

Dermatol 1990; 95: 275-282.

- 4) Cooper KD: Psoriasis: leukocytes and cytokines. In: Sauder DN, editor, Immunodermatology. Dermatologic Clinics 1990; 8: 737-745.
- 5) Nickoloff BJ, Griffiths C: Lymphocyte trafficking in psoriasis. J Invest Dermatol 1990; 95 (suppl) : 35-37.

## <Cytokines>

### 総論

- 1) 河原 章、小林 仁、安田秀美、芝木晃彦、皆川知紀：汎発性膿疱性乾癬患者血清中のサイトカインレベルの測定。厚生省特定疾患稀少難治性皮膚疾患調査研究班。平成3年度報告書 p25-28, 1992.
- 2) 大河原 章、小林 仁、松江弘之、川嶋利瑞：膿疱性乾癬発症機序におけるサイトカインの役割 -汎発性膿疱性乾癬患者血清中のサイトカインレベルの測定(第二報)-。厚生省特定疾患稀少難治性皮膚疾患調査研究班。平成5年度報告書 p149-153, 1994.
- 3) 大河原 章、川嶋利瑞、アレックス・カプラン、松江弘之、小林 仁：膿疱性乾癬とIL-8: invivo and in vitro study. 厚生省特定疾患稀少難治性皮膚疾患調査研究班平成6年度報告書、p177-180.
- 4) Gomi T, Shiohara T, Munakata T, Imanishi K, Nagashima M: Interleukin-1a, tumor necrosis factor-a, and interferon-g, in psoriasis. Arch Dermatol 1991; 127: 827-830.
- 5) Gearing AJH, Fincham NJ, Bird CR, et al: Cytokines in skin lesions of psoriasis. Cytokine 1990; 2: 68-75.

### インターフェロン

- 1) Barker JNWN, Karabin GD, Stooft TJ, Sarma VJ, Dixit VM, Nickoloff BJ: Detection of interferon-gamma mRNA in psoriatic epidermis by polymerase chain reaction. J Dermatol Sci 1991; 2: 106-111.

### IL-8

- 1) Kristensen M, Chu CQ, Eedy DJ, et al: Localization of tumor necrosis factor-alpha (TNF-a) and its receptors in normal and psoriatic skin: epidermal cells express the 55kD but not the 75kD TNF receptor. Clin Exp Immunol 1993; 94: 354-362.
- 2) Nickoloff BJ, Karabin GD, Baker JNWN, et al: Localization of IL-8 and its inducer TNF-a in psoriasis. Am J Pathol 1991; 138: 129-140.
- 3) Nickoloff BJ, Karabin GD, Barker JNWN, et al: Cellular localization of interleukin 8 and its inducer tumor necrosis factor-alpha in psoriasis. Am J Pathol 1991; 138: 129-140.

### TNF

- 1) Piquet PF, Gran GE, Vassalli P: Subcutaneous effusion of tumor necrosis factor induces local proliferation of fibroblasts, capillaries, and epidermal cells or massive tissue necrosis. Am J Pathol 1990; 136: 103-110.
- 2) Koeck A et al: Human keratinocytes are a source for tumor necrosis factor a: Evidence for synthesis and release upon stimulation with endotoxin and ultraviolet light. J Exp Med 1990; 172: 1609.

### IL-6

- 1) Grossman M, Krueger J, Yourish D, et al: Interleukin-6 is expressed in high levels in psoriatic skin and stimulates proliferation of cultured keratinocytes. Proc Natl Acad Sci USA 1989; 86: 6367-6371.

## IL-1

- 1) Cooper KD, Hammerberg C, Baadsgaard O, et al: IL-1 activity is reduced in psoriatic skin: decreased IL-1 alpha and increased non-functional IL-1 beta. J Immunol 1990; 144: 4593-4603.
- 2) Hammerberg C, Arend WP, Fisher GJ, et al: Interleukin-1 receptor antagonist in normal and psoriatic epidermis. J Clin Invest 1992; 90: 571-583.

## <治療>

- 1) 安田秀美、小林 仁、大河原 章、安田和則：エトレチナート長期内服が骨および関節に与える影響—低＝中年年齢層における検討—。日皮会誌 1995： 105； 1099-1107.
- 2) 大河原 章、北村清隆、小林 仁、安田秀美、芝木晃彦：汎発性膿疱性乾癬—第2、3次全国調査における治療の検討—。厚生省特定疾患稀少難治性皮膚疾患調査研究班。平成2年度報告書 p11-15、1991.

## レチノイド

- 1) 清家正博、他：トシル酸スルタミシリンとエトレチナートが奏効した膿疱性乾癬の1例、日皮会誌 109： 71、2000.
- 2) 音山和宣：膿疱性乾癬に移行した尋常性乾癬、皮膚診療 21： 815-818、1999.
- 5) 佐谷庸子、他：薬剤により誘発、増悪した膿疱性乾癬、皮膚 37： 261-267、1995.
- 6) Juang G et al: Evaluation of the effectiveness of childhood generalized pustular psoriasis treatment in 30 cases, J Dermatol 26: 141-149, 1999.
- 7) Magis NL, et al: The treatment of psoriasis with etretinate and acitretin: a follow up of actual use, Eur J Dermatol 10: 517-21, 2000.
- 8) Tay YK & Tham SN: The profile and outcome of pustular psoriasis in Singapore: a report of 28 cases, Int J Dermatol 36: 266-271, 1997.
- 9) Gollnick HP: Oral retinoids efficacy and toxicity in psoriasis, Br J Dermatol 135 (Supple49) : 6-17, 1996.
- 10) Cunningham WJ & Geiger JM: Practical use of retinoids in psoriasis, Semin Dermatol 11: 291-301 1992.
- 11) 北島康雄：角層とビタミンA、皮膚病診療 3： 670-674、1981.
- 12) 北島康雄：ビタミンA誘導体：皮膚科Mook No6 皮膚科最近の治療法、金原出版株式会社、東京1986、P 110-116.
- 13) Kitajima Y, Effects of Retinoid (ro 10-9359) on the plasma Membrane of keratinocytes in Patients with Psoriasis: A Freeze-Fracture Analysis. The Journal of Investigative Dermatology 80: 174-180, 1983.

## シクロスポリン

- 1) 山口京美、他：シクロスポリンが奏効した膿疱性乾癬の1例、日皮会誌 109： 1493、1999.
- 2) 水野 寛、他：膿疱性乾癬の1例、西日皮会誌 61： 250、1999.
- 3) 北浦健一、他：サイクロスポリン治療により皮膚症状軽快した膿疱性乾癬合併C型肝炎にサイクロスポリン、IFN投与にて乾癬の増悪をみた1症例、肝臓 37 (Supple2) : 96、1996.
- 4) 八田尚人、他：シクロスポリン内服が奏効した小児膿疱性乾癬の1例、臨床皮膚 49： 1034-1036、1995.
- 5) georgala S, et al: Generalized pustular psoriasis developing during withdrawal of short-term cyclosporin therapy, Br J Dermatol 142: 1057-1058, 2000.
- 6) Finch TM & Tan CY: Pustular psoriasis exacerbated by pregnancy and controlled by cyclosporinA, J Dermatol 142: 582-584, 2000.
- 7) De Silva BD, et al: Generalized pustular psoriasis following withdrawal of oral cyclosporin treatment for palmo-plantar pustulosis. Clin Exp Dermatol 24: 10-13, 1999.

- 8) Mahendran R & Grech C: Generalized pustular psoriasis following a short course of cyclosporin. Br J Dermatol 139: 934, 1998.

#### メトトレキサート

- 1) Boffa MJ & Chalmers RJ: Methotrexate for psoriasis, Clin Exp Dermatol 21: 399-408, 1996.
- 2) Collins P & Rogers S: The efficacy of methotrexate in psoriasis a review of 40 cases. Clin Exp Dermatol 17: 257-260, 1992.

#### ステロイド投与有効報告

- 1) 河出英明子、他：大腿骨頭壊死をきたした膿疱性乾癬の1例、皮膚臨床 42：505-508、2000.
- 2) 持富勇次、他：ステロイドパルス療法が著効を示した膿疱性乾癬、西日皮膚 59：552-554、1997.

#### PUVA療法

- 1) 川嶋愛雄：PUVA療法の工夫 膿疱性乾癬、皮膚診療 19、582-583、1997.
- 2) Hunt MJ, et al: Generalized pustular psoriasis responsive to UVA and oral cyclosporin therapy, Australas J Dermatol 38, 199-201, 1998.
- 3) Muchenberger S, et al: The combination of oral acetrein and bath PUVA for the treatment of severe psoriasis. Br J Dermatol 137: 587-589, 1997.

#### 活性型ビタミンD<sub>3</sub>外用

- 1) 大山正俊、他：タカルシトール外用療法が奏効した汎発性膿疱性乾癬、皮膚臨床 41：1289-1293、1999.
- 2) Theirs BH: The use of topical calcipotriene/calcipotriol in conditions other than plaque-type psoriasis, J Am Acad Dermatol 37: 69-71. 1997.
- 3) Geogaia S, et al: Generalized pustular psoriasis precipitated by topical calcipotriol cream, Int Dermatol 33: 515-516, 1994.

#### 扁桃摘出術

- 1) 崎濱秀樹、他：小児膿疱性乾癬の1例、西日皮膚 60：393、1998.

#### その他

- 1) 布施伸子、他：コルヒチンが奏効した小児膿疱性乾癬の1例、臨床皮膚 52、345-347、1998.
- 2) Nomura K, Remission of pustular psoriasis after cholecystectomy: role of focal infection in pustularization of psoriasis. J Dermatol 22, 122-124, 1995.

## X. ガイドライン作成協力者（五十音順、敬称略）

飯塚	一	旭川医学大学皮膚科	教授
稲葉	裕	順天堂大学医学部	衛生学教授 教授
金子	史男	福島県立医科大学	皮膚科学教室 教授
北島	康雄	岐阜大学医学部	皮膚科学教室 教授
佐藤	美貴	岐阜大学医学部	皮膚科 助手
鳥居	秀嗣	東京大学医学部附属病院	皮膚科
中村	晃一郎	東京大学	皮膚科 講師
西川	武二	慶應大学医学部	皮膚科学 教授
橋本	公二	愛媛大学医学部	皮膚科学 教授
橋本	隆	久留米大学医学部	皮膚科学教室 教授
藤本	亘	岡山大学医学部	皮膚科 講師
古川	福実	和歌山県立医科大学	皮膚科学教室 教授
真鍋	求	秋田大学医学部	皮膚科学 教授
水谷	仁	三重大学医学部	皮膚科学 教授
三橋	善比古	山形大学医学部	皮膚科学講座 助教授
山本	明美	旭川医科大学	皮膚科学教室 助教授

※本ガイドラインは、厚生労働省特定疾患 皮膚・結合組織疾患研究「稀少難治性皮膚疾患に関する研究班（班長：小川秀興）」において、その補助金を得て行った研究成果をとりまとめたものである。

## 2) 膿疱性乾癬／尋常性乾癬における SKALP／elafin の動態

協力研究者：飯塚 一(旭川医科大学皮膚科)

共同研究者=山本明美、中根 宏(旭川医科大学皮膚科)

KEYWORD=膿疱性乾癬、尋常性乾癬、SKALP／elafin, involucrin, cornified envelope

### 抄 録

[目的] SKALP／elafin は、シグナルペプチドを有し細胞外に分泌されて protease inhibitor (serine protease inhibitor)として機能するにもかかわらず、一方では transglutaminase 基質となり、表皮細胞膜の周辺帯構成成分になることが知られている。両者は機能的に異なるが、その分別機構は不明である。本研究の目的は乾癬における SKALP／elafin の乾癬における周辺帯での挙動を超微細構造的に解明することにある。[方法] 正常表皮と乾癬における SKALP／elafin の観察を行った。6例の尋常性乾癬の生検材料を凍結固定、凍結置換し、低温で Lowicryl K11M 樹脂に包埋し、紫外線により重合させた。準超薄切片を蛍光抗体法に、超薄切片を immunogold 法による免疫電顕に供した。[結果] 免疫電顕を用いた検索により尋常性乾癬において SKALP／elafin は、ゴルジ領域から分泌小胞に局在し、外表側の細胞外へ分泌されること、周辺帯形成後は、インボルクリンと同様、周辺帯に一致した局在を示すことが明らかとなった。また周辺帯形成後の SKALP／elafin の沈着は周辺帯の細胞質側に偏在性に認められることも示された。[結論] 乾癬において SKALP／elafin が、周辺帯構成成分として内側から架橋されることが示された。この結果は、SKALP／elafin は、尋常性乾癬では周辺帯構成蛋白としての機能もはたすものの、膿疱性乾癬では protease inhibitor としての機能が前面に出ているというわれわれの仮説を支持するものである。

ET=Elafin, a secretory protein, is cross-linked into the cornified cell envelopes from the inside of psoriatic keratinocytes.

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

AB=[Purpose] Elafin is a serine proteinase inhibitor highly expressed in psoriatic epidermal keratinocytes, but expressed scarcely, if any, in normal skin. In addition to the proteinase inhibiting domain, elafin contains multiple transglutaminase substrate domains and has been identified as a constituent of the epidermal cornified cell envelope. It also contains a signal peptide sequence, and previous immunoelectron microscopy studies detected elafin in lamellar granules and also in the intercellular spaces. It has not been explained, however, how and when elafin molecules stored in the granules are cross-linked into the CE. In order to elucidate this issue, we performed pre-and post-embedding immunoelectron microscopy of elafin and involucrin, another CE constituent, using psoriatic epidermis. [Methods] Samples of psoriatic involved epidermis (6cases) were

analyzed by immunoelectron microscopy. Tissue samples were cryoprotected, rapidly frozen in liquid propane at -190°C, subjected to cryosubstitution in methanol, and embedded in Lowicryl K11M or HM20 resin. Immunostaining was performed using anti-human elafin rabbit serum. [Results] Post-embedding double electron microscopy revealed that elafin was within the secretory lamellar granules and released into the intercellular spaces when CE was not formed. In the cells with involucrin-positive CE, elafin immunolabels were localized diffusely within the cells and also along the CE. Pre-embedding immunoelectron microscopy of purified CE from psoriatic scale samples detected involucrin and elafin co-localizing on the cytoplasmic side of the CE. [Conclusion] These findings strongly suggest that elafin containing granules are disintegrated upon the initiation of CE formation, and that elafin is cross-linked onto the involucrin-positive CE from the inside of keratinocytes. It seems that psoriatic keratinocytes utilize elafin as a major component of CE, consistent with the previously proposed "precursor availability hypothesis".

## はじめに

SKALP/elafin は、シグナルペプチドを有し細胞外に分泌されて protease inhibitor (serine protease inhibitor) として機能するにもかかわらず、一方では transglutaminase 基質となり、表皮細胞膜の周辺帯構成成分になることが知られている。両者は機能的に異なるが、その分別機構は不明である。現在までの免疫組織化学を用いた検索により、SKALP/elafin は、正常表皮では発現しないこと、尋常性乾癬では表皮上層に外方にむかって極性をもって存在すること、膿疱性乾癬では陽性ではあるが、尋常性乾癬のような極性を持たず、膿疱部位で染色性の減弱が認められることが分かっている。本研究の目的は乾癬における SKALP/elafin の乾癬における周辺帯での挙動を超微細構造的に解明することにある。

## 材料と方法

6例の尋常性乾癬の生検材料を凍結固定、凍結置換し、低温で Lowicryl K11M 樹脂に包埋し、紫外線により重合させた。準超薄切片を蛍光抗体法に、超薄切片を immunogold 法による免疫電顕に供した。用いた1次抗体は抗ヒト elafin 家兎抗体および、抗インボルクリン抗体 BT601 (Biomedical Technologies, Stoughton, MA) である。

## 結 果

elafin は乾癬表皮において強い発現がみられた。インボルクリンと比べると elafin は遅れて発現していた。post-embedding 法による局在の検討では elafin は核周囲のゴルジ野から発現し表皮細胞の外方に向かって lamellar granule と思われる顆粒内に認められ、細胞外への分泌も認めた (図1)。また周辺帯に沿って elafin の発現も認めた。インボルクリンが周辺帯に沈着していない部位では elafin の周辺帯への沈着は認められなかった。周辺帯が完成した細胞ではインボルクリンと同様、elafin は細胞質側に認められた (図2)。乾癬の鱗屑から周辺帯を精製し、免疫電顕で検討したところ、elafin はインボルクリンと同様、細胞質側に偏在性に認められた (図3)。

## 考 察 、 結 論

乾癬においてSKALP/elafinが、周辺帯構成成分として内側から架橋されることが示された。乾癬表皮においてSKALP/elafinを含有する lamellar granule はゴルジ野から発し、表皮細胞の外表側にむかって移動し、終末角化に際して、細胞外に分泌されるが、周辺帯完成後はインボルクリンと同様、表皮細胞の内側から transglutaminase により架橋され、周辺帯に組み込まれていくものと思われる。この結果は、SKALP/elafin は、尋常性乾癬では周辺帯構成蛋白としての機能もはたすものの、膿疱性乾癬では protease inhibitor としての機能が前面に出ているというわれわれの仮説を支持するものである。膿疱性乾癬は乾癬において好中球を主体とする炎症細胞浸潤を特徴とするが、尋常性乾癬でも組織学的な好中球浸潤は認められる。乾癬において表皮細胞は elafin を分泌することにより、あるいは周辺帯構成成分になることにより、好中球由来の protease から表皮細胞を守っているものと推定される。

## 文 参 考 献

- Molhuizen HO, Alkemade HA, Zeeuwen PL, de Jongh GJ, Wieringa B: SKALP/elafin: an elastase inhibitor from cultured human keratinocytes. Purification, cDNA sequence, and evidence for transglutaminase cross-linking. *J Biol Chem* 268:12028-32, 1993
- Kuijpers ALA, Zeeuwen PLJM, de Jong GJ, van de Kerkhoh PCM, Alkemade HAC, Schalkwijk J: Skin-derived antileukoprpteinase (SKALP) is decreased in pustular forms of psoriasis. A clue to the pathogenesis of pustule formation ? *Arch Dermatol Res* 288: 641-647, 1996
- Schalkwijk J, Wiedow O, Hirose S: The trappin gene family: proteins defined by an N-terminal transglutaminase substrate domain and a C-terminal four-disulphide core. *Biochem J* 340:569-77, 1999
- Pfundt R, Wingens M, Bergers M, Zweers M, Frenken M, Schalkwijk J: TNF- $\alpha$  and serum induces SKALP/elafin gene expression in human keratinocytes by a p38 MAP kinase-dependent pathway. *Arch Dermatol Res* 292: 180-187, 2000
- Nakane H, Ishida-Yamamoto A, Takahashi H, Iizuka H: Elafin, a secretory protein, is cross-linked into the cornified cell envelopes from the inside of psoriatic keratinocytes. *J Invest Dermatol* (in press)

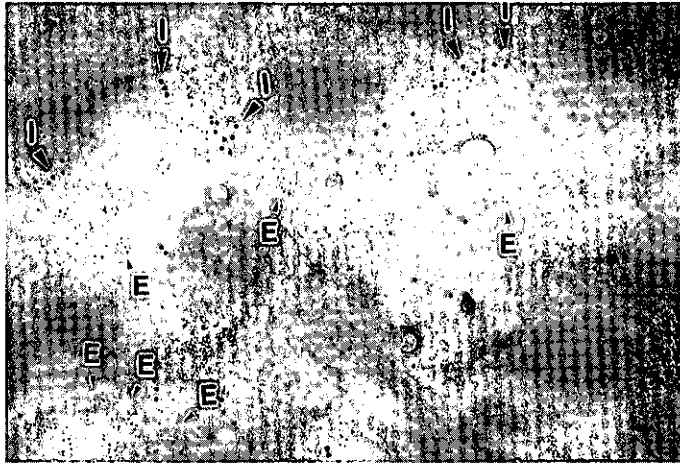


図 1 : 乾癬有棘層上層の細胞。

上方の細胞では周辺帯ができていない。下方の細胞から elafin は外に分泌されている。  
E : small dot (5 nm)は elafin を、I : large dot (10 nm)は involucrin を示す。

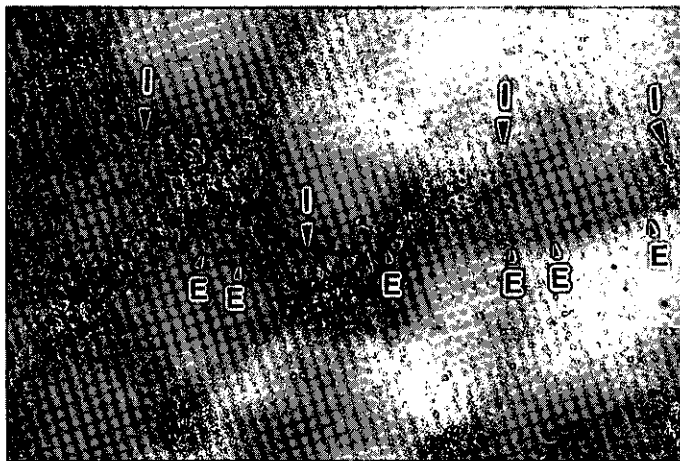


図 2 : 乾癬角層。

E : small dot (5 nm)は elafin を、I : large dot (10 nm)は involucrin を示す。elafin と involucrin は周辺帯において類似した局在を示す。

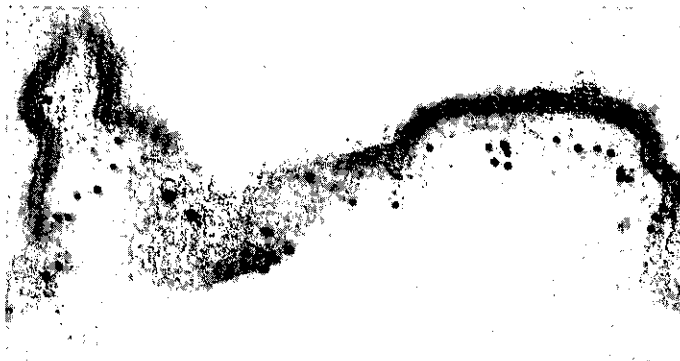


図 3 : 乾癬角層由来の周辺帯。

small dot (5 nm)は elafin を、large dot (10 nm)は involucrin を示す。elafin は細胞質側の毛羽立った側のみに認められる。



### 3) 乾癬患者における IL-12 遺伝子多型の解析

協力研究者：中 村 晃一郎（福島県立医科大学皮膚科）

共同研究者：常 深 裕一郎（東京大学大学院医学系研究科皮膚科）

#### 要 約

乾癬患者における炎症性サイトカイン（TNF- $\alpha$ 、IL-12）の遺伝子多型性について解析した。その結果、TNF- $\alpha$  遺伝子に関しては-308A allele は乾癬患者、健常人ともに認められず、その発現頻度は両者間で有意差はなく、また-238 A allele に関しても両者間に有意差は認められなかった。また IL12 遺伝子多型の解析では、IL-12 遺伝子 1188 A allele の頻度は乾癬患者で 43.9%であり、健常人 27.9%と比較した場合、 $P=0.052$  と有意差は認めなかったものの、乾癬患者において若干高い傾向を認めた。今後さらに症例数を増加して、検討する必要があると考えられた。

#### は じ め に

乾癬の治療薬にはT細胞活性を抑制するシクロスポリンが一般的に用いられており、乾癬の病態形成にT細胞を中心とした経路が重要であると考えられる。乾癬病変部ではIFN- $\gamma$  産生の亢進を認めTh1 サイトカイン（IFN- $\gamma$ ）が優位な状態にあると考えられる。このようなTh0細胞からTh1細胞の分化には、樹状細胞の産生するIL-12が大きな役割を担っていることが明らかにされている。いっぽう膿疱性乾癬では白血球の病変部への浸潤が亢進し、TNF- $\alpha$ などの炎症性サイトカインの産生増加が認められている。そこで本年度は乾癬患者において炎症性サイトカイン（TNF- $\alpha$ 、IL-12）の遺伝子多型性について検討し、解析を加えた。

#### 方法ならびに結果

##### 1) TNF- $\alpha$ 遺伝子解多型解析

乾癬患者 56 名、健常人 55 名を対象にした検討において、-308 A allele は乾癬患者、健常人ともに認められず、頻度は両者間で有意差はなく、また-238 A allele についても有意差は認めなかった。

##### 2) IL-12 遺伝子解多型解析

乾癬患者 57 名、健常人 61 名を対象にした検討において、乾癬患者の IL-12 遺伝子 1188 番目の A allele の頻度は 43.9%であり、健常人 27.9%Hに比べて若干高い傾向を示した。しかし両者間では  $P=0.052$  と有意差は認めなかった。

#### 考 案

TNF- $\alpha$  遺伝子多型については、Caucation において-238A allele の増加があったこと、いっぽう-308A allele の SNP は健常人に比べて有意差がなかったが報告されている。また本邦では関節症性乾癬患者における解析では、-238 A allele の増加が認められなかったことが報告されている。本年度の検討では、TNF- $\alpha$  遺伝子多型の-308A allele は本邦乾癬患者、健常人ともに

認められず、その頻度は両者間で有意差はなく、また-238A alleleについても有意差は認めなかった。このことから、本邦、および海外での尋常性乾癬における TNF- $\alpha$  の遺伝子多型頻度は人種差があることが考えられた。

IL-12 は樹状細胞から産生され、Th0 細胞から Th1 細胞への分化に重要なサイトカインで、T細胞からの IFN- $\gamma$  産生を誘導する。すなわち樹状細胞から産生される IL-12 の産生能によって Th1、あるいは Th2 細胞への分化が誘導される。乾癬患者では末梢血 Th1 細胞の増加が見られることから、末梢血レベルでの IL-12 の過剰産生、IL-12R  $\beta$  2 を介するシグナル伝達機構の亢進などが推測される。今回の結果から、乾癬患者の IL-12 遺伝子 1188A allele 頻度は 43.9%であり、健常人 27.9%に比べて若干高い傾向を示した。しかし  $P=0.052$  と有意差は認めなかった。この結果から、乾癬の病態における IL-12 遺伝子多型解析からみた 1188 A塩基変異、さらに IL-12 過剰産生の可能性が示唆され、一部にこれが乾癬の病態に関与している可能性が推測できると考えられる。今後膿疱性乾癬患者を含めて、さらに症例を増加して検討していく必要があると考えられた。

#### 参考文献

1. Hall MA, McGlinn E, Coakley G, Fisher SA, Boki K, Middleton D, Kaklamani E, Moutsopoulos H, Lougran Jr TP, Ollier WER, Panayi GS, Lanchbury JS. Genetic polymorphism of IL-12 p40 gene in immune-mediated disease. *Genes Immun* 2 : 219-224, 2000
2. Hamamoto Y, Tateno H, Ishida T, et al. Lack of association between promoter polymorphism of the tumor necrosis factor- $\alpha$  gene and psoriatic arthritis in Japanese patients. *J Invest Dermatol* 115: 1162-4, 2000.

Koichiro Nakamura (Fukushima Medical University)

#### Summary

Psoriasis (Ps) is an inflammatory cell-mediated autoimmune disease, which shows increased levels of proinflammatory cytokines such as TNF- $\alpha$  and IL-12. We investigated the frequency of genotype at each SNP site of TNF- $\alpha$  gene in Japanese. No significant association between the genotype of each SNP site and susceptibility to Ps was observed. We next examined the the frequency of genotype at each SNP site of IL-12 gene in Japanese. We reported that IL-12 p40 SNP was relatively, but not significantly, increased in Ps partients. This suggest that IL-12p40 may, partially play a part in determining Th1/Th2 balance.

表1 健常人、乾癬患者における TNF- $\alpha$  遺伝子多型解析

SNP site	Genotype	PsV* (n=56)	Control** (n=55)	X <sup>2</sup>	P
-308	G/G	54(96.4)	53(96.4)	0.000337	0.985
	A/G	2( 3.6)	2( 3.6)	0.324	0.569
	A/A	0( 0.0)	0( 0.0)		
-238	A/A	0( 0.0)	0( 0.0)		
	A/G	2( 3.6)	1( 1.8)		
	G/G	54(96.4)	54(98.2)		

\*PsV:Psoriasis Vulgaris, \*\*Control:Healthy controls

表2 健常人、乾癬患者における IL-12 遺伝子多型解析

SNP site	Genotype	PsV*	Controls**	P
1188	A/A	25(43.9)	17(27.9)	0.052
	A/C	19(33.3)	26(42.6)	
	C/C	13(22.8)	18(29.5)	
	Total	57(100)	61(100)	
allele	A	69(60.5)	60(49.2)	
	C	45(39.5)	62(50.8)	
	Total	114(100)	122(100)	

\*PsV:Psoriasis Vulgaris, \*\*Control:Healthy controls

#### 4) 福島県における膿疱性乾癬患者の統計学的検討および TNF- $\alpha$ 遺伝子 promoter 領域の多型について

協力研究者：金子史男（福島県立医科大学皮膚科）

共同研究者：西部明子、尾山徳孝、山口亜紀、東條理子、  
中村晃一郎（福島県立医科大学皮膚科）

#### 要 約

福島県内9施設で、1978年から2001年までの23年間に経験した汎発性膿疱性乾癬は24例で、男女比は14:10、発症年齢は4~77歳（平均45.0歳）であった。乾癬皮疹の先行は、有り14例、無し10例であった。関節症の合併は、乾癬の先行のない群で6例（60.0%）と高値であり、乾癬の先行のある群では感染症によって膿疱化が誘発される症例が4例（28.6%）と多くみられた。外用以外の治療では、エトレチネート21例（87.5%）、PUVA9例（37.5%）、シクロスポリン4例（16.7%）、内服ステロイド4例（16.7%）が投与されていた。治療効果は全てやや有効以上と評価され、いずれにおいても重篤な副作用はみられなかった。ところで、TNF- $\alpha$ は乾癬の病因との関連が指摘されているサイトカインであり、欧米ではTNF- $\alpha$ 遺伝子 promoter 領域の多型と乾癬発症との相関が指摘されている。われわれは日本人37例の乾癬患者（膿疱性乾癬8例を含む）のTNF- $\alpha$ 遺伝子 nt-400~-69について解析した。その結果、膿疱性患者1例に多型（TNF-308A）がみられたが疾患との相関は認められなかった。

##### 1. 福島県における膿疱性乾癬に関するアンケートについて

福島県内9施設で、1978年から2001年の23年間に経験した膿疱性乾癬についてアンケートを行った。その結果、膿疱性乾癬は24例で、そのうち乾癬皮疹の先行のない例が10例、先行病変のある例は14例であった。発症平均年齢はそれぞれ45.2歳、44.8歳であった。16歳未満の小児発症例は皮疹の先行の無い群に2例みられた。男女比は、先行のある群では9:5と男性が1.8倍で通常の乾癬と同程度だったのに対し、皮疹の先行のない群では5:5と同数であり女性の発症頻度が高い傾向がみられた。臨床症状ならびに治療に関しては複数回答とした。

関節症の合併は、皮疹の先行しない群では6例（60%）、先行した群では2例（14.3%）であり、皮疹先行のない群でとくに高頻度にみられた。発症・増悪因子としてはいずれの群でも、感染症、ストレス、内服ステロイド・外用ステロイドの投与あるいは減量・中止などがあげられた。また、皮疹の先行した群では、病巣感染のある症例が2例（14.3%）、感染症が誘引となって膿疱化する症例が4例（28.6%）あり、一方、皮疹の先行のない群では、それぞれ0例、1例（10%）で皮疹先行のある群のほうがやや多く、皮疹先行のある患者では膿疱化と感染症との関連あることが示唆された。

ステロイド外用、Vitamin D3外用以外の治療としては、エトレチネート21例（87.5%）、PUVA9例（37.5%）、シクロスポリン4例（16.7%）、内服ステロイド4例（16.7%）、メソトレキセート1例（4.2%）が用いられていた。主な治療法の有効性を著効、有効、やや有効、無効の4段階で評価したところ、エトレチネートは21例中著効14例（66.7%）、有効5例（23.8%）、不明2例（9.5%）、RePUVAは7例中著効1例（14.3%）、有効5例（71.4%）、不明1例（14.3%）

%)、シクロスポリンは4例中著効1例(25.0%)、有効3例(75.0%)、内服ステロイドは4例中著効1例(25.0%)、やや有効3例(75.0%)であった。

副作用として報告されたものはエトレチネートとシクロスポリンによるもののみであり、重篤なものは無かった。エトレチネートでは、21例中口唇炎6例(28.6%)、皮膚の非薄化3例(14.3%)、爪囲炎2例(9.5%)、陥入爪3例(14.3%)、肝機能障害1例(4.8%)、高脂血症2例(9.5%)、関節痛1例(4.8%)であった。このうち肝機能障害・高脂血症をきたした2症例では、同剤が減量または中止された。シクロスポリンでは、4例中多毛1例(25.0%)、高血圧2例(50.0%)、高尿酸血症2例(50.0%)、腎機能障害0例であった。

今回の調査はこれまでの全国統計[1]とほぼ同様の集計結果であり、地域的特性はみられなかった。膿疱化の契機に関しては、皮疹先行群のほうが先行しない群に比べて感染症との関連が高頻度にみられた。これは過去の統計[2]と逆の結果であるが、症例数が少ないためである可能性がある。

## 2. TNF- $\alpha$ 遺伝子 promoter 領域の多型について

Tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ は乾癬の病態形成に重要な役割を担っていると考えられているサイトカインで、遺伝子はHLA class IIIにコードされている。白人種ではTNF- $\alpha$ 遺伝子 promoter 領域の多型、とくに nt-238 のG $\rightarrow$ A (TNF-238A、-308A)が乾癬の発症と相関する、との報告がある[3, 4]。日本人では尋常性乾癬、関節症性乾癬では相関がない[5]、と報告されている。しかしながらこれまでに日本人のみならず、他人種においても膿疱性乾癬に関する同様研究はなされていない。

## 症例・方法・結果

症例は乾癬患者37名(男性26名、女性11名)、内訳は膿疱性乾癬8名、尋常性乾癬18名、関節症性乾癬11名で発症の平均年齢はそれぞれ31.0歳、37.4歳、46.9歳であった。患者DNAをヘパリン加末梢血より抽出し、TNF- $\alpha$ 遺伝子 promoter 領域(nt-400~-69)の primer を設定し polymerase chain reaction (PCR)を行い、PCR product を direct sequence した。その結果、1例のみにTNF-308Aを認めたが、他の多型は認められなかった。多型を呈した症例は、25歳発症の男性で関節症を有する膿疱性乾癬であった。この結果を一般日本人の多型[4, 5]と比較したところ、有意差は認められなかった。

## 考 按

膿疱性乾癬は遺伝子的素因(HLA等)を基盤に何らかの誘引(感染症や薬剤)により発症すると考えられている。今回われわれはTNF- $\alpha$ 遺伝子 promoter 領域(nt-400~-69)で多型解析を行い、同部位では相関が見られなかった。しかしながら、TNF- $\alpha$ 遺伝子の他領域は未検であり、今後検討すべきである。また、HLA class IおよびII領域を含めたハプロタイプと疾患関連性についても検討を進めていきたいと考えている。

## 参考文献

1. 稀少難治性皮膚疾患に関する調査研究班. 難病の診断と治療指針1改訂版、六法出版社、P 311-319. 2001.
2. Ohkawara A, Yasuda H, Kobayashi H, Generalized pustular psoriasis in Japan: two distinct groups formed by differences in symptoms and genetic background. *Acta Derm Venereol* 1996; 76: 68-71.
3. Holer T, Kruger A, Schneider PM, et al. A TNF- $\alpha$  promoter polymorphism is associated with psoriasis and psoriatic arthritis. *J Invest Dermatol* 1997; 109: 562-5.
4. Arias AI, Giles B, Eiermann TH, et al. Tumor necrosis factor-alpha gene polymorphism in psoriasis. *Exp Clin Immunogenet* 1997; 14: 118-22.
5. Hamamoto Y, Tateno H, Ishida T, et al. Lack of association between promoter polymorphism of the tumor necrosis factor- $\alpha$  gene and psoriatic arthritis in Japanese patients. *J Invest Dermatol* 2000; 115: 1162-3.
6. Higuchi T, Seki N, Kamizono S, et al. Polymorphism of the 5' -flanking region of the human tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  gene in Japanese. *Tissue Antigens* 1998;51:605-12.

## **A multi-center study of generalized pustular psoriasis in Fukushima Prefecture and single nucleotide polymorphisms in the promoter of TNF- $\alpha$ gene in psoriasis**

Fumiko Kaneko, Akiko Nishibu, Noritaka Oyama, Aki Yamaguchi, Michiko Tojo,  
Koichiro Nakamura (Fukushima Medical University)

### Summary

A multi-center study for investigating generalized pustular psoriasis (GPP) was carried out in Fukushima Prefecture. Through the questionnaires, 24 cases of patients with GPP were picked up. The numbers of GPP patients with/without a preceding lesion of psoriasis were 10/14 respectively. The major inducing factors were indicated some infection and an administration of systemic corticosteroid. Regarding the treatments except topical application, etretinate, cyclosporine, corticosteroid and PUVA were mainly administered, and there was no severe side effect. Etretinate was the most frequently administered to GPP patients and its efficacy was evaluated well. Generally, tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  is considered to play an important-pathogenetic role in psoriasis. Some polymorphisms of TNF- $\alpha$  gene promoter region may be associated with pathogenesis in Caucasians. We investigated single nucleotide polymorphisms between nt-400 and nt-69 of the TNF- $\alpha$  gene promoter in Japanese psoriasis patients, including 2 of GPP and 6 of GPP with arthritis. The results revealed that one male patient with GPP complicated with arthritis had TNF-308A (G to A conversion at nt-308), suggesting that TNF- $\alpha$  gene promoter polymorphism in the region examined is less associated with the pathogenesis of psoriasis in Japanese patients.

## 5) 乾癬発症における病巣感染の役割

協力研究者：清水 宏（北海道大学皮膚科）

共同研究者：川嶋 利 瑞（札幌鉄道病院）

### 要 約

汎発性膿疱性乾癬の発症機序は不明であるが、臨床的に扁桃炎を始めとする上気道感染を契機として発症する症例をしばしば経験することなどから、免疫学的な機序などが想定されている。今回の研究において、膿疱性乾癬、尋常性乾癬発症における扁桃の役割を明らかにする目的で、慢性扁桃炎患者の扁桃単核球の機能を解析し、末梢血単核球と比較検討した。その結果、リンパ球表面抗原の発現様式および mitogen 刺激によるサイトカイン産生の反応性の点について、扁桃と末梢血それぞれから調整した単核球分画を比較すると大きな差異があることが明らかとなった。

### はじめに

膿疱性乾癬の発症機序として免疫学的な異常の関与が想定されており、細菌由来のスーパー抗原に対する末梢血リンパ球の反応亢進、サイトカイン産生の異常などが報告されている。一方、臨床的には扁桃炎などのいわゆる病巣感染が膿疱性乾癬の発症に大きな役割を果たしていると考えられているが、扁桃炎などにおける上気道の炎症から膿疱性乾癬発症に至る免疫学的機序の解析に関する研究は少ない。今回の研究では、膿疱性乾癬発症につながる、いわゆる病巣感染における扁桃の免疫学的な反応を明らかにしたいと考え、慢性扁桃炎患者の扁桃由来の単核球と同一患者の末梢血単核球を分離し、その免疫学的な機能の比較解析を試みた。

### 材 料 と 方 法

慢性扁桃炎患者2例の手術標本をメスで細かく細碎し、homogenizer を用いて機械的に細胞浮遊液を作成した。この細胞浮遊液からファイコールを用いた密度遠心勾配法により単核球分画を調整した。同じ患者から採血した末梢血を同様にファイコールを用いて密度遠心勾配法を行い、末梢血単核球も同時に調整した。これらの扁桃、末梢血単核球分画の細胞表面マーカーの解析を flowcytometry により行った。同時に各細胞分画を 24 well プレートに  $10^6$ /well の濃度で mitogen (Con-A) の存在あるいは非存在下で2日間培養し、その培養上清中の IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  の濃度を ELISA 法により測定した。

### 結 果

#### 1) 細胞表面マーカーの解析

慢性扁桃炎患者2名の扁桃および末梢血単核球の CD3、CD14、CD16、CD11c、HLA-DR の発現を flowcytometry で解析し比較した結果を図1に示す。2名の患者ともに同様の傾向を示した。すなわち CD3 の発現は末梢血単核球と扁桃の単核球分画においてほぼ同様であり、一方 HLA-DR の発現は扁桃由来の単核球分画において発現する細胞の割合、発現強度ともに末梢血

来の単核球と比較して有意に高かった。CD14、CD16 は末梢血の単核球では強発現を示す細胞分画を認めたのに対して、扁桃由来の単核球では陽性細胞はほとんど認めなかった。

## 2) サイトカイン産生の解析

患者由来の扁桃、末梢血由来の単核球分画を2日間 Con-A (3  $\mu$ g/ml) の存在あるいは非存在下で培養した後、培養上清を採取し、ELISA 法で IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  の濃度を測定した。結果を図2に示す。IFN- $\gamma$  産生に関しては、末梢血では mitogen の非存在下ではほとんどその産生を認めず、Con-A 刺激によりやや産生の増強を認めた。一方扁桃由来の単核球では非刺激時には末梢血と同程度の IFN- $\gamma$  産生を示していたものが、Con-A 刺激により有意に高濃度の IFN- $\gamma$  産生を示した。次に TNF- $\alpha$  産生の解析では、末梢血では非刺激時にも有意な TNF- $\alpha$  産生を示したが、Con-A 刺激により軽度の産生増強を認めた。これと比較して、扁桃では Con-A の刺激がない状態でも末梢血と比較して大量の TNF- $\alpha$  産生を認めたが、この反応性は Con-A 刺激によりさらに増強を示した。このように mitogen 刺激による IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  産生の点からは、扁桃と末梢血由来の単核球では異なった免疫応答性を示すことが明らかとなった。

## 考 案

膿疱性乾癬の発症機序は不明であるが、免疫学的な反応異常が発症の原因の一つとして想定されている。従来は主に末梢血のリンパ球を始めとする単核球の機能解析が行われてきた。しかし臨床的に扁桃炎などに引き続き発症するケースが多いことから、病巣感染のメカニズムを明らかにすることは、膿疱性乾癬における免疫学的反応異常を解析するためにも興味深いことと思われる。今回の研究において、同じ末梢リンパ組織でも、末梢血の単核球と扁桃の単核球では、細胞表面マーカーの発現および、mitogen 刺激によるサイトカイン産生の点において、大きな差異を認めることが明らかになった。すなわち末梢血において一定の割合で認められる CD14、CD16 陽性の細胞は扁桃組織においてはほとんど認められなかった。一方、扁桃組織においては、HLA-DR 陽性の細胞の割合が末梢血と比較して多く、またその発現も強かった。末梢血においては CD14 陽性の単球で産生されるサイトカインが膿疱性乾癬発症に重要な役割を果たしているとする報告もあり、扁桃組織においては CD14 陽性細胞に代わり HLA-DR 陽性の抗原提示細胞が、溶連菌などの感染に際して Tリンパ球の活性化、抗原提示細胞自身の活性化などに引き続くサイトカイン産生などを介して、末梢血を活性化し、膿疱性乾癬発症に関与している可能性も考えられた。またサイトカイン産生の点からは、膿疱性乾癬患者血清あるいは、末梢血での産生能の検討から、発症に関与している可能性が報告されている TNF- $\alpha$  について、今回の検討でも扁桃由来の単球がより高い産生能を持っている点も興味深いと考えられた。しかしながら、膿疱性乾癬発症における扁桃の病巣乾癬によるメカニズム解析には、臨床的に病巣感染によって発症したと考えられる膿疱性乾癬患者の扁桃組織を用いた免疫学的な解析が必須と考えられた。

## 参考文献

- 1) Restricted usage of the T-cell receptor V beta repertoires in tonsillitis in association with palmoplantar pustulosis. Acta Derm Venereol 1998;78:161
- 2) Increased interleukin-6, interferon- $\gamma$  and tumor necrosis factor production by tonsillar mononuclear cells

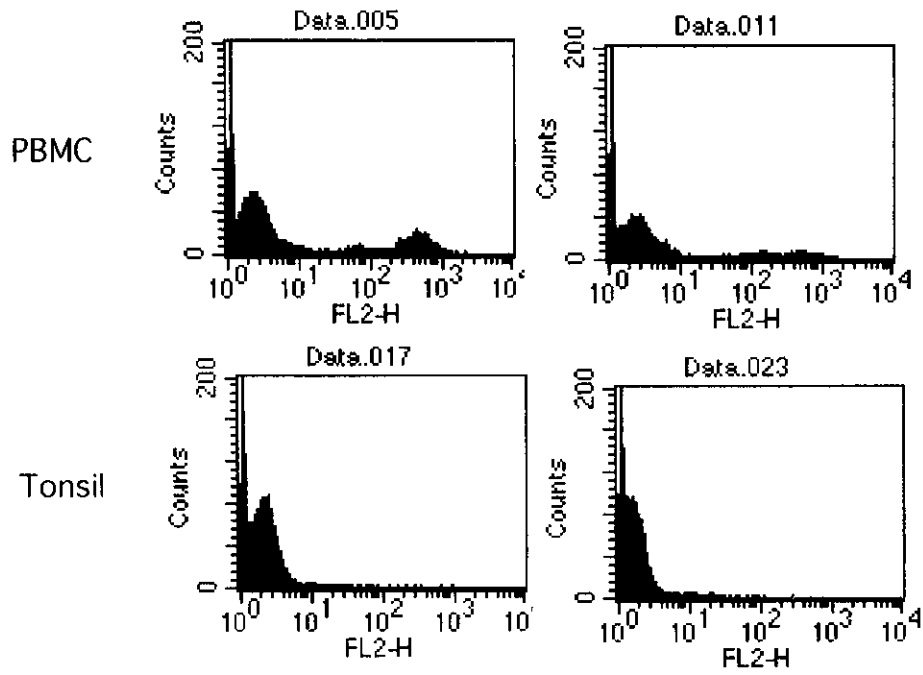


stimulated with alpha-streptococci in patients with pustulosis palmaris et plantaris. Acta Otolaryngol  
1999;119:384

## 英 文 抄 錄

Although precise pathogenesis of generalized pustular psoriasis (GPP) is unknown, immunological mechanisms are thought to be important because many patients exhibit upper respiratory infection, including tonsillitis, before the onset of GPP. To make clear the role of the tonsil in the pathogenesis of GPP, we analyzed the immunological function of mononuclear cells derived from the tonsil of patients with chronic tonsillitis and compare to peripheral blood mononuclear cell from the same patients. The results showed mononuclear cells derived from tonsils exhibited unique responses in the expressions of cell surface marker and the production of cytokines when stimulated mitogen, compared to mononuclear cells derived from peripheral blood.

CD16



HLA-DR

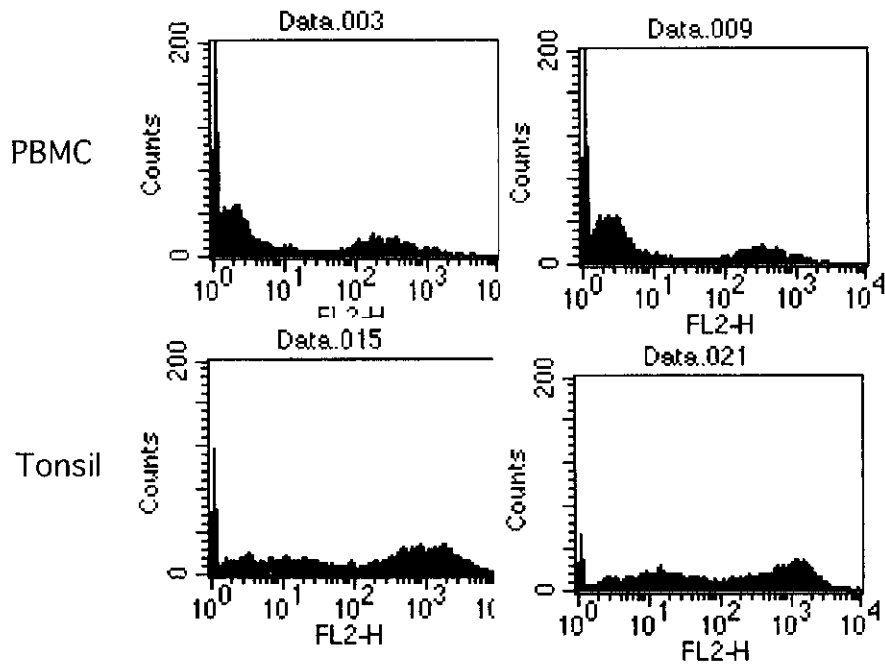
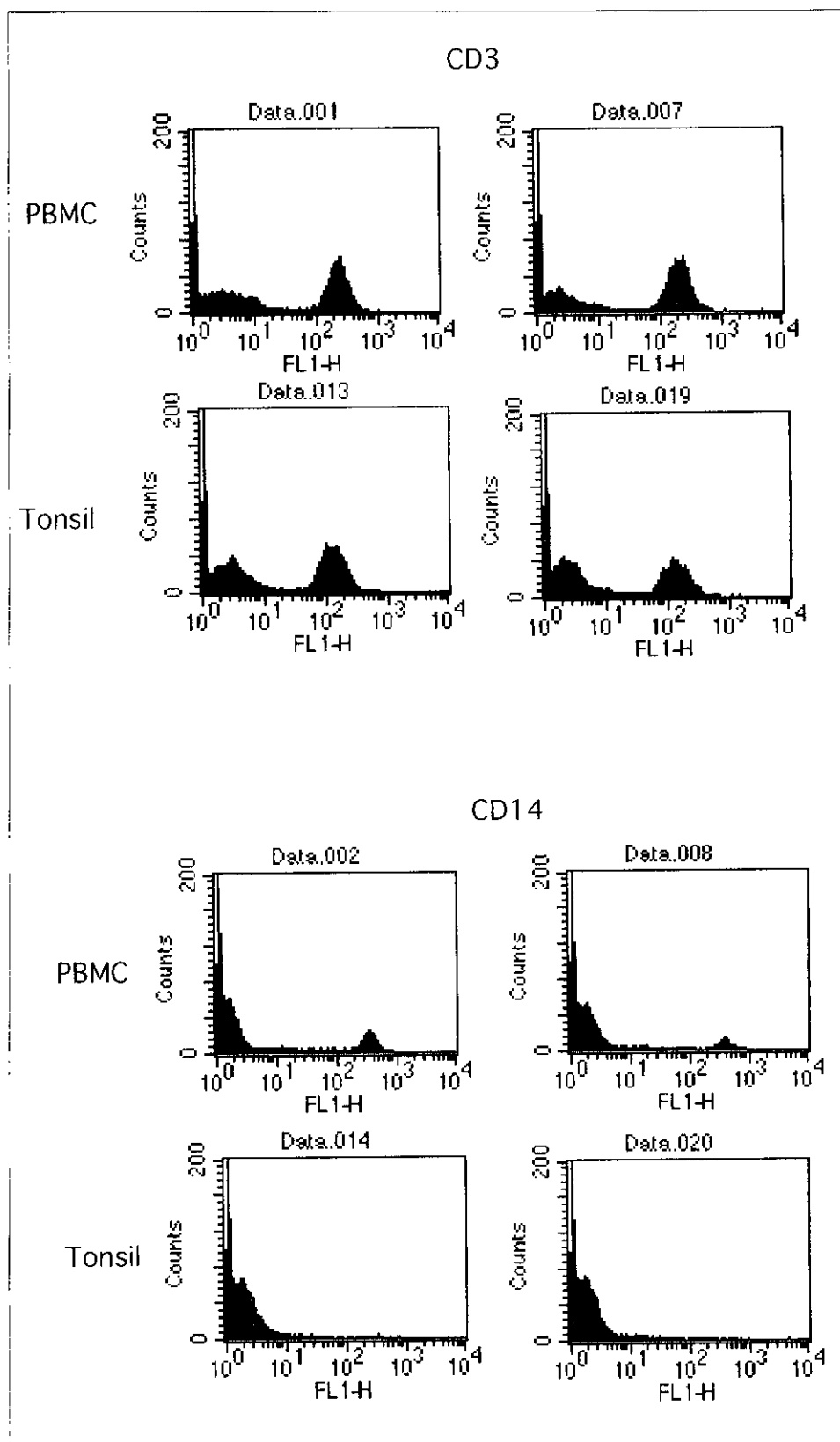
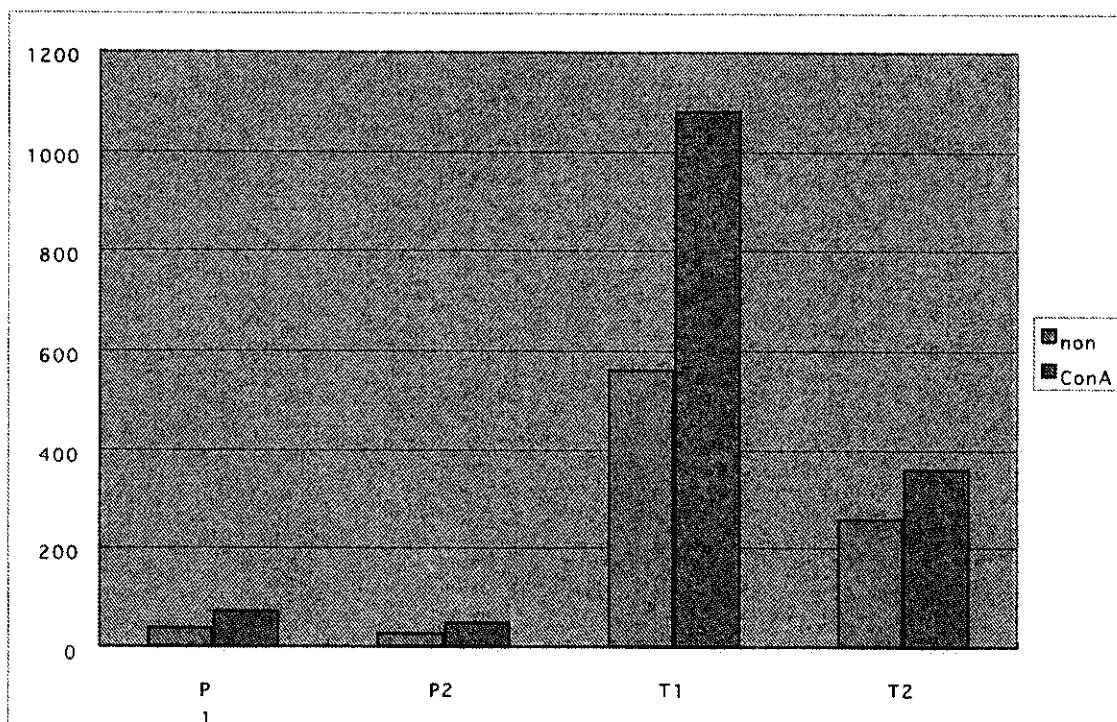


图 1



☒ 1

# IFN- $\gamma$



# TNF- $\alpha$

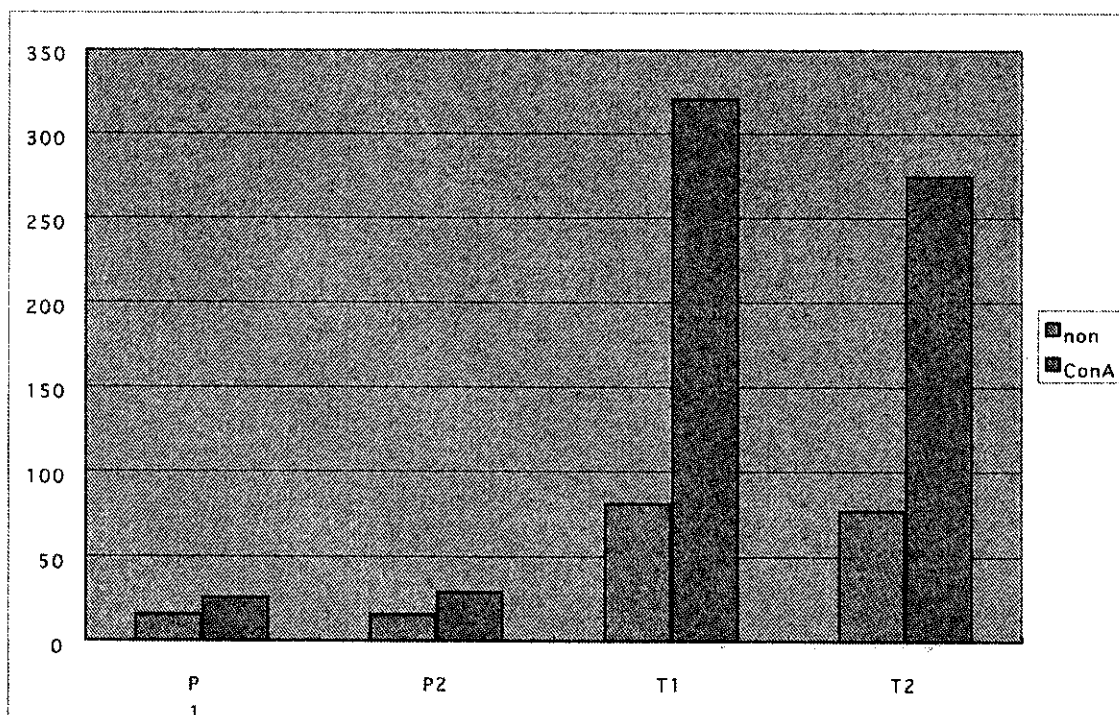


图 2