

厚生労働科学研究研究費補助金

感覚器障害研究事業

重症多形滲出性紅斑に対する眼科的治療法の確立

平成16年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 木下 茂

平成17(2005)年 4月

## 目 次

|                               |    |
|-------------------------------|----|
| I. 総括研究報告                     |    |
| 重症多形滲出性紅斑に対する眼科的治療法の確立        | 1  |
| 木下 茂                          |    |
| II. 分担研究報告                    |    |
| 1. 新規治療としての培養粘膜上皮移植に関する研究     | 5  |
| 木下 茂                          |    |
| 2. 重症多形滲出性紅斑の皮膚科学的診断基準案の作成    | 12 |
| 橋本公二                          |    |
| 3. 重症多形滲出性紅斑の手術適応、重症度解析に関する研究 | 16 |
| 坪田一男                          |    |
| 4. 培養粘膜上皮移植の国内移送、実施に関する研究     | 21 |
| 大橋裕一                          |    |
| 5. 重症多形滲出性紅斑の病態に関する研究         | 23 |
| 外園千恵                          |    |
| III. 研究成果の刊行に関する一覧表           | 28 |

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）

総括研究報告書

## 重症多形滲出性紅斑に対する眼科的治療法の確立

主任研究者 木下 茂 京都府立医科大学眼科学 教授

**研究要旨** 重症多形滲出性紅斑の眼科的治療法の確立を目的として、培養粘膜上皮シート移植を実施、患者データベースの構築、上皮シート作成における新たな幹細胞ソースの可能性に関する検討、皮膚科診断と眼科診断に関する検討、患者のQOV（Quality of vision）に関する検討、病態解明のための基礎研究を行った。本疾患患者 51 名についてデータベースを構築、7 例に対して培養粘膜上皮移植を施行し良好な結果を得た。本症候群の病態の特徴として、慢性炎症の持続、眼表面の角化、眼瞼の癒痕性変化、高度かつ特異な炎症、易感染性が示された。診断についてはさらに皮膚科患者との比較、検討が必要であり、患者QOVの評価として実用視力測定が有用であると考えられた。

### 分担研究者

橋本公二（愛媛大学医学部・教授）

坪田一男（慶応義塾大学医学部・教授）

大橋裕一（愛媛大学医学部・教授）

外園千恵（京都府立医科大学・講師）

### A. 研究目的

多形滲出性紅斑の重症型である Stevens-Johnson 症候群（以下 S J 症候群）は、発症頻度が稀であることと致死率が高いことから、その病態は未だ不明であり、有効な治療法が開発されていない。近年、我々が開発した培養角膜上皮シート移植法（Arch Ophthalmol 2001）は、急性期 S J 症候群の視力予後を大きく改善し、慢性期にも有効な治

療として認められつつある。本研究は、S J 症候群に対する新規治療として、培養粘膜上皮シート移植（培養角膜上皮シート移植・培養口腔粘膜上皮シート移植）という画期的治療法を確立することを目的とする。

### B. 研究方法

培養粘膜上皮シート移植の実施：平成 16 年度に重症多形滲出性紅斑（以下 S J 症候群）に対する培養角膜上皮移植を 4 例 4 眼、培養口腔粘膜上皮移植を 3 例 3 眼、合計 7 例 7 眼に培養粘膜上皮シート移植を施行した。幹細胞の上皮細胞への分化の可能性に関する検討：近年の組織幹細胞の可塑性で注目されている造血幹細胞の上皮細胞への分化への可能性を検討した。

手術時に採取した患者眼組織の病理組織学的解析：手術時に得られた患者眼表面組織について、浸潤細胞の種類と数、細胞表面マーカー、各種タンパクの発現を解析した。皮膚科診断と眼科診断、各組織の病態に関する検討：橋本公二教授を班長とする厚生労働省研究班と本研究班で合同会議を開催し、本症候群の皮膚科診断と眼科診断の相同性、病期や部位による病態の違いについての討議を行って診断基準案の見直しを行った。

患者のQOV (Quality of vision) に関する検討：S J 症候群患者は重症ドライアイを合併し、通常の視力検査では把握できない視機能障害を有する。そこでドライアイによる不具合を反映する新しい視力検査方法（実用視力検査）を開発し、本症候群のQOV評価に妥当かどうかを検討した。

患者データベースの作成：患者51名についてデータベースを作成し、病歴、視機能および眼所見について評価した。

MRSAの遺伝子解析：本疾患患者より分離したMRSAの遺伝子解析を行った。

患者涙液の解析：患者より涙液を採取、ELISA法による解析を行い、抗酸化物質である thioredoxin (TRX) 及び炎症性サイトカインである interleukin-8 (IL-8) の濃度を解析した。

I $\kappa$ B- $\zeta$  ノックアウトマウスの解析：自然免疫応答に重要な Toll like receptor (TLR) のシグナルに關与する I $\kappa$ B- $\zeta$  をノックアウト (KO) したマウス眼表面の組織学的解析

を行った。

### C. 研究結果

培養粘膜上皮シート移植の実施：平成16年度に培養粘膜上皮シート移植を施行した7例7眼において、視力改善および眼表面の良好な再建を得た。

幹細胞の上皮細胞への分化の可能性に関する検討：角膜組織に造血幹細胞が分布することを明らかにした。

手術時に採取した患者眼組織の病理組織学的解析：本症候群の眼表面では上皮の過増殖と角化、上皮下の炎症細胞浸潤が生じていることが明らかとなった。

皮膚科診断と眼科診断、各組織の病態に関する検討：重症多形滲出性紅斑の症例を詳細に検討することにより、その概念、疫学、病因、症状、検査所見の項目について診断基準案2004を作成した。

患者のQOV (Quality of vision) に関する検討：重症ドライアイである重症多形滲出性紅斑において、実用視力は視機能の評価に応用でき、手術適応、重症度解析に使用できると考えられた。

患者データベースの作成：視力障害の程度は、眼前手動弁から1.0まで様々であり、臨床所見の解析より、眼瞼の癩痕性変化が本症候群の特徴であることが明らかとなった。

MRSAの遺伝子解析：本疾患患者より分離したMRSAは、全てが病院型MRSAであった。

患者涙液の解析：患者涙液中には極めて高濃度の TRX と IL-8 が存在した。

IκB- $\zeta$ ノックアウトマウスの解析：IκB- $\zeta$ をノックアウト (KO) したマウスでは眼瞼を中心に眼表面に炎症を認めた。また、眼表面上皮から結膜杯細胞が消失し、上皮内および上皮下に炎症性細胞の浸潤が認められた。

#### D. 考察

培養粘膜上皮移植を開始した 1999 年以降 2004 年 12 月までの本症候群に対する移植件数は、培養角膜上皮シート移植が 16 例 18 眼、培養口腔粘膜上皮シート移植が 8 例 8 眼) であり、平成 16 年度 (2004 年) の良好な手術成績の理由として、上皮シート作成技術の向上、術前および術後管理の改善、手術適応が以前より明確になったことが考えられた。

無血管の角膜組織にも骨髄由来細胞が分布していることがわかった。その分布は、角膜輪部より角膜中央部へと時間とともに侵入していくことがわかった。この造血幹細胞のキャラクターに関する検討を行い、角膜組織においてどのような機能を担っているのかを明らかにする必要がある。

本患者のほとんどの眼表面組織が過増殖の状態にあると考えられた。多くの瘢痕性上皮で角化関連タンパクおよびサイトケラチンの増加が認められ、角化が亢進しているものと考えられた。上皮下組織では、CD3、HLA-DR および好中球 elastase 陽性の浸潤

細胞の増加傾向が認められ、ステロイド点眼下においても慢性的に炎症が存在しているものと考えられた。

本症候群より病院型 MRSA を多く分離したことより、その病態に易感染性が関与すると考えられた。また患者涙液中に高濃度の IL-8 と TRX が存在したことから、患者眼表面には他疾患にはみられないほど高度の炎症が存在すると考えられた。結膜杯細胞の消失を認める自然発症の眼表面炎症モデルマウスの解析より、自然免疫の異常が眼表面炎症に深く関与している可能性が示唆された。

重症多形滲出性紅斑の症例を詳細に検討することにより、その概念、疫学、病因、症状、検査所見の項目について診断基準案 2004 を作成した。診断基準案 2004 を用いた診断における感度、特異性の検討が不十分であり、この成果をもたらずには、症例の積み重ねによる解析が必要不可欠である。

本疾患では通常の視力検査に比べ実用視力が低下していることにより、日常生活での見え方が不良であり、視覚的負担が多いと考えられた。

#### E. 結論

患者データベースの作成により、本症候群の全体像を把握、解析することが可能となった。次年度には、さらに細かなデータ採取を積み重ね、分担研究施設である慶応大学眼科、愛媛大学眼科の患者データも加える予定である。

皮膚科研究班との合同会議により、皮膚科と眼科での本症候群の診断に関する見解の相違点が明らかとなった。皮膚科は急性期患者を、眼科は主に慢性期（瘢痕期）患者を診察していることから、本症候群の診断基準作成、病態解明および有効な治療法の確立のためには、今後はプロスペクティブに発症時より皮膚科と眼科が共同して治療にあたり経過を観察することが必要である。

幹細胞の上皮細胞への分化の可能性に関する研究では、培養上皮シート作成における新たでかつ寿命の長い細胞ソースを模索している。次年度以降も細胞ソースおよび幹細胞に関する研究を継続する。

手術時に採取した患者眼組織の病理組織学的解析、患者涙液の解析、患者血液細胞の免疫応答性に関する分子生物学的解析より、本症候群の病態には高度の炎症が深く関与することが判明した。この炎症を制御することが、新しい有用な治療の開発に結びつくことが示唆された。

本症候群の病態の特徴として、眼瞼の瘢痕性変化、高度かつ特異な炎症、易感染性が明確に示され、ノックアウトマウスの組織所見もこれらを示唆するものであった。これらの特徴的病態について、さらに詳細な検討を要する。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表（平成 16 年度）

##### 1. 論文発表

各分担研究の項および巻末に記載した。

##### 2. 学会発表

各分担研究の項に記載した通りである。

#### G. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得：なし

2. 実用新案登録：なし

3. その他：なし

新規治療としての培養粘膜上皮移植に関する研究

分担研究者 木下 茂 京都府立医科大学眼科学 教授

**研究要旨** 重症多形滲出性紅斑に対する新規治療として培養粘膜上皮移植（培養角膜上皮移植、培養口腔粘膜上皮移植）を実施し、術後成績を評価した。上皮幹細胞の新たなソースを得るため、造血幹細胞の上皮細胞への分化の可能性を検討した。本疾患の結膜における炎症細胞浸潤と角化関連タンパクの発現変化について検討した。培養粘膜上皮移植を施行した7例7眼の手術成績は良好であり、今後は長期の術後経過を評価する必要がある。無血管の角膜組織において、造血幹細胞が分布していることが明らかとなった。本疾患の眼表面では慢性炎症があり、上皮の過増殖と角化ならびに上皮下の炎症細胞浸潤が起きているものと考えられた。

**A. 研究目的**

多形滲出性紅斑の重症型である Stevens-Johnson 症候群（以下 S J 症候群）は、発症頻度が稀であることと致死率が高いことから、その病態は未だ不明であり、有効な治療法が開発されていない。近年、我々が開発した培養角膜上皮シート移植法（Arch Ophthalmol 2001）は、急性期 S J 症候群の視力予後を大きく改善し、慢性期にも有効な治療として認められつつある。本研究は、S J 症候群に対する新規治療として、培養粘膜上皮シート移植（培養角膜上皮シート移植・培養口腔粘膜上皮シート移植）という画期的治療法を確立することを目的とする。平成 16 年度には、1) S J 症候群に対して培養

角膜上皮移植および培養口腔粘膜上皮移植を施行し、術後成績を評価した。また上皮シート移送の問題点を検討した。2) 近年の組織幹細胞の可塑性で注目されている造血幹細胞の上皮細胞への分化の可能性を検討した。3) S J 症候群の眼表面では慢性的な炎症が遷延する。この病態を解明するために、S J 症候群の結膜の炎症細胞浸潤と角化関連タンパクの発現変化について検討した。

**B. 研究方法**

1) 培養粘膜上皮シート移植の実施：平成 16 年度に S J 症候群に対する培養角膜上皮移植を 4 例 4 眼、培養口腔粘膜上皮移植を

3例3眼、合計7例7眼に培養粘膜上皮シート移植を施行し、作成した上皮層の安定性、視力改善率、術後合併症について検討した。また2例2眼については、京都府立医大より愛媛大学へ上皮シートを移送し、移送に伴う問題点について検討した。

2) 幹細胞の上皮細胞への分化の可能性に関する検討：近年の組織幹細胞の可塑性で注目される造血幹細胞の上皮細胞分化への可能性を検討した。具体的には、eGFPマウスより骨髓を採取し、lin<sup>-</sup>、Sca-1<sup>+</sup>のマウス造血幹細胞を分離抽出した。この造血幹細胞を野生型のnew born C57BL/6マウスに移植し、眼球および角膜組織におけるGFP陽性細胞の分布の経時変化およびその比率を解析した。

3) 手術時に採取した患者眼組織の病理組織学的解析：手術時に得られた患者眼表面組織について、患者の角膜上に伸展した結膜組織より凍結切片を作製して、間接蛍光抗体法により各種タンパクの発現を検討した。

## C. 研究結果

1) 培養粘膜上皮シート移植の実施：7例全例で上皮シートは十分に重層化しており、術中操作による合併症を伴わずに患者の眼表面に縫着できた。術後早期(3ヶ月以内)に全例において上皮の状態は良好であり、上皮シート作成に伴う合併症を生じなかった。7眼中、培養口腔粘膜上皮移植を行った1眼においてMRSA感染症を生じたが

抗菌薬の点眼および眼軟膏により治癒した。他の6眼では特記すべき合併症を認めず、全例で術前に比べて視力改善を得た。また上皮シートの移送に伴う合併症あるいは問題を認めなかった。

2) 幹細胞の上皮細胞への分化の可能性に関する検討：GFP(+)造血幹細胞は、移植後2週間において角膜輪部周辺に観察された。GFP(+)細胞は時間とともに増加し、また角膜中央部でも観察された。角膜内(輪部、中央部)に観察されるGFP(+)細胞は、移植後2ヶ月まで増加し、その後6ヶ月まででプラトーに達した。その細胞比率は、角膜周辺部実質において $24 \pm 8.01\%$ 、角膜周辺部上皮において $0.78 \pm 0.51\%$ 、角膜中央部実質において $8.06 \pm 1.76\%$ 、角膜中央部上皮において $0.58 \pm 0.4\%$ であった。

3) 手術時に採取した患者眼組織の病理組織学的解析：SJ症候群患者の癒痕性結膜上皮においてサイトケラチン6/16、Ki67の増加が認められ、過増殖の状態にあると考えられた。また、SSJ症候群の多くの上皮では角化関連タンパクのtransglutaminase 1、involucrin、filaggrinおよびサイトケラチン1/10の増加を示し、角化が亢進しているものと考えられた。上皮下ではCD3、HLA-DRおよび好中球elastase陽性の浸潤細胞の増加が認められ、炎症が存在しているものと考えられた。臨床所見の角化と免疫組織学的所見の多くの角化関連タンパクの発現に相関が認められた。



#### D. 考察

1) 培養粘膜上皮移植を開始した 1999 年以降 2004 年 12 月までの本症候群に対する移植件数は、培養角膜上皮シート移植が 16 例 18 眼、培養口腔粘膜上皮シート移植が 8 例 8 眼である。このうち平成 16 年度 (2004 年) の手術成績はとくに良好であり、上皮シート作成技術の向上、術前および術後管理の改善、手術適応が以前より明確になったことがその理由として考えられた。

2) 角膜は血管組織がなく、涙と前房水でその恒常性が維持されている生体内できわめて特殊な組織である。今回の実験より、無血管の角膜組織にも骨髄由来細胞が分布していることがわかった。また、その分布は、角膜輪部より角膜中央部へと時間とともに侵入していくことがわかった。その局在は、角膜実質が大部分であり、上皮細胞への分布はごくわずかであった (約 1%)。今後、この分布した GFP (+) 造血幹細胞のキヤラクターに関する検討を行い、角膜組織においてどのような機能を担っているのかを明らかにしていく。

3) SJ 症候群の結膜上皮においてサイトケラチン 6/16/17、Ki67 の増加が認められ、ほとんどの組織が過増殖の状態にあると考えられた。多くの瘢痕性上皮で角化関連タンパクの transglutaminase 1、involucrin、SPRR2、filaggrin、loricrin およびサイトケラチン 1/10 の増加が認められ、角化が亢進しているものと考えられた。上皮内組織では HLA-DR、CD68 および LFA-1 陽性細胞の

減少傾向が認められ、術前に消炎目的で使用されたステロイド点眼の影響の可能性が考えられた。一方上皮下組織では、CD3、HLA-DR および好中球 elastase 陽性の浸潤細胞の増加傾向が認められ、ステロイド点眼下においても慢性的に炎症が存在しているものと考えられた。

#### E. 結論

1) 平成 16 年度に行った培養粘膜上皮移植の成績は良好であり、次年度以降は長期の術後経過を評価、培養角膜上皮シート移植と培養口腔粘膜上皮シート移植の経過を比較、手術適応の明確化を進める必要がある。

2) 無血管の角膜組織において、造血幹細胞が分布していることがわかった。その局在は角膜実質が大部分であり、上皮への分布は限定的であった。

3) SJS および OCP の眼表面では何らかの慢性炎症があり、上皮の過増殖と角化ならびに上皮下の炎症細胞浸潤がおこっているものと考えられた。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表 (平成 16 年度)

##### 1. 論文発表

英語論文

1. Kinoshita S, Koizumi N, Sotozono C, Yamada J, Nakamura T, Inatomi T. The Concept and the Clinical Application of Cultivated Epithelial Transplantation for

- Ocular Surface Disorders. *The Ocular Surface*. 2(1):21-33, 2004.
2. Nakamura T, Yoshitani M, Rigby H, Fullwood NJ, Ito W, Inatomi T, Sotozono C, Nakamura T, Shimizu Y, Kinoshita S: Sterilized, freeze-dried amniotic membrane: a useful substrate for ocular surface reconstruction. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 45(1):93-9, 2004.
  3. Yamada J, Maruyama K, Sano Y, Kinoshita S, Murata Y, Hamuro J: Promotion of corneal allograft survival by the induction of oxidative macrophages. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 45:448-454, 2004.
  4. Ishino Y, Sano Y, Nakamura T, Connon CJ, Rigby H, Fullwood NJ, Kinoshita S: Amniotic membrane as a carrier for cultivated human corneal endothelial cell transplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 45:800-806, 2004.
  5. Endo K, Kawasaki S, Nakamura T, Kinoshita S: The Presence of Keratin 5 as an IgG Fc binding Protein in human corneal epithelium. *Exp Eye Res*. 78:1137-1141, 2004.
  6. Endo K, Nakamura T, Kawasaki S, Kinoshita S: Human Amniotic Membrane, Like Corneal Epithelial Basement Membrane, Manifests the  $\alpha 5$  Chain of Type IV Collagen. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 45:1771-1774, 2004.
  7. Naruse S, Yamada J, Hamuro J, Kobayashi T, Mori K, Kinoshita S: APC0576 Decreases Production of pro-Inflammatory Chemokine and Extra-cellular Matrix by Human Tenon's Capsule Fibroblasts. *Exp Eye Res*. 79:223-231, 2004.
  8. Terai K, Sano Y, Kawasaki S, Endo K, Adachi W, Hiratsuka T, Ihiboshi H, Nakazato M, Kinoshita S: Effects of Dexamethasone and Cyclosporin A on Human  $\beta$ -Defensin in Corneal Epithelial Cells. *Exp Eye Res*. 79:175-180, 2004.
  9. Ueta M, Nochi T, Jang M-H, Eun Jeong Park, Igarashi O, Hino A, Kawasaki S, Shikina T, Hiroi T, Kinoshita S, Kiyono H.: Intracellularly Expressed TLR2s and TLR4s Contribution to an Immunosilent Environment at the Ocular Mucosal Epithelium. *J Immunol*, 173: 3337-347, 2004.
  10. Kinoshita S, Nakamura T. : Development of cultivated mucosal epithelial sheet transplantation for ocular surface reconstruction. *Artif Organs*, 28(1):22-7, 2004.
  11. Cooper LJ, Fullwood NJ, Koizumi N, Nakamura T, Kinoshita S: An investigation of removed cultivated epithelial transplants in patients after allocultivated corneal epithelial transplantation. *Cornea*. 23(3):235-42, 2004.

12. Kinoshita S, Koizumi N, Nakamura T. Transplantable cultivated mucosal epithelial sheet for ocular surface reconstruction. *Exp Eye Res.* 78(3); 483-491: 2004.
13. Nakamura T, Inatomi T, Sotozono C, Koizumi N, Kinoshita S.: Successful primary culture and autologous transplantation of corneal limbal epithelial cells from minimal biopsy for unilateral severe ocular surface disease. *Acta Ophthalmol Scan.* 82(4); 468-471: 2004.
14. Amemiya T, Nakamura T, Oseko F, Yamamoto T, Fukushima A, Nakanishi A, Kinoshita S Kanamura N.: Human oral epithelial and periodontal ligament cells sheets cultured on human amniotic membrane for oral reconstruction. *J Oral Tissue Engin.* 1(1); 89-96: 2004.
15. Kinoshita S, Nakamura T. Regenerative medicine for the cornea. *JMAJ.* 47(7); 317-321: 2004.
16. Nakamura T, Inatomi T, Sotozono C, Amemiya T, Kanamura N, Kinoshita S. Transplantation of cultivated autologous oral mucosal epithelial cells in patients with severe ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol.* 88; 1280-1284: 2004.

日本語論文

1. 中村隆宏, 木下茂 : 培養口腔粘膜上皮シ

ートによる眼表面再建術. 炎症再生  
24 (1) : 43-46, 2004.

2. 学会発表  
国際学会

1. Amemiya T, Yamamoto T, Nakamura T, Fukushima A, Nakamura T, Kinoshita S, Kanamura N. Development of an oral mucosa epithelium sheet using the amniotic membrane. The 82nd General Session and Exhibition of the International, American, and Canadian Associations for Dental Research. Hawaii, USA, 2004. 3.13
2. Nakamura T, Ishikawa F, Sonoda K.-H, Hisatomi T, Qiao H, Yamada J, Ishibashi T, Harada M, Kinoshita S. Distribution and Characterization of Bone Marrow-Derived Cells in the Mouse Cornea. 2004 Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Fort Lauderdale, Florida, USA, 2004.4.28.
3. Tanioka H, Fukuoka H, Kawasaki, Yamasaki K,, Nakamura T, Inatomi Y, Sotozono C, Kinoshita S: The immunohistochemical investigation of conjunctiva in Stevens-Johnson syndrome and ocular cicatricial pemphigoid. 2004 Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) Apr 25, 2004, Fort Lauderdale, Florida, USA
4. Sekiyama E, Nakamura T, Kawasaki S, Kinoshita S. Expression of Angiogenesis

Related Factors in Human Cultivated Mucosal Epithelial Sheets. 2004 Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Fort Lauderdale, Florida, USA, 2004.4.29.

5. Nakamura T, Koizumi N, Inatomi T, Sotozono C, and Kinoshita S.: Ocular Surface Reconstruction Using Cultivated Mucosal Epithelial Stem Cells. XVI International Congress of Eye Research (ICER), Sydney, Australia, 2004.9.3.
6. Inatomi T, Nakamura T, Koizumi N, Sotozono C, Kinoshita S.: Clinical application of cultivated mucosal epithelial transplantation for ocular surface reconstruction. XVI International Congress of Eye Research (ICER), Sydney, Australia, 2004.9.2.

#### 国内学会

1. 稲富 勉、中村隆宏、東原尚代、小泉範子、日比野佐和子、外園千恵、木下 茂: 自己培養口腔粘膜上皮移植術による新しい手術法: 結膜嚢再建術. 第27回日本眼科手術学会、東京、2004.1.30.
2. 関山英一、中村隆宏、川崎 諭、木下 茂: ヒト培養粘膜上皮シートにおける血管新生関連因子の発現. 第28回角膜カンファレンス、第20回日本角膜移植学会、米子、2004.2.21.
3. 稲富 勉、中村隆宏、小泉範子、外園千恵、金村成智、木下 茂: 自家培養口腔

粘膜上皮移植術の眼表面再建への応用. 第28回角膜カンファレンス、第20回日本角膜移植学会、米子、2004.2.21.

4. 谷岡秀敏、福岡秀記、川崎 諭、山崎健太、中村隆宏、稲富 勉、外園千恵、木下 茂: 重篤な眼表面の疾患 (SJS および OCP) の結膜組織における免疫組織学的検討. 第108回日本眼科学会総会、東京、2004.4.17.
5. 外園千恵、東原尚代、小泉範子、稲富 勉、横井則彦、木下 茂、山田昌和、海道美奈子、村戸ドール、坪田一男: Steven-Johnson 症候群の他覚的眼所見を評価する臨床スコアの試作. 第58回日本臨床眼科学会、東京、2004.11.11.
6. 稲富 勉、中村隆宏、小泉範子、外園千恵、木下 茂: 自家組織による培養口腔粘膜上皮移植術の新しい試みと有用性. 第58回日本臨床眼科学会、東京、2004.11.11.
7. 若山美紀、稲富 勉、外園千恵、中村隆宏、小泉範子、渡辺彰英、荒木美治、横井則彦、木下 茂: 癩痕性角結膜疾患に対する眼表面再建術と眼瞼形成術の併用の有用性. 第58回日本臨床眼科学会、東京、2004.11.11.
8. 山岸哲哉、稲富 勉、外園千恵、中村隆宏、小泉範子、木下 茂: 培養上皮移植症例の白内障手術をどうするか? 第58回日本臨床眼科学会、東京、2004.11.11.

G. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）

分担研究報告書

重症多形滲出性紅斑の皮膚科学的診断基準案の作成

分担研究者 橋本公二 愛媛大学医学部皮膚科学 教授

**研究要旨** 重症多形滲出性紅斑の診断基準案に合致しない症例、まれな症例、典型例などの詳細を検討することにより、診断基準案の見直しを行った。この診断基準案に照らし合わせて眼科からの症例を検討することによりさらに特異性、感受性の高い診断基準が整備されることを期待する。

**A. 研究目的**

重症多形滲出性紅斑（急性期）は口唇・口腔、眼、鼻、外陰などの皮膚粘膜移行部のびらんを主症状として、さらに多形紅斑が全身に多発し、しばしば水疱化を示す疾患である。しばしば重症化し、表皮の壊死性変化、表皮剥離をきたす。その原因は感染症、薬剤などが推定されており、診断基準案を作成したが、一部の症例で診断基準に合致しないものの存在が明らかとなった。そこで、重症多形滲出性紅斑（急性期）の診断基準案の見直しを目的とした。

**B. 研究方法**

重症多形滲出性紅斑を含む薬剤アレルギーを専門とする皮膚科教授との会合を開き、各施設から典型例、非典型例、診断基準案合致例、非合致例をもちより、症例ごとに詳細に検討することにより特異性・感受性の高い診断基準案を改訂する。

**C. 研究結果**

診断基準案：資料参照

**D. 考察**

分担研究者の施設で経験した重症多形滲出性紅斑の症例を詳細に検討することにより、その概念、疫学、病因、症状、検査所見の項目について診断基準案 2004 を作成した。診断基準案 2004 を用いた診断における感度、特異性の検討が不十分であり、この成果をもたらすには、症例の積み重ねによる解析が必要不可欠である。特に眼症状のみの症例等、皮膚科領域では症例が集まらない例を中心に検討することにより診断基準をさらに確実なものにする必要がある。

**E. 結論**

本研究により重症多形滲出性紅斑診断基準案 2004 を作成し、診断指針の確立が可能となった。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表 (平成 16 年度)

1. 論文発表

英語論文

Dai X, Yamasaki K, Shirakata Y, Sayama K, Hashimoto K.: All-trans-retinoic acid induces interleukin-8 via the nuclear factor-kappaB and p38 mitogen-activated protein kinase pathways in normal human keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 123:1078-85, 2004

Shirakata Y, Ueno H, Hanakawa Y, Kameda K, Yamasaki K, Tokumaru S, Yahata Y, Tohyama M, Sayama K, Hashimoto K.: TGF-beta is not involved in early phase growth inhibition of keratinocytes by 1alpha,25(OH)2vitamin D3. *J Dermatol Sci.* 36:41-50, 2004

Niiya H, Azuma T, Jin L, Uchida N, Inoue A, Hasegawa H, Fujita S, Tohyama M, Hashimoto K., Yasukawa M.: Transcriptional downregulation of DC-SIGN in human herpesvirus 6-infected dendritic cells. *J Gen Virol.* 85:2639-42, 2004

Dai X, Yamasaki K, Yang L, Sayama K, Shirakata Y, Tokumaru S, Yahata Y, Tohyama M, Hashimoto K.: Keratinocyte G2/M growth arrest by 1,25-dihydroxyvitamin D3 is caused by Cdc2 phosphorylation through Wee1 and

Myt1 regulation. *J Invest Dermatol.* 122:1356-64, 2004

Tokumaru S, Sayama K, Yamasaki K, Shirakata Y, Hanakawa Y, Yahata Y, Dai X, Tohyama M, Yang L, Yoshimura A, Hashimoto K.: SOCS3/CIS3 negative regulation of STAT3 in HGF-induced keratinocyte migration. *Biochem Biophys Res Commun.* 327:100-5, 2005

Ishii K, Harada R, Matsuo I, Shirakata Y, Hashimoto K., Amagai M.: In vitro keratinocyte dissociation assay for evaluation of the pathogenicity of anti-desmoglein 3 IgG autoantibodies in pemphigus vulgaris. *J Invest Dermatol.* in press

Hanakawa Y, Shirakata Y, Nagai H, Yahata Y, Tokumaru S, Yamasaki K, Tohyama M, Sayama K, Hashimoto K.: Cre-loxP adenovirus-mediated foreign gene expression in skin-equivalent keratinocytes. *Br J Dermatol.* in press

日本語論文

なし

2. 学会発表

Shirakata Y, Tohyama M, Tsuda T, Tan E, Yahata Y, Tokumaru S, Yamasaki K,

Hanakawa Y, Sayama K, Hashimoto K.: Marked enhancement of IFN-g-induced fractalkine production by IFN-g, TNF-a and IL-1a in normal human keratinocytes. 65<sup>th</sup> annual meeting of Society of Investigative Dermatology, Rhode Island, USA, April 30, 2004.

Tokumaru S, Shirakata Y, Tohyama M, Tsuda T, Tan E, Yahata Y, Yamasaki K, Hanakawa Y, Sayama K, Hashimoto K.: Transactivation of EGFR via HB-EGF shedding protects human keratinocytes from UV-irradiation-induced apoptosis. 65<sup>th</sup> annual meeting of Society of Investigative Dermatology, Rhode Island, USA, April 30, 2004

Yang L, Shirakata Y, Dai X, Sayama K, Hanakawa Y, Tokumaru S, Tohyama M, Yahata Y, Hashimoto K.: Microbubble-enhanced ultrasound for gene transfer into living skin equivalent. 8<sup>th</sup> Japan-China Joint Meeting of Dermatology, Kuming, China, Nov 12, 2004

Shirakata Y, Tokumaru S, Yahata Y, Tohyama M, Hanakawa Y, Sayama K, Hashimoto K.: HB-EGF shedding is essential for UV-induced EGFR phosphorylation and epidermal hyperplasia. 34<sup>th</sup> annual meeting of European Society for Investigative Dermatology, Vienna, Austria, Sep 8, 2004.

Yahata Y, Yamasaki K, Shirakata Y, Tohyama M, Sayama K, Hashimoto K.: SOCS 1 is a negative regulator of the MyD88-independent signaling pathway of the LPS-induced TLR4 natural immune response in HDMEC. 65<sup>th</sup> annual meeting of Society of Investigative Dermatology, Rhode Island, USA, April 30, 2004

G. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし



## 資料

### 重症多形滲出性紅斑診断基準案 2004

#### 概念

発熱を伴う口唇、眼結膜、外陰部などの皮膚粘膜移行部における重症の粘膜疹および皮膚の紅斑で、しばしば水疱、表皮剥離などの表皮の壊死性障害を認める。原因の多くは、薬剤である。

#### 主要所見 (必須)

1. 皮膚粘膜移行部の重篤な粘膜病変（出血性あるいは充血性）がみられること。
2. しばしば認められるびらんもしくは水疱は、体表面積の 10%未満であること。
3. 発熱。

#### 副所見

4. 皮疹は非典型的ターゲット状多形紅斑。
5. 病理組織学的に、表皮の壊死性変化を認める。

但し、TEN への移行があり得るため、初期に評価を行った場合には、極期に再評価を行う。

主要項目の 3 項目を全てみたす場合 SJS と診断する。

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）

分担研究報告書

重症多形滲出性紅斑の手術適応、重症度解析に関する研究  
—実用視力についての検討—

分担研究者 坪田一男 慶応義塾大学医学部眼科学 教授

**研究要旨** 重症多形滲出性紅斑（以下スティーブンジョンソン症候群）はウイルスや消炎鎮痛剤が原因と考えられる全身の皮膚粘膜が侵される重篤な疾患である。急性期には高熱にともない皮膚発疹、粘膜症状が生じ、眼症状では角結膜上皮や角膜上皮幹細胞の脱落に伴い、難治性の角膜上皮欠損を生じる。慢性期には涙腺組織の破壊や結膜杯細胞の減少による重症ドライアイをきたす。また、易感染性のため角膜潰瘍の発症や癒痕性角結膜組織による角膜被覆の悪化により、さらに視力低下を引き起こしやすく眼疾患として予後不良である。治療は角膜感染症の併発に留意しながら早期からの消炎により結膜の癒痕形成と瞼球癒着を抑制し、ドライアイの管理を行う。ドライアイに対し涙液保持を目的とした涙点閉鎖は眼表面の改善のみならず、視力の向上に期待できることが指摘されている。一方、ドライアイでは眼を開けることにより急激に眼表面は乾き、瞬間的には見えても、開瞼により視力は低下するため持続して見ることができないことが報告されている。このため通常の視力検査ではある程度の視力は出るものの、日常生活において著しい制限を受ける可能性があり、日常生活の視力を反映すると考えられる実用視力という概念について研究する。

A 研究目的

重症ドライアイであるスティーブンジョンソン症候群に対する涙点閉鎖は眼表面への涙液供給が可能となり、生体染色の改善が認められ、それとともに不快感、異物感、熱い感じ、羞明感、痛みなどの自覚症状も改善され、さらに、眼表面の改善にともない視力向上も期待できることは既に報告し

ている。一方、重症ドライアイは眼を開けることにより急激に眼表面は乾き瞬間的には見えても、開瞼により視力は低下するため持続して見ることができない。このため通常の視力検査ではある程度の視力は出るものの、日常生活において著しい制限を受ける可能性がある。日常生活の視力を反映すると考えられる実用視力という概念をも

とに、スティーブンスジョンソン症候群における日常生活での見え方、つまり実用視力という検査が評価方法として有用であるか否かを研究する。また、スティーブンスジョンソン症候群におけるさまざまな治療法の前後で実用視力検査を施行し、その治療の視力回復との関係性を評価する予定である。

## B. 研究方法

スティーブンスジョンソン症候群患者 29 名(男性 16 名, 女性 13 名; 平均  $44.8 \pm 20.8$  歳)、シェーグレン症候群患者 18 名 36 眼(男性 1 名, 女性 17 名; 平均  $51.5 \pm 16.0$  歳)、屈折異常以外に眼疾患を有さない正常者 5 名 10 眼(男性 0 名, 女性 5 名; 平均  $52.0 \pm 10.8$  歳)を対象とした。

実用視力測定装置としてニデック社が開発した実用視力計を用いて測定した。実用視力とは一瞬の見えではなく経時的変化にともなう視力変化をみるものがある。実用視力計の仕様は被検者がモニター上に映し出された視力指標に回答し、回答が正解の場合には次に同視力の指標が表示され、回答が不正解の場合には一段階低下した視力指標が表示されるようになっており、設定時間内で経時的視力測定が可能である。被検者の回答の反応時間と視力が表記され、表示実用視力計の視力測定可能範囲は 1.0~0.01 である。実用視力測定設定は指標表示時間を 1 秒とし、眼表面麻酔点眼後 1 分より上眼瞼をテープで強制開瞼し、患者の最高矯正視力より測定開始し、30 秒間の経時

的視力変化を測定した。

## C. 研究結果

スティーブンスジョンソン症候群患者 29 名 58 眼の平均視力 0.02 で、実用視力測定不能患者が 21 名 34 眼であった。実用視力測定可能なスティーブンスジョンソン症候群患者 (SJS) は 16 名 24 眼の平均視力 (基準視力) は 0.41、シェーグレン症候群患者 (SS) は 1.1、正常者は 1.4 であった。強制開瞼での経時的視力変化は 10 秒後、20 秒後、30 秒後の視力は SJS 患者で 0.1、0.1、0.08、SS 患者で 0.3、0.15、0.15 であった。正常者については開瞼 20 秒後と 30 秒後の視力検査は未検のためデータはないが、開瞼 10 秒後の視力は 0.6 であった (表 1)。ドライアイでは実用視力が低下することが以前より指摘されているが、今回の結果でも正常群に比べてドライアイを呈するシェーグレン症候群では実用視力の低下が認められたが、同様スティーブンスジョンソン症候群においても実用視力は低下していた。

スティーブンスジョンソン症候群は非常に重篤な疾患で、一般的に視覚障害認定の対象者となり得る場合が多い。しかしながら、日常生活での視覚的負担面を考えると、さらにもっと多くの患者に対し救済の範囲が拡大されるべきであると考えられる。そこで視覚障害認定基準を従来の視力検査ではなく、仮に実用視力で視覚障害の等級に当てはめて認定した場合視覚障害何級相当が取得できるのかを検討した。従来の視力

検査により取得できる障害認定の等級と実用視力（開眼 10 秒視力）を用いた場合に取得可能な等級の比較について表 2 に示す。従来の視力検査では視覚障害認定 5 級にも満たない SJS 患者は 29 名のうち 15 名いたが、実用視力を用いた等級換算では 5 級に満たない患者は 5 名となり、4 級相当（両眼の実用視力の和が 0.09 以上 0.12 以下）が 2 名、5 級相当（両眼の実用視力の和が 0.13 以上 0.2 以下）が 7 名となり、視覚障害認定の取得可能患者が増えた。また、従来の視力検査で 1 級（両眼の実用視力の和が 0.01 以下）患者は 8 名であったのに対し実用視力で換算すると 15 名と視覚障害認定 1 級患者が増加した。SS 患者では従来の検査では視覚障害認定が取得できる患者はいなかったが、実用視力を用いると 5 級相当が取得できる患者は 18 名中 3 名おり、4 級以下の等級が取得できる患者はいなかった。正常者 5 名については実用視力を用いても視覚障害認定取得可能な人はいなかった。

#### D. 考察

今回の実用視力に関するデータにおいてはステーブンスジョンソン症候群患者とシェーグレン症候群、正常者のすべての症例群において実用視力は低下していたが、ドライアイであるシェーグレン症候群では正常群に比較し、開眼 10 秒後の視力は有意に低下していた。ステーブンスジョンソン症候群でも低下は認められたが、基準と

なる視力が低いためシェーグレン症候群ほどの低下は認められなかった。しかし、シェーグレン症候群とステーブンスジョンソン症候群ともに日常生活での見え方については通常の視力検査に比べ実用視力が低下していることにより、視覚的負担が多いと考えられた。さらに、視覚障害認定基準に実用視力を用いた場合、ステーブンスジョンソン症候群患者では視覚障害認定を取得できる、或はより等級が上の認定が受けられることが明らかとなり、この方法によりステーブンスジョンソン症候群患者に対してさらに救済の道が開かれる可能性が示唆された。今後はステーブンスジョンソン症候群のさまざまな治療法の前後において従来の視力検査に加え、視覚機能の評価に実用視力は応用できると考えられる。

#### E. 結論

重症ドライアイであるステーブンスジョンソン症候群患者に対して実用視力は視機能の評価に応用でき、手術適応、重症度解析に使用できると考えられた。

#### E. 結論

本研究により重症多形滲出性紅斑診断基準案 2004 を作成し、診断指針の確立が可能となった。

#### F. 健康危険情報

なし