

ような結果が得られた。すなわち、これまでに報告されているように、CTACK、IP-10、sE-selectin は乾癬患者血清で正常人コントロールに比べ高値を示したが、IgE 高値群と IgE 正常群の間で有意な差は認めなかった。TARC は、IgE 高値群において IgE 正常群あるいは健常人に比べ有意に高値であった。また、IL-4、GM-CSF については、乾癬患者と正常人コントロールとの間、また IgE 高値群と正常群の間に有意な差を認めなかった。同様に、IgE 値1000以上の患者と IgE 値正常群についても検討したが、同様の結果であった。

#### D. 考察

今回、乾癬患者血清中の IgE レベルを測定したところ、279 名中 120 名において高値であった。IgE 値 1000U/ml 以上の乾癬患者は 120 名中32名であり、このうち 10名が膿疱化あるいは紅皮症化の既往があり、IgE 値正常群、中等度高値群に比べ高率であった。このことは、IgE が 1000U/ml 以上の乾癬患者においては、膿疱化や紅皮症化を生じるような重症の患者が多いことを示している。乾癬患者における血清 IgE 値については、Chen ZY らが1985年に報告しており、今回の我々の報告のように、重症乾癬患者で高値であるとしているが、その後同様の報告はない。我々は乾癬患者を IgE 高値群と IgE 正常群にわけ、それぞれについて血清中のケモカインやサイトカインのパターンに差があるか否かに興味を持った。CTACK、IP-10、sE-selectin は乾癬患者で正常人コントロールに比べ有意に高値であったが、高 IgE 群と正常 IgE 群での差はなかった。これらの因子の乾癬患者での高値は、これまでの報告を裏付けるものである。今回の検討では TARC のみが IgE 高値群で有意に高値であり、IgE 高値の乾癬患者においてその病態に何らかの寄与をしている可能性が考えられるが、その詳細は不明であり、今後

の検討課題である。今回の我々の検討では乾癬患者の血清 TARC 値は健常人に比べ有意に高値であり、これは柿沼らの以前の報告と矛盾するものであるが、その理由として、今回は IgE 高値群の患者を多数含んでおり、それらの患者群で TARC が高値を示すことから、今回の集計では乾癬患者と健常人群で有意差が認められたものと考えられる。

#### E. 結論

膿疱化や紅皮症化を繰り返すような重症の乾癬患者では通常の尋常性乾癬とは異なった炎症のパターンがあると考えられ、TARC はその一つのパラメーターになっている可能性がある。

#### F. 健康危険情報

該当なし。

#### G. 研究発表 (平成16年度)

##### 1. 論文発表

- 1) Komine M, Tamaki K. Kimura's disease with prolonged history and prominent vascular involvement. *Acta Dermato-Venereol.* (in press)
- 2) Tsunemi Y, Komine M, Sekiya T, Saeki H, Nakamura K, Hirai K, Kakinuma T, Kagami S, Fujita H, Asano N, Tanida Y, Wakugawa M, Torii H, Tamaki K. The -431 C>T polymorphism of thymus and activation-regulated chemokine increases the promoter activity but is not associated with susceptibility to atopic dermatitis in Japanese patients. *Exp Dermatol.* 13(11):715-719, 2004.
- 3) Yano S, Komine M, Fujimoto M, Okochi H, Tamaki K. Mechanical stretching in vitro regulates signal transduction pathways and cellular

proliferation in human epidermal keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 122(3):783-790, 2004.

## 2. 学会発表

- 1) 小宮根真弓：第5回皮膚免疫を考える会：表皮細胞に対する機械的刺激の作用  
1月31日、小倉、北九州
- 2) 小宮根真弓：第67回日本皮膚科学会東京支部総会：乾癬の治療；光線療法と局所療法  
2月14、15日、東京
- 3) 小宮根真弓：第2回皮膚マクロライド研究会：細胞内シグナル伝達に対するロキシスロマイシンの影響  
4月24日、東京
- 4) 小宮根真弓：第65回米国研究皮膚科学会：Inhibition of NFkB, EGFR and ERK pathways affects the melanization processes in the three-dimensional epidermal models con-

taining melanocytes.

4月28日～5月1日、プロビデンス、アメリカ合衆国

- 5) 小宮根真弓：第25回日本炎症・再生学会：表皮ケラチノサイトにおける機械的伸展刺激の作用  
7月13、14日、東京
- 6) 小宮根真弓：角化症研究会：表皮細胞に対する機械的刺激の作用  
8月7日、東京
- 7) 小宮根真弓：第19回日本乾癬学会：乾癬局面周辺部の免疫組織学的検討  
9月3、4日、山形
- 8) 小宮根真弓：第7回皮膚免疫アレルギー懇話会：HaCaTケラチノサイトからのTARC/CCL17産生におけるシグナル伝達機構  
10月23日、東京

H. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）  
該当なし。

## 当科乾癬外来通院患者279人の血清IgE値の内訳

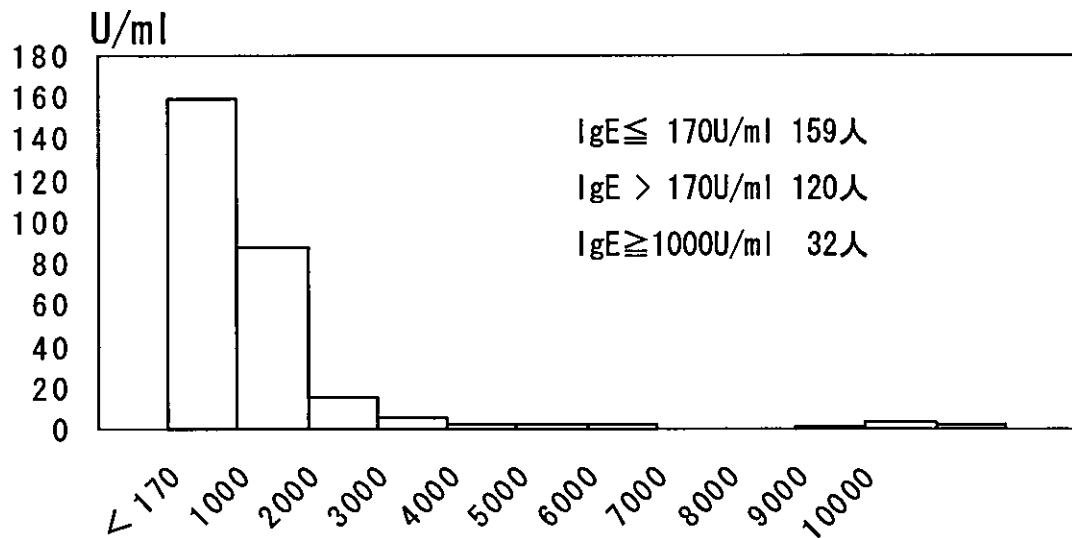


図1a

## アレルギー疾患の既往のある症例

血清IgE  $\leq$  170U/ml      35/80      (43.8%)

血清IgE  $>$  170U/ml      29/65      (44.6%)

血清IgE  $\geq$  1000U/ml      6/18      (33.3%)

図1b

# CTACK

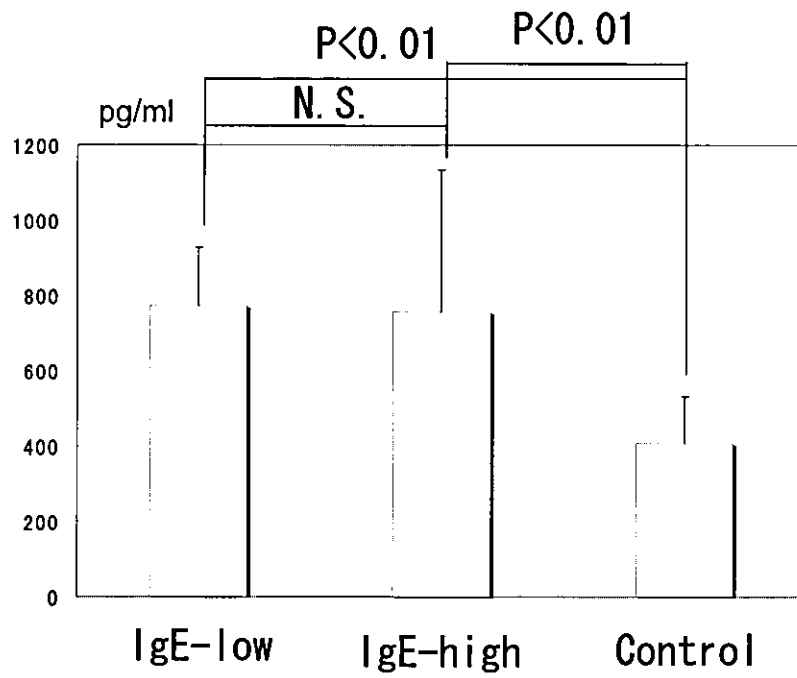


图2a

# TARC

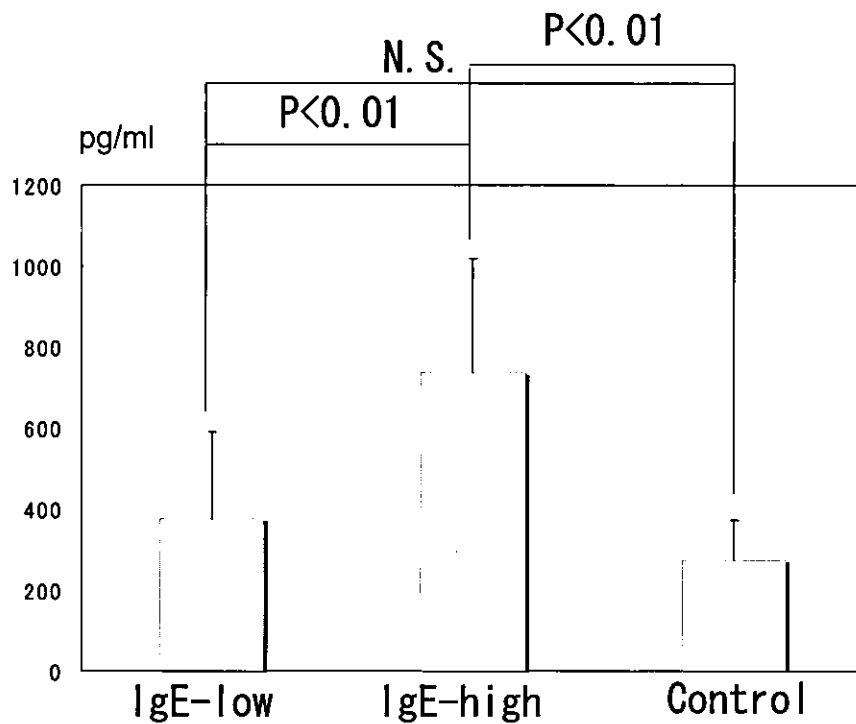


图2b

# IP-10

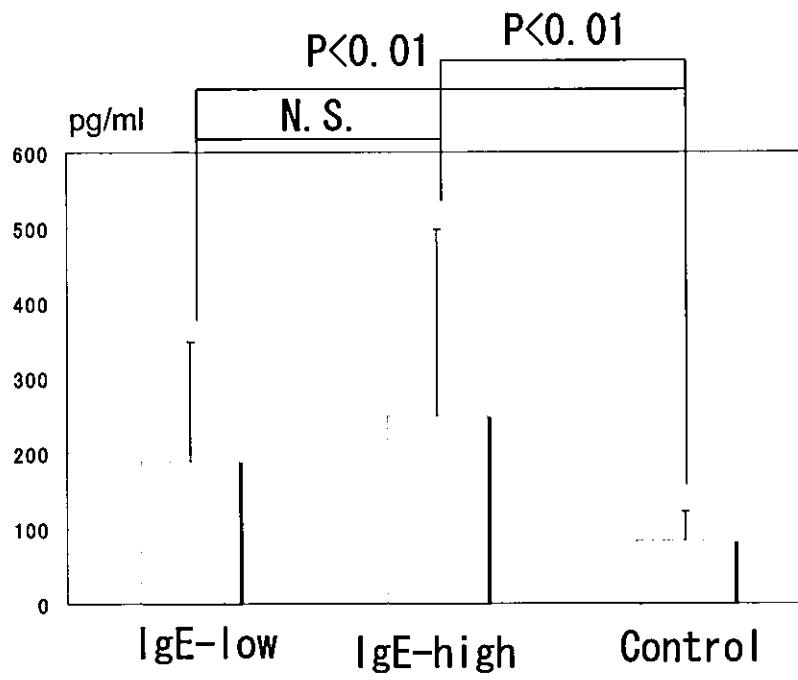


图2c

# sCD40L

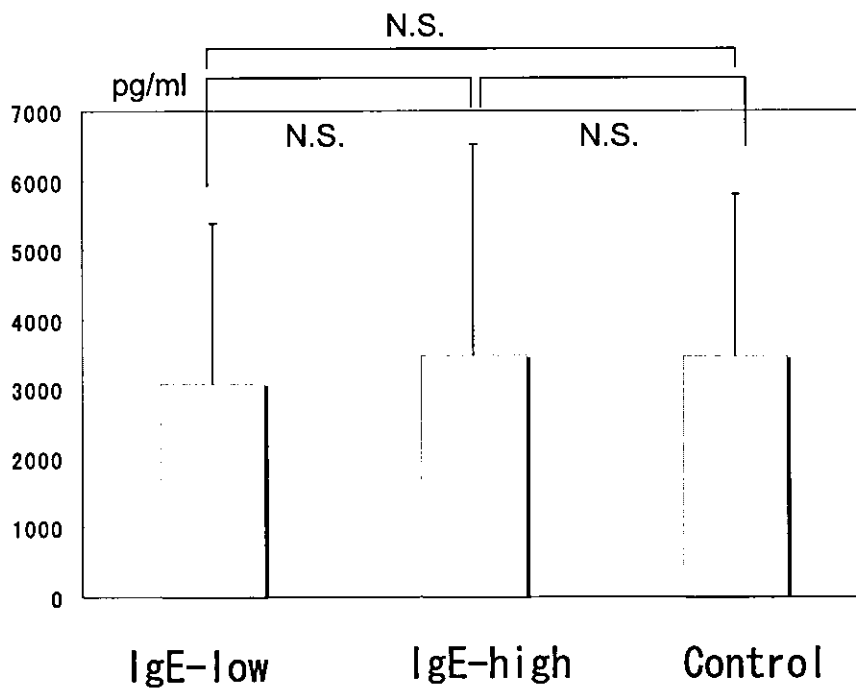


图2d

# sE-Selectin

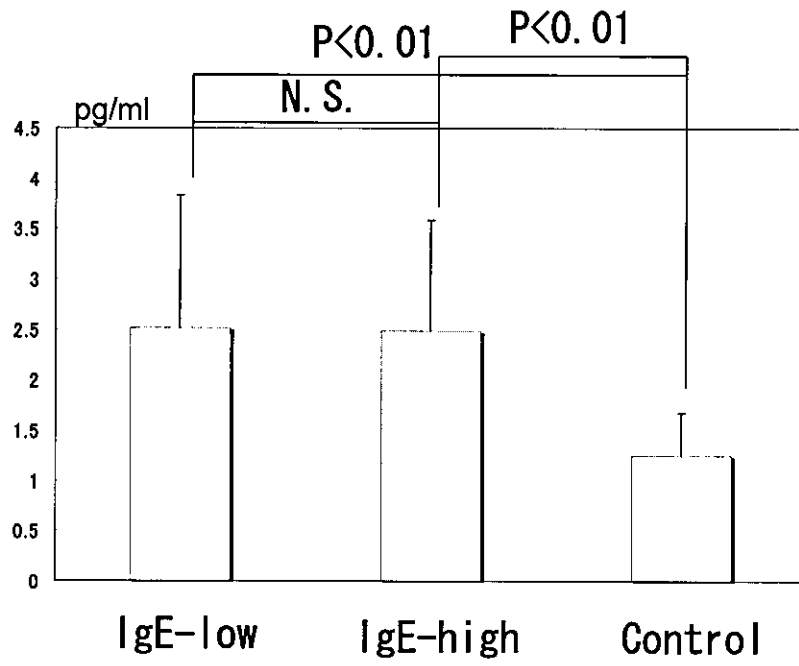


图2e

# IL-4

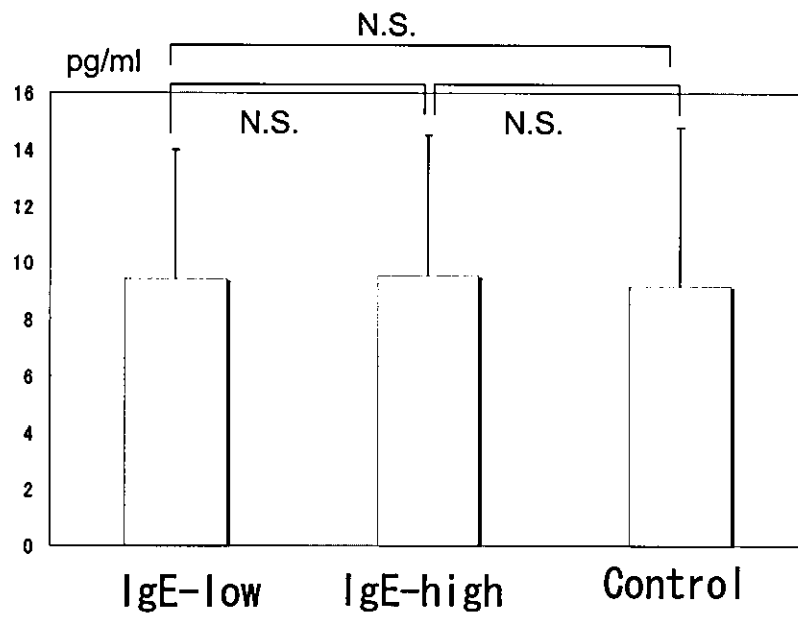
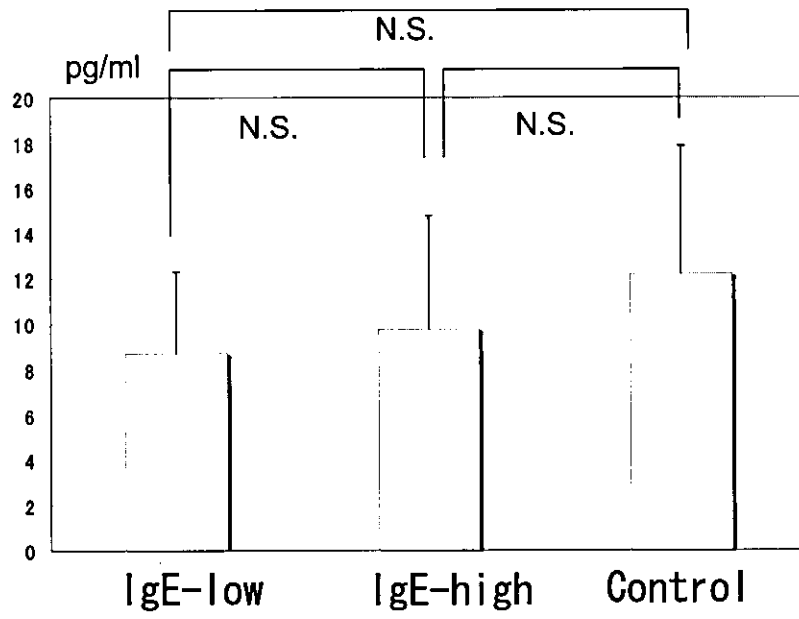


图2f

# GM-CSF



☒2g

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

ゲノムワイドな遺伝的相関解析による乾癬感受性遺伝子の同定

研究協力者 小澤 明 東海大学医学部専門診療学系皮膚科学 教授

**研究要旨** 汎発性膿疱性乾癬の免疫遺伝学的背景、病態形成機序を解明することを目的とし、その前段階として、尋常性乾癬について解析を行う。平成16年度は、マイクロサテライトマーカーを用いたゲノムワイドな遺伝的相関解析を完了した。これらの解析手順・解析結果を踏まえて、汎発性膿疱性乾癬の遺伝子解析に応用していく。

共同研究者  
飯塚万利子  
東海大学医学部専門診療学系講師  
梅澤慶紀  
東海大学医学部専門診療学系講師  
馬淵智生  
東海大学医学部専門診療学系大学院生  
猪子英俊  
東海大学医学部分子生命科学教授  
岡 晃  
東海大学医学部分子生命科学助手  
中山樹一郎  
福岡大学医学部皮膚科学教授  
久保田由美子  
福岡大学医学部皮膚科学助教授  
照井 正  
東北大学大学院医学部内科病態学助教授  
（現・日本大学医学部皮膚科学教授）  
小澤麻紀  
東北大学大学院医学部内科病態学助手  
橋本 隆  
久留米大学医学部皮膚科学教授  
安元慎一郎  
久留米大学医学部皮膚科学助教授  
小川秀興  
順天堂大学学長  
池田志孝  
順天堂大学医学部皮膚科学教授

松本義也  
愛知医科大学皮膚科学教授  
飯島正文  
昭和大学医学部皮膚科学教授  
末木博彦  
昭和大学医学部皮膚科学教授

**A. 研究目的**

汎発性膿疱性乾癬の免疫遺伝学的背景、病態形成機序を解明する。

**B. 研究方法**

多施設から集めた尋常性乾癬患者群および健康対照群の血液由来の DNA を対象とし、マイクロサテライトマーカーを用いてゲノムワイドに遺伝的相関解析を行う。

**C. 研究結果**

これまでにサンプリングした尋常性乾癬患者 437 例のうち 375 例を 3 群（各 125 例）に分けて、3 回のスクリーニングを行った。全染色体にわたって設定した 26,061 個のマイクロサテライトマーカーについて 1 次スクリーニングを行い、2,065 個のマーカーに有意な相関が認められた。これら 2,065 個のマーカーについて 2 次スクリーニングを行い、495 個に有意な相関が認められた。さらに、これら 495 個のマーカーについて



3次スクリーニングを行い、158個に有意な相関が認められた。

この158個の中には多くの偽陽性が含まれているため、1～3次の各集団を対象として、再度、遺伝的相関解析を行い、最終的に有意な相関が認められたマーカーを40個に絞り込んだ。

また、汎発性膿疱性乾癬患者のサンプリングも継続した。

#### D. 考察

マイクロサテライトをマーカーとしたゲノムワイドな遺伝的相関解析は、Pooled DNA typing法を用いた解析の1～3次スクリーニングを完了した。最終的に40個のマーカーに有意な相関が認められ、これらの領域に、乾癬の疾患感受性遺伝子が存在しているものと確信している。

今後はこれら40個のマーカーについて、Individual typing法でさらに偽陽性を排除した後、SNPsをマーカーとした遺伝的相関解析を行い、連鎖不平衡を示す領域を絞り込み、発現遺伝子解析を行っていく。

#### E. 結論

本解析で得られた情報と、これまでに行ったマイクロアレイを用いた遺伝子発現プロファイリング結果とを照らし合わせることで、より迅速な疾患関連遺伝子の同定を目指す。その手法を生かして、汎発性膿疱性乾癬の遺伝子解析を進める。同時に、多施設の協力を得て、汎発性膿疱性乾癬のサンプリングも進める。

#### F. 健康危険情報

特記すべき事項なし

#### G. 研究発表（平成16年度）

##### 1. 論文発表

英語論文

1. Matsuzaka Y, Okamoto K, Yoshikawa Y, Takaki A, Oka A,

Mabuchi T, Iizuka M, Ozawa A, Tamiya G, Kulski JK, Inoko H: *hRDH-E2* gene polymorphisms, variable transcriptional start sites, and psoriasis. *Mamm Genome* 15: 668-75, 2004

日本語論文

1. 梅澤慶紀、小澤 明. 膿疱性乾癬、関節症性乾癬. *皮膚科の臨床* 46: 1556-1563, 2004

日本語著書

1. 梅澤慶紀、小澤 明 (分担). 炎症性角化症. *今日の治療と看護* (改訂第2版)、南江堂、2004、1147-1149

##### 2. 学会発表

1. 馬淵智生、岡 晃、田宮 元、猪子英俊、飯塚万利子、梅澤慶紀、太田幸則、松山 孝、小澤 明. ゲノムワイドな遺伝的相関解析による乾癬感受性遺伝子の同定—第6染色体—、The 29th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology、平成16年4月14—16日、京都
2. 梅澤慶紀、馬淵智生、赤坂江美子、太田幸則、飯塚万利子、松山 孝、小澤 明. 汎発性膿疱性乾癬 (GPP) の6例—厚生労働省の「GPP治療ガイドライン」に基づいた—、第103回日本皮膚科学会総会・学術大会、平成16年4月16—18日、京都
3. 馬淵智生、赤坂江美子、岩下賢一、梅澤慶紀、飯塚万利子、太田幸則、松山 孝、小澤 明、岡 晃、猪子英俊、久保田由美子、中山樹一郎、小澤麻紀、照井 正、安元慎一郎、橋本 隆、池田志孝、小川秀興、松本義也、末木博彦、飯島正文. ゲノムワイドな遺伝的相関解析による乾癬感受性遺伝子の同定—3次スクリーニングにおける解析—、第19回日本乾癬学会、平成16年9月3—4日、山形

4. 松浦浩徳、岩月啓氏、大藤玲子、梅澤慶紀、小澤明、中村晃一郎、金子史男、小児膿疱性乾癬患者の疫学解析、同上

#### H. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得  
特記すべき事項なし
2. 実用新案登録  
特記すべき事項なし
3. その他  
特記すべき事項なし

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

乾癬ゲノムのエピジェネティック解析

研究協力者 本間 好 福島県立医科大学生体情報伝達研究所生体物質 教授

**研究要旨** 尋常性乾癬や膿胞性乾癬の発症や進展とエピジェネティックな変化の関連を明らかにするために、遺伝子のプロモーター領域に含まれる CpG island をスポットしたアレイシステムを構築した。メチル化 DNA を特異的に増幅した PCR 産物 (MAD) を鋳型としてプローブを作製し、乾癬患者の血液由来ゲノム DNA と健常者プールゲノムとを比較した結果、乾癬患者でメチル化状態が変化している可能性のある候補遺伝子十数個を得た。さらに、bisulfite シーケンス法で実際のメチル化を確認すると、少なくとも 1 つの遺伝子領域でメチル化状態の差が認められた。この遺伝子はクラスターを形成している遺伝子群の 1 つであることから、その遺伝子群が乾癬と関連する可能性が示唆された。

共同研究者

畑田出穂

群馬大学・遺伝子実験施設・助教授

尾山徳孝

福島医大・医・皮膚科 講師

鎌滝章央

福島医大・生情研・生体物質 助手

**A. 研究目的**

尋常性乾癬や膿胞性乾癬の病態形成にエピジェネティック因子が関与するかどうかを明らかにする。

**B. 研究方法**

多くの遺伝子のプロモーター CpG island のメチル化を効率よく簡便に検出するために独自のゲノムアレイスクリーニングシステムを開発した。各遺伝子のプロモーター CpG island をクローニングし、各クローンを鋳型にした PCR 産物をアレイ化した。

ゲノムサンプルとして、尋常性乾癬 3 例および膿胞性乾癬 9 例を、またコントロールとして、正常ゲノム 30 例をプールしたものを用いた。プローブは、メチル化ゲノム断片を選択的に増幅する MAD 法 (Hatada

I, et al, J Hum Genet 47:448-451, 2002) で得られた断片を Cy3 または Cy5 で蛍光ラベル化することにより作製した。

メチル化シトシンの確認は、既報に則り bisulfite シーケンス法で行った。

**C. 研究結果**

正常プールドゲノムサンプルおよび患者由来の各ゲノムサンプルより MAD 断片を調製した。これを鋳型としてプローブを作製し、アレイを用いてスクリーニングを行った。得られた結果を数値化し比較した結果、乾癬患者でメチル化状態が変化している可能性のある候補遺伝子十数個を得た。これらの遺伝子領域について、さらに bisulfite シーケンス法で実際のメチル化を確認した。その結果、少なくとも 1 つの遺伝子領域でメチル化状態に明らかに差があることが判明した。この遺伝子はクラスターを形成している遺伝子群の 1 つであることから、現在、正常と乾癬における遺伝子群に含まれる個々の遺伝子の発現の解析を行っている。

一方、患者ゲノム由来 MAD 断片の詳細な情報を得るために、断片をクローニングし、シーケンス解析を行った。その結果、

ある特定のマイクロサテライトが正常に比較して高頻度で含まれることが判明した。

#### D. 考察

ゲノムのメチル化状態を効率よく簡便に検出する独自のアレイスクリーニングシステムを開発した。このシステムはMAD法などと組み合わせることで、メチル化領域の検索に応用できると考えられる。

今回、血液細胞由来のゲノムサンプルを用いて、正常と乾癬患者間でメチル化に違いのあるゲノム領域が存在することを明らかにすることに成功した。今後、サンプル数を増やすことで、乾癬に特異的な現象なのかどうか、また、メチル化の変化が転写レベルにどのように影響するのかについて明らかにする必要がある。

乾癬病態におけるエピジェネティック因子の関与を明らかにすることは極めて重要で、このためにはケラチノサイトにおけるゲノムメチル化やタンパク質発現の解析が必要となる。今回見出した血液細胞の変化と同様の変化が見出せるかどうかは鍵となる。

#### E. 結論

プロモーター CpG island のメチル化状態を効率よく簡便に検出する独自のゲノムアレイシステムを開発した。

乾癬患者および正常由来のゲノムを用いたスクリーニングにより、両者でメチル化状態の異なる遺伝子が存在することや、マイクロサテライトが存在することが明らかとなった。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表 (平成16年度)

##### 1. 論文発表

1. Sekimata M, Homma Y: Sequence-specific transcriptional repression

by an MBD2-interacting zinc finger protein MIZF. *Nucleic Acids Res* 32:590-597, 2004

2. Yamaga M, Sekimata M, Fujii M, Kawai K, Kamata H, Hirata H, Homma Y, Yagisawa H: A PLC $\delta$ 1-binding protein, p122/PhoGAP, is localized in caveolin-enriched membrane domains and regulates caveolin internalization. *Genes Cells* 9:25-37, 2004
  3. Li Y, Mori T, Hata H, Homma Y, Kochi H: NIRF induces G1 arrest and associates with Cdk2. *Biochem Biophys Res Commun* 319:464-468, 2004
  4. Kawai K, Yamaga M, Iwamae Y, Kiyota M, Kamata H, Hirata H, Homma Y, Yagisawa H: A PLC-delta1-binding protein, p122Rho GAP, is localized in focal adhesions. *Biochem Soc Trans* 32:1107-1109, 2004
  5. Sekimata M, Homma Y: Regulation of RB gene expression by an MBD2-interacting zinc finger protein MIZF during miogenic differentiation. *Biochem Biophys Res Commun* 325:653-659, 2004
  6. 本間好: 皮膚の増殖と分化のシグナリング. 日本小児皮膚科学会雑誌 印刷中
  7. 本間好: 疾患エピジェネティクスの解析. 適応医学 印刷中
2. 学会発表
  1. Homma M, Homma Y: Nuclear localization of CK2 associated with the progression of cell cycle. 第77回生化学会大会, 2004
  2. Sekimata M, Homma Y: DNA methylation downregulates vimen-

- tin gene expression in rat C6 glioma cells. 第77回生化学会大会, 2004
3. Kamataki A, Kikuchi M, Yamaki J, Homma Y: Identification of genes whose methylation status is altered in psoriasis. 第77回生化学会大会, 2004
  4. Homma Y: Microarray-based detection of methylated CpG islands. 10<sup>th</sup> Int Charles Heidelberger Sympo, 2004
- G. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）  
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

膿疱性乾癬の病因と治療

—膿疱性乾癬における Kogoj 海綿状膿疱の形成メカニズムの解析—

研究協力者 照井 正 日本大学医学部皮膚科 教授

**研究要旨** 膿疱性乾癬では好中球が肉眼的な膿疱を形成するし、好中球をターゲットとする治療が奏功することから、好中球が本症の病変形成に重要な役割を果たしていると考えられる。病理組織学的に病初期から好中球が表皮内に浸潤し、肉眼的な膿疱形成の時期には浸潤した好中球の集まりに一致して表皮細胞の変性像（Kogoj 海綿状膿疱）がみられる。昨年度は好中球集積に IL-8 と補体由来の C5a アナフィラトキシンが共同して関与することを免疫組織学的に示した。今年度は、Kogoj 海綿状膿疱の形成メカニズムを明らかにする目的で、膿疱性乾癬病変部における Fas と FasL の発現を免疫組織学的に検討した。その結果、膿疱周囲のケラチノサイト（EK）は Fas だけでなく FasL を発現していた。一方、膿疱内に浸潤した好中球は Fas を発現していなかったが、FasL を発現していた。以上の結果から膿疱性乾癬では好中球と EK 自身の発現する FasL が引き金となり、Fas を発現する EK の apoptosis を誘導することが推察された。次に、上記実験結果を機能的に確認する目的で好中球による培養EK傷害モデルの作成を試みた。Th1 サイトカインである IFN $\gamma$  の存在下で EK を二次元培養すると好中球の有無にかかわらず表皮角化細胞が培養プレートからはがれ落ち、好中球の影響を観察することができなかった。そこで三次元培養ヒト皮膚（Testskin Matrex）に低容量の IFN $\gamma$  と非動化していない FBS を加え一晩培養した後、好中球と共培養したところ角層内～角層下への好中球集積像が再現できた。今後、このモデルは膿疱形成機序の解析と治療の開発に役立つと考える。

共同研究者

小澤麻紀

東北大学大学院医学系研究科皮膚科学分野

助手

馬淵知生

東海大学医学部皮膚科大学院

梅澤慶紀

東海大学医学部皮膚科講師

小澤 明

東海大学医学部皮膚科教授

清水秀直

日本大学医学部皮膚科助手

原 弘之

日本大学医学部皮膚科助教授

状膿疱の形成における好中球の役割を明らかにする。

**B. 研究方法**

膿疱性乾癬患者 4 人から生検を行い、凍結切片を作成し、免疫組織化学染色を施行した。マウス抗ヒト Fas ならびに FasL モノクローナル抗体は Santa Cruz (USA) から、購入した。Blocking peptide (B10, N-20) も Santa Cruz から購入した。

二次元培養に用いた表皮細胞と三次元培養ヒト皮膚 (Testskin Matrex) は Toyobo (Japan) より購入した。

表皮細胞の刺激に用いた IFN $\gamma$  と胎児ウシ血清 (FBS) は Sigma より購入した。

ヒト好中球は静脈血から Polymorphprep を用いて遠心分離した。

**A. 研究目的**

膿疱性乾癬の病変部における Kogoj 海綿

### C. 研究結果

膿疱周囲のケラチノサイト (EK) は Fas だけでなく FasL を発現していた。一方、膿疱内に浸潤した好中球は Fas を発現していなかったが、FasL を発現していた。Fas と FasL の発現の特異性は Blocking peptide (B10, N-20) で確認した。以上の結果から膿疱性乾癬では好中球と EK 自身の発現する FasL が引き金となり、Fas を発現する EK の apoptosis を誘導することが推察された。

次に、上記実験結果を機能的に確認する目的で好中球による培養 EK 傷害モデルの作成を試みた。IFN  $\gamma$  の存在下で EK を二次元培養すると好中球の有無にかかわらず EK が培養プレートからはがれ落ち、好中球の影響を観察することができなかった。

そこで三次元培養ヒト皮膚 (Testskin Matrex) を用いて検討した。まず、低容量の IFN  $\gamma$  を加え一定時間培養した後、好中球と共培養した (6 時間)。好中球の集積は認められなかった。次いで、IFN  $\gamma$  とともに活性を保持する補体成分を補い (0.5% FBS) 一晚培養した後、好中球と共培養したところ角層内～角層下への好中球集積像が再現できた。IFN  $\gamma$  を加えずに、0.5% FBS のみと前培養しても好中球の浸潤は認められなかった。

### D. 考察

Kogoj 海綿状膿疱の形成メカニズムを明らかにする目的で、膿疱性乾癬病変部における Fas と FasL の発現を免疫組織組織学的に検討した。その結果、膿疱形成周囲 EK は Th1 サイトカインなどの影響を受け、apoptosis 誘導能を持つ Fas を発現していることが分かった。さらに、膿疱内に集積した好中球は Fas に結合する FasL を発現し EK の apoptosis 誘導に関与していることが示唆された。加えて、中毒性表皮壊死 (TEN) の病変部と同様に膿疱周囲 EK はそれ自身 FasL を発現しているこ

とが明らかとなった。

乾癬の発症に Th1 サイトカインである IFN  $\gamma$  が重要であることが示唆されている。IFN  $\gamma$  は EK に対して種々の効果を示し、Fas の発現誘導の他に、好中球遊走に重要な働きをする IL-8 や補体成分 C3 の産生を増強することが知られている。

今回行った免疫組織学的実験の結果 Kogoj 海綿状膿疱の形成に Fas/FasL が関与することが示唆されたが、その事実を機能的に解析できるモデル作成を試みた。二次元培養では、培養 EK が Fas ならびに FasL を発現しており、好中球の機能を解析するに至らなかった。そこで三次元培養ヒト皮膚 (Testskin Matrex) を購入し、以下の実験を行った。IFN  $\gamma$  (0.01～100 ng/ml) 単独で一晩前処理した後、好中球を加えて培養 (6 時間) したが、好中球集積像は観察されなかった。IFN  $\gamma$  (0.05 ng/ml) に加えて、熱非働化した血清の添加 (0.5% heat-inactivated FBS) では好中球集積は認められなかったが、非働化していない血清 0.5% FBS) を添加すると角層内～角層下に好中球の集積像が観察された。

この事実から、好中球集積に Th1 サイトカインである IFN  $\gamma$  の影響 (IL-8 の産生など) と補体の活性化が重要であることが示唆された。

### E. 結論

膿疱性乾癬で観察される Kogoj 海綿状膿疱の形成に Fas/FasL が関与していることを示した。三次元培養ヒト皮膚を用いた実験の結果、IFN  $\gamma$  の影響と補体の活性化が角層内への好中球集積に重要であることが分かった。今後、このモデルを用いて Fas/FasL の機能解析や膿疱性乾癬の治療薬の開発に有用であることが期待される。

### F. 健康危険情報

特になし。

## G. 研究発表（平成16年度）

### 1. 論文発表

#### 英語論文

1. Ozawa M, Terui T, Tagami H:  
Localization of IL-8 and comple-  
ment components in lesional skin  
of psoriasis vulgaris and pust-  
ulosis palmaris et plantaris. Der-  
matology (in press)

#### 日本語論文

1. 膿疱性疾患の診断に必要な検査と鑑別  
疾患. 実践. 外来に必要な皮膚科検査  
法ハンドブック. 編集企画 原田敬之、

編集主幹 飯島正文、塩原哲夫. 全日  
本病院出版会. pp109-117, 2004.

### 2. 学会発表

なし

## 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。

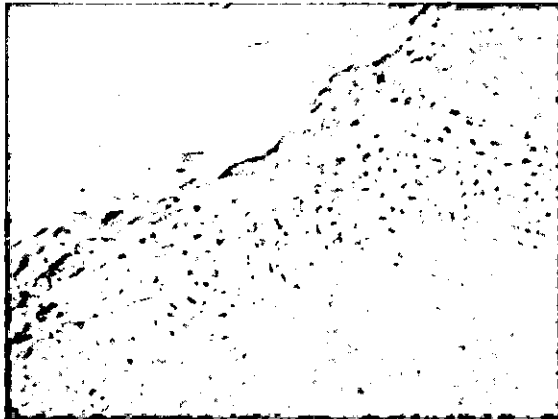
### 2. 実用新案登録

なし。

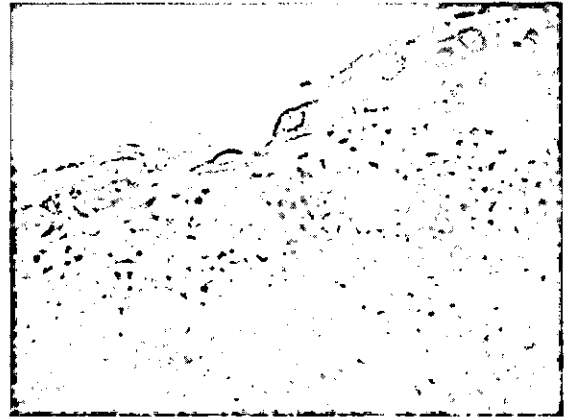
### 3. その他

なし。





A) Fas

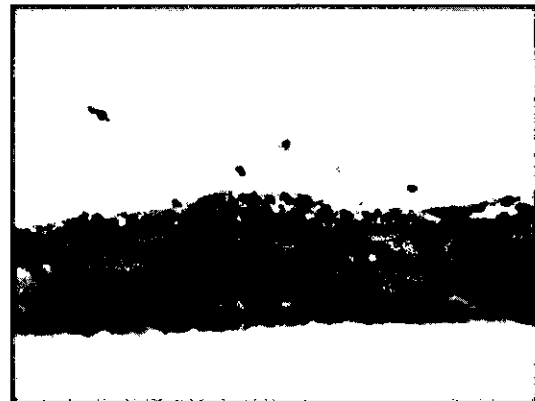


B) Fas L

図1. 膿疱性乾癬病変部における Fas/FasL の発現。A: 集積した好中球は Fas 発現していないが、その周囲の表皮細胞が陽性であった。B: 好中球と周囲表皮細胞のいずれもが陽性であった。



A) IFN $\gamma$ 単独



B) IFN $\gamma$ と FBS

図2. IFN $\gamma$ と非動化していない血清との preincubation で好中球の角層内集積が誘導された。A: IFN $\gamma$  (100~0.01 ng/ml)単独の preincubation (overnight)では角層内への好中球浸潤は認められなかった。B) IFN $\gamma$  (0.05 ng/ml)に加えて活性の保持されている補体成分をふくんでいる FBS (0.5%)を添加して preincubation (overnight)した後、好中球と加えて培養(6時間)すると角層内に多数の好中球が集積する像が再現できた。

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

膿疱性乾癬の病因と診断・重症度ガイドラインおよび疫学データに関する研究

分担研究者 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

**研究要旨** 膿疱性乾癬の診断基準と重症度基準を見直し、現状に即した鑑別診断や検査項目を取捨選択し、認定指針と個人調査票を全国統一様式に改訂し、今後の疫学調査を可能にした。日本乾癬学会登録データから膿疱性乾癬症例を抽出し疫学的検討を行い、重症度の層別化と年齢による層別化解析を施行した。特に小児膿疱性乾癬の臨床的特徴について明らかにした。膿疱性乾癬 QOL を中心とした一次全国調査を完了し、現在、二次調査を実施中であり、第1回中間報告を行った。この二次調査結果をもとに診断および重症度判定に必要な診断項目の見直しを行っている。山陽地区に岡山皮膚難病支援ネットワークを設立し、行政とともに支援を実践する難病医療拠点のプロトタイプを形成した。

研究協力者

小澤 明

東海大学医学部専門診療学系（皮膚科学）  
教授

共同研究者

松浦浩徳

岡山大学医学部・歯学部附属病院 講師  
梅澤慶紀

東海大学医学部専門診療学系（皮膚科学）  
講師

馬淵智生

東海大学医学部専門診療学系（皮膚科学）  
助手

A. 研究目的

1. 膿疱性乾癬の診断、重症度、治療ガイドラインの再評価をもとに、疫学調査に対応可能な全国統一の改訂認定基準と臨床個人票を作成する。
2. 乾癬における「膿疱性」乾癬症例の位置付けを明らかにし、疫学的データの年次報告を行い、情報を提供する。
3. 膿疱性乾癬患者の疫学調査、とくにQOL や経過・予後を知るための全国調

査を実施する。

4. 膿疱性乾癬の病因を理解し、適切な治療法を選択するために炎症反応の解析、特に好中球性炎症と表皮由来分子との連鎖の解明を行う。
5. 患者支援ネットワークの設立

B. 研究方法

1. 膿疱性乾癬の診断・治療・重症度の標準化を目的として、集積した症例についてガイドラインの検証を行う。その結果から診断、検査項目の取捨選択を行い、疫学的データベースとなり得る臨床調査個人票の改訂を実施する。
2. 日本乾癬学会倫理委員会の承認のもとで、登録データから乾癬全病型における膿疱性乾癬の頻度、年齢分布を調査する。小児例における特徴を明確にし、治療ガイドライン作成上とする。
3. 膿疱性乾癬の QOL 評価のため一次調査で回答のあった施設に対して SF-36v2 を用いた二次調査を実施する。二次調査の前に岡山大学、岐阜大学の倫理委員会にて QOL 調査に関して審査を受ける。
4. 膿疱性乾癬皮膚病変の病態について、

好中球性炎症反応に関わるサイトカインの検討を行った。

5. 岡山大学医学部・歯学部附属病院を拠点として、関連病院、行政機関を組み入れた岡山皮膚難病ネットワークを設立した。

## C. 研究結果

### 1. 膿疱性乾癬の改訂認定基準と個人臨床調査票および重症度調査結果

これまでの膿疱性乾癬全国調査の集積データをもとにして、診断の精度を高めるために認定基準改訂を施行した(資料1、2)。

また、重症度ガイドラインに準拠した検査項目を選択肢、異常値を設定した。重症度ガイドラインを用いて重症度を階層化すると、330症例の膿疱性乾癬症例のうち抽出できた症例は118例であった。スコア(最高点21)のうち(0-6) 34例(28.8%)、(7-14) 67例(56.8%)、(15-21) 17例(14.4%)に分布していた。スコアによって大まかに階層化することは可能と考えられた。

### 2. 膿疱性乾癬の疫学調査

#### 1) 本邦における膿疱性乾癬

本邦における汎発性膿疱性乾癬(GPP)症例数は、厚生労働省特定疾患事業給付者数から算定すると約1,300名である。日本乾癬学会の登録データでは、毎年約1,800名程度の乾癬新規登録患者のうち約1%がGPPの新規発症患者である。日本乾癬学会の倫理委員会承認のもとに乾癬患者年次登録データ(1995年~2001年)からGPP症例を抽出して解析を行った。調査期間に111名のGPP患者が登録されており、全乾癬患者数に占めるGPPは、年間平均16名(乾癬の0.9%)の登録があり、従来の報告と大きな変化は認められなかった(大藤ら、膿疱性乾癬の疫学と重症度階層化の試み、第18回日本乾癬学会記録集 2004, 109-110)。これまで稀少難治性皮膚疾患調査研究班

で実施された全国疫学調査の報告と同様に、発症年齢分布で女性の若年者が多い傾向が認められ、男性：女性の性比は0.6であった。

GPP治療では、単独治療としてステロイドとレチノイドが同程度に使用されており、これらを軸にPUVA、シクロスポリンが併用されることが多く、複数の治療を試みた症例も認められた。2003年までの日本乾癬学会乾癬患者登録データからGPP患者データを抽出し解析した結果、GPP再発時の重症度評価では80%が不変ないし悪化しており、再発をいかに予防するかが課題であると考えられた。

#### 2) 小児膿疱性乾癬の臨床的特徴

GPP症例のうち小児例(16歳以下)は13例(男児1例、女児12例)で、GPP全体の11.7%を占めており、10歳未満のものは8例みられた。小児GPPでは女児発生の割合がGPP全体よりもさらに増加していた(岩月ら、小児皮膚科学会誌、印刷中)。本邦のGPPの病型としては、尋常性乾癬が先行しない小児GPPが13例中9例(69%)を占めていたが、尋常性乾癬が先行するものも4例(31%)に認められた。

合併症として感染症、扁桃炎、歯牙感染が認められ、悪化因子としてストレス、日光、感染症、季節因子、外傷が登録されていた。一般血液検査では、白血球数増加、IgG増加、IgM増加、IgE増加、尿酸上昇、リウマチ因子陽性が認められた。また、Turner症候群に伴うGPPの症例報告が複数みられた。

臨床症状の重症度は、13例中12例が重症・中等症に該当していた(ただし、医師の評価であり、重症度分類に照合させたデータではない)。初回登録時にすでにGPPの既往が有するものが6例(46%)認められた。初診時あるいは初発時の重症度と再発時の重症度を比較す

ると、両者がともに重症の場合や同程度の場合が約80%であった。すなわち、GPPは再発性であり、しかも、再発時には以前の症状と同様に激しい症状を示すことが多く、軽快傾向が少ないと考えられた。小児例の治療ではやはりレチノイド・抗炎症剤が治療の主体であるが、成人例とくらべてシクロスポリン内服を選択する場合が増加していた。

### 3. 膿疱性乾癬のQOL調査

一次調査を皮膚科認定施設(561施設)に行った(資料3)。この全国調査で、146施設に370名のGPP患者が受診していることが判明した。岡山大学、岐阜大学の倫理委員会にてQOL調査に関して審査を受けた後、一次調査で回答のあった146施設に対してSF-36v2を用いた二次調査を実施した(資料4)。2004年11月現在、27例の回答があり、その解析結果は班会議において中間報告した。すべての回答を待ち、解析を実施する。今回の調査では、QOL調査と同時に重症度/治療評価調査票を用いた膿疱性乾癬症例の重症度および治療経過を評価も実施している。

### 4. 膿疱性乾癬の病態について

膿疱性乾癬における角層下無菌性膿疱形成にはIL-10、LTB4、表皮角化細胞由来補体因子が重要であり、関節症状などの全身症状には単球由来サイトカインが重要な役割を果たしている。また、上皮成長因子受容体チロシンキナーゼ阻害剤によって高率に形成角層下無菌性膿疱が形成されることが判明した(松浦ら、上皮成長因子受容体チロシンキナーゼ阻害剤(Gefitinib)による皮膚症状、アレルギーの臨床、印刷中)。表皮増殖シグナルと炎症メディエーターの関連についてさらに検討中である。

### 5. 患者支援ネットワークの設立

2003年7月27日、岡山皮膚難病支援ネッ

トワーク設立とした(岩月啓氏、皮膚難病の現況と展望、1)後天性皮膚難病、日本臨床皮膚科医会雑誌 2004、82:348-351)

### D. 考察

1. 膿疱性乾癬診断・重症度基準の見直し  
膿疱性乾癬認定基準改訂の骨子は、除外疾患として薬剤誘発性無菌性膿疱を加えて診断精度を向上された点と、重症度に即した検査項目と異常値を設定した点、および申請更新時に尋常性乾癬の一時的膿疱化症例などの不適切症例を除外でき、治療反応性を評価できるように改訂した点である。また、QOL調査とともに進めている重症度/治療評価の臨床データ解析によって、重症度や治療経過の判定をもとにして、基準の鋭敏度や特異度を検討してガイドラインを再度見直す予定である。

### 2. 疫学的調査

膿疱性乾癬の疫学的調査に関しては永続的にデータを蓄積できるシステムはこれまで存在しなかった。今回の全国統一の改訂臨床個人票(新規、更新)はデータベース構築に大きく寄与できるものと考えられる。臨床医の手を離れた個人票を有効な形でデータベース化するのは行政側の努力に拠るところが大きい。本研究班との連携のもとに貴重なデータを有効利用することが望まれる。

### 3. 膿疱性乾癬QOL調査

膿疱性乾癬においては初めての全国規模のQOL調査である。SF-36v2を用いた調査であり、健常人や他疾患との比較が可能であり、近々、本症患者のQOLの実態が明らかにでき、医療行政や地域医療のあり方を示唆するデータになるものと期待される。

### 4. 膿疱性乾癬の病態について

膿疱性乾癬の病態は依然として未解明の