

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

天疱瘡患者の遺伝的背景 第2報 天疱瘡患者のHLA 遺伝子多型解析

研究協力者 新関寛徳 奈良県立医科大学皮膚科学 講師

研究要旨 天疱瘡の病因は現在のところ不明であるが、なんらかの遺伝的背景（内因）と誘因（内因、外因）により発症すると考えられている。天疱瘡発症に関与する遺伝子を同定する目的で、144名の患者DNAを収集し得た。DNAの質および量を確認するためHLA typingを行った。PCR-Luminex法によりHLA-A、HLA-B、HLA-DRの3ローカスのタイピングを施行したところ、1) 140名の検体においてタイピングが可能であり、ゲノムワイドスキャンに提供可能であることが証明された。2) 既報告どおり尋常性天疱瘡（PV）とHLA-DR遺伝子との強い相関が認められ、PV関連HLA対立遺伝子が同定できた。3) PV関連HLA対立遺伝子陰性例は102例中4例（3.9%）と低頻度であることから、これらの臨床的特徴を検討することによりHLA-DRタイピングがPVの診断に有用である可能性が示唆された。来年度も尋常性天疱瘡につき年間100例を目標に収集を行う予定である。

共同研究者

浅田 秀夫

奈良県立医科大学皮膚科学助教授

宮川 幸子

奈良県立医科大学皮膚科学教授

市來 善郎

岐阜大学大学院医学研究科病態制御学講座

皮膚病態学講師

北島 康雄

岐阜大学大学院医学研究科病態制御学講座

皮膚病態学教授

清水 忠道

北海道大学大学院医学研究科皮膚科学分野

講師

清水 宏

北海道大学大学院医学研究科皮膚科学分野

教授

橋本 隆

久留米大学医学部皮膚科教授

池田 志孝

順天堂大学医学部皮膚科教授

高橋 勇人

慶應義塾大学大学院医学専攻科皮膚科学専攻大学院生

天谷 雅行

慶應義塾大学医学部皮膚科専任講師

桑名 正隆

慶應義塾大学医学部先端医科学研究所講師

山本 純照

奈良県立奈良病院皮膚科医長

白方 裕司

愛媛大学医学部皮膚科学

橋本 公二

愛媛大学医学部皮膚科学教授

岩月 啓氏

岡山大学大学院医歯学総合研究科皮膚粘膜

結合織学分野教授

岡 晃

東海大学医学部分子生命科学系助手

成瀬 妙子

東海大学医学部分子生命科学系助手

猪子 英俊

東海大学医学部分子生命科学系教授

島田和典

ゲノムサイエンス研究所

A. 研究目的

天疱瘡は抗表皮細胞膜（間）物質に対す

る自己抗体 (IgG) の関与により、表皮内に棘融解性水疱を生ずる自己免疫性水疱症の代表疾患である¹⁾。

病因は現在のところ不明であるが、なんらかの遺伝的背景 (内因) と誘因 (内因、外因) により、表皮細胞膜表面に存在する細胞接着蛋白 (尋常性ではカドヘリンファミリーのデスモグレイン3、落葉状ではデスモグレイン1) に対する自己抗体が産生されることが知られている。

現在のところ遺伝的背景としては、著者が日本人天疱瘡患者85例を集積し、第6染色体短腕 (6p21.3) に位置する HLA-DRB1 および-DQB1 遺伝子との強い相関を報告した²⁾。特に尋常性天疱瘡 (PV) 患者は全例が DR4 または DR14 を有していた。両遺伝子産物は外来抗原と結合し、Tリンパ球の活性化に関与することが知られている。患者に頻度が高い genotype から推測される両遺伝子産物の構造的特徴 (自己抗原との結合能) が免疫反応の質的量的異常を生じ、疾患特異的な自己抗体産生に関与することが推測された。

ところが近年、PV 患者のみならず患者と共通の HLA を有する検体においてもデスモグレイン蛋白特異的なリンパ球増殖能が観察された³⁾。さらにごく最近の報告では、PV 特異的 HLA 対立遺伝子を持つ健康人においても、デスモグレイン蛋白特異的T細胞は存在するものの、それらのクローンのデスモグレイン特異的増殖反応を抑制する Interleukin (IL)-10 産生細胞が存在することが証明されるにいたった⁴⁾。したがって健康人においては HLA 依存的な自己抗原 (デスモグレイン) に対する免疫寛容機構が存在することが示唆され、益々天疱瘡発症における HLA の重要性が示唆される一方で、免疫寛容の破綻を来たす、あるいは来たしやすいたい遺伝的背景の発見が待ち望まれる。

当該課題では以上の背景を踏まえて、天疱瘡発症における遺伝的背景の関与を明ら

かにするために、網羅的、かつ排他的に候補領域を検索する戦略としてマイクロサテライト多型を用いたゲノムワイドな遺伝的相関解析 (ゲノムワイドスキャン) を目的とする。病因に関与する遺伝子が発見されることにより、患者個体における遺伝子の質的量的異常の検索、しいてはそれらをコントロールすることにより治療法の開発が期待されるものと考えられる。

本年度は初年度に引き続き患者試料の集積を行うとともに、DNA 抽出を兼ねて有力な候補遺伝子領域である HLA 遺伝子多型の検討を行った。

B. 研究方法

1. 試料提供施設の追加

ゲノムワイドスキャンに耐えうる十分な検体数を確保するために、全国多施設からの検体収集が必要とされる。昨年度に引き続き班会議メンバーに依頼し、第1次募集施設とした。すなわち北海道大学、順天堂大学、慶應義塾大学、岐阜大学、奈良県立医科大学 (以下、奈良医大)、久留米大学の6施設である (順不同)。各々の施設において当該課題に関する倫理審査を終了し、検体収集を行った。収集した検体の臨床亜型は表1のごとくであり、PV において約100例、すなわちゲノムワイドスキャンにおける第1次スクリーニングが可能な検体数を収集することが出来た。

また、今年度はゲノムワイドスキャンの第2次スクリーニングに向けて次の100例収集のため第2次検体収集施設を募集したところ、新たに以下の施設より承諾を得た。すなわち旭川医科大学、山形大学、東北大学、福島県立医科大学、東京大学、順天堂大学浦安病院、東海大学、岡山大学、川崎医科大学、愛媛大学の10施設である。既に3施設において倫理審査承認が得られ、2施設より検体提供があった。

今後さらに施設数を追加する予定であり、収集期間も年余にわたるため、患者イニシ

ナルと生年月日による重複チェックを続けている。なお、チェックを行うのは、検体収集を行う奈良医大以外の第3施設として岐阜大学において行った。重複がないことのみ奈良医大へ通知された後に、患者登録を行った。平成16年11月15日現在患者重複はない。

2. 試料添付データシートの作成および改訂

ゲノムワイドスクランに供する検体を病型ごとに分類するために試料添付データシートを作成し、試料提供施設の病型診断と臨床、検査、病理所見に矛盾がないかを確認した。表2にデータシートを示す。記入項目は、切り取り線より上に患者氏名、診療録ID、生年月日などの個人情報管理者保管用のデータ、切り取り線より下、すなわち奈良医大に送付されるデータとして、ゲノムワイドスクランに関連する情報記入欄を設けた。試料運用に必要なデータとして、共同研究整理番号（後日奈良医大にて決定）、機関別匿名化番号、採血年月日、採血施設での匿名化の状態、である。次に demographic data として、発症年齢、採血時年齢、性別、天疱瘡家族歴の有無、である。次に臨床、病理、検査所見として、疾患分類、症状および所見 1. 臨床的診断項目 4 項目、2. 病理組織学的診断項目（棘融解による表皮内水疱）、3. 免疫組織学的診断項目(1)表皮細胞間の IgG（時に補体）の沈着、(2)流血中の抗表皮細胞間抗体 間接蛍光抗体法 抗体価、ELISA 法による抗デスモグレイン抗体（Desmoglein 1 および 3ELISA 結果および Index、採取年月日）重症度スコアである。臨床、病理、検査所見は、特定疾患治療研究事業による天疱瘡臨床調査個人票¹⁾に基づいて記入項目を選択した。当該課題の特徴として、ある一時期の所見ではなく、発症から採血までの全経過中の結果を記入していただくように配慮した。すなわちデータシートに

において、採血時だけでなく初診時から経過中に観察された所見（症状および所見）、経過中の最大値（間接蛍光抗体法）、複数回採血の際は活動期の結果（ELISA 法による抗デスモグレイン抗体）の記入を依頼した。これらを踏まえて、今年度は重症度スコアの追加をした。間接蛍光抗体法倍率や ELISA index 高値の症例では重症度スコアと矛盾がないことを確認した。

3. 試料採取

以上のごとく登録を行った施設より抗凝固剤（原則として EDTA）入り採血管にて血液 20ml または EB ウイルスによる形質転換細胞、フェノール法により抽出された DNA の供与を受けた。採血量は遺伝性疾患の原因遺伝子検索で通常用いられる量の約 2 倍である。この理由は、1) 発症より採血の期間までの平均年数が 5—6 年と長く、ステロイド剤の全身投与が、末梢血からの DNA 抽出量に影響を与える可能性があるため、2) pooled DNA 法を用いたゲノムワイドスクランにおいては、RNA を消化した DNA のみの試料を検索に供するので、実際に使用できる核酸量が目減りする可能性があるため、の 2 点である。

4. DNA 抽出と HLA typing

供与を受けた血液および形質転換細胞より、スマイテスト ExR&D（ゲノムサイエンス研究所、福島）を用いてゲノム DNA を抽出、精製した。260nm と 280nm の吸光度を測定することにより、DNA の定量と純度の測定を行い、10—20ng/ μ l の濃度に調整した。

HLA-A、-B、-DR 遺伝子タイピングは、東海大とゲノムサイエンス社の共同開発による PCR-Luminex 法を用いて施行した⁵⁾。図1に測定方法のフローチャートを示す。

PCR 反応を行った領域は既報告⁵⁾に譲るが、多型が多く認められる領域を選択し、

HLA-A 遺伝子において3種、HLA-B 遺伝子について2種であり、両遺伝子の各領域の primer を混和し、1 チューブ内で反応を行った。HLA-DR 遺伝子についても同様に2種の領域についてPCR を施行した。PCR による増幅には GeneAmp9700 (Applied Biosystems 社) を用いた。

Luminex 法は2種の蛍光物質により100種類の色調となるポリスチレンビーズと、2種類の検出用レーザーを有する専用の測定装置を使用する。2種類のうち1種類のレーザーでビーズ表面の蛍光物質の色調によりビーズを特定し、もう1種類のレーザーにより、ビーズ表面に標識されたフィエコスリンの蛍光強度を数値データとして測定し、ハイブリダイゼーションの有無を判定することにより多型を検出する。ビーズ表面にオリゴプローブを固層化し、ビオチン標識した遺伝子増幅産物とハイブリダイゼーションさせ、SA-PE (ストレプトアビジン標識フィエコスリン) を反応させる (図2)。多型部位にプローブを設定した PCR-sequence specific oligonucleotide (SSO) 法に応用することにより、1 ウェル内で多数のプローブと反応、測定が可能であるために大量検体を短時間で行うことが可能である。実際には日本人集団で遺伝子頻度が0.1%以上みられる対立遺伝子について判別可能なタイピングを目的として、HLA-A 遺伝子33種類、HLA-B 遺伝子46種類、HLA-DR 遺伝子44種類のプローブを設定した。SA-PE 反応後、Luminex 100システム (96サンプル用) にて各プローブと反応する PCR 産物量を定量化し、得られた反応パターンを入力した判定ソフトウェアを用いて、型判定を行った。この判定ソフトウェアは、日本人において HLA 遺伝子頻度 0.1%以上を示す対立遺伝子のすべてについて対応している。すなわち HLA-A 遺伝子33種類、HLA-B 遺伝子55種類、HLA-DR 遺伝子34種類が判別可能である。また各遺伝子についてヘテロ

の組み合わせについてもすべて判定が可能である。

各対立遺伝子頻度につき、患者群、健康人コントロール⁶⁾の2群間においてカイ2乗検定を行った。さらに得られたP値に検出可能な対立遺伝子数 (HLA-A:33、HLA-B:55、HLA-DR:34) を乗じて補正を行い、補正P値 (Pc) 5%以下を有意差ありと判定した。

C. 研究結果

1. 対象

平成16年11月15日現在の進捗状況を以下に述べる。表1に示す如く8施設から合計144例の天疱瘡患者が登録され、登録の重複はなかった。

患者144例の病型は、尋常性104例、増殖性2例、落葉状32例、紅斑性0例、その他6例 (疱疹状1例、腫瘍随伴性2例、尋常性・落葉状移行例3例) である (表1)。落葉状1例に尋常性の家族歴があった (家族例についての検体の提供は、現段階では受けていない)。

2. HLA typing

天疱瘡患者試料144検体について HLA-A、-B、-DR 遺伝子タイピングを行った。測定不能であった検体が4例あった (尋常性2例、落葉状2例)。タイピング可能であった尋常性102例と症例数が少なく preliminaryな結果ではあるが、落葉状天疱瘡 (PF) 30例の集計結果を示す (表3-5)。

HLA-A 遺伝子の集計では、11種類の対立遺伝子が検出されたが、コントロール群との間に有意差は認められなかった (表3)。

HLA-B 遺伝子については24種類の対立遺伝子が検出された。HLA-B*1507においてP値5%以下を示したが補正P値では有意差を認めなかった (表4)。

一方 HLA-DR 遺伝子については、PVにおいて HLA-DRB1*0406、*1401、*1405、*1406 において補正P値がいずれも5%以

下を示し、強い相関を示した(表5)。落葉状におけるこれらの対立遺伝子頻度はいずれも増加していたが、コントロールとの間に有意差はなかった。

D. 考察

昨年度実際に検体収集が開始された12月よりほぼ1年間である平成16年11月15日までにPVの目標収集検体数である100に到達しえたことはほぼ順調に検体収集が進んでいるといえる。来年度も同一の施設より同じ数の検体提供はありえないことなので、今回第2次募集施設として10施設に依頼し、収集スピードの確保に努めた。前年度の約2倍数の施設に依頼することによりさらに多くの検体収集が期待される。またこれに伴う患者重複登録の可能性も増してくるために重複チェックの重要性が増してくると思われる。重複チェック関係者の労に深謝すると共に継続をお願い申し上げたい。

一方で検体数の増加に伴い、ついに家族内発症例を有する症例の登録があった。しかも家族内の2症例は病型が異なっていることが興味深い。今回のHLA遺伝子の集計結果においても preliminary な結果とはいえ、尋常性、落葉状に若干の差が認められる。未だ片方の症例の登録はないが来年度はこれらの2症例がどのようなHLAをshareしているかなどが検討の課題となるとと思われる。

HLA遺伝子の集計結果では、-A、-B遺伝子との相関は観察されなかったものの、過去の報告で関連が認められた4つのHLA-DR対立遺伝子(*0406、*1401、*1405、*1406)のすべての頻度は、コントロール群との間に有意差を認めた(補正P値においても5%水準以下であった)。これら4つの対立遺伝子のコードするHLA-DR分子のアミノ酸配列には、4-6箇所の特徴的な配列が存在する²⁾(表6)。これらのアミノ酸位はHLA-DR分子の立体構造上、抗原ペプチド結合溝を形成する位置

にあたるため、デスマグレイン蛋白に特異的な結合に関与すると考えられる(図3)。

表には示さなかったが、これら4つの対立遺伝子陰性のPV症例は102例中4例のみであった。今後はこれら4つのPV関連HLA陰性症例の臨床的特徴を検討することで、HLA遺伝子タイピングの臨床的価値の検討が今後の課題である。すでにHLAタイピングが診断基準の参考項目となっているベーチェット病や強直性脊髄炎よりもPVとHLAの相関は明らかに強い。また、PFにおいてもPV関連HLAの頻度が比較的高いこと、PVにおいてPFと同じ抗デスマグレイン1抗体が検出されること、両者の移行例が存在することなどから、PV関連HLA陰性のPF症例の臨床的特徴を検討することも必要であろう。

今後このような臨床的特徴に留意しながらさらなる症例を集積し、ゲノムワイドスクランに必須の症例数の集積を待ちたい。

E. 結論

天疱瘡発症に関与する遺伝子を同定する目的で、144名の患者DNAを収集した。DNAの質および量を確認するためHLA typingを行ったところ、

- 1) 140名の検体においてタイピングが可能であり、ゲノムワイドスクランに提供可能であることが証明された。
- 2) 既報告どおりPVとHLA-DR遺伝子との強い相関が認められ、PV関連HLA対立遺伝子が同定できた。
- 3) PV関連HLA対立遺伝子陰性例は102例中4例(3.9%)と低頻度であることから、これらの臨床的特徴を検討することによりHLA-DRタイピングがPVの診断に有用である可能性が示唆された。

引用文献

- 1) <http://www.nanbyou.or.jp/sikkan/074.htm>
- 2) Miyagawa S, Amagai M, Niizeki

- H, Yamashina Y, Kaneshige T, Nishikawa T, Shirai T, Inoko H. HLA-DRB1 polymorphisms and auto-immune responses to desmogleins in Japanese patients with pemphigus. **Tissue Antigens** 54:333-40, 1999.
- 3) Veldman C, Stauber A, Wassmuth R, Uter W, Schuler G, Hertl M. Dichotomy of autoreactive Th1 and Th2 cell responses to desmoglein 3 in patients with pemphigus vulgaris (PV) and healthy carriers of PV-associated HLA class II alleles. **J Immunol** 170:635-42, 2003.
- 4) Veldman C, Hohne A, Dieckmann D, Schuler G, Hertl M. Type I regulatory T cells specific for desmoglein 3 are more frequently detected in healthy individuals than in patients with pemphigus vulgaris. **J Immunol** 172:6468-75, 2004.
- 5) 吉川枝里、宮原詞子、成瀬妙子、島田和典、東文啓、原啓高、猪子英俊 PCR-Luminex 法を用いた、HLA-A, HLA-B および HLA-DRB1 遺伝子の日本人対応 4 桁 DNA タイピング方法の検討 **MHC** 10:21-31, 2003.
- 6) 中島文明、中村淳子、横田敏和 日本人の 4 桁レベルの HLA ハプロタイプ分布 **MHC** 8:1-32, 2002.

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) Shimizu T, Niizeki H, Takeuchi O, Yamasaki Y, Inamoto N, Kusunoki Y, Kobayashi K, Abe R, Shimizu H, Nishikawa T, Hashiguchi K, Nishihira J. Induction of macro-

phage migration inhibitory factor precedes the onset of acute tonsillitis. **Mediators Inflamm** 13:293-5, 2004

- 2) Niizeki H, Matsunaga T, Iwata T, Shimizu T, Kurimoto I, Naruse T, Inoko H, Streilein JW. The MICA5.1 allele is not associated with susceptibility to effects of ultraviolet-B radiation on induction of contact hypersensitivity. **J Dermatol Sci** 35:221-3, 2004
- 3) Niizeki H, Kumagai S, Kanagawa S, Amagai M, Yamashina Y, Asada H, Nishikawa T, Miyagawa S. Exclusion of the TAP1 and TAP2 genes within the HLA class II region as candidate susceptibility genes to pemphigus in the Japanese population. **J Dermatol Sci** 36:122-4, 2004
- 4) Saito-Katsuragi M, Asada H, Yokoi S, Niizeki H, Miyagawa S: Ampicillin-induced cutaneous eruption associated with Epstein-Barr virus reactivation. **J Am Acad Dermatol**, in press
- 5) Okazaki A, Asada H, Niizeki H, Nonomura A, Miyagawa S: Intravascular histiocytosis associated with rheumatoid arthritis: report of a case with lymphatic endothelial proliferation. **Br J Dermatol**, in press

日本語論文 (著書)

- 1) 新関寛徳、宮川幸子 最新皮膚科学大系特別巻、新生児 小児 高齢者の皮膚疾患、新生児の発疹 1) 紅斑 中山書店、p7-12, 2004
- 2) 新関寛徳 先天性表皮水疱症、「今日の小児治療指針」第14版、医学書院、

印刷中

2. 学会発表

- 1) 新関寛徳、榎本美生、北村華奈、古林郁乃、横井祥子、浅田秀夫、宮川幸子、石井文人、橋本隆、Zillikens Detlef BP180 の NC16A 部位に対する抗体が欠如した水疱性類天疱瘡の 2 例 第26回水疱症研究会、平成16年10月17日、岡山市
- 2) 新関寛徳、榎本美生、古林郁乃、横井祥子、浅田秀夫、宮川幸子、石井文人、Zillikens Detlef BP180 の NC16A 部位に対する抗体が欠如した水疱性類天疱瘡の 1 例 第56日本皮膚科学会西

部支部学術大会、平成16年11月 6 日、久留米市

- 3) 新関寛徳、宮川幸子、猪子英俊（シンポジウム）水疱症発症の遺伝的背景 第56日本皮膚科学会西部支部学術大会、平成16年11月 6 日、久留米市

H. 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

表 1 病型別収集検体数

	天疱瘡全体	尋常性	増殖性	落葉状	紅斑性	その他
1 次募集*	135	98	2	29	0	6**
2 次募集*	9	6	0	3	0	0
総計	144	104	2	32	0	6

*本文参照

**疱疹状、尋常性・落葉状移行例、腫瘍随伴性

表 2 天疱瘡患者試料添付データ

天疱瘡患者試料添付データ	2004/12/12 印刷	
機関別匿名化番号	ここに貴院でつけた匿名化番号をご記入ください	
採血年月日	西暦 20 年 月 日	
ふりがな		
検体試料提供者氏名	イニシャル (姓 ・ 名)	
診療録 ID	_____	
生年月日	西暦 年 月 日	
疾患分類	尋常性 増殖性 落葉状 紅斑性 その他 ()	
匿名化の状態	連結可能 ・ 連結不可能	
切り取り線	使用後シュレッターで廃棄	切り取り線
共同研究整理番号	PM 後日番号をお知らせします	
機関別匿名化番号	ここに貴院でつけた匿名化番号をご記入ください	
採血年月日	西暦 20 年 月 日	
採血施設での匿名化の状態	連結可能 ・ 連結不可能	
発症年齢	歳	
採血時年齢	歳	
性別	男 ・ 女	
天疱瘡家族歴の有無	あり ・ なし ・ 不明 ありの場合 (続柄)	
疾患分類	尋常性 増殖性 落葉状 紅斑性 その他 ()	
症状および所見	採血時だけでなく初診時から経過中に観察された所見をご記入ください	
1. 臨床的診断項目		
(1) 皮膚に多発する破れやすい弛緩性水疱		あり ・ なし ・ 不明
(2) 水疱に続発する進行性、難治性のびらん、ないし鱗屑痂皮性局面		あり ・ なし ・ 不明
(3) 可視粘膜部の非感染性水疱・びらん、アフタ性病変		あり ・ なし ・ 不明
(4) ニコルスキー現象		あり ・ なし ・ 不明
2. 病理組織学的診断項目		
棘融解による表皮内水疱	基底層直上に裂隙 ・ 角層直下に裂隙 ・ どちらでもない	
3. 免疫組織学的診断項目		
(1) 表皮細胞間の IgG (時に補体) の沈着		あり ・ なし ・ 不明
(2) 流血中の抗表皮細胞間抗体		
① 間接蛍光抗体法	抗体価最高 倍	経過中の最大値をご記入ください
② ELISA 法による抗デスモグレイン抗体	複数回採血の際は活動期の結果をご記入ください	
Desmoglein 1 ELISA	陽性 ・ 陰性 ・ 不明 (index	採取年月日 20 年 月 日)
Desmoglein 3 ELISA	陽性 ・ 陰性 ・ 不明 (index	採取年月日 20 年 月 日)
重症度スコア*	_____ 点	経過中の最大値をご記入ください

*以下の URL をご参照ください

<http://www.nanbyou.or.jp/sikkan/074.htm>

表 3 尋常性天疱瘡(PV)および落葉状天疱瘡(PF)の HLA-A 対立遺伝子頻度

A allele	PV	n=204	PF	n=60	Control (n=1046)
	N	%	N	%	%
0201	32	15.7	7	11.7	10.71
0206	15	7.35	5	8.33	8.99
0207	8	3.92	3	5	2.87
0301	0		1	1.67	0.57
1101	26	12.7	9	15	10.71
1102	0		1	1.67	ND*
2402	63	30.9	17	28.3	36.52
2420	1	0.49	1	1.67	ND
2601	19	9.31	3	5	11.28
2602	10	4.9	1	1.67	ND
2603	8	3.92	1	1.67	1.91
3101	19	9.31	5	8.33	6.88
3303	3	1.47	6	10	7.84

*not described

表 4 尋常性天疱瘡(PV)および落葉状天疱瘡(PF)の HLA-B 対立遺伝子頻度

B allele	PV	n=204	PF	n=60	Control (n=1046)
	N	%	N	%	%
0702	5	2.45	3	5	3.63
1301	2	0.98	3	5	1.91
1501	38	18.6	7	11.7	9.37
1507	4	1.96*	1	1.67	0.38
1511	3	1.47	1	1.67	0.96
1518	2	0.98	1	1.67	1.72
1527	1	0.49	0	0	ND**
2704	1	0.49	1	1.67	0.38
3501	20	9.8	7	11.7	8.8
3802	0	0	1	1.67	ND
3901	5	2.45	1	1.67	4.02
390201	1	0.49	0	0	0.38
4001	14	6.86	4	1.96	5.35
4002	27	13.2	1	1.67	8.41
4003	3	1.47	0	0	0.38
4006	7	3.43	0	0	4.78
4403	3	1.47	7	3.43	6.69
4601	7	3.43	3	5	3.44
4801	5	2.45	1	1.67	5.54
5101	17	8.33	7	11.7	6.88
5201	13	6.37	4	1.96	10.9
5401	14	6.86	4	1.96	7.07
5502	5	2.45	0	0	2.87
5601	6	2.94	2	0.98	0.38
670101	1	0.49	1	1.67	0.76

*P=0.0097, Pc (multiply 55)=0.53: Vs control

**not described

表 5 尋常性天疱瘡(PV)および落葉状天疱瘡(PF)の HLA-DR 対立遺伝子頻度

DRB1 allele	PV		PF		Control (n=1032)		Pc (Vs control)	
	N=204	%	N=60	%	%		PV	PF
0101	5	2.45	3	5	3.88			
1501	5	2.45	1	1.67	11.63			
1502	6	2.94	4	6.67	8.91			
1602	1	0.49	2	3.33	0.78			
0401	2	0.98	0	0	1.36			
0403	6	2.94	1	1.67	3.88			
0404	1	0.49	1	1.67	ND			
0405	10	4.9	5	8.33	13.18			
0406	27	13.2	6	10	3.49		<0.05	NS**
0410	4	1.96	2	3.33	2.13			
1101	4	1.96	0	0	3.68			
1201	5	2.45	1	1.67	2.52			
1202	3	1.47	3	5	2.13			
1301	1	0.49	0	0	0.39			
1302	2	0.98	8	13.33	5.62			
1401	29	14.2	3	5	4.26		<0.05	NS
1403	1	0.49	1	1.67	0.78			
1405	37	18.1	7	11.7	3.1		<5x10 ⁻⁷	<0.05
1406	25	12.3	2	3.33	2.13		<5x10 ⁻⁴	NS
0802	16	7.84	1	1.67	3.49			
0803	7	3.43	4	6.67	6.4			
0809	1	0.49	0	0	ND			
0901	6	2.94	5	8.33	13.76			

*Pc=Px34

**not described

***not significant

表 6 尋常性天疱瘡関連 HLA-DR 分子のアミノ酸配列

HLA-DR 分子のアミノ酸配列

HLA-DR	HLA-DRB1 Allele	26	67	70	71	74	86
DR4	*0406	F	L	Q	R	E	V
DR14	*1401	F	L	R	R	E	V
	*1405	F	L	R	R	E	V
	*1414	F	L	Q	R	A	V

70 位、71 位、74 位は P4 pocket を形成する(図 3 参照)。同じく 86 位は P1 pocket を形成する。

図1 測定方法のフローチャート

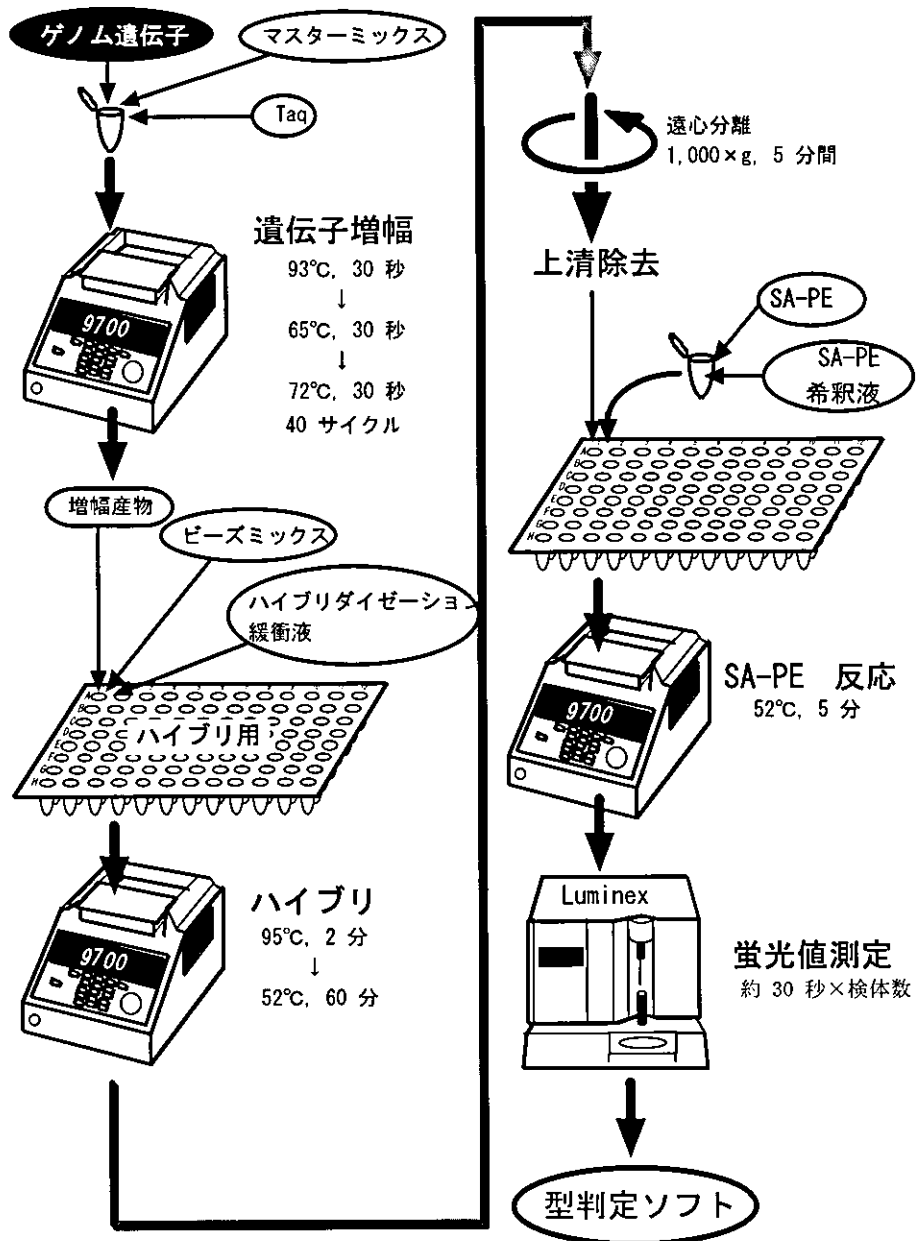
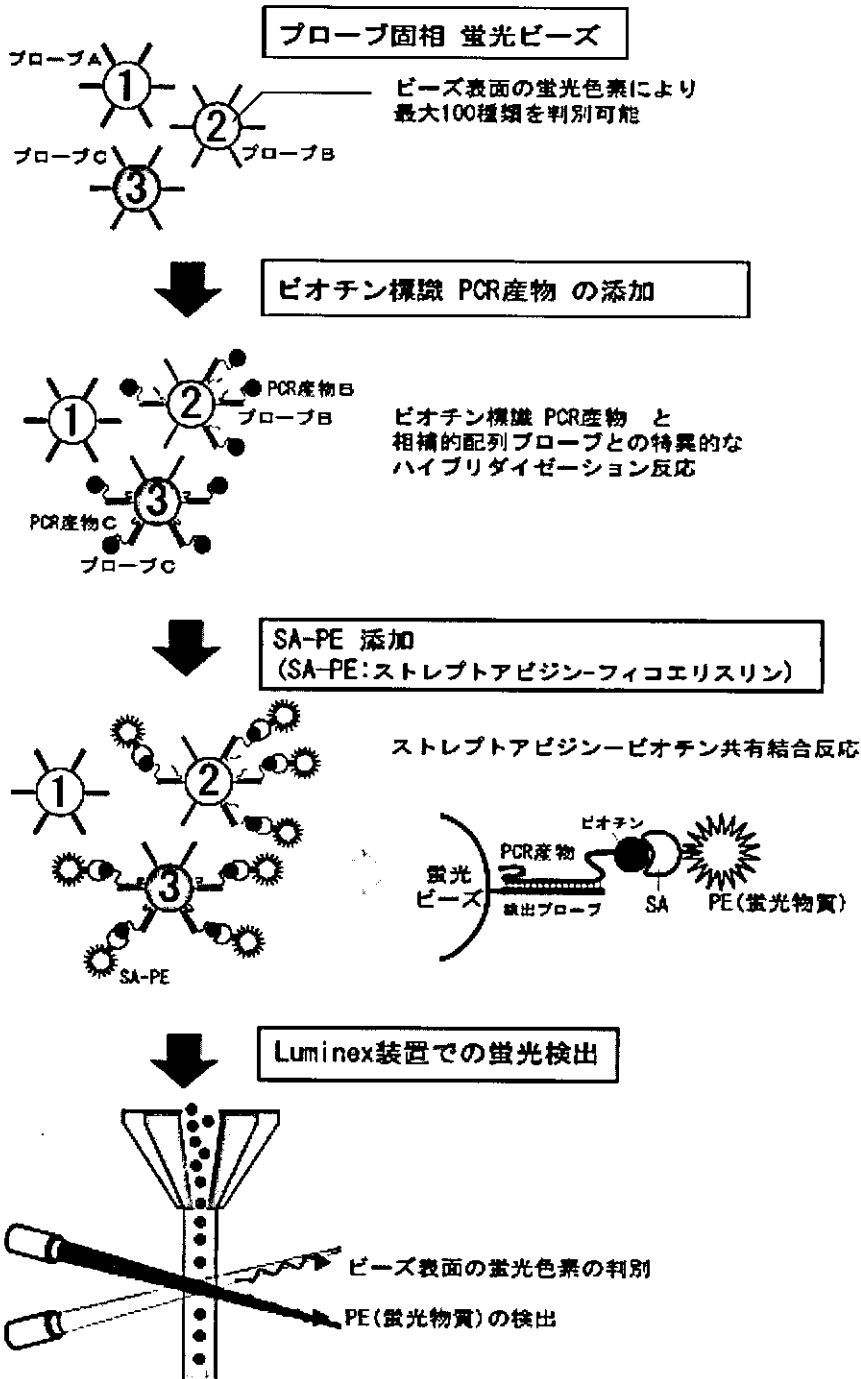


図2 蛍光ビーズを用いた Luminex 測定法の原理



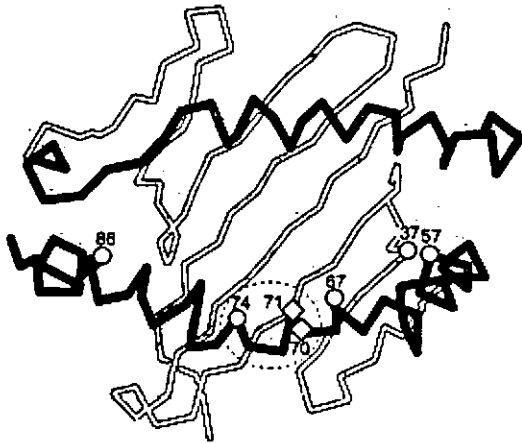


図3 HLA-DR 分子における抗原ペプチド結合部位の模式図

太線が抗原結合溝を示す。数字は HLA-DRβ鎖のアミノ酸番号を示す。HLA-DRB1*0406、*1401、*1405、*1406 では、点線で囲った部位(いわゆる P4 pocket と呼ばれる抗原結合部位)のアミノ酸配列が他の対立遺伝子とは異なっている(遺伝子多型)。この他、26 位、67 位、86 位などのアミノ酸にも特徴があり²⁾、これらのほとんどは立体構造上抗原結合溝においてデスマグレイン蛋白との特異的な結合に関与していると考えられる。

厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)
分担研究報告書

天疱瘡の QOL 調査 (第 2 報)

分担研究者 池田志孝 順天堂大学医学部皮膚科 教授

研究要旨 天疱瘡の QOL につき既存の資料を詳細に検討した。その結果、①天疱瘡の予後は改善されたとはいえ、多くの患者にとって治療面における副作用や、突然の増悪などへの強い不安感を抱いていることがうかがえた。②今後とも精神面、社会制度面からも、患者支援が重要である。③新規の QOL 調査を行い、予後と QOL の調査を推進する必要があることが明らかとなった。

共同研究者

込山悦子、須賀 康、小川秀興

順天堂大学医学部皮膚科

佐久間正寛

国立精神神経センター国府台病院皮膚科

担増や休職による収入減少が問題となっていることが明らかとなっている。今回は、更に①社会活動、②社会環境、③主観的 QOL につき解析を行った。

A. 研究目的

天疱瘡は難治性疾患であるが、「診断基準」「重症度判定基準」「治療指針」などが策定・実用され、その予後は著しく改善されていることが明らかとなっている。一方これから明らかにされるべき課題としては、quality of life が挙げられよう。

これに関しては、平成 8・9 年度に行われた QOL 調査の結果につき、「本邦における天疱瘡患者の quality of life について (第一報)」(佐久間正寛ほか、日皮会誌、100:283-288, 2000) と題した論文を報告している。今回は、更に 1) 社会活動、2) 社会環境、3) 主観的 QOL につき解析を行ったので、「第二報」として報告した。

B. 研究方法

平成 8・9 年度に行われた天疱瘡 QOL 調査の結果^{1, 2)}につき、「本邦における天疱瘡患者の quality of life について (第一報)」と題した論文を報告している³⁾。それによると、①天疱瘡患者の ADL は概ね良好であること、②重症例において治療費負

C. 研究結果

1) 社会活動

①冠婚葬祭に出席したり、近所付き合いができる (はい 82.6%)、②学校や町内会などの活動が今までどおり出席できる (はい 59.8%)、③外出する機会が減ったということはない (はい 52.3%)、など半数以上で活動可能であった。

しかし特に重症例で「はい」との回答の少なかったものとして、①外出する機会が減ったということはない (はい 33.3%)、であり、また重症例において特に Activity の低下が示唆されたものとして、②最近 1 ヶ月間にスポーツをした (はい 0%)、③旅行に出かけられる状態である (はい 45.5%)、であり、重症天疱瘡患者のおよそ 2/3 は、外出について何らかの制約や不自由さ、心理的な躊躇のあることがうかがえた。

2) 社会環境

①自分の病気について相談できる人がいる (はい 77.4%)、②難病相談を利用したことがある (はい 18.1%)、③難病患者の会に入会している (はい 2.3%)、であり、

また特に「自分の病気について相談できる人がいない患者83名」を対象に質問した「難病相談の利用の有無の調査」は（はい 83.1%）であった。即ち、難病相談の利用率の向上についても啓蒙が必要であることが判明した。

3) 社会環境（社会支援面）

①自分が介護しなければならない人はいない（はい 82.5%）、②家族に協力がえられている（はい 87.9%）、③職場や地域の人々の病気に対する理解・協力がえられている（はい 55.0%）、④ヘルパー派遣の制度などを利用している（はい 0.6%）、⑤ヘルパー派遣の制度などがあれば利用したい（はい 20.4%）、との結果が得られた。即ち、自分自身も天疱瘡という病気ではあるが、他人をも介護しなければならない患者が17.5%、即ち約6人に1人存在することになる。また今後一層の高齢化や少子化、核家族世帯の増加を反映し、天疱瘡に限らず、病人が病人を介護するという社会病理の進行という深刻な事態を孕んでいるといえ、医療行政側の早急な対策が望まれる。

次に、⑥職場や地域の人々の病気に対する理解・協力がえられている（はい 33.0%）（重症例）、であり、約2/3の重症患者で周囲の理解・協力について不全感をいっているようである。さらに⑦ヘルパー派遣の制度などがあれば利用したい（はい 40.0%）（重症例）、となっており、症状が高度なほど公的社会支援に対する要請が、より高いことがうかがえた。

4) 主観的 QOL

①疾患や障害をもちながら生活している現状や自分自身をありのままに認める「受容」、②疾患や障害から派生する「不安」、③生きる意味を見出し自己実現を目指す「志気」に関して質問を行った。

その結果、重症度にかかわらず QOL スコアの低かった回答項目として、「まわり

の人が自分の病気をどう思っているか気になる。自分の姿を人にみられたくないと思う。今の自分を好きになれない。（受容）」、「急に具合が悪くならないかといつも心配している。心配なことがたくさんある。いつも気がかりなことがあって落ち着かない。（不安）」、「今、いきいきしているとは感じられない。将来に希望がもてない。毎日の生活に張り合いを感じられない。（志気）」の各項目が見られた。

また重症例において QOL スコアの低下が顕著であった回答項目としては、「自分をみじめだと思うことがある。（受容）」、「心配だったり気になったりして、眠れないことがある。さびしいと感じることがよくある。そばに誰かいないと不安である。（不安）」、「毎日の生活に張り合いを感じられない。毎日の生活が楽しくはない。自分の生活は充実していない。（志気）」であった。

D. 考察

今回の解析で、天疱瘡の予後は改善されたとはいえ、多くの患者にとって治療面における副作用や、突然の増悪などへの強い不安感を抱いていることがうかがえた。今後とも精神面、社会制度面からも、患者支援が重要であると思われた。今後は、より簡便で実勢を表す調査票（DLQI: Dermatology Life Quality IndexやSkindex 29）を用いた再調査が必要と考えられる。

E. 結論

天疱瘡においては、致死率は非常に低くなっているが、QOL の低下が社会的問題となっている。今後更なる患者支援が重要である。

F. 参考文献

1) 佐久間正寛ほか：天疱瘡 QOL 調査票作成の試み、厚生省特定疾患、稀少難治性皮膚疾患調査研究班、平成8年度研究

報告書、1997、70-78.

- 2) 佐久間正寛ほか：天疱瘡 QOL 調査票の解析（第1報）、厚生省特定疾患、皮膚・結合組織疾患調査研究班、稀少難治性皮膚疾患分科会、平成9年度研究報告書、1998、83-109.
- 3) 佐久間正寛ほか：本邦における天疱瘡患者の quality of life について（第1報）、日皮会誌、2000、15-25.

G. 健康危険情報

なし

H. 研究発表（平成16年度）

1. 論文発表

英語論文

1. Hasegawa T, Suga Y, Ikeda S, et al: Clinical trial of allogeneic cultured dermal substitute for the treatment of intractable skin ulcers in three patients with recessive dystrophic epidermolysis bullosa. **J Am Acad Dermatol**, 50:803-804, 2004.
2. Nihei N, Hiruma M, Ikeda S, et al: A case of Bowen's disease showing a clinical tendency toward spontaneous regression. **J Dermatol**, 31:569-572, 2004.
3. Mizoguchi M, Suga Y, Ikeda S, et al: Organotypic culture and surface plantation using umbilical cord epithelial cells: Morphogenesis and expression of differentiation markers mimicking cutaneous epidermis. **J Dermatol Sci**, 35:199-206, 2004.
4. Kawada H, Kawada J, Ikeda S, et al: Multiple cutaneous rhabdomyomas in a child. **Eur J Dermatol**, 14:418-420, 2004.
5. Mayuzumi N, Ikeda S, Kawada H,

et al: Effects of UVB irradiation, pro-inflammatory cytokines and raised extracellular calcium concentration on the expression of ATP2A2 and ATP2C1. **Br J Dermatol**, in press, 2004.

6. Mayuzumi N, Ikeda S, Kawada H, et al: Effects of drugs and anti-cytokine antibodies on the expression of ATP2A2 and ATP2C1 in cultured normal human keratinocytes. **Br J Dermatol**, in press, 2004.
7. Sanmano B, Mizoguchi M, Ikeda S, et al: Engraftment of umbilical cord epithelial cells in athymic mice: in an attempt to improve reconstructed skin equivalents used as epithelial composite. **J Dermatol Sci**, in press, 2004.
8. Ramos-Castaneda J, Park YN, Ikeda S, et al: Deficiency of ATP2C1, a Golgi ion pump, induces secretory pathway defects including in endoplasmic reticulum-associated degradation and stress. **J Biol Chem**, 2004, in press.

日本語論文

1. 長谷川敏男、溝口将之、池田志孝ほか：難治性皮膚潰瘍に対して同種培養真皮が奏効した先天性表皮水疱症（劣性栄養障害型）の1例、日皮会誌、113:1651-1659, 2003

2. 学会発表

なし

I. 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（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

膿疱性乾癬の病態と治療に関する研究

研究協力者 小宮根真弓 東京大学医学部附属病院皮膚科 講師

研究要旨 当科乾癬外来に通院する乾癬患者 279 名の血清 IgE 値を調べたところ、120 名で高値であった。特に IgE 値1000以上の患者32名中10例で膿疱化の既往が確認された。これらの患者のうち同意の得られた34名で血清中 sEselectin、sCD40L、TARC、CTACK、IP-10、IL-4、GM-CSF について ELISA 法で検討したところ、乾癬患者の IgE 値高値群の血清 TARC 値は、IgE 正常群および健康人に比べ有意に高値であり、sE-selectin、CTACK、IP-10 ではこれまでの報告どおり乾癬患者で健康人に比べ有意に高値であったが、乾癬患者の IgE 高値群と IgE 正常群で差はなかった。sCD40L、IL-4、GM-CSF においては、乾癬と健康人、乾癬患者の IgE 高値群と IgE 正常群で有意な差はなかった。

共同研究者

ニンデル・マーギット

帝京大学医学部附属病院皮膚科

竹腰知紀

東京大学医学部附属病院皮膚科

佐伯秀久

東京大学医学部附属病院皮膚科

朝比奈昭彦

東京大学医学部附属病院皮膚科

これらの患者のうち同意の得られた34名の患者について血清中のケモカインやサイトカインを測定し、IgE 値高値群と正常群で差があるか否かを検討した。

B. 研究方法

当科乾癬外来に通院中の乾癬患者 279 名より、同意を得て採血を行い、血清 IgE 値は三菱 MBL にて、TARC、CTACK、IP-10、IL-4、sEselectin、sCD40L は ELISA キット（R&D system 社）を用いて測定した。

C. 研究結果

279 名の乾癬患者のうち、120 名で IgE 値は MBL で定める正常値の範囲（170U/ml 未満）を超えていた（図 1 a）。これらの患者におけるアレルギー疾患の既往の有無について問診にて検討した（図 1 b）。IgE 値正常群と高値群において、アレルギー疾患の既往または合併を示す患者はそれぞれ 80 名中 35 名（43.8%）、65 名中 29 名（44.6%）と、ほぼ同等であった。

これらの患者のうち、同意の得られた 34 名について、血清中のケモカイン、サイトカインなどを検討したところ、図 2 に示す

A. 研究目的

膿疱性乾癬は、難治性の未だ原因不明の疾患であり、尋常性乾癬と類似の病態を持つとともに、異なる側面もかなりの部分併せ持つと考えられる。膿疱性乾癬患者に特徴的な炎症因子を見出し、その因子の産生に関与する特異的ファクターを解明し、治療に役立てたいと考え、この研究を計画した。IgE 値は通常アトピー性皮膚炎や喘息などの Th2 タイプの炎症性疾患で高値を示すが、乾癬患者でも、正常に比べ高値を示し、特に重症例で高値が認められることが報告されている。当科乾癬外来に通院中の患者 279 名について血清 IgE 値を測定し、アレルギー疾患の既往の有無や、膿疱化の既往などについて検討した。さらに、