層の脱落現象を組織学的に検討するため、無菌性膿疱の中でこの現象の観察が容易である掌蹠膿疱症の完成された膿疱をモデルとして用い、膿疱蓋の角層の厚さを中央部と辺縁の健常部とで比較検討し、さらに膿疱内外を構成する細胞に検討を加えた。

### 材 料 と 方 法

掌蹠膿疱症患者 19 例の膿疱のパラフィンブロック標本のうち、標本作製時に膿疱の形態が保たれており角層剥離現象が検討可能であった 8 症例について検討した。角層の厚さ、膿疱を構成する細胞の分画は、画像処理、解析ソフトである IPLab Ver.3.5 (Scanalytics 社) を用いて解析した。まず膿疱蓋を 5 つに区画し、それぞれ角層の厚さを等間隔に 5 カ所ずつ測定比較した (図 1)。次に膿疱を面積が均等になるよう 6 分割し、それぞれ構成する細胞 (角層と、細胞成分) の割合を 2 次元的に面積測定し比較した (図 2)。それぞれの区画毎に顕微鏡下で角層を緑色に着色し緑色のみの面積(1)を測定した後、角層を含む赤紫色の部分の面積を測定(2)し、2-1 を細胞成分の面積として 1 との比を比較した。さらに HLA-DR、CD45Ro、Neutrophil Specific Elastase (NSE)、S-100 の免疫組織化学的検討を加え、細胞の活性化について検討を加えた。

## 結 果

### 1. 角層の厚さ

1 症例の結果を示す(図1)。膿疱中央部の角層は、辺縁に比較して約45%の厚さであった。他の7例においても、中央部は辺縁の20~70%の厚さであり、中央部の角層は辺縁に比較してかなり削られ菲薄化していた。

### 2. 膿疱内の角層と細胞成分の割合

区画毎の角層の占める割合の8標本の平均をグラフに示す(図2)。膿疱側縁の角層(浅層)と中央に多く角層が存在し、遠方になるにしたがって少なくなる傾向が見られた。細胞成分(角層+浸潤細胞)の割合の平均のグラフを図3に示す。剥脱した角層の多い中央浅層に細胞が多く存在し、角層の少ない部位は細胞成分も少ない傾向を示した。

### 3. 免疫組織化学所見

CD45TO (メモリーT細胞)

膿疱下の真皮浸潤する単核球の多くはCD45RO陽性細胞であり、膿疱下表皮にも陽性細胞が散在する。膿疱内にもわずかに陽性細胞が見られるものもある。

Neutrophil specific elastase (好中球)

膿疱内の細胞はいずれもほとんど陽性であり、好中球の浸潤であることを示す。

S-100 (ランゲルハンス細胞、樹状細胞)

表皮内に陽性細胞が散見され、膿疱内にもわずかに陽性細胞が散見される。

HLA-DR

今回検討した8例中、膿疱内の細胞が明らかに陽性であったものは4例であった。陽性細胞は角層に近い浅層の細胞に多く、深層には少ない印象があった。

## 考 按

今回の結果より、掌蹠膿疱症の水疱、膿疱の病理組織学的検査の結果、水疱内の組織液と角層の接触後、比較的短期間に角層下に好中球が集積し接着性が増し、活性化の結果放出される proteolytic enzyme により角層細胞間の接着が破壊され、膿疱蓋が中央の角層を脱落される現象が進行することが考えられた。断片化し脱落した角層片は膿疱の浅層中央に最も多く存在し、その断片化角層数に比例するかのように好中球が接着する現象も膿疱の浅層で多く認められた。

私たちは in vitro の実験では、角層自体はなんら強い活性を示さないが、一旦角層が組織液と触れると、その補体を活性化し C5a を産生し好中球を集積させることを確認している(1,2)。今回の組織学的所見において角層の多いところに好中球が多い理由として C5a 濃度の高い角層周辺に好中球が集積したためと考える。また角層と好中球の接着がみられるが、この接着にも補体の C3bi への好中球の Macl を介する接着が関与し<sup>(3,4,5)</sup>、角層に接着した好中球の活性化による活性酸素の放出と、蛋白分解酵素の働き<sup>(5,6)</sup>などにより、角層、好中球ともに多い膿疱浅層中央の角層が削り取られると考えられる。1/2症例の HLA-DR 陽性好中球にどのような役割があるかは今後の検討が必要と考える。

#### 参考文献

1. Tagami H et al : J Invest Dermatol 88 : 18s-23s, 1987
2. Tagami H, Ofuji S : Acta Derm Venereol (Stockh) 58 : 401-405, 1978.
3. Terui T et al : J Invest Dermatol 92 : 593-597, 1989.
4. Terui T et al : J Invest Dermatol 104 : 297-301k 1995.
5. Ozawa M et al : Experimental Dermatology. 7(4) : 51-6, 1998.
6. Terui T et al : Exp Dermatol 9 : 1-10, 2000.

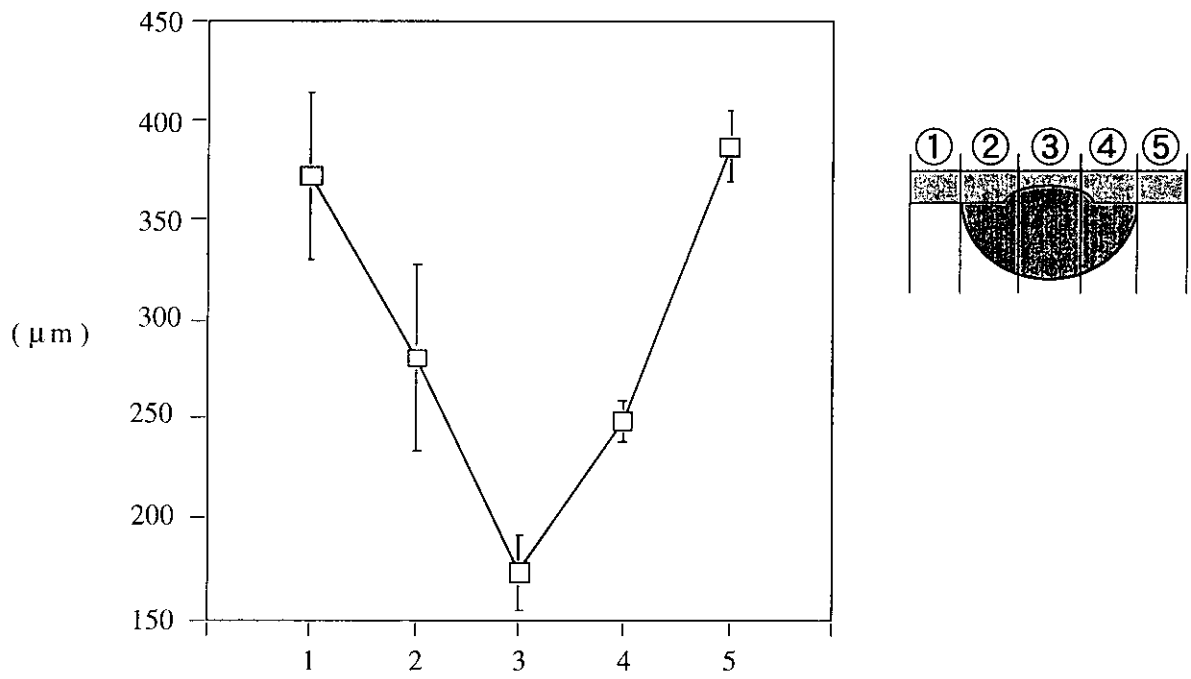


図1 右の図のように膿疱蓋を5つに区画し、それぞれ角層の厚さを等間隔に5カ所ずつ測定比較した(①~⑤)。この症例の膿疱中央部の角層は、片縁に比較して約45%の厚さであった。

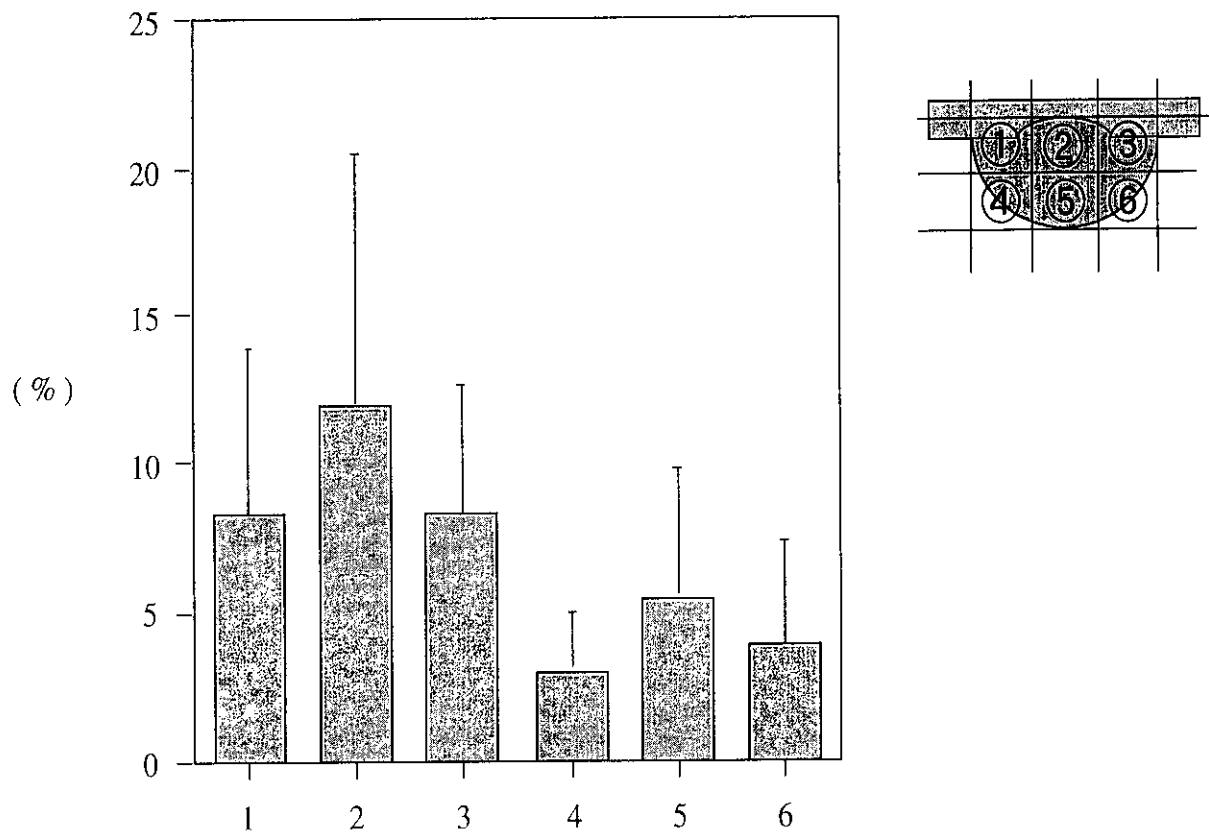


図2 右の図のように膿疱を面積が均等になるよう6分割し角層の割合を、2次元的に面積を測定し比較した。角層は膿疱の浅層中央に多く存在し、遠方になるにしたがって少なくなる傾向が見られた。

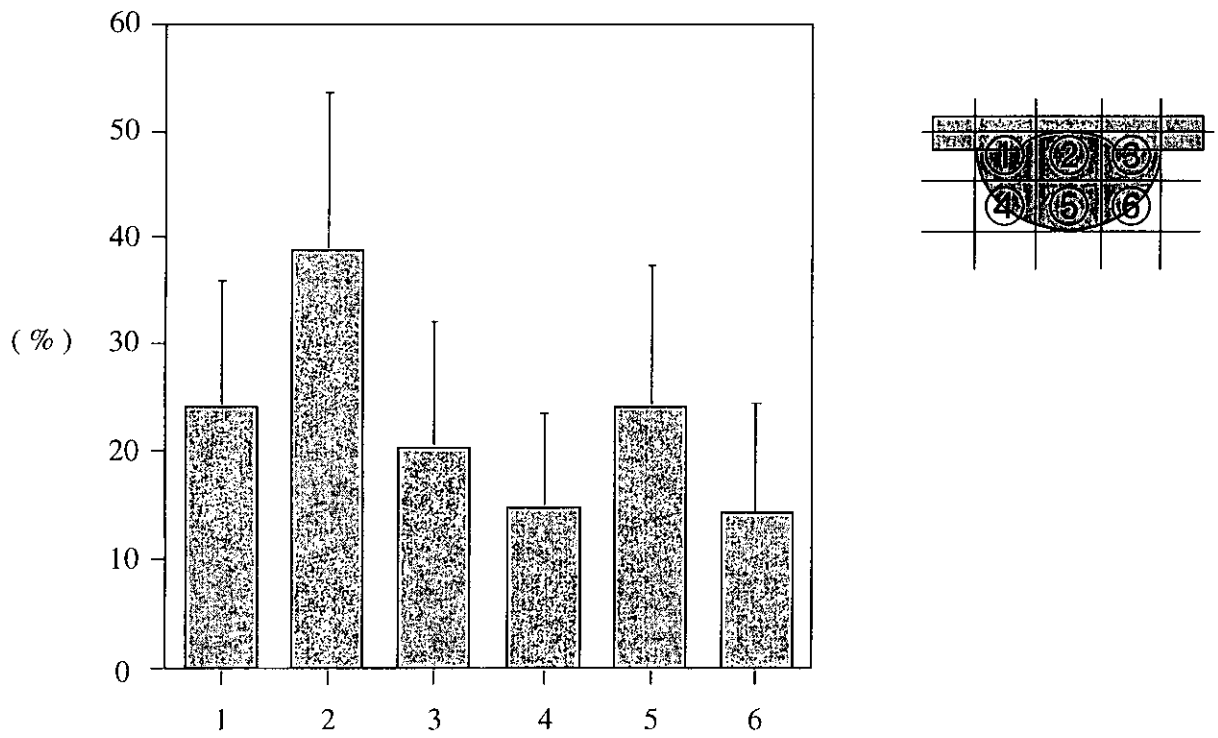


図3 図2同様に膿疱を6分割し、細胞成分（角層+浸潤細胞）の割合の平均をグラフにした。剥脱した角層の多い中央浅層に細胞が多く存在し、角層の少ない部位は細胞成分も少ない傾向を示した。

## 8) 滴状乾癬における *Streptococcus pyogenes* 由来のスーパー抗原

研究協力者：古川 福実 (和歌山医科大学皮膚科)

### 要 約

滴状乾癬は、乾癬の一型で、咽頭炎や扁桃腺炎が先行し引き続いて細かい乾癬皮疹が発症し、抗菌薬の内服治療に良く反応する疾患である。本症の発症にはスーパー抗原の積極的な関与が示唆されていた。われわれは詳細な免疫学的検討を行い、末梢血T細胞の各V $\beta$ 細胞陽性数に偏りが見られないが、化膿レンサ球菌由来スーパー抗原に対しては、病初期には低反応性で、clonal anergyが存在している可能性を確認した。

### はじめに

スーパー抗原はTあるいはB細胞レセプターに結合する際、一般抗原とは異なった部位に結合しレセプターの特定領域に選択的に大量のTあるいはB細胞クローンを活性化する因子である。一般抗原では1つの抗原により10000個に1以下のT細胞が活性化されるのに対して、1つのスーパー抗原によって活性化されるT細胞はその5-15%(1)、B細胞は20-40%を活性化あるいは結合する(2)。したがって、スーパー抗原がいったん生体内に侵入して免疫反応を開始すると強いアレルギー性炎症を惹起する。従来より、T細胞に対するスーパー抗原の研究が各種疾患の病態面から続けられ、近年では治療への応用研究も行われるようになってきた。滴状乾癬は、乾癬の一型で、咽頭炎や扁桃腺炎が先行し引き続いて細かい乾癬皮疹が発症し、抗菌薬の内服治療によく反応する疾患である。本症の発症にはスーパー抗原の積極的な関与が示唆されていた。われわれは本症の免疫学的側面から病態を検討した。

### 材 料 と 方 法

患者：4名の滴状乾癬(27-42歳、男性2名、女性2名)、8名の尋常性乾癬(25-65歳、男性5名、女性3名、平均PASIスコア18.5)、8名の正常人(28-47歳、男性5名、女性3名)。4名の滴状乾癬患者は、3名が咽頭培養で*S.pyogenes*が検出され、3名がASOあるいはASK陽性であった。末梢血単核球は、急性期と治癒期(抗菌薬の内服治療後6-8週間後)の二回採取した。

末梢血単核球反応性：従来の方法に従った(3)。用いたスーパー抗原は、黄色ブドウ球菌由来SEB、TSST-1、化膿レンサ球菌由来SPEA、SPECである。スーパー抗原は、Toxin Technology社より購入した。

フローサイトメトリー：末梢血単核球を用いた方法は既報(3)のごとくである。抗体はCD3、CD4、CD8、TCRV $\beta$ 2、TCRV $\beta$ 8を用いた(4)。

### 結 果

1) 末梢血単核球反応性：正常コントロールの末梢血単核球は、4つのスーパー抗原に対して、いずれも同様なdose-dependentな反応性を示した。最小抗原量0.1ng/mlより増殖反応がみら

れ、SEB、TSST-1 に対する反応性は SPEA、SPEC に比べて高い傾向にあった。滴状乾癬患者は、SEB、TSST-1 に対しては正常人と同様な反応性を示したが、SPEA、SPEC に対しては低反応性で、1 ng/ml で有意な増殖反応がみられた。

2) 患者間での末梢血単核球反応性：4つのスーパー抗原に対して、正常人と比べて滴状乾癬患者および尋常性乾癬患者は有意に高い反応性 (stimulation index) を認めた。この高い反応性は、1,10,100ng/ml のすべての濃度で観察された。次に、滴状乾癬患者および尋常性乾癬患者の両群の反応性を比較すると、0.1ng/ml の SPEA、SPEC に対しては相対的に滴状乾癬患者が低い反応性を示した。しかし、SEB、TSST-1 に対しては有意差を認めなかった。コントロールとして用いた Con A に対する反応性は、滴状乾癬患者・尋常性乾癬患者・正常人の三者間で差は認められなかった。

3) 相対的な反応性：上記の実験において、滴状乾癬患者・尋常性乾癬患者・正常人の間でバックグラウンドが異なることが繰り返し行った実験で明らかとなった。即ち、平均 cpm 値 (標準偏差) は、滴状乾癬患者 2060 (1136)・尋常性乾癬患者 1481 (1377)・正常人 2988 (1976) であった。そこで、新たに SEB に対する反応性を 100 とした index を考案した。この方法で、0.1、1、10、100ng/ml の濃度の TSST-1、SPEA、SPEC の各抗原に対する反応性をみると、0.1ng/ml という低い濃度においてのみ滴状乾癬患者は SPEA、SPEC に対して低反応性を示した。

4) 活動性による反応性の差：非活動期の反応性をみると、SPEA、SPEC の各抗原に対する滴状乾癬患者の反応性は、活動性に比べて上昇傾向を示したが、TSST-1 に対してはそのような反応の上昇傾向はみられなかった。

5) 末梢血単核球の TCRV  $\beta$  陽性細胞：V  $\beta$  は、SPEA、SPEC の対応をみるために TCRV  $\beta$  2、8 を検索した (SEB の対応 TCRV  $\beta$  ではないため)。しかし、滴状乾癬患者・尋常性乾癬患者・正常人の間に有意な差はみられなかった。

## 考 察

乾癬では感染を契機とした皮疹の増悪が知られており、細菌性スーパー抗原の関与が示唆されていた(5)。事実、細菌性スーパー抗原に対して患者末梢血単核球は高い反応性を示し、その反応性の程度は皮疹の広がり依存している(3)。反応性と臨床経過、病型との関連をみると、重症型の膿疱性乾癬患者及び乾癬性紅皮症患者では、皮疹の活動期には TSST-1 に対して低反応性を示して SEB に対する反応性との乖離を示す症例がある(6)。乖離が見られた症例においては TSST-1、ExT に反応する V  $\beta$  2 の数にほとんど変化はなく、末梢での clonal anergy が生じたと考えられた。このような乖離は、我々の検討では、尋常性乾癬ではみられず、黄色ブドウ球菌の感染を伴う通常のアトピー性皮膚炎でも観察されていない。clonal anergy は T 細胞がスーパー抗原に暴露されて機能不全に陥った為と考えられるが、免疫抑制に積極的に関わった結果との考えもある(7)。

このプロセスにあって、活性化した T 細胞がどのような振る舞いをするかが問題である。滴状乾癬は、乾癬の一型で、咽頭炎や扁桃腺炎が先行し引き続いて細かい乾癬皮疹が発症し、抗菌薬の内服治療によく反応する疾患で、末梢血 T 細胞の各 V  $\beta$  細胞陽性数に偏りが見られないが、化膿レンサ球菌由来スーパー抗原に対しては、病初期には低反応性で、clonal anergy が存在している可能性が確認された。以前より本症患者にヒトケラチンと交差反応を示す Streptococcal



M 蛋白に反応する広義の自己反応性 T 細胞の存在が注目されていた(8)。レンサ球菌由来スーパー抗原による T 細胞増殖が結果的にこの Streptococcal M 蛋白反応性 T 細胞の表皮へのホーミングを誘導することで乾癬の病態が形成されうる (9、10)。

本研究は、浜松医科大学皮膚科戸倉新樹助教授との共同研究である。

また、詳細は Arch.Dermatol.Res.291 : 382-389,1999 に発表した。

#### 参考文献

- 1) 古川福実 : スーパー抗原と皮膚疾患、臨皮 48 : 47, 1994
- 2) Silverman, G. J.: B-cell superantigens, Immunology Today, 18 : 379, 1997
- 3) Yokote, R., Tokura, Y., Furukawa, F., et al.: Susceptible responsiveness to bacterial superantigens in peripheral blood mononuclear cells from patients with psoriasis. Arch. Dermatol. Res., 287 : 443, 1995
- 4) Furukawa, F., Tokura, Y., Matsushita, K., et al.: Selective expansion of T cells expressing V $\beta$ 8 and V $\beta$ 13 in skin lesions of patients with chronic cutaneous lupus erythematosus. J. Dermatol., 23 : 670, 1996
- 5) 古川福実 : 乾癬. 臨床面より見た乾癬の自己免疫説再考—抗角層抗体からスーパー抗原まで—、日皮会誌 1031 : 1642, 1993
- 6) Yokote, R., Tokura, Y., Furukawa, F., et al.: Decreased responsiveness of T cells to toxic shock syndrome toxin-1 in patients with severe psoriasis at active stage. Arch. Dermatol. Res. 289 : 547, 1997.
- 7) Cauley, L. s., Cauley, K. A., Shub, F., et al.: Transfer anergy: superantigen treatment induces CD4+T cell tolerance that is reversible and requires CD4-CD8-cells and interferon  $\gamma$ . J. Exp. Med., 186 : 71, 1997
- 8) Sigmundsdottir, H., Sigurgeirsson, B., Troye-Blomberg, M., et al.: Circulating T cells of patients with active psoriasis M-peptides sharing sequences with human epidermal keratins. Scand. J. Immunol., 45 : 688, 1997
- 9) Valdimarsson, H., Baker, B. S., Jonsdottir, I., et al.: Psoriasis: a T-cell-mediated autoimmune disease induced by streptococcal superantigens ? Immunol Today, 16 : 145, 1995
- 10) Leung, D. Y. M., Gately, M., Trumble, B., et al.: Bacterial superantigens induce T cell expression of the skin-selective homing receptor, the cutaneous lymphocyte-associated antigen(CLA). J. Exp. Med., 181 : 747, 1995

### **Hyporesponsiveness of peripheral blood lymphocytes to streptococcal superantigens in patients with guttate psoriasis: evidence for systemic stimulation of T cells with superantigens released from focally infecting *Streptococcus pyogenes***

Fukumi Furukawa and Yoshiki Tokura

Department of Dermatology, Wakayama Medical College and Hamamatsu University School of Medicine

Throat infection with *Streptococcus pyogenes* is the most important trigger for acute

guttate psoriasis. We examined the *in vitro* responses of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) to streptococcal superantigens, SPEA and SPEC, and staphylococcal superantigens, SEB and TSST-1, in patients with guttate psoriasis, in patients with chronic plaque psoriasis and in healthy subjects. PBMC from patients with guttate psoriasis responded poorly to SPEA and SPEC at concentrations of 0.1 and 1 ng/ml as compared with those from patients with plaque psoriasis, but showed high responses to SEB and TSST-1. The hyporesponsiveness recovered after improvement of the skin eruption. There was no significant differences between guttate and chronic types of psoriasis in the percentages of circulating T cell receptor V $\beta$ 2 or V $\beta$ 8-bearing T cells, responsive to streptococcal superantigens, indicating that T cell clonal anergy was a mechanism underlying the hyporesponsiveness. Our results suggest that superantigens released from focally infecting *S. pyogenes* induce a transient activation of relevant T cells, leading to the development of skin eruption and, subsequently, temporary T cell anergy to these toxins.

## 業 績

Tokura Y, Seo N, Ohshima A, Wakita H, Yokote R, Furukawa F and Takigawa M.: Hyporesponsiveness of peripheral blood lymphocytes to streptococcal superantigens in patients with guttate psoriasis: evidence for systemic stimulation of T cells with superantigens released from focally infecting *Streptococcus pyogenes*. Arch Dermatol Res 291 : 382-289, 1999

Tokura Y, Wakita H, Seo N, Furukawa F, Nishimura K and Takigawa M.: Modulation of T-lymphocytes proliferation by exogenous natural ceramides and sphingosylphosphorylcholine. J Invest Dermatol Sym Proc 4 : 184-189, 1999

Toichi E, Tachibana T and Furukawa F : Rapid improvement vulgaris during drug-induced agranulocytosis. J Am Acad Dermatol (印刷中)

Iton T and Furukawa F : Psoriasis guttate acuta triggered by varicella zoster infection. Eur J Dermatol 10 : 226-227, 2000

## 9) 乾癬の責任遺伝子の解析

研究協力者：小澤 明（東海大学皮膚科）  
共同研究者：飯塚 万利子、岩下 賢一（東海大学皮膚科）  
猪子 英俊（同分子生命科学2教室）

### 要 旨

汎発性膿疱性乾癬の遺伝解析により、その免疫遺伝学的背景の解明、あるいはその病態形成機序の検討を目的とし、1999年度は、尋常性乾癬における責任遺伝子の絞り込みを検討した。その結果、第6染色体 HLA-C 抗原遺伝子近傍におけるマイクロサテライトマーカーによる検討から、その責任遺伝子の候補領域を 54kb へと絞り込んだ。さらに、その領域に 4 個の新規遺伝子が存在し、そのうち 3 個の遺伝子（SEEK1、SPR1、STG）では皮膚特異的な発現を示すことが確認できた。以上から、今後は尋常性乾癬におけるそれらの遺伝子についてさらに詳細な解析を行う必要があり、その責任遺伝子の解明ができれば、さらに汎発性膿疱性乾癬の遺伝解析を行う予定である。

### はじめに

汎発性膿疱性乾癬の遺伝解析においては、HLA-class I および class II 抗原の解析が行われ、以下のように報告されている<sup>1)</sup>。

- a. 汎発性膿疱性乾癬では、HLA との関連が認められた。
- b. しかし、汎発性膿疱性乾癬は、尋常性乾癬での HLA の関連とは異なっていた。
- c. したがって、それら両病型では免疫遺伝学的背景に差異があり、それぞれの病態形成が形成されている可能性が示唆された。

すでに、尋常性乾癬における関連遺伝子の検討は最終段階に入ってきたと言われ、その研究成果が内外で次々に報告されてきている。そこで、必ず、尋常性乾癬の責任遺伝子の解析を進め、その手法に準じ、汎発性膿疱性乾癬における責任遺伝子の解析し、その免疫遺伝学的病態形成の検討を行う。

現在までのところ、尋常性乾癬における遺伝解析については以下のように集約されている。

- a. HLA 抗原遺伝子領域（第6染色体短腕）。
  - a) HLA-C 抗原遺伝子：<sup>9</sup>Asp、<sup>24</sup>Ser、<sup>73</sup>Ala、<sup>90</sup>Asp。
  - b) HLA-C 抗原遺伝子座近傍にある遺伝子：S 遺伝子、NOB 遺伝子など。
- b. HLA 抗原遺伝子領域以外（第1、4、8、13、17染色体など）。

これらの結果を踏まえて、既に、われわれはマイクロサテライトマーカーを用いて、尋常性乾癬の第6染色体短腕の HLA-C 抗原遺伝子座近傍における DNA の多型性について、尋常性乾癬 76 例、健康正常人 132 例において検討し、尋常性乾癬の責任遺伝子の存在する候補領域として、以下のような結果を得た<sup>2,3)</sup>。

- a. HLA-C 抗原遺伝子座のテロメア側。
- b. OTF3 遺伝子から S 遺伝子間の約 100kb。

そこで、1999年度の計画としては、尋常性乾癬における第6染色体 HLA 抗原遺伝子領域、とくに HLA-C 抗原遺伝子近傍を中心とした遺伝子の解析を行い、尋常性乾癬の責任遺伝子の絞り込みを試みる。

## 方 法

尋常性乾癬 76 例、健康正常人 132 例を対象とし、HLA-C 抗原遺伝子座を中心にセントロメア側、テロメア側に位置する 12 種のマイクロサテライトマーカー (C1\_2A\_、MICA、C1\_4\_1、C1\_2\_5、C1\_4\_3、C1\_3\_1、C1\_2\_6、C1\_3\_2、C2\_4\_4、C4\_12、C4\_25、C3\_2\_11) におけるそれぞれの対立遺伝子の多型性を検討した結果を対象とした<sup>2,3)</sup>。

### 1. 尋常性乾癬責任遺伝子の絞り込み

各マイクロサテライトマーカーにおける遺伝的多型性のハプロタイプを検討し、尋常性乾癬で有意に認められるハプロタイプがあるかを解析した。

### 2. 新規遺伝子の発現解析

絞り込んだ領域における新規遺伝子の検索とその発現について検討した。

## 結 果

### 1. 尋常性乾癬責任遺伝子の絞り込み

OTF3 遺伝子から S 遺伝子間の約 100kb の領域におけるハプロタイプとその頻度を推定、解析した。その結果、C1\_2\_5 (HLA-C 抗原遺伝子座からセントロメア側 19kb、対立遺伝子数 17)、C1\_3\_1 (HLA-C 抗原遺伝子座からテロメア側 31kb、対立遺伝子数 6)、C1\_2\_6 (HLA-C 抗原遺伝子座からテロメア側 89kb、対立遺伝子数 9)、C1\_3\_2 (HLA-C 抗原遺伝子座からテロメア側 143kb、対立遺伝子数 9) における 216-288-295-357 という対立遺伝子を持つハプロタイプにのみ、有意な相関 (corrected  $p < 0.00316$ ) が得られた<sup>4)</sup>。すなわち、このハプロタイプは乾癬患者 76 例中 18 例 (24%) に認められたが、健康正常人 132 例では 7 例しか認められなかった。そこでこのハプロタイプを、健康正常人群と比較して乾癬群に最も優性にみられる祖先型ハプロタイプと定義した。この祖先型ハプロタイプから、染色体組み換えによって派生し得る 3 パターンのハプロタイプを含めた 4 パターンのハプロタイプは、乾癬 76 例中 36 例 (47%) に認められた。これは、それら乾癬患者が、祖先型ハプロタイプおよびそこから派生したハプロタイプを伝達していることを意味している。そしてこれらのハプロタイプが乾癬原因遺伝子とともに共通の乾癬創始者から伝達されてきた可能性を示唆している。

### 2. 新規遺伝子の発現解析

上記の結果から、祖先型ハプロタイプをもつ乾癬患者 36 例の染色体共通領域を検討した。その結果、それら乾癬患者の染色体中で共通している可能性のある領域は、C1\_2\_6 から C1\_3\_2 のサテライトマーカー間、54kb のみであった。そこでわれわれは、この絞り込んだ 54kb 遺伝子領域の塩基配列から、そのコード領域を予測し、種々の方法により新規遺伝子の同定を試みた。この領域内には、既知の遺伝子として OTF3、TCF19、S 遺伝子が 3 個存在しているが、今回の解析から、HCR ( $\alpha$ -helix coiled-coil rod homologue)、SPR1 (small prolin rich)、STG (S telomeric gene)、SEEK1 (specific expression in epidermal keratinocyte) の合計 4 個の新規遺伝子を同定することに成功した。そこで、RT-PCR により新規遺伝子の各種臓器における発現を検討した。その結果、SPR1、SEEK1、STG では皮膚、ケラチノサイト、ファイ

プロブラストなどに特異的な発現を示した。とくに SEEK1 は、ほぼケラチノサイトのみに特異的な発現をみた<sup>9)</sup>。

## 考 案

尋常性乾癬の責任遺伝子の解析を、すでに報告したマイクロサテライトマーカーを用いた相関解析結果から、今回さらに祖先型ハプロタイプを推定し、その組み換え体を検討、解析した結果、その遺伝子の存在する候補領域を HLA-C 抗原遺伝子座近傍のテロメア側 54kb の領域に絞り込んだ。その領域には、既知遺伝子が 3 個存在していたが、今回の検討で 4 個の新規遺伝子を同定することに成功した。しかも、そのうち 3 個の遺伝子では、すべて皮膚に特異的な発現を示し、ケラチノサイトとの関連が推察された。以上から、これらの新規遺伝子は、皮膚に関わる一つの遺伝子群を形成していると推察された。

## お わ り に

今後の課題として、今回同定された遺伝子が尋常性乾癬においてどのような遺伝的多型性をとっているのか、あるいは尋常性乾癬病変部において、どのような役割を持っているのかの検討が必要となってきた。それらが、解明されれば、汎発性膿疱性乾癬の免疫遺伝学的背景の解析に寄与すると考えられる。

## 参考文献

- 1) Akira Ozawa, Motomi Miyahara, Junichi Sugai, Mariko Iizuka, Yo Kawakubo, Itsuro Matsuo, Muneco Ohkido, Taeko Naruse, Hitoshi Ando, Hidetoshi Inoko, Hitoshi Kobayashi, Akira Ohkawara, Hidetoshi Takahashi, Hajime Iizuka, Eishin Morita, Shoso Yamamoto, Michihiro Hide, Yoshiki Taniguchi and Masayuki Shimizu : HLA class I and II alleles and susceptibility to generalized pustular psoriasis, : Significant associations with HLA-Cw1 and HLA-DQB1\*0303, *J. Dermatol*, 25 : 573-581.
- 2) 飯塚万利子、岩下賢一、田宮紫穂、笹尾ゆき、松山 孝、川久保 洋、小澤 明、岡 晃、田宮 元、猪子英俊、太田正穂 : HLA-C 遺伝子テロメア側 111kb に存在する尋常性乾癬候補遺伝子のマーカーを用いた解析、第 14 回日本乾癬学会記録集、日本乾癬学会、1999、p. 133-134.
- 3) Akira Oka, Gen Tamiya, Maiko Tomizawa, Masao Ota, Yoshihiro Katsuyama, Satoshi Makino, Takashi Shiina, Mai Yoshitomi, Mariko Iizuka, Yuki Sasao, Kenichi Iwashita, Yo Kwakubo, Junichi Sugai, Akira Ozawa, Muneco Ohkido, Minoru Kimura, Seiamak Bahram and Hidetoshi Inoko : Association analysis using refined microsatellite markers localized a susceptibility locus for psoriasis vulgaris within a 111kb segment telomeric to the HLA-C gene. *Human Molecular Genetics*, 8 : 2165-2710, 1999.
- 4) 飯塚万利子、岩下賢一、川久保 洋、小澤 明、岡 晃、田宮 元、猪子英俊 : 尋常性乾癬の疾患感受性遺伝子の発現解析、日本皮膚科学会第 752 回東京研究地方会、東京、1999. 12. 18.

# V. 天 疱 瘡

## 1) 住民票による天疱瘡の予後調査

協力研究者：稲 葉 裕（順天堂大学衛生学）

共同研究者：黒 沢 美智子（順天堂大学衛生学）

小 川 秀 興（順天堂大学皮膚科）

### 要 約

昭和 61 年に天疱瘡の全国調査を行い、その時に把握した 2 次調査対象者 260 名に平成 9 年に予後調査を実施した。しかし、数年間外来に受診がなく予後が不明であった患者が約 6 割を占めていた。そこで不明例について医療受給者票データとリンケージを試みたが、医療受給者票の情報は患者が生存しており継続的な治療を受けている場合に限られるため、リンケージできたのは数例であった。そのため不明例の予後を追跡する方法を再検討した。住民基本台帳で生存/死亡を確認する方法は、過去に慢性疾患などの予後追跡調査で行われたこともあり、全国調査の 2 次調査票に記載されている患者の住所から、該当する市町村役場で生存/死亡、死亡の場合年齢を確認することができる。本症発症によって生命予後に変化があったかどうか、日本人の平均余命と比較して同じか短い、また発症年齢や病型によって生命予後に差があるかどうか、等を検討できると考える。

A Follow up Study of Patients with pemphigus-Coping with the unknown cases-

Yutaka Inaba, Michiko Kurosawa (Department of Epidemiology, Juntendo University School of Medicine)

Hideoki OGAWA (Department of Dermatology, Juntendo University School of Medicine)

The follow up study of the patients with pemphigus was carried out in 1998. About 260 subjects were identified in the second questionnaires of the nationwide survey in 1986. The follow up questionnaire was mailed to the attendant doctors of the patients. Although the response rate were over 80%, about 60% of prognosis on patients were unknown. For the coping with the unknown cases, we are going to confirm the residents cards of the cases. From the information of residents card, survival or death and the date of death could be confirmed. Based on the information, the prognosis of pemphigus will be analyzed.

### は じ め に

昭和 61 年に「天疱瘡」の全国調査を行い、その時に把握した 2 次調査対象者 260 名に平成 9 年に予後調査を実施した。しかし、回収率は高かったものの、数年間外来に受診がなく予後が不明であった患者が約 6 割を占めていた。不明例への対応として医療受給者票データとのリンケージで生存者の確認を行おうと試みた。しかし医療受給者票から得られる情報は患者が生存してお

り継続的な治療を受けている場合に限られるため、該当者は少なく、リンケージできたのは僅かに7例であった。そのため不明例の予後を追跡する方法を再検討した。今回の報告では今年度から来年度にかけて行う調査計画を示す。

## 対 象 と 方 法

全国調査の2次調査票には患者の住所が記載されているので、該当する市町村役場の住民基本台帳で生存／死亡を確認することが可能であり、死亡していた場合の死亡年齢も確認できる。この方法は過去に慢性疾患などの予後追跡調査で行われたこともある。当然のことながら住民票からは天疱瘡が原因で死亡したかどうか、現在の病状についての情報は得られないので、限定的な情報である。下記に調査手順を示す。

- ① 平成9年に実施した予後調査の未回収例、外来受診なく予後不明例をリストする。
- ② ①のリストを元に全国調査の2次調査票記載住民から当該市区町村役場の住所を調べる。
- ③ 市区町村住民課宛に住民票確認依頼状（資料1）と確認用紙（資料2）、手数料として定額小為替（約300円程度）、返信用封筒を同封して送付する。
- ④ 回収された情報で天疱瘡の生命予後を分析する。

## 結 果 と 考 察

本調査の利点としては、1. 発症によって生命予後に変化があったかどうか日本人の平均余命と比較して同じか短いか推定できる。2. 発症年齢や病型によって生命予後に差があるかどうか推定できる。3. 調査結果は治療研究、福祉面での基礎情報となる。4. 日本において天疱瘡患者の生命予後についてのデータはほとんどない。等が挙げられる。本年度は③の作業まで行い、本年度に収集された情報で予後を検討する。

資料 1

平成 年 月 日

住民票担当者様

厚生科学研究

特定疾患稀少難性皮膚疾患 主任研究者 小川 秀興

” 研究協力者 稲葉 裕

### 住民票確認のお願い

冠省

私どもは、学術調査のために患者の追跡調査をしています。別紙の方は、数年間対象の医療機関に通院しておらず、調査票の住所から、貴地に居住されておられたと推察されます。つきましては現在も居住しておられるか、他へ転出されているか、または死亡された場合は、その年月日をご確認いただけませんか。定額小為替と返信用封筒を同封致しますので、別紙の住民票確認用紙に記入の上ご返送願います。住民票のコピーをお送りいただいても結構です。

なお、内容につきましては、本人および家族に迷惑のかからぬよう、特段の配慮を致します。ご多忙中とは存じますが、上記宜しくお願い申し上げます。

不一

連絡・問い合わせ先

〒113-8421 文京区本郷 2-1-1

順天堂大学医学部衛生学教室内

稲葉 裕、黒沢美智子

Tel 03-5802-1046

Fax 03-3812-1026



住民票確認用紙

氏 名：

生年月日：明治／大正／昭和 年 月 日

住 所：

上記の方は

1. 現在も同住所に居住しています。
2. 転出しています。( 年 月 日)
3. 死亡しています。( 年 月 日)

年 月 日

職印

## 2) 寛解と判定された天疱瘡患者の検討

研究協力者：増 谷 衛（藤田保健衛生大学皮膚科）  
研究協力者：稲 葉 裕（順天堂大学衛生学）  
班 長：小 川 秀 興（順天堂大学皮膚科）

### 要 約

先に実施した天疱瘡 QOL 調査票において寛解と回答のあった症例を抽出し、回答結果の再検討を行なった。また、その結果に基づき天疱瘡における寛解の基準について提言した。

### は じ め に

調査票の医師記入欄における、疾患の活動性の項目をみると、寛解期と判定された症例が 281 例、78.7%とおよそ 8 割を占め、急性期 2.2%、軽快・憎悪を繰り返す 19.9%を圧倒的に凌駕している（図 1）。天疱瘡の予後は著しく改善されたものの、これらの回答の内には安易に寛解とは判定し難い症例も含まれているのではないかと。また診断基準や重症度判定基準もある以上、寛解の判定基準についても考察してみようというのが今回の再検討を行なった経緯となった。

### 解 析 結 果

#### 1) 重症度によりみた寛解症例（図 2）

まず厚生省天疱瘡重症度判定基準により判定した重症度よりみた寛解症例であるが、重症 22 例中 7 例、31.8%、中等症 90 例中 59 例、65.5%が寛解と回答されており、重症例や中等症例で寛解とは不適切な判定と考えられた。また軽症例は全例寛解と判定されているが、軽症例中にもステロイド大量投与例が混在していると思われ、不適切な回答症例は除外する必要があると思われた。

#### 2) 寛解と判定された症例の皮膚病変部の面積（図 3）

次に、重症度判定基準の各判定項目別に見ると、まず皮膚病変部の面積、これは active な紅斑や水疱の占める面積を指しているが、若干ではあるが 15%以上、および 5～15%あるにもかかわらず寛解と判定されている症例が存在していた。

#### 3) 寛解と判定された症例のニコルスキー現象（図 4）

ニコルスキー現象においても、陽性例やわずかに認められる症例にもかかわらず寛解と判定された症例が存在している。

#### 4) 寛解と判定された症例の水疱の新生数（図 5）

同様に 1 日あたりの水疱の新生数でも、1～5 個および 5 個以上という回答例は寛解症例より除外すべきものと考えられた。

#### 5) 寛解と判定された症例の抗体価（図 6）

流血中の天疱瘡抗体価と重症度は、必ずしも並行するとは限らないものの、寛解と判定された症例中陰性 52.9%、40 倍未満は 20.0%であった。640 倍以上は 3 例、2.1%と少なく、うち 1 例は重症例、1 例は中等症例であり寛解とは判定しがたい症例であった。40 倍～320 倍は 35 例

25.0%であり、うち軽症例は27例であった。従って寛解の基準を設定するにあたり、320倍以下か、640倍以上かでボーダーを設定するのが妥当かと考えられた。

#### 6) 寛解と判定された症例の口腔粘膜疹 (図7)

口腔粘膜疹は難治性で皮疹消褪後も遷延することはしばしば経験するところである。5%以上は寛解と判定し難いところであるが、5%程度までは、寛解の基準として許容したい。

#### 7) 寛解と判定された症例の治療法 (図8)

次に、寛解と判定された症例の治療法についてであるが、93.2%の症例でステロイド全身投与が行なわれているのが現状で、経過観察のみというのは、わずか3.9%にすぎなかった。

#### 8) 寛解と判定された症例のステロイド全身投与量 (図9)

また寛解と判定された262症例中ステロイドの全身投与量をみると、プレドニゾロン換算で15mg以上30mg未満が7.3%、30mg以上が0.8%存在している。

## 考 察

以上を踏まえて、我々は天疱瘡における寛解とは、以下の如く提言したいと考えた(表1)。即ち、PSL投与量が10mg/day以下であり、重症度判定基準において軽症と判定され、なおかつ1)皮膚病変部の面積は、紅斑や水疱などのactiveな皮疹がないこと

2)ニコルスキー現象陰性

3)1日あたりの水疱新生数がなしまたは稀に少数

4)抗体価40~320倍以下

5)口腔粘膜疹はないか5%まで

そこで調査票回答による寛解と判定された症例の割合は、左円グラフに示すように78.7%であったが、今回我々の提言した寛解の基準にあてはめて個々の調査票を再検討したところ、右円グラフに示すように寛解62.1%となった(図10)。寛解の基準を設定することにより約15%寛解症例の占める割合が減少したとは言え、かつては致命的な疾患とされた天疱瘡患者のおよそ60%に寛解が導入されていることが明らかになった。

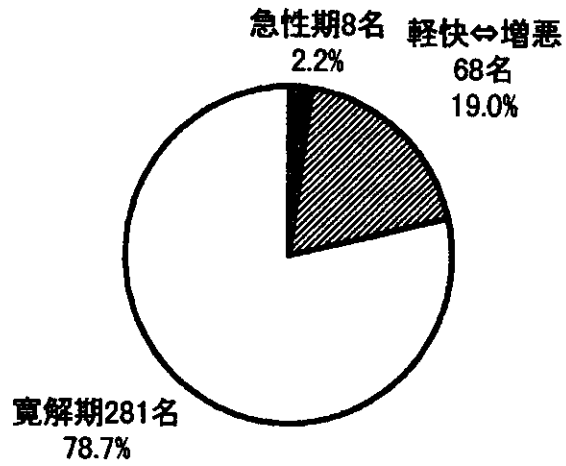
## 結 語

寛解と判定された調査票をそれぞれ再検討したうえで、天疱瘡における寛解とは? その基準について我々は(表1)に示す提言を行なった。なお抗体価については基準項目より削除しても良いのではないかとの意見もあった。また調査票の回答では、寛解症例は78.7%であったが、我々の提言に基づいて判定した寛解症例は62.1%であった。

## 謝 辞

本研究にご協力いただいた、濱松徹先生(東海産業医療団中央病院)、佐久間正寛先生(国立精神神経センター国府台病院)、黒沢美智子先生(順天堂大衛生学)、池田志孝先生(順天堂大皮膚科)に感謝致します。

調査の対象となった天疱瘡患者の  
疾患の活動性



(不明例：23例)

図 1

重症度よりみた寛解症例

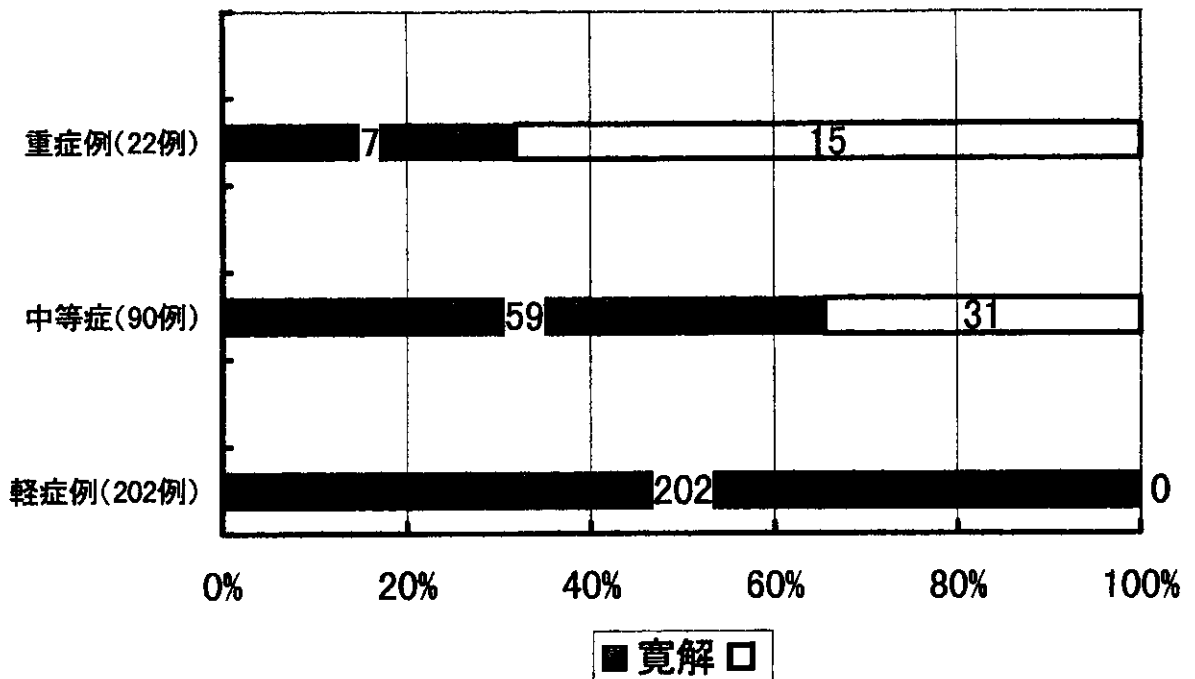


図 2