

表 3 抗Dsg1/Dsg3 抗体 (Index値) の推移

	症例 1	症例 2	症例 3
初診時	159.84 / 243.22	185.71 / 199.82	83.21 / 250.23
ミゾリピン投与直前	249.03 / 257.36	63.87 / 32.25	149.03 / 257.36
ミゾリピン(50mg) 3T/3X 均等内服投与時	201.20 / 227.29 (均等内服投与6ヵ月後)	— (均等内服投与施行せず)	101.20 / 227.29 (均等内服投与4ヵ月後)
ミゾリピン(50mg) 3T/2X (2-0-1) 不均等内服投与時	228.54 / 259.84 (不均等内服投与26ヵ月後)	40.48 / 6.36 (不均等内服投与15ヵ月後)	104.35 / 272.25 (不均等内服投与30ヵ月後)

表 3 抗 Dsg1/Dsg3 抗体 (Index 値) の推移

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

天疱瘡モデルマウスを用いた病原性を有する
自己反応性T細胞の同定および解析

分担研究者 天谷雅行 慶応義塾大学医学部皮膚科学教室 教授

研究要旨 尋常性天疱瘡（PV）において病態と関連する抗デスマグレイン3（Dsg3）抗体の産生には Dsg3 を認識する自己反応性T細胞の関与が推測されている。そこで、我々は Dsg3^{-/-} マウスを用いた PV モデルを利用することで PV の病態を誘導する病原性を持つ Dsg3 反応性T細胞の特性を明らかにすることを目的としている。今期は Dsg3 反応性T細胞クローン5株を樹立した。このうち、Th0 型の T細胞クローン株は Dsg3^{-/-}B 細胞と共に Rag2^{-/-} マウスに移入すると IgG 抗 Dsg3 抗体産生とともに PV の発現型を誘導したが、Th1 型の T細胞クローン株はそれら病原性を示さなかった。今後 Dsg3 反応性T細胞クローン株の解析数を増やすことで、病原性を規定する因子を明らかにする予定である。

共同研究者

桑名 正隆

慶応義塾大学内科学教室

高橋 勇人

慶応義塾大学皮膚科学教室

A. 研究目的

目的

尋常性天疱瘡（PV）は皮膚粘膜における角化細胞に対する自己免疫疾患で、デスマグレイン3（Dsg3）に対する自己抗体によりその病態が誘導される。抗 Dsg3 抗体のアイソタイプは主に IgG4 であり、その CDR 塩基配列には突然変異の存在が確認されている。また、抗 Dsg3 抗体産生と特定の HLA クラス II アレルとの強い相関も報告されている。これらの知見から、抗 Dsg3 抗体産生には抗原特異的な CD4⁺T 細胞による B細胞の活性化が不可欠と考えられる。これまで、PV 患者を対象とした Dsg3 反応性T細胞の解析が複数の研究グループにより行われてきたが、Dsg3 反応性T細胞が PV の病態に関与する‘病原性’を有するかについてはいまだ明らかでない。最近、Amagai らは Dsg3^{-/-} マウス脾細

胞を免疫不全マウスに移植することで抗 Dsg3 抗体産生と PV 発現型を誘導できることを報告した。そこで、我々は病原性を有する Dsg3 反応性T細胞の解析にこの PV モデルマウスの系を応用することを着想し、自己反応性T細胞の病原性を評価する系の確立を試みた。本研究は、1) Dsg3 で免疫した Dsg3^{-/-}マウスからの Dsg3 反応性T細胞クローンの樹立、2) T細胞クローンの特性（抗原認識機構、サイトカイン産生能など）の解析、3) T細胞クローンを Dsg3^{-/-} マウス B細胞とともに Rag2^{-/-} マウスへ移入し、抗 Dsg3 抗体産生や PV 発現型による病原性の確認、の3段階から構成される。さらに、個々の Dsg3 反応性T細胞クローンの特性と病原性を比較することで、病原性と関連するT細胞の特性（たとえば、特定のT細胞エピトープやサイトカイン産生能）が抽出できる。その結果は PV に対する新しい治療標的の同定につながる可能性がある。

今期は、5個の Dsg3 反応性T細胞クローン株を樹立し、それらの特性および病原性を検討した。

B. 研究方法

a) リコンビナント(r) マウス(m) Dsg3の作成

2つの発現系でリコンビナントマウスDsg3を作成した。バキュロウイルスベクターを用いて昆虫細胞の培養系でmDsg3の細胞外ドメインとE-tag、His-tagとの融合タンパク (rmDsg3) を発現、精製した。高純度の抗原を得るため、His-tagとE-tagのアフィニティーによる精製を段階的に行った。また、大腸菌の発現系を用いて10個以上のアミノ酸を重複した9つのmDsg3断片 (rmDsg3-1~rmDsg3-9) をmaltose-binding protein (MBP) との融合タンパクとして発現、精製した。それぞれの精製リコンビナント蛋白の純度はSDS ポリアクリルアミド電気泳動後のクマシーブルー染色により評価した。

b) mDsg3 反応性T細胞のクローニング

CFA 乳化した10 μ gの rmDsg3 を Dsg3^{-/-}マウスの両足底に免疫した。1週間後に膝窩リンパ節と脾臓を摘出し、RPMI-1640内ですりつぶした。脾臓はACK lysing buffer (Bio Whittaker, Walkersville, ND) を用いて溶血処理を行い単核球を調製した。培地として1%のC56BL/6由来血清を添加したRPMI-1640を初回刺激時に用い、以後は10% FBS 添加 RPMI-1640を用いた。まずDay0に単核球(3 x 10⁶cell/well) を24穴平底プレートにまき、5 μ g/mlの抗原rmDsg3-1~5を加えた。Day10に凍結保存しておいた自己の脾細胞 (10⁶ cell/well) にX線照射(40Gy)し、mDsg3-1~5 (各5 μ g/ml) とともに培養中に加えた。サイトカインとしてDay3, 7, 10, 14, 17, に1, 2, 5% T-STIMTM (Becton-Dickinson, Bedford, MA) を加えた。Day21に抗原特異的増殖反応を検討し、特異的な反応を示した株のみを限界希釈法に用いた。T細胞株は3~4日ごとのサイトカインの添加と10~14日ごとの抗原刺激により維持した。

c) 抗原特異的増殖反応

96穴丸底プレートで10⁴ cell/wellのT細胞を2 \times 10⁴ cell/wellのX線照射脾細胞とともに5 μ g/mlのrmDsg3-1~5またはMBP存在下で培養した。56時間後に0.5 μ Ci/wellの³H-thymidineを添加し、その16時間後に細胞を回収し、³H-thymidineの取り込みを測定した。rmDsg3-1~5に対する反応性はMBP存在下での放射活性との比として表わし、特異性の確認のためさらにMHCクラスII拘束性を検討した。

d) MHCクラスII拘束性の検討

T細胞の抗原特異的増殖反応において、培養液中に5 μ g/mlの抗マウスMHC class IIモノクローナル抗体(M5/114, ラットIgG_{2b, k})あるいはアイソタイプが一致したコントロール抗体を添加した。抗原刺激により誘導されたT細胞増殖反応が80%以上抑制された場合をMHCクラスII拘束性と判定した。

e) TCRV β 遺伝子再構成の検出と各種サイトカイン遺伝子発現の解析

T細胞株をPMA (25ng/ml) とイオノマイシン (1 μ g/ml) 存在下で3日間培養後、CD4およびCD8 Dynabeads (Dyna biotech, Oslo, Norway) を用いてT細胞を回収した。RNeasy Mini Kit (Qiagen, Maryland, USA) を用いてtotal RNAを抽出し、AMV RTase XL (TAKARA, Japan) 存在下でcDNAを合成し、以下のPCRに用いた。TCRV β 遺伝子再構成の検出には23種のTCRV β 遺伝子特異的な5'側プライマーと共通するTCRC β 遺伝子に対応する3'側プライマーを用いたfamily PCRを行った。さらにPCR産物の塩基配列を3100 Genetic Analyzer (ABI PRISM) を用いて同定した。各種サイトカイン(IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IFN- γ , TGF- β)の発現は特異的なプライマーを用いたPCRにより解析した。

f) T細胞クローン株の病原性の検討

培養T細胞クローン株 (0.5~1 x 10⁶個) を Dsg3^{-/-}B細胞 (5 x 10⁶個) とともに Rag2^{-/-}マウスに移入し、抗 Dsg3 抗体産生と皮膚粘膜に生じる PV 発現型により病原性を調べた。Dsg3^{-/-}B細胞は PV モデルマウス作成法に準じて免疫した Dsg3^{-/-}マウス脾細胞から MACS CD4 および CD8 MicroBeads (Miltenyi Biotec, Germany) を用いて T細胞を除去した後に MACS B220 MicroBeads により得た。リンホセパール II (IBL, Japan) を用いた比重遠心法により死細胞を除去した培養T細胞株を使用した。陽性コントロールとして、培養T細胞株の代わりに脾臓から CD4 および CD8 MicroBeads を用いて分画した T細胞 (5~10 x 10⁶個) を用いた。陰性コントロールとして、Dsg3 に対して特異的な反応を示さない培養T細胞株を同数用いた。マウス移入後 7日ごとに採血し、血漿中の抗 Dsg3 抗体価を ELISA 法で測定し、Alexa488 標識抗マウス IgG 抗体を用いた直接蛍光抗体法により口蓋に沈着する IgG を検討した。

C. 研究結果

a) rmDsg3 の作成

rmDsg3 の純度は 80%、rmDsg3-1~5 の純度は 95%以上であった。

b) Dsg3 反応性 T細胞株の樹立

限界希釈法により計 21個の Dsg3 反応性 T細胞株を樹立した。T細胞株の反応性は多様で、rmDsg3-1~4 のいずれかを認識した。また、すべての T細胞株は MHC class II 拘束性であった。5株は TCRβ 鎖遺伝子解析によりクローンであることが確認された。

c) TCRVβ 遺伝子再構成の検出

Dsg3 反応性 T細胞クローンの Vβ 遺伝子を表 1 に示す。Vβ 遺伝子と認識する

Dsg3 断片との間に関連はみられなかった。また、CDR3 領域のアミノ酸配列にも特定のモチーフは見出されなかった。

d) サイトカイン発現解析

Dsg3 反応性 T細胞クローンのサイトカイン mRNA 発現パターンを表 1 に示す。3株が Th1 型 (IFN-β)、1株が Th2 型 (IL-4)、1株が Th0 型 (IFN-γ & IL-4) であった。

e) Dsg3 反応性 T細胞クローン株の病原性の検討

長期の培養が可能であった Dsg3 反応性 T細胞クローン 2株で病原性の検討を行った。B細胞と共に Th1 型クローン 129#30 を移植したマウスでは抗 Dsg3 抗体価上昇、PV 発現型を認めなかった。一方、Th0 型クローン 140#27 を移植したマウスでは抗 Dsg3 抗体価が上昇した (図 1)。これらマウスでは陽性コントロールと同様に PV 発現型を示し、直接蛍光抗体法で口蓋組織の上皮細胞間に IgG の沈着を認めた。

D. 考察

我々は PV モデルマウスの系を用いることで、Dsg3 反応性 T細胞クローンを樹立し、それらの *in vivo* での病原性の解析を行うことができた。この実験系は PV に限らず広く自己免疫疾患に応用可能で、自己免疫病態と関連する因子の同定、さらにはそれらに対する分子標的療法の開発に有用と考えられる。

PV モデルマウスから樹立した T細胞株はすべて MHC クラス II 拘束性であったが、抗原特異性、TCRVβ 鎖、サイトカイン発現能は多彩であった。現時点で病原性の解析を行えたのは 2つのクローンにすぎないが、一方は *in vivo* での病原性を有し、他方に病原性はなかった。Th1 でなく Th0 の T細胞クローン株が病原性を有していたことは Th2 サイトカインの重要性を想定

させるが、結論を得るにはさらにデータの集積が必要である。今後、さらに多数の Dsg3 反応性 T 細胞クローンを検討することにより、病原性を規定する要因の同定が可能と考えられた。

E. 結論

PV モデルマウスを用いることで Dsg3 反応性 T 細胞クローンの病原性を解析する実験系を確立した。今後、多数の T 細胞クローンを解析することにより、病原性を規定する因子の同定が可能と考えられた。

F. 健康危険情報

特記すべきものなし。

G. 研究発表（平成17年度）

1. 論文発表

英語論文

なし

日本語論文

なし

2. 学会発表

高橋勇人、天谷雅行、河上裕、桑名正隆、天疱瘡モデルマウスを用いた自己反応性 T 細胞クローン株の *in vivo* 病原性のスクリーニング法、第35回日本免疫学会、横浜、2005. 12.

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

図とその説明

表 1. Dsg3 反応性 T 細胞クローンの解析結果

クローン名	認識する抗原	TCRV β	Th型	サイトカイン	in vivoでの病原性
CE129#30	3	8.3	Th1	IL-2, IFN- γ , TGF- β	なし
CE129#35	3	8.3	Th1	IFN- γ , TGF- β	不明
CE135#30	1	8.2	Th2	IL-4, 10, TGF- β	不明
CE140#27	3	6	Th0	IL-2, 4, 10, IFN- γ TGF- β	あり
CE141#70	1	6	Th1	IL-2, IFN- γ , TGF- β	不明

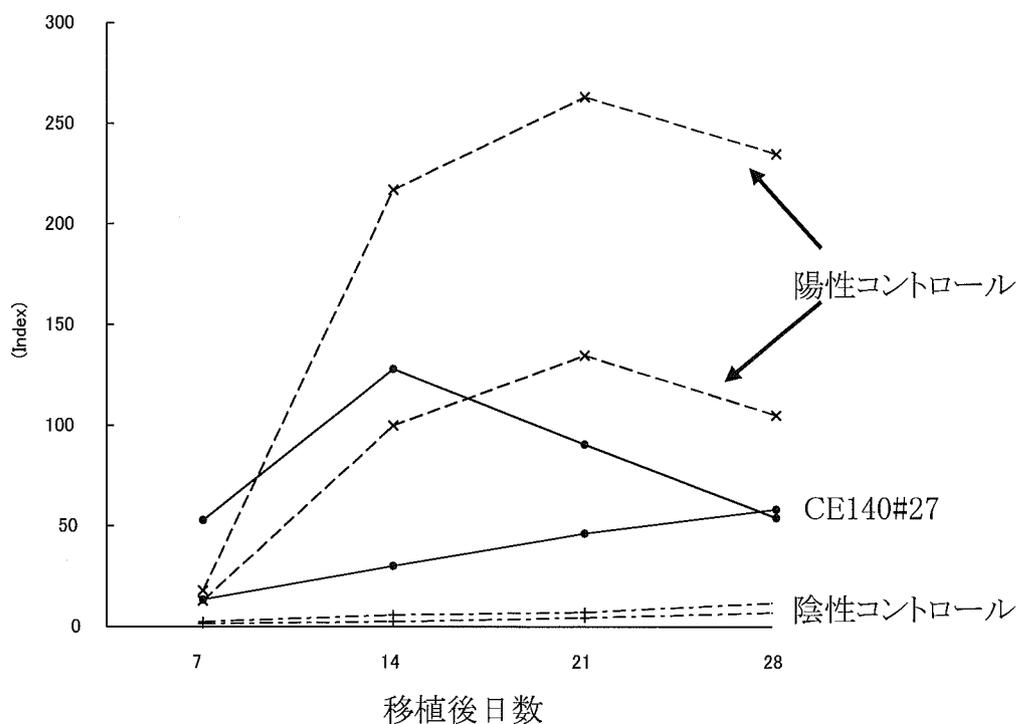


図 1. マウスにおける Dsg3 反応性 T 細胞クローン (CE140#27) 移植後の抗 Dsg3 抗体価の推移。T 細胞クローン CE140#27 を Dsg3^{-/-}B 細胞とともに Rag2^{-/-}マウスに移植し、血漿中の抗 Dsg3 抗体価を ELISA で経時的に調べた。陽性コントロールは脾 T 細胞、陰性コントロールは Dsg3 に対して反応を示さない培養 T 細胞株。いずれの群も 2 匹の結果を示す。

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

天疱瘡モデルマウスを用いた免疫学的解析

分担研究者 天谷雅行 慶應義塾大学医学部皮膚科学教室 教授

研究要旨 天疱瘡は皮膚粘膜に発症する難治性の臓器特異的自己免疫疾患である。尋常清天疱瘡（PV）モデルマウスより数種類の抗デスマグレイン（Dsg）3モノクローナル抗体（AK mAb）を単離し解析を行ったところ、mAbの病原性を左右する因子として、そのエピトープが重要であることが示された。本研究では、エピトープ以外の新たな病原性を左右する因子を探索する目的で表面プラズモン共鳴装置（Biacore）を用い、抗原抗体反応の速度論的解析を行った。すべてのAK mAbはBiacoreの反応系においてマウスDsg3に結合性を示したが、その結合カイネティクスはmAbごとに強弱が異なっていた。また病原性を有するAK mAbの結合カイネティクスは非病原性のAK mAbと比較して明らかに強くはなく、その病原性と結合カイネティクスの明らかな相関関係は認めなかった。今後、条件を詳細に設定し抗Dsg3抗体の結合カイネティクスを解析する事によって、天疱瘡の新たな病原強度判定法開発の糸口になるものと考えられた。

共同研究者

角田和之 慶応大学皮膚科・総合医科学研究センター

A. 研究目的

AK mAbとDsg3蛋白との結合カイネティクスを表面プラズモン共鳴装置にて解析し、結合カイネティクスと病原性との相関関係を明らかにする事を目的とする。

B. 研究方法

a) モノクローナル抗体の作製

PVモデルマウスより単離したAK9、AK15、AK18、AK19、AK20、AK23を大量培養しHiTrap rProtein A FF column (Amersham Bioscience, Piscataway, NJ)にて精製後、desulting column (Amersham Bioscience)にて脱塩しPBSに置換した。

b) 結合カイネティクスの測定

表面プラズモンセンサー、Biacore 2000 (Biacore社)を用いて結合カイネティク

スの解析を行った。センサーチップCM5に抗マウスIgG1 polyclonal抗体をアミノカップリング法にて1000 RU (Resonance Unit)固定化した。次に各AK mAbを50 ug/mlで抗マウスIgG1にリガンドとして結合させた。さらに段階希釈したマウスDsg3蛋白をアナライトとして一定の流速で反応させた。ランニングバッファーおよびサンプルの希釈はPBS-0.5mM CaCl₂を用いた。アナライト反応後にチップを10 mM Gly-HCl pH2.0にて再生し、baselineが反応前の値に戻っている事を確認した。以上の反応を25°Cの条件下で行った。結合カイネティクスの算出はソフトウェアBIAevaluation (Biacore社)にて行った。

C. 研究結果

本研究ではそれぞれ特性の異なる以下の代表的な3クローンのAK mAbを用いた。AK19 mAbはマウスDsg3の細胞外領域のN末端側のアミノ酸87-161領域を認識し弱い病原性を有する。AK15 mAbは細胞外領域中央部のアミノ酸195-502領域を

認識する。また AK9 mAb は細胞外領域 C 末端側のアミノ酸 403-565 領域を認識する。AK15、AK9 mAb のいずれも明らかな病原性を有さない。これらのクローンと mouse Dsg3 の反応性に関しての解析を行った。

Biacore によって得られたセンサーグラムを示す (図 1)。結合カイネティクスをあらゆる解離定数 (dissociation constant; KD、単位 M) はセンサーグラムより得られた各パラメーターである、解離速度定数 (k dissociation; kd、単位 1/s)、結合速度定数 (k association; ka、単位 1/Ms) より、計算式 $KD=kd/ka$ より求めた。KD 値は AK15 mAb が一番低く、続いて AK19 mAb、AK9 mAb の順番であった。

以上よりそれぞれの AK mAb はマウス Dsg3 蛋白に対して異なる結合カイネティクスを有することが明らかになった (表 1)。

D. 考察

現在までにわれわれは AK mAb の特異性について以下の結果を得ている。1. 複数存在するクローンの中で、AK19 mAb は新生マウスへの受動免疫で水疱形成を誘導する。2. 病原性を有するクローンは Dsg3 の Ca 依存性の三次元エピトープを認識する。3. 明らかな病原性を有さないクローンは Dsg3 の細胞外領域の中央部から C 末端領域を認識し、病原性を有するクローンはアミノ末端を認識する。以上の事実より AK mAb の病原性はそのエピトープによって定義づけることが可能であることを示した。

一方、抗体の病原性を考える上でエピトープ以外の因子として抗原と抗体の結合の強さ (アフィニティ) が関係している可能性があげられる。そこで本研究では AK mAb の病原性と結合カイネティクスに何らかの相関関係が存在するかについて検討した。AK mAb とマウス Dsg3 との反応性においては、ka、kd、KD 各々のパラ

メーターにおいて AK mAb の病原性と明らかな相関関係は認められなかった。本研究では mAb の マウス Dsg3 に対する結合カイネティクスの heterogeneity を確認することができたが、今後さらなる条件設定による検討を行う予定である。またエピトープや結合カイネティクスの他にも何らかの病原性に関与する因子が存在する可能性もあり、さらなる検討が必要であると考えられた。

E. 結論

抗 Dsg3 モノクローナル抗体のマウス Dsg3 蛋白に対する結合カイネティクスはそれぞれ異なっていた。これらの所見は天疱瘡自己抗体の結合カイネティクスによる新たな病原性判定法の開発に有用なデータになるものと考えられた。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表 (平成17年度)

1. 論文発表

英語論文

特になし

日本語論文

特になし。

1. 学会発表

特になし

H. 知的所有権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

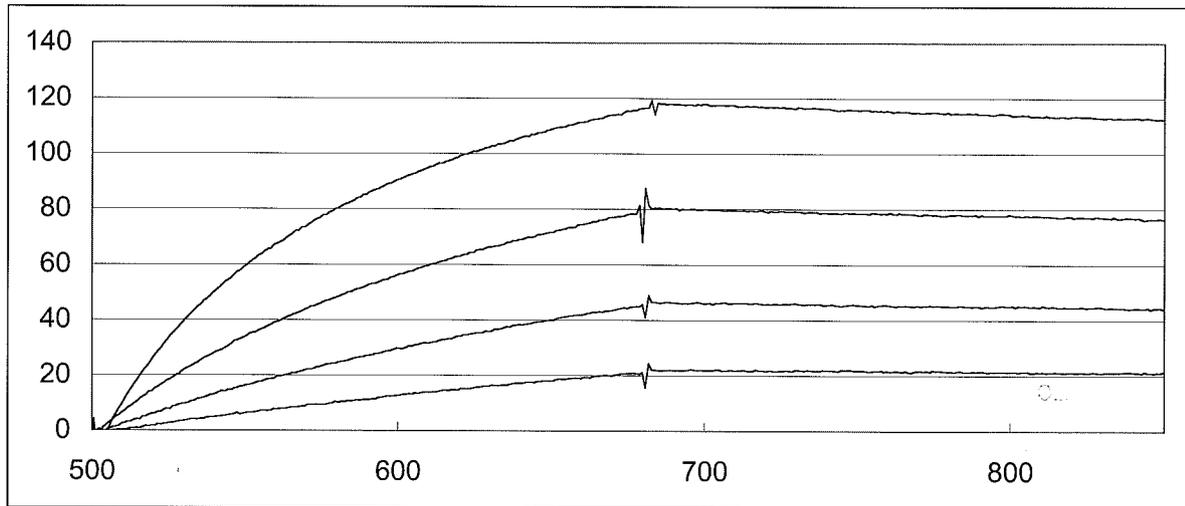
特になし

3. その他

特になし

図とその説明

a



b

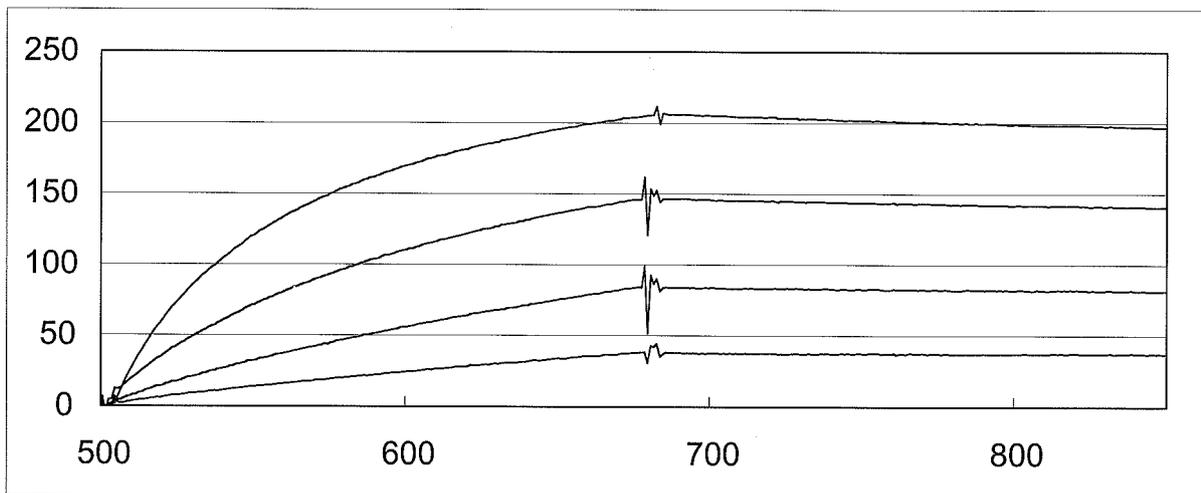


図1 AK mAb とマウス Dsg3 の結合を示す代表的なセンサーグラム。縦軸は結合量；RU (Resonance Unit)、横軸は時間経過；secを示す。アナライト濃度は上段より20ug/ml、10ug/ml、5ug/ml、2.5ug/mlを示す。a、AK19 mAb、b、AK15 mAb

AK mAb	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	pathogenicity	epitope
AK19	3.41×10^4	2.03×10^{-4}	5.94×10^{-9}	+	N-terminal
AK15	4.00×10^4	1.72×10^{-4}	4.31×10^{-9}	-	Middle
AK9	6.40×10^3	6.18×10^{-4}	9.66×10^{-8}	-	C-terminal

表1 エピトープの異なる代表的なAK mAbとマウス Dsg3 の結合カイネティクスのまとめ。解離定数 KD=解離速度定数 (k dissociation; kd)/結合速度定数 (k association; ka)。

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

天疱瘡の臨床調査個人票電子化データの分析(1)概要、判定基準、重症度

分担研究者 黒沢美智子 順天堂大学医学部衛生学助手

研究要旨 現在厚労省の主導で進められている臨床調査個人票データベースの利用申請を行い、天疱瘡の受給者の疫学的特性、臨床医学的特性（病型・経過・症状・重症度・治療状況等）を分析すること、患者の予後を把握するための累積データの利用について検討することを目的とする。今回臨床調査個人票H13～16年度全国分の利用申請を行い、電子化データを入手した。データの入力率はH13年度約4%であったが、H15年度には約56%に上昇していた。入手したデータのうち、H16年度の判定(診断)基準に関連する項目の分布を示し、H16年度新規150例について判定基準に沿った分類を試みた。また、H16年度データの概要と重症度基準表のスコア別分布（新規・更新別）を示した。各項目のスコアの分布及び重症度スコア合計点は更新者より新規申請者の方が高かった。今後引き続き臨床医学特性について、必要かつ詳細な分析を継続する。臨床調査個人票データは各年のデータを個人単位でリンクさせ累積することによって、これまで明らかにされなかった患者の予後（症状変化、治癒、軽快、悪化、死亡等）の変化を把握することが可能となる。本電子化データにはこれまで懸案であった各年の連結データセットが含まれていたが、問題点は入力率が6割未満であることと都道府県で入力率が異なる点である。予後の分析も現在の入力率に依存するところが大きい。今後連結データの精度を確認した上で、入力状況が良好な県のデータ等を用いて予後の変化を把握することが可能かどうか試行したい。また、将来的にどのようなデータ集積が望まれるのかも検討したい。

共同研究者

池田志孝

順天堂大学医学部皮膚科学教授

稲葉 裕

順天堂大学医学部衛生学教授

北島康雄

岐阜大学大学院医学研究科教授

永井正規

埼玉医科大学公衆衛生学教授

A. 研究目的

現在厚労省の主導で進められている臨床調査個人票データベースを利用申請して、天疱瘡の受給者の疫学的特性、臨床医学的特性（病型・経過・症状・重症度・治療状況等）を分析すること、患者の予後を把握するための累積データの利用について検討

することを目的とする。

B. 研究方法

今年度疫学班との共同研究計画として臨床調査個人票を分析することとし、稀少難治性皮膚疾患（天疱瘡、表皮水疱症、膿疱性乾癬）のH13～16年度全国分臨床調査個人票データの利用申請をH17年9月に行い、同月中に電子化データを入手した。電子化データはExcelファイルであった。

今回は天疱瘡のH13～16年度までの入力状況の把握、新規個人票150例について判定（診断）基準に関連する項目の分布及び判定・診断基準に沿った判定数を確認する。また、H16年度の天疱瘡臨床調査個人票データの概要と重症度判定基準表の各スコア別の分布（新規・更新別）を示す。

(倫理面への配慮)

電子化データは全て匿名で、個人を特定することはできない。

C. D. 研究結果と考察

1. 電子化データの入力状況

臨床調査個人票電子化データは新規申請データと更新データが別のファイルになっており、個人が同定できる項目(姓名、生年月日、その他)は除かれている。表1に天疱瘡の臨床調査個人票H13~16年度分の電子化データ数と入力率を示す。平成13年度の受給者数¹⁾は3,388であったが、入力数は123件、入力率は3.6%であった。平成14年度の受給者数²⁾は3,481で入力数551件、入力率15.8%であった。平成15年度は受給者数³⁾3,399、入力数1,899、入力率55.9%で前年に比べて入力率は飛躍的に上昇していた。平成15年度に臨床調査個人票の改訂が行われたためこの年は新規160件、更新1,719件、旧式の臨床調査個人票が20件含まれていた。平成16年度は入力数1,907件(新規150、更新1,757)と、入力数は最も多くなっていた。

2. 天疱瘡の判定(診断)基準に基づく判定数(H16年度天疱瘡新規データを用いて)

天疱瘡のH16年度新規入力データ150例について、当班で作成された判定(診断)基準に従って分類を試みた。表2に天疱瘡の判定(診断)基準に係る各項目の分布を示す。

天疱瘡の判定(診断)基準(資料:表2の下)は①と②があり、①を満たしたのは115例、①以外で②を満たしたのは6例であった。いずれも満たさなかったが29例あった。

3. H16年度天疱瘡臨床調査個人票の概要

稀少難治性皮膚疾患を含む多くの疾患で平成15年度に臨床調査個人票の改訂が行われている。H15年度以降の天疱瘡の新規の

調査票項目は80、更新の調査票は77項目で、患者の生活状況や受診状況、臨床症状、検査所見、重症度、治療状況等が含まれる。

ここでは判定(診断)基準を満たしていた新規121例と更新1757例(全例)を合わせた1878例の概要を示す。性別では男753例(40.1%)、女1125(59.9%)と女性の方が多かった。身障者手帳は有りが90例(4.8%)、介護認定の要介護者は87例(4.6%)、要支援者は22例(1.2%)であった。生活状況は就労620例(33.0%)、就学15例(0.8%)、家事685例(36.5%)、在宅療養250例(13.3%)、入院60例(3.2%)、入所17例(0.9%)となっていた。

病型は尋常性が最も多く1235例(65.8%)、増殖性39例(2.1%)、落葉状431例(22.9%)、紅斑性112例(6.0%)、その他・不明61例(3.2%)であった。経過は治癒15例(0.8%)、軽快1104(58.8%)、不変588(31.3%)、徐々に悪化71(3.8%)、急速に悪化23(1.2%)となっていた。

4. 天疱瘡重症度判定基準表の各スコア別分布(H16年度新規・更新別)

天疱瘡の重症度基準表のスコア別分布を新規(表3)、更新(表4)別に示す。新規データは診断基準を満たした121例を対象とした。天疱瘡の抗体価間接抗体法のスコアは新規・更新とも記載なしが大半を占め、検出されなかったのか測定していないのかははっきりしない。ELISA法のスコア0は2つの検査法のどちらも数値内に含まれるものとし、スコア1、2はどちらも50未満(150未満)、かつどちらかが数値内とした。不明は欄外に示した。5項目の合計スコアは各項目のスコアを合計したのではなく、「合計スコア」として入力されている項目の数値を用いた。

新規では重症度の中等度割合が50.4%、重症が24%であったが、更新者では軽症の割合が75.2%と最も多く、各項目のスコアの分布も新規の方が重症度は高かった。新

規申請者と更新者で重症度は大きく異なっていた。

5. 今後の予定

電子化データの問題点としては現在の入力率がまだ6割未満である点であるが、今後引き続き臨床医学特性について、必要かつ詳細な分析を継続する。

臨床調査個人票データは各年のデータを個人単位でリンクさせ累積することによって、これまで明らかにされなかった患者の予後（症状変化、治癒、軽快、悪化、死亡等）の変化を把握することが可能となる。本電子化データにはこれまで懸案であった各年の連結データセットが含まれていた。連結データはExcelの各年のシートの同行データが同一患者のものとなっており、匿名化された上でリンケージが可能な構成であり、期待以上に整備されていた。今後データが累積されることによって可能となる予後の分析も現在の回収率に依存するところが大きいですが、今回分析可能となった連結データの精度を確認した上で、例えば入力状況が良好な県のデータを用いて予後（症状変化、治癒、軽快、悪化、死亡等）の変化を把握することが可能かどうか試行したい。また、将来的にどのようなデータ集積が望まれるのかも検討したい。

E. 結論

天疱瘡の臨床調査個人票電子化データ平成13～16年度全国分の利用申請を厚労省に行いデータを入手した。H15年度の入力率は56%であった。H16年度为天疱瘡新規の臨床調査個人票の項目から、判定基準に沿

った分類を試みた。天疱瘡新規150例の内、判定基準を満たしていたのは121例で、分類されなかったのは29例であった。また、重症度基準表のスコア別分布、重症度スコア合計点は新規申請者の方が高く、新規と更新者で重症度は大きく異なっていた。

参考文献

- 1) 厚生統計協会：国民衛生の動向. 厚生
の指標、2003; 50(9):148.
- 2) 厚生統計協会：国民衛生の動向. 厚生
の指標、2004; 51(9):153.
- 3) 厚生統計協会：国民衛生の動向. 厚生
の指標、2005; 52(9):150.

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表（平成17年度）

1. 論文発表
英語論文
なし
日本語論文
なし
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

表1 天疱瘡の臨床調査個人票H13-16年度分の電子化データ数と
入力率及び各年の受給者数

年度	電子化データ数(旧式、新規、更新)	入力率	受給者数
H13	123	3.6 %	3388
H14	551	15.8 %	3481
H15	1899 (旧 20, 新 160, 更 1719)	55.9 %	3399
H16	1907 (新 150, 更 1757)	—	—

表2 天疱瘡の判定基準項目の分布（新規のみ）

項 目	あり	なし	不明
(1)臨床診断項目			
①皮膚に多発する、破れやすい弛緩性水疱	88(72.7%)	33(27.3%)	0
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	98(81.0%)	23(19.0%)	0
③口腔粘膜を含む可視粘膜部の非感染性水疱・びらん、ないしアフタ性病変	69(57.0%)	50(41.3%)	2(1.7%)
④ニコルスキー現象陽性	72(59.5%)	38(31.4%)	11(9.1%)
(2)病理組織学的診断項目			
①表皮細胞間橋の離開(棘融解 acantholysis)による表皮内水疱	115(95.0%)	4(3.3%)	2(1.7%)
(3)免疫組織学的診断項目			
①病変ないしは外見上正常な皮膚・粘膜部の細胞膜(間)部にIgG(ときに補体)の沈着が認められる	88(72.7%)	6(5.0%)	27(22.3%)
②流血中より抗表皮細胞膜(間)抗体(天疱瘡抗体)(IgG クラス)を同定する。			
・ 間接蛍光抗体価 (倍) ≥ 1	22(18.2%)	—	—
・ ELISA 法による抗デスマグレイン抗体 デスマグレイン 1 インデックス値 ≥ 14	77(63.6%)	—	—
デスマグレイン 3 インデックス値 ≥ 7	69(57.0%)	—	—

資料 15. 天疱瘡

(1) 臨床診断項目

- ①皮膚に多発する、破れやすい弛緩性水疱
- 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
- ③口腔粘膜を含む可視粘膜部の非感染性水疱・びらん、ないしアフタ性病変
- ④ニコルスキー現象陽性

(2) 病理組織学的診断項目

- ①表皮細胞間橋の離開（棘融解 acantholysis）による表皮内水疱

(3) 免疫組織学的診断項目

- ①病変ないしは外見上正常な皮膚・粘膜部の細胞膜（間）部に IgG（ときに補体）の沈着が認められる。
- ②流血中より抗表皮細胞膜（間）抗体（天疱瘡抗体）（IgG クラス）を同定する。

[判定及び診断基準]

- ①(1)項目のうち少なくとも 1 項目と(2)項目を満たし、かつ(3)項目のうち少なくとも 1 項目を満たす症例を天疱瘡とする。
- ②(1)項目のうち 2 項目以上を満たし、(3)項目の①、②を満たす症例を天疱瘡と診断する。

表3 天疱瘡の重症度判定基準（新規）

（各項目に該当する所見のスコアを合計して、判定表に従い判定する。）

スコア	皮膚病変部の面積(*a)	Nikolsky現象	水疱の新生数(/日)	天疱瘡抗体価		口腔粘膜病変(*c)
				間接蛍光抗体法	ELISA法(インデックス値)	
スコア 0	なし 18(14.9%)	なし 44(36.4%)	なし 23(19.0%)	検出されない 99(81.8%) 記載なし 94(77.7%)	正常値内 5(4.1%)	なし 51(42.1%)
スコア 1	5%未満 33(27.2%)	一部にわずか 31(25.6%)	ときどき(*b) 62(51.2%)	40倍未満 6(5.0%)	50未満 4(3.3%)	5%未満 22(18.2%)
スコア 2	5%以上～15%未満 35(28.9%)	陽性 32(26.4%)	1-5個 19(15.7%)	40倍以上～320倍 12(9.9%)	50～150未満 25(20.7%)	5%以上～30%未満 17(14.0%)
スコア 3	15%以上 33(27.2%)	顕著 10(8.3%)	5個以上 15(12.4%)	640倍以上 4(3.3%)	150以上 70(57.9%)	30%以上 21(17.4%)
不明	2(1.7%)	4(3.3%)	2(1.7%)		17(14.0%)	3(2.5%) 4が3例 6が4例

a：全体表面積に対する比率（%）

b：毎日ではないが一週間のうち時折新生水疱の見られるもの。

c：粘膜病変が主病変である尋常性天疱瘡では、重症度分類においてスコアを2倍とする。あるいは、明らかな摂食障害を認めるものはスコアにかかわらず重症と判断する。

5項目の合計スコアより判定（新規）

軽症：5点以下	27例（22.3%）
中等度：6点～9点	61例（50.4%）
重症：10点以上	29例（24.0%）
不明	4例（3.3%）

表4 天疱瘡の重症度判定基準（更新）

（各項目に該当する所見のスコアを合計して、判定表に従い判定する。）

スコア	皮膚病変部の面積(*a)	Nikolsky 現象	水疱の新生数(/日)	天疱瘡抗体価		口腔粘膜病変(*c)
				間接蛍光抗体法	ELISA 法(インデックス値)	
スコア 0	なし 761(43.3%)	なし 1196(67.7%)	なし 890(52.6%)	検出されない 1564(89.0%) 記載なし 1520(86.5%)	正常値内 173(9.8%)	なし 987(56.2%)
スコア 1	5%未満 754(42.9%)	一部にわずか 351(20.0%)	ときどき(*b) 693(39.4%)	40 倍未満 62(3.5%)	50 未満 147(8.4%)	5%未満 495(28.2%)
スコア 2	5%以上～15%未満 147(8.4%)	陽性 142(8.1%)	1-5 個 117(6.7%)	40 倍以上～320 倍 125(7.1%)	50～150 未満 205(11.7%)	5%以上～30%未満 169(9.6%)
スコア 3	15%以上 63(3.6%)	顕著 19(1.1%)	5 個以上 22(1.3%)	640 倍 6(0.3%)	150 以上 299(17.0%)	30%以上 34(1.9%)
不明	32(1.8%)	49(2.8%)	35(2.0%)		933(53.1%)	49(2.8%) 4 が 19 例 6 が 4 例

a：全体表面積に対する比率（％）

b：毎日ではないが一週間のうち時折新生水疱の見られるもの。

c：粘膜病変が主病変である尋常性天疱瘡では、重症度分類においてスコアを2倍とする。あるいは、明らかな摂食障害を認めるものはスコアにかかわらず重症と判断する。

5 項目の合計スコアより判定(更新)

軽 症：5 点以下 1321例（75.2%）
 中等度：6 点～9 点 293例（16.7%）
 重 症：10点以上 50例（ 2.8%）
 不 明 93例（ 5.3%）

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

天疱瘡の臨床調査個人票電子化データの分析(2)病型別分布と特徴

分担研究者 黒沢美智子 順天堂大学医学部衛生学助手

研究要旨 これまで日本には天疱瘡の病型別患者割合示した疫学データはなかったが、H16年度の天疱瘡臨床調査個人票電子化データを用いて約1900例の天疱瘡患者の病型割合を示した。病型別割合は尋常性天疱瘡(65.8%)、落葉状(22.9%)、紅斑性(6.0%)、増殖性(2.1%)、その他・病型不明(3.2%)であった。病型別の特徴として尋常性天疱瘡は男性より女性に多く、落葉状天疱瘡は男性の方が多かった。経過は増殖性天疱瘡が他の病型より「軽快」の割合が低かった。重症度はどの病型も「軽症」の割合が7割以上であったが、紅斑性で他の病型よりも軽症の割合がやや多く、尋常性で重症の割合がやや多かった。

共同研究者

池田志孝

順天堂大学医学部皮膚科学教授

稲葉 裕

順天堂大学医学部衛生学教授

北島康雄

岐阜大学大学院医学研究科教授

永井正規

埼玉医科大学公衆衛生学教授

A. 研究目的

これまで日本には天疱瘡の病型別患者割合示した疫学データはなかったが、H16年度分の天疱瘡臨床調査個人票電子化データを用いて約1900例の天疱瘡患者の病型割合、及び病型別の特徴を示す。

B. 研究方法

データの入手方法等、研究方法は報告書(1)に詳しく記載したので参照されたい。

H16年度天疱瘡新規のうち判定(診断)基準を満たした121例と更新データ1757例、計1878例を用いて、尋常性、増殖性、落葉状、紅斑性、その他・不明の割合及び病型別の特徴を示す。

C. D. 研究結果と考察

1. 基本特性、生活状況と経過

表1にH16年度天疱瘡臨床調査個人票1878例の性別病型別分布を示す。最も多かったのは尋常性天疱瘡1235例で、全体の65.8%を占めていた。次いで落葉状431例(22.9%)、紅斑性112例(6.0%)、増殖性39例(2.1%)、その他・病型不明61例(3.2%)であった。増殖性天疱瘡は39例は全て更新者で、新規申請者は0例であった。

性別の特徴として女性では尋常性天疱瘡の割合が男性よりも多く約7割を占めていた。落葉状天疱瘡は女性(19.2%)に比べて男性(28.4%)の割合が高かった。

日常生活(表2)はどの病型も「正常」が7割前後、「やや不自由であるが独力で可能」が2割前後であったが、尋常性では「正常」の割合が紅斑性と比べてやや低かった。

表3に病型別の経過を示す。「軽快」の割合が尋常性(61.1%)、落葉状(56.8%)、紅斑性(56.3%)で最も多く、いずれも「不変」が約3割であったが、増殖性では「不変」(48.7%)、「軽快」(41.0%)と不変の割合の方が高かった。「徐々に悪化」「急速に悪化」は2.6%~7.5%であった。「治

癒」は新規申請者には認められず、更新者のみに僅かに認められた。

2. 病型別有症状

天疱瘡の有症状割合を表4に示す。分母は病型別例数とした。「皮膚に多発する破れやすい弛緩性水疱」は尋常性(37.1%)、増殖性(30.8%)よりも落葉状(57.5%)、紅斑性(48.2%)に多く認められた。「水疱に続発する進行性、難治性びらん、ないし鱗屑痂皮性局面」を有するのは落葉状(62.6%)が最も多く、次いで紅斑性(53.6%)、増殖性(41.0%)、尋常性(38.1%)の順であった。逆に「可視粘膜部の非感染性水疱・びらん、アフタ性病変」は増殖性(61.5%)、尋常性(57.6%)に多く認められ、落葉状(9.5%)や紅斑性(10.7%)は少なかった。「ニコルスキー現象」を有するのはどの病型も20.5%~35.0%で、落葉状が35%とやや多かった。

3. 病型別検査所見

表5に病型別検査所見「免疫組織学的診断」を示す。分母は各病型別例数とした。「表皮細胞間のIgG(ときに補体)の沈着」が認められたのは各病型で25.7%~33.3%、「(流血中の抗表皮細胞間抗体)間接蛍光抗体価1倍以上」を認めたのは各病型で11.5%~16.2%であった。「ELISA法の抗デスマグレイン1インデックス値14以上」は落葉状(50.3%)、紅斑性(31.3%)が多く、同「抗デスマグレイン3インデックス値7以上」は増殖性(43.6%)、尋常性(39.2%)が多かった。

4. 病型別重症度

表6に病型別の重症度を示す。どの病型

も5点以下の軽症の割合が7割以上を占めていたが紅斑性で「軽症」の割合が最も多く80.4%であった。10点以上の「重症」割合は尋常性(4.8%)が最も多かった。

E. 結論

これまで日本には天疱瘡の病型別患者割合示した疫学データはなかったが、H16年度分の天疱瘡臨床調査個人票電子化データを用いて約1900例の天疱瘡患者の病型割合、病型別の特徴を示した。病型別割合は尋常性天疱瘡(65.8%)、落葉状(22.9%)、紅斑性(6.0%)、増殖性(2.1%)、その他・病型不明(3.2%)であった。病型別の特徴として基本特性、生活状況、経過、症状、検査所見、重症度を示した。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表(平成17年度)

1. 論文発表

英語論文

なし

日本語論文

なし

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

表 1 天疱瘡の病型別分布

	尋常性	(%)	増殖性	(%)	落葉状	(%)	紅斑性	(%)	その他・不明	(%)	計	(%)
男	450	59.8	19	2.5	215	28.6	45	6.0	24	3.2	753	100
女	785	69.8	20	1.8	216	19.2	67	6.0	37	3.3	1125	100
計	1235	65.8	39	2.1	431	22.9	112	6.0	61	3.2	1878	100

表 2 天疱瘡の病型別日常生活状況

日常生活	尋常性	(%)	増殖性	(%)	落葉状	(%)	紅斑性	(%)	その他・不明	(%)
正常	815	66.0	28	71.8	286	66.4	82	73.2	37	60.7
やや不自由 力可	238	19.3	8	20.5	77	17.9	17	15.2	12	19.7
部分介助	51	4.1	2	5.1	27	6.3	4	3.6	4	6.6
全面介助	15	1.2	1	2.6	9	2.1	1	0.9	1	1.6
不明	116	9.4	0	0	32	7.4	8	7.1	7	11.5
計	1235	100	39	100	431	100	112	100	61	100

表3 天疱瘡の病型別経過

経過	尋常性	(%)	増殖性	(%)	落葉状	(%)	紅斑性	(%)	その他・不明	(%)
治癒	10	0.8	1	2.6	4	0.9	0	0	0	0
軽快	754	61.1	16	41.0	245	56.8	63	56.3	26	42.6
不変	379	30.7	19	48.7	138	32.0	39	34.8	13	21.3
徐々に悪化	40	3.2	1	2.6	21	4.9	6	5.4	3	4.9
急速に悪化	12	1.0	0	0.0	11	2.6	0	0	0	0
その他・不明	40	3.2	2	5.1	12	2.8	4	3.6	19	31.1
計	1235	100	39	100	431	100	112	100	61	100

表4 天疱瘡の病型別有症状割合

症状	尋常性	(%)	増殖性	(%)	落葉状	(%)	紅斑性	(%)	その他・不明	(%)
皮膚に多発する破れやすい弛緩性水疱	458	37.1	12	30.8	248	57.5	54	48.2	20	32.8
水疱に続発する進行性、難治性びらん、ないし鱗屑痂皮性局面	471	38.1	16	41.0	270	62.6	60	53.6	22	36.1
可視粘膜部の非感染性水疱・びらん、アフタ性病変	711	57.6	24	61.5	41	9.5	12	10.7	20	32.8
ニコルスキー現象	368	29.8	8	20.5	151	35.0	30	26.8	15	24.6