

200500608A

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17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 木下 茂

平成18（2006）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. 培養粘膜上皮シート作成法に関する研究		
および重症多形滲出性紅斑の病態に関する研究	-----	3
木下 茂		
2. 重症多形滲出性紅斑における眼合併症の解析		
および培養粘膜上皮移植の実施と解析	-----	8
外園千恵		
3. 重症多形滲出性紅斑 (SJS)、中毒性表皮壊死症 (TEN)、薬剤性過敏症症候群 (DIHS) の		
診断基準2005に基づいた重症度スコア作成の試み	-----	13
(資料 診断基準2005)		
橋本公二		
4. 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		
ー培養粘膜上皮移植の実施、手術適応の検討ー	-----	23
坪田一男		
5. 培養粘膜上皮移植の国内移送、実施に関する研究	-----	28
大橋裕一		
6. 培養粘膜上皮シート作成技術の開発	-----	30
小泉範子		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	33
IV. 研究成果の刊行物・別刷		

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、培養粘膜上皮移植の実施と解析、培養粘膜上皮シート作成法の改善、新たな細胞ソースの検討を行った。また重症多形滲出性紅斑における眼合併症の詳細を解析し、皮膚科所見と合わせて総合的に検証した。診断基準 2005 を作成した。

分担研究者

外園千恵（京都府立医科大学・講師）

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）

小泉範子（同志社大学・助教授）

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

S J 症候群多数例の眼所見を客観的に評価し、眼合併症の詳細を検討した。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検討した。継続的に培養粘膜上皮移植を実施するとともに、分担研究の二施設へ培養角膜上皮シートを移送して手術を実施する多施設研究を行った。培養上皮シートの安全性をより向上させるため、牛血清ではなく患者自己血清を用いた培養上皮シート作成を行い、その安全性と有効性を検討した。培養粘膜上皮シートの新しい細胞ソースとして、結膜組織内に存在し、角膜上皮に分化しうる幹細胞について詳細な解析を行った。患者および健常ボランティアの末梢血より単球

を分離し、自然免疫応答の異常の有無を Gene Chip を用いて解析した。

C. 研究結果

角膜上皮幹細胞の疲弊・消失、眼瞼および角結膜の癬痕性変化が眼合併症の特徴であり、角膜混濁、角膜血管侵入、結膜侵入が視力に強く影響した。皮膚科および眼科所見を相互に検討し、SJ 症候群の診断基準 2005 の副所見として「角膜上皮障害と偽膜形成のどちらかあるいは両方を伴う両眼性の非特異的結膜炎」を追加した。培養口腔粘膜上皮移植は自家移植であることから合併症が少なく、重症の癬痕性角結膜上皮症に対する有用な治療であると考えられた。培養角膜上皮シートの移送に伴う不利益はなく、他施設においても良好な治療経過を得ることができた。患者自己血清を用いた培養上皮シートの組織所見は良好であり、臨床使用においても問題を生じなかった。ヒト正常結膜細胞の中に角膜上皮に分化しうる細胞が存在することを明らかとした。患者および健常ボランティアの末梢血の反応性の違いにより、S J 症候群患者に自然免疫応答の異常が存在することが推測された。

D. 考察

眼合併症の解析結果より、急性期に角膜上皮幹細胞の消失を生じることが視力障害の最も大きな要因であることが判明した。眼合併症の発症を回避するため、発症初期

より眼科医を含む医療チームが治療にあたることを望ましい。視力障害を生じた患者においては、これまで視機能の回復を得る有効な治療法がなかったが、本研究において開発した培養粘膜上皮移植は新しい治療法としてほぼ確立しつつある。培養上皮シートを作成する際の細胞ソースとして結膜組織が使用できる可能性がある。本症候群発症には何らかの自然免疫応答の異常が関与する可能性が高い。

E. 結論

本研究班により培養粘膜上皮移植を多施設で実施し、その有効性と合併症を検討した。次年度は培養粘膜上皮移植の長期経過について総合的に検討し、本疾患の視力予後改善のために病態に関する検討を引き続き行う予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表（平成 17 年度）

各分担研究の項および巻末に記載した。

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

培養粘膜上皮シート作成法に関する研究
および重症多形滲出性紅斑の病態に関する研究

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 培養上皮シートの安全性をより向上させるため、牛血清ではなく患者自己血清を用いた培養上皮シート作成を行い、その組織所見および術中術後経過に問題のないことが明らかとした。ヒト正常結膜細胞の中に角膜上皮に分化しうる細胞が存在することを明らかとした。このことより、培養上皮シートを作成する際の細胞ソースとして結膜組織が使用できる可能性が考えられた。I κ B- ζ KO マウスで生じる眼表面の炎症は結膜杯細胞の消失を伴い、S J 症候群と極めて類似する所見を呈した。I κ B- ζ による炎症の抑制機構ならびに I κ B- ζ KO マウスにおける炎症発症機序の解明が、SJS をはじめとする眼表面炎症性疾患の病態の解明につなが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。平成 17 年度には、1) 培養上皮の安全性を高めるために、牛血清ではなく患者自己血清を用いた培養上皮シートの作成を行い、その組織所見と臨床成績を検討した。2) 結膜細胞が自家

移植の新たな細胞ソースとなるかどうかについて検討した。3) SJ 症候群における自然免疫応答異常の関与を検討する目的で患者の末梢血単球を用いた遺伝子発現解析を行った。

B. 研究方法

1) 患者自己血清を用いた培養上皮シート作成：京都府立医大眼科で 2004 年 2 月から 2005 年 3 月までに眼表面再建術を施行した培養角膜上皮移植患者 8 例 8 眼、培養口腔粘膜上皮患者 7 例 7 眼を対象とし、自己血清による培養上皮シート作成を行った（平均観察期間は 11.8 ± 4.1 M）。自己血

清で作成した培養上皮シートの形態学的、細胞生物学的考察を、種々の細胞骨格タンパクや基底膜関連蛋白に対する免疫染色法、走査型および透過型電子顕微鏡を用いて解析した。また培養上皮シート移植後の眼表面における生着性を検討した。

2) 結膜細胞の角膜上皮細胞分化の可能性に関する検討：ヒト結膜上皮におけるケラチン 12 の発現を免疫染色、ウエスタンブロット、RT-PCR、in situ hybridization、FACSにて調べた。またレーザーマイクロキャプチャーにて結膜上皮内のケラチン 12 陽性細胞を採取し、iAFLP 法にて遺伝子発現プロファイルを調べた。さらに colony-forming assay にてこれらの細胞のコロニー形成能について検討した。

3) 自然免疫応答異常に関する解析：SJ 症候群患者4人と健常人3人の末梢血から単球を分離し、非刺激群と LPS (100ng/ml) 刺激群に分け、1時間 10%FCS/RPMI1640 にて培養した。培養後、RNAeasy にて totalRNA を回収後、Affymetrix 社製の GeneChip を用いて遺伝子発現解析を行い、比較検討した。

C. 研究結果

1) 患者自己血清を用いた培養上皮シート作成：自己血清を用いて作成した培養上皮シートは、FBS を用いた培養上皮シートと同様に、独自の分化型ケラチン、基底膜関連タンパクの染色性を示した。電子顕微鏡による考察では細胞境界は明瞭に構成され、その表層は粘膜上皮の特徴である微絨毛が

観察された。上皮細胞間は無数のデスモゾームで接着しており、また羊膜基質とはヘミデスモゾームにより基底膜を構築し、正常角膜上皮、口腔粘膜上皮と同等であることがわかった。術後早期 (2-7日) における培養上皮の眼表面での生着を全例 (100%) で確認した。2段階以上の視力改善が認められた症例は、培養角膜上皮移植7例 (88%)、培養口腔粘膜上皮移植6例 (86%) であった。

2) 結膜細胞の角膜上皮細胞分化の可能性に関する検討：結膜上皮内には1%弱の割合でケラチン 12 陽性細胞が存在していた。iAFLPによる網羅的遺伝子発現解析の結果、結膜上皮内のケラチン 12 陽性細胞の遺伝子発現パターンは角膜上皮細胞のそれと極めて類似していることがわかった。また colony-forming assay ではケラチン 12 陽性のコロニーが得られ、この細胞群に対する幹細胞の存在が示唆された。

3) 自然免疫応答異常に関する解析：

考察

1) 患者自己血清を用いた培養上皮シート作成：自己血清を用いた培養上皮移植術は、従来のウシ胎児血清 (FBS) を用いた移植法と同等の細胞生物学的特徴、臨床効果を示し、より安全で倫理面に配慮した移植法であることがわかった。

2) 結膜細胞の角膜上皮細胞分化の可能性に関する検討：結膜上皮内に存在するケラチン 12 陽性細胞は角膜上皮細胞と類似の

細胞学的特性を持ち、結膜上皮内で孤立性に自己複製・維持を行っているのではないかと考えられた。これらの細胞を結膜上皮より選択的に採取することができれば、結膜上皮から角膜上皮を再生することが可能となるかも知れないと考えられた。

3) 自然免疫応答異常に関する解析：

E. 結論

培養上皮シート作成に牛血清ではなく自己血清を用いることが可能であり、臨床経過も良好であったことより、これまでよりも安全な培養技術を確立した。結膜細胞を培養自家移植の細胞ソースとして使用できる可能性が示された。本疾患の病態に自然免疫の異常が素因として関与している可能性がある。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表 (平成 16 年度)

1. 論文発表

英文

1. Cooper LJ, Kinoshita S, German M, Koizumi N, Nakamura T, Fullwood NJ. An investigation into the composition of amniotic membrane used for ocular surface reconstruction. *Cornea*. 24 (6):722-9, 2005.
2. Ueta M, Hamuro J, Kiyono H, Kinoshita S: Triggering of TLR3 by polyI:C in human corneal epithelial cells to induce inflammatory cytokines. *Biochem Biophys Res Commun* 331:285-294,2005.
3. Ueta M, Hamuro J, Yamamoto M, Kaseda K, Akira S, Kinoshita S: Spontaneous Ocular Surface Inflammation and Goblet Cell Disappearance in I κ B ζ Gene-Disrupted Mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46:579-588, 2005.
4. Nakamura T, Ishikawa F, Sonoda K, Hisatomi T, Qiao H, Yamada J, Fukata M, Ishibashi T, Harada M, Kinoshita S: Characterization and distribution of bone-marrow derived cells in mouse cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46:497-503, 2005.
5. Kawasaki S, Tanioka H, Yamazaki K, Connon CJ, Kinoshita S: Expression and tissue distribution of p63-isoforms on human ocular surface epithelia. *Exp Eye Res*. 82(2):293-9, 2006.
6. Connon CJ, Nakamura T, Quantock AJ, Kinoshita S. The persistence of transplanted amniotic membrane in corneal stroma. *Am J Ophthalmol*. 141(1); 190-2: 2006.
7. Nakamura T, Ang LPK, Rigby H, Sekiyama E, Inatomi T, Sotozono C, Fullwood NJ, Kinoshita S. The use of autologous serum in the development of corneal and oral epithelial equivalents in patients with Stevens Johnson syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 47; 909-916: 2006.

2. 学会発表

国際学会

1. Mayumi Ueta, Junji Hamuro, Masahiro Yamamoto, Shizuo Akira and Shigeru Kinoshita. Spontaneous Ocular Surface Inflammation and Goblet Cell Disappearance in $\text{I}\kappa\text{B}\zeta$ Gene-Disrupted Mice. 2005 Keystone Symposia, Innate Immunity to Pathogens, Steamboat Springs, Colorado, USA, 2005.1.11.
2. Kawasaki S, Tanioka H, Yamasaki K, C.J. Connon, Kinoshita S: Expression and Tissue Distribution of P63-Isoforms on Ocular Surface Epithelia. Association for Research in Vision and Ophthalmology 2005 Annual Meeting, Fort Lauderdale, Florida, 2005.5.2.
3. Tanioka H, Kawasaki S, Yamasaki K, Inatomi T, Koizumi N, Nakamura T, Yokoi N, Komuro A, Kinoshita S: Establishment of a Cultivated Human Conjunctival Epithelium as an Alternative Tissue Source for Autologous Corneal Epithelia Transplantation. Association for Research in Vision and Ophthalmology 2005 Annual Meeting, Fort Lauderdale, Florida, 2005.5.5
4. C.J.Connon, Nakamura T, A.J.Quantock, Kinoshita S: The persistence of Transplanted Amniotic Membrane in Corneal Stroma. Association for Research in Vision and Ophthalmology 2005 Annual

Meeting, Fort Lauderdale, Florida, 2005.5.5.

5. Mayumi Ueta, Tetsuya Iida, Masako Sakamoto, Chie Sotozono, Junko Takahashi, Kazuhisa Okada, Shigeru Kinoshita, Takeshi Honda Polyclonality of staphylococcus epidermidis on healthy ocular surface 4th international conference on ocular infections 2005, 10.2

国内学会

1. 上田真由美、羽室淳爾、木下茂：角膜上皮におけるTLR3の発現ならびにその機能. 第29回角膜カンファランス・第21回日本角膜移植学会, 徳島, 2005, 2.17
2. 川崎 諭, 谷岡秀敏, 山崎健太, 木下茂：眼表面上皮における p63 アイソフォームの発現とその組織分布. 第29回角膜カンファランス・第21回日本角膜移植学会, 徳島, 2005. 2. 18.
3. 中村隆宏, 稲富 勉, 関山英一, 曾我部寿代, 堀切智子, 小泉範子, 外園千恵, 木下 茂：ヒト自己血清を用いた培養上皮移植システムの開発. 第29回角膜カンファランス・第21回日本角膜移植学会, 徳島, 2005. 2. 18.
4. 谷岡秀敏, 川崎 諭, 山崎健太, 稲富勉, 小泉範子, 中村隆宏, 横井則彦, 小室 青, 木下 茂：臨床応用を目指したヒト結膜上皮培養シートの作製. 第109回日本眼科学会総会, 京都, 2005.

3. 24.

5. 上田真由美、内藤裕二、水島かつら、木下茂 末梢血分離単球を用いた LPS に対する自然免疫応答の解析 第 109 回日本眼科学会総会, 京都, 第 6 回眼科 DNA チップ研究会 2005, 3. 27
6. 上田真由美、羽室淳爾、山本雅裕、審良静男、木下茂 第 39 回日本眼炎症学会 自然発症の眼表面炎症モデルマウス 2005, 7. 8
7. 上田真由美、羽室淳爾、木下茂、粘膜上皮と免疫担当細胞の自然免疫応答の相違 第 8 回京都免疫ワークショップ 2005. 2. 12 北野病院 きたのホール

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における眼合併症の解析
および培養粘膜上皮移植の実施と解析

分担研究者 外園千恵 京都府立医科大学眼科学 講師

研究要旨 S J 症候群患者 73 名の眼表面再建術を施行していない 138 眼を対象として他覚的眼所見 13 項目をスコア化して評価し、慢性期の眼合併症および視力とスコアの関係を検討した。輪部上皮の消失を 84.8% に認め、血管侵入、結膜侵入、角膜混濁を高率に認め、検討した 13 項目すべてが視力に相関した。この結果と皮膚科所見より、急性期に角膜上皮幹細胞の消失を生じることが視力障害の最も大きな要因であることが判明したため、本症候群の診断基準に眼所見を加えた。培養粘膜上皮移植のこれまでの成績は良好であり、培養口腔粘膜上皮移植は自家組織由来の代用角結膜上皮として眼表面再建に非常に有効であると考えられた。

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）は重篤な視覚障害を生ずるにも関わらず、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は本症候群の治療として一定の成果をあげてきたが、治療法を確立するためには症候群の病態を解明することが必要である。本研究は、S J 症候群に対する有効な治療方法を確立するために、その病態を解明することを目的とする。

B. 研究方法

1) 重症多形滲出性紅斑（以下 S J 症候群）における眼合併症の解析：慢性期 S J 症候群患者 73 名の眼表面再建術を施行していない 138 眼を対象とし、輪部上皮残存、生体染色、上皮欠損、結膜侵入、血管侵入、角膜混濁、角化、充血、瞼球癒着、睫毛乱生、皮膚粘膜移行部、マイボーム腺圧出油脂、涙点閉鎖について 4 段階のスコアで評価し、その特徴を眼合併症を解析した。LogMAR 視力とスコアの関係、および LogMAR 視力を予測するのに必要な項目の組み合わせを検討した。

2) 皮膚科診断基準の作成：本公二教授を

班長とする厚生労働省研究班(H16-難治-04 難治性疾患克服研究事業)と合同で、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討議を行った。

3) 自家培養口腔粘膜上皮移植の実施と長期経過の解析: 2002年6月より施行した自家培養口腔粘膜上皮移植症は総計で45眼に移植を行った。この内、平成17年度は10症例10眼、平成18年度3月末までに8症例8眼の臨床応用を行なった。

C. 研究結果

1) 重症多型滲出性紅斑(以下S J症候群)における眼合併症の解析: 輪部上皮の消失を84.8%に認め、血管侵入を74.6%、結膜侵入を70.3%、角膜混濁を68.8%に認めた。検討した13項目すべてが相関係数0.3以上の相関を示し、相関係数0.7以上であったものは、血管侵入、角膜混濁、結膜侵入(いずれも、 $p < 0.0001$)であった。LogMAR視力の予測に必要な項目は、白内障、輪部上皮の残存程度、角膜上皮障害、上皮欠損、血管侵入、角膜混濁、角化であり、これらの7項目から計算した予測値と実測値の相関係数は0.96($p < 0.0001$)であった。

2) 皮膚科診断基準の作成: 本研究による眼合併症の解析結果より、急性期に角膜上皮幹細胞の消失を生じることが視力障害の最も大きな要因であることが判明した。このことより、皮膚科ないし内科で治療を行っている急性期に眼科治療を行うことが重

要であると考えられ、診断基準2005においてSJSとTENの副所見として、具体的な眼所見である「角膜上皮障害と偽膜形成のどちらかあるいは両方を伴う両眼性の非特異的結膜炎」を追加した。また治療指針に眼科治療を記載した。

3) 自家培養口腔粘膜上皮移植の実施と長期経過の解析: 口腔粘膜上皮シートは1例を除くすべての症例で完全な重層上皮が培養され移植された。移植後1ヶ月以内の早期上皮欠損は3眼(9%)に認めたが、すべての症例で移植上皮が生着し眼表面の上皮化が可能であった。眼表面再建例での最高矯正視力は0.6まで回復しており、特に7眼では0.1以上の視力が可能であった。合併症は20日間以上の遷延性角膜上皮欠損が7眼、角膜感染症1眼を認め、2眼で再手術を施行した。結膜囊再建例ではでは長期的に結膜瘢痕の再発は認めず、1眼(8%)に軽度、2眼(15%)に重度再発を認めた。

D. 考察

1) 重症多型滲出性紅斑(以下S J症候群)における眼合併症の解析: 慢性期S J症候群患者の視力にはこれら13項目全ての所見が関係する。とくに、輪部上皮の残存程度、角膜上皮障害、上皮欠損、血管侵入、角膜混濁、角化と白内障が視力に影響すると考えられた。

2) 皮膚科診断基準の作成: 診断基準と治療指針に眼所見および眼科治療を記載したことにより、皮膚科領域及びその他の領域

で眼合併症に関する認識が広まると予測され、今後発症する患者においては眼合併症の発症を抑制し、後遺症として生ずる視力障害を軽減することができると考えられた。

3) 自家培養口腔粘膜上皮移植の実施と長期経過の解析：培養口腔粘膜上皮移植は自家組織由来の代用角結膜上皮として眼表面再建に非常に有効である臨床結果が得られている。特に自家移植として今までの他家移植と比較して飛躍的に合併症が軽減し、難治性疾患の眼表面再建後の予後を向上させる外科的手段である。

D. 結論

本研究による眼合併症の解析結果より、急性期に角膜上皮幹細胞の消失を生じることが視力障害の最も大きな要因であることが判明した。このことより、皮膚科ないし内科で治療を行っている急性期に眼科治療を行うことが重要であると考えられ、本症候群の診断基準に眼所見を加えた。

本研究において開発している培養粘膜上皮移植の成績は良好であり、本症候群での視機能の回復するための新規治療としてほぼ確立しつつある。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表（平成 17 年度）

1. 論文発表

1. Inatomi T, Nakamura T, Koizumi N, Sotozono C, Kinoshita S. Current

concepts and challenges in ocular surface reconstruction using cultivated mucosal epithelial transplantation. *Cornea*. 24(8 Suppl):S32-S38, 2005.

2. Hisata K, Kuwahara-Arai K, Yamamoto M, Ito T, Nakatomi Y, Cui L, Baba T, Terasawa M, Sotozono C, Kinoshita S, Yamashiro Y, Hiramatsu K: Dissemination of Methicillin-resistant staphylococci among healthy Japanese children. *J Clin Microbiol* 43:3364-3372, 2005.
3. Inatomi T, Nakamura T, Koizumi N, Sotozono C, Yokoi N, Kinoshita S. Mid-term results on ocular surface reconstruction using cultivated autologous oral mucosal epithelial transplantation. *Am J Ophthalmol* 141(2):267-275, 2006.

2. 学会発表

国際学会

1. Ueta M, Sotozono C, Sakamoto M, Takahashi J, Okada K, Honda T, Kinoshita S: Meaning of Staphylococcus epidermidis residing on ocular surface. World Cornea Congress V, Washington, DC, USA, 2005.4.14
2. Sotozono C, Ermis S, Yamasaki K, Nakamura H, Yodoi J, Kinoshita S: Thioredoxin in human tears. The Association for Research in Vision and Ophthalmology, Fort Lauderdale, U.S.A., 2005.5.3.

3. Kaido M, Ishida R, Goto E, Dogru M, Yamada M, Sotozono C, Kinoshita S, Tsubota K.: Functional visual acuity in Stevens-Johnson syndrome. The Association for Research in Vision and Ophthalmology, Fort Lauderdale, U.S.A., 2005.5.4.
4. Ueta M, Iida T, Sakamoto M, Sotozono C, Takahashi J, Okada K, Kinoshita S, Honda T: Polyclonality of staphylococcus epidermidis on healthy ocular surface 4th International Conference On Ocular Infections, Hokkaido, Japan, 2005.10.2 .
5. 山岸哲哉, 稲富 勉, 外園千恵, 中村隆宏, 小泉範子, 木下 茂: 培養粘膜上皮移植眼に対する白内障手術戦略. 第 29 回角膜カンファランス・第 21 回日本角膜移植学会, 徳島, 2005. 2. 18.
6. 外園千恵, サメット・エルミス, 山崎健太, 木下 茂, 中村 肇, 淀井淳司: 眼表面疾患における Thioredoxin の発現. 第 109 回日本眼科学会総会, 京都, 2005. 3. 24.

国内学会

1. 外園千恵: 難治性炎症性眼疾患の診療の現状—新しい治療とエビデンス—Stevens-Johnson 症候群. 第 59 回日本臨床眼科学会 シンポジウム、札幌、2005. 10. 7.
2. 稲富 勉, 中村隆宏, 小泉範子, 外園千恵, 木下 茂: 自家培養口腔粘膜上皮移植と同種角膜移植による二期的手術戦略. 第 28 回日本眼科手術学会総会, 大阪, 2005. 1. 28
3. 稲富 勉, 中村隆宏, 小泉範子, 外園千恵, 木下 茂: 自家培養口腔粘膜上皮移植の適応と有効性の検討. 第 29 回角膜カンファランス・第 21 回日本角膜移植学会, 徳島, 2005. 2. 18.
4. 中村隆宏, 稲富 勉, 関山英一, 曾我部寿代, 堀切智子, 小泉範子, 外園千恵, 木下 茂: ヒト自己血清を用いた培養上皮移植システムの開発. 第 29 回角膜カンファランス・第 21 回日本角膜移植学会, 徳島, 2005. 2. 18.
5. 上田真由美, 外園千恵, 高橋順子, 木下 茂, 坂本雅子, 岡田和久, 本田武司: 常在細菌として眼表面に同時に存在する複数菌株の表皮ブドウ球菌. 第 109 回日本眼科学会総会, 京都, 2005. 3. 25.
6. 稲富 勉, 中村隆宏, 小泉範子, 外園千恵, 木下 茂: 培養口腔粘膜上皮移植術の長期成績と有効性. 第 59 回日本臨床眼科学会、札幌、2005. 10. 7.
7. 海道美奈子, 村戸ドール, 後藤英樹, 石田玲子, 島崎 潤, 山田昌和, 外園千恵, 木下 茂: Stevens-Johnson 症候群眼科患者の細隙灯顕微鏡所見. 第 29 回角膜カンファランス・第 21 回日本角膜移植学会, 徳島, 2005. 2. 18.
8. 稲富 勉, 中村隆宏, 小泉範子, 外園千恵, 木下 茂: 自家培養口腔粘膜上皮移植と同種角膜移植による二期的手術戦略. 第 28 回日本眼科手術学会総会, 大阪, 2005. 1. 28
9. 海道美奈子, 村戸ドール, 後藤英樹, 石田玲子, 島崎 潤, 山田昌和, 外園千恵, 木下 茂: Stevens-Johnson 症候群眼科患者の細隙灯顕微鏡所見. 第 29 回角膜カンファランス・第 21 回日本角膜移植学会, 徳島, 2005. 2. 18.

千恵、木下 茂、坪田一男：ステイ
ブンスジョンソン症候群（S J）にお
ける実用視力と臨床所見、VFQ-25 の関
係．第 59 回日本臨床眼科学会、札幌、
2005. 10. 7.

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 (SJS)、中毒性表皮壊死症 (TEN)、薬剤性過敏症症候群 (DIHS)
の診断基準 2005 に基づいた重症度スコア作成の試み

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、中毒性表皮壊死症、薬剤性過敏症症候群の診断基準案 2004 をもとに、合致しない症例、まれな症例、典型例などの詳細を検討し、さらに眼科的所見を追加することにより診断基準 2005 を作成した。治療指針のためには重症度を制定する必要があるため、重症度スコア作成を試みた。

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 2004 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。また、眼科所見の重要性が明らかとなったため、診断基準案の見直しを行い診断基準 2005 を作成することを目的とした。さらに、治療指針のために、重症度スコア作成を試みた。

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 2005 を改訂する。また、眼科的所見を追加することにより、より充実した診断基準を作成する。

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 を見直し、診断基準 2005 を作成した。診断基準 2005 を用いた診断における感度、特異性の検討が今後の課題であり、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。また、副作用回避のためには重症度による治療指針を作成する必要がある。今回重症度スコアを作成したので、次年度症例を検討することにより重症度判定を決定する。

E. 結論

本研究により重症多形滲出性紅斑診断基準2005を作成し、診断指針の確立が可能となった。次年度にかけて治療指針を完成させる予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表（平成17年度）

論文発表

1. Yang L, Yamasaki K, Shirakata Y, Dai X, Tokumaru S, Yahata Y, Tohyama M, Hanakawa Y, Sayama K, Hashimoto K.: Bone morphogenetic protein-2 modulates Wnt and frizzled expression and enhances the canonical pathway of Wnt signaling in normal keratinocytes. *J Dermatol Sci* in press
2. Gartsbein M, Alt A, Hashimoto K, Nakajima K, Kuroki T, Tennenbaum T.: The role of protein kinase C {delta} activation and STAT3 Ser727 phosphorylation in insulin-induced keratinocyte proliferation. *J Cell Sci*. in press
3. Yoshida, T. Hamada, M. Amagai, K. Hashimoto, R. Uehara, K. Yamaguchi, K. Imamura, E. Okamoto, S. Yasumoto, T. Hashimoto: Enzyme-linked immunosorbent assay using bacterial recombinant proteins of human BP230 as a diagnostic tool for bullous pemphigoid. *J Dermatol Sci.* 41:21-30, 2006
4. Komatsuzawa H, Ouhara K, Yamada S, Fujiwara T, Sayama K, Hashimoto K, Sugai M: Innate defences against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection. *J Pathol.* 208:249-60, 2006
5. 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
6. 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*

124:939-46, 2005

7. 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.* 152:1391-2, 2005
8. Shirakata Y, Kimura R, Nanba D, Iwamoto R, Tokumaru S, Morimoto C, Yokota K, Nakamura M, Sayama K, Mekada E, Higashiyama S, and Hashimoto K: Heparin-binding EGF-like growth factor accelerates keratinocyte migration and skin wound healing. *J Cell Sci* 118: 2363-2370, 2005
9. Sayama K, Komatsuzawa H, Yamasaki K, Shirakata Y, Hanakawa Y, Ouhara K, Tokumaru S, Dai X, Tohyama M, Ten Dijke P, Sugai M, Ichijo H, Hashimoto K: New mechanisms of skin innate immunity: ASK1-mediated keratinocyte differentiation regulates the expression of β -defensins, LL37, and TLR2. *Eur J Immun* 35:1886-1895, 2005
10. Yang L, Shirakata Y, Tamai K, Dai X, Hanakawa Y, Tokumaru S, Yahata Y, Tohyama M, Shiraishi K, Nagai H, Wang X, Murakami S, Sayama K, Kaneda Y, Hashimoto K: Microbubble-enhanced ultrasound for gene transfer into living skin equivalents. *J Dermatol Sci.* 40:105-114, 2005
11. Tohyama M, Dai X, Yamasaki K, Shirakata Y, Hanakawa Y, Tokumaru S, Yahata Y, Yang L, Nagai H, Takashima A, Hashimoto K: dsRNA-mediated innate immunity of epidermal keratinocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 335:505-11, 2005
12. Tokumaru S, Sayama K, Shirakata Y, Komatsuzawa H, Ouhara K, Hanakawa Y, Yahata Y, Dai X, Tohyama M, Nagai H, Yang L, Higashiyama S, Yoshimura A, Sugai M, Hashimoto K: Induction of keratinocyte migration via transactivation of the EGF receptor by the antimicrobial peptide LL-37. *J Immunol.* 175:4662-8, 2005
13. Sekiguchi A, Kashiwagi T, Ishida-Yamamoto A, Takahashi H, Hashimoto Y, Kimura H, Tohyama M, Hashimoto K, Iizuka H.: Drug-induced hypersensitivity syndrome due to mexiletine associated with human herpes virus 6 and cytomegalovirus reactivation. *J Dermatol* 32:278-81, 2005

14. Shushakova N, Tkachuk N, Dangers M, Tkachuk S, Park JK, Zwirner J, Hashimoto K, Haller H, Dumler I: Urokinase-induced activation of the gp130/Tyk2/Stat3 pathway mediates a pro-inflammatory effect in human mesangial cells via expression of the anaphylatoxin C5a receptor. *J Cell Sci.* 118:2743-53, 2005
15. Gu F, Hata R, Ma YJ, Tanaka J, Mitsuda N, Kumon Y, Hanakawa Y, Hashimoto K, Nakajima K, Sakanaka M: Suppression of Stat3 promotes neurogenesis in cultured neural stem cells. *J Neurosci Res.* 81:163-71, 2005
16. Komine M, Kakinuma T, Kagami S, Hanakawa Y, Hashimoto K, Tamaki K: Mechanism of thymus- and activation-regulated chemokine (TARC)/CCL17 production and its modulation by roxithromycin. *J Invest Dermatol.* 125:491-8, 2005
17. Ouhara K, Komatsuzawa H, Yamada S, Shiba H, Fujiwara T, Ohara M, Sayama K, Hashimoto K, Kurihara H, Sugai M.: Susceptibilities of periodontopathogenic and cariogenic bacteria to antibacterial peptides, {beta}-defensins and LL37, produced by human epithelial cells. *J Antimicrob Chemother.* 55:888-96, 2005
- 学会発表
1. Y. Yahata, Y. Shirakata, Y. Hanakawa, T. Mochizuki, S. Hirakawa and K. Hashimoto: The MyD88-dependent signaling pathway of the *Sporothrix schenckii* antigen-induced TLR2 natural immune response in HDMEC. 35th Annual ESDR Meeting. Sep 22, 2005, Tubingen, Germany.
2. K. Sayama, S. Tokumaru, Y. Shirakata, Y. Hanakawa, X. Dai, M. Tohyama, H. Komatsuzawa, S. Higashiyama, M. Sugai, and K. Hashimoto: The innate antimicrobial peptide LL-37 induces keratinocyte migration via HB-EGF-mediated transactivation of EGF Receptor and STAT3 phosphorylation. 66th Annual Meeting of the Society for Investigative Dermatology, May 4, 2005, St. Louis, USA.
3. X. Dai, K. Sayama, Y. Shirakata, K. Yamasaki, Y. Hanakawa, M. Tohyama, Y. Yahata, S. Tokumaru, and K. Hashimoto: STAT5a-PPAR γ is a novel differentiation-regulating pathway in human keratinocytes. 66th Annual Meeting of the Society for Investigative Dermatology, May 4, 2005, St. Louis, USA.
4. Y. Hanakawa, M. Amagai, K. Y. Shirakata,

- Y. Yahata, S. Tokumaru, M. Tohyama, K. Sayama, and K. Hashimoto: Differential effects of dominant negative mutants of desmocollin 3a and 3b on cell-cell adhesion of keratinocytes. 66th Annual Meeting of the Society for Investigative Dermatology, May 4, 2005, St. Louis, USA.
5. S. Tokumaru, Y. Shirakata, Y. Hanakawa, Y. Yahata, X. Dai, M. Tohyama, K. Kameda, K. Sayama, and K. Hashimoto: Endothelin-induced keratinocyte migration requires Arc activation and EGFR transactivation via the ETB receptor. 66th Annual Meeting of the Society for Investigative Dermatology, May 4, 2005, St. Louis, USA.
 6. J. Kishimoto, Y. Ishimatsu-Tsuji, R. Ehama, T. Soma, S. Suzuki, Y. Shirakata and K. Hashimoto: Characterization of human hair generated by cellular grafting. 66th Annual Meeting of the Society for Investigative Dermatology, May 4, 2005, St. Louis, USA.
 7. M. Tohyama, Y. Shirakata, K. Sayama, Y. Hanakawa, X. Dai, Y. Yahata, S. Tokumaru, H. Komatsuzawa, M. Sugai and K. Hashimoto: CCL16, a member of ELR-CXC chemokine, is an endogenous antimicrobial agent derived from keratinocytes. 66th Annual Meeting of the Society for Investigative Dermatology, May 4, 2005, St. Louis, USA.
 8. Y. Shirakata and K. Hashimoto: Successful treatment of dystrophic epidermolysis bullosa with autologous cultured skin. 7th Meeting of the German-Japanese Society of Dermatology, June 4th, 2005, Dresden, Germany.
- 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

Stevens-Johnson 症候群診断基準 2005

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. 角膜上皮障害と偽膜形成のどちらかあるいは両方を伴う両眼性の非特異的結膜炎。
6. 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。