

- Sanayama K, Sugita K, Takahashi M, Suehiro K, Yorifuji K, Shibaki A, Shimizu H: Novel ALDH3A2 Heterozygous Mutations in a Japanese Family with Sjogren-Larsson Syndrome. **J Invest Dermatol** 126:2545-2547, 2006.
- 34) Sawamura D, Mochitomi Y, Kanzaki T, Nakamura H, Shimizu H: Glycine substitution mutations by different amino acids at the same codon in COL7A1 cause different modes of dystrophic epidermolysis bullosa inheritance. **Br J Dermatol** 155:834-837, 2006.
- 35) Sawamura D, Nizeki H, Miyagawa S, Shinkuma S, Shimizu H: A novel indel COL7A1 mutation 8068del17insGA causes dominant dystrophic epidermolysis bullosa. **Br J Dermatol** 154:995-997, 2006.
- 36) Sawamura D, Sato-Matsumura K, Shibata S, Tashiro A, Furue M, Goto M, Sakai K, Akiyama M, Nakamura H, Shimizu H: COL7A1 mutation G2037E causes epidermal retention of type VII collagen. **J Hum Genet** 24:24, 2006.
- H. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）**
16. 特許取得
○なし。
17. 実用新案登録
○なし。
18. その他
○なし。

表とその説明

Case	Age/Sex	Phenotype	Inheritance	Gene	Mutation	Effect	Reference
1.	8Y/M	WC	familial	<i>KRT5</i>	473A>T	D158V	novel
2.	24Y/M	WC	familial	<i>KRT5</i>	1054C>T	R352S	novel
3.	38Y/F	WC	familial	<i>KRT14</i>	415A>G	M119V	Cummins RE (2001)
4.	1Y/M	K	de novo	<i>KRT5</i>	428T>A	V143D	novel
5.	54Y/M	K	familial	<i>KRT5</i>	558G>A	V186M	novel
6.	23Y/F	K	familial	<i>KRT5</i>	573C>A	Q191P	novel
7.	27Y/M	K	familial	<i>KRT5</i>	1550G>A	G517D	novel
8.	1W/M	K	de novo	<i>KRT5</i>	558G>T	V186L	Liovic M (2001)
9.	1D/M	DM	de novo	<i>KRT5</i>	527A>G	N176S	Stephens K (1997)
10.	42Y/M	DM	de novo	<i>KRT5</i>	1423G>A	E475K	Schuilenga-Hut (2003)
11.	1Y/F	DM	de novo	<i>KRT5</i>	1429G>A	E477K	Coulombe PA (1991)
12.	8Y/F	DM	familial	<i>KRT14</i>	434G>A	R125H	Coulombe PA (1991)
13.	1W/M	DM	de novo	<i>KRT14</i>	433C>T	R125C	Coulombe PA (1991)
14.	30Y/M	MP	familial	<i>KRT5</i>	465C>T	P25L	Coulombe PA (1991)
15.	1W/F	K	de novo	ND			
16.	1M/F	K	de novo	ND			
17.	1Y/M	K	de novo	ND			
18.	30Y/F	K	de novo	ND			
19.	35Y/F	K	de novo	ND			

表 本研究におけるEBSの臨床亜型と検出された変異（患者6，7は韓国家系、他は日本人家系）

Y; year, W; week, D; day, M; month, EBS-WC, Weber-Cockayne type EBS; EBS-K, Koebner type EBS; EBS-DM, Dowling-Meara type EBS; EBS-MP, EBS with mottled pigmentation; ND, not detected

図とその説明

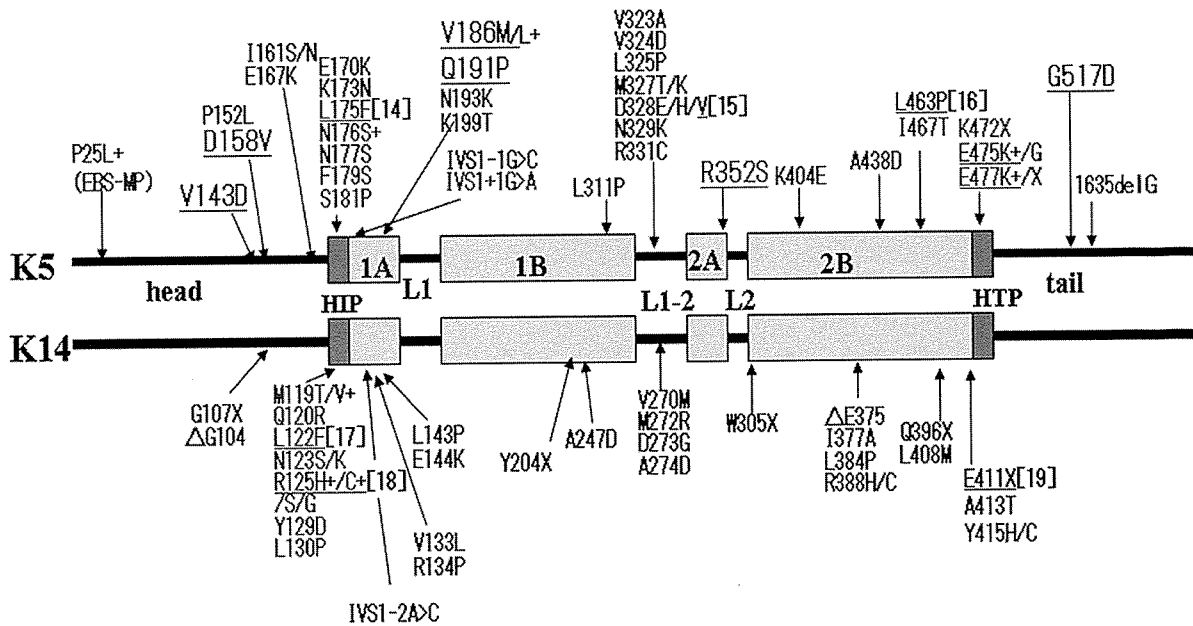


図1 ケラチン分子における EBS の全変異部位と臨床亜型；EBS-WC (緑)、EBS-K (青)、EBS-DM (赤)、下線部は本研究で検出された変異、大文字は新規の変異

	Head (H1)	1A	2A
Type II	143	186	191
K5	I Q E V T V N Q S L L T P L N L Q I D P S I Q R V R T E E	R E Q I K T L N N K F A S F I D K V R F L E Q Q N K	Y E E I A N R S R T E
K1	I Q E V T I N Q S L L Q P L N V E I D P E I Q K V K S R E	R E Q I K S L N N Q F A S F I D K V R F L E Q Q N Q	N E D I A Q K S K A E
K2e	I H E V S V N Q S L L Q P L N V K V D P E I Q N V K A Q E	R E Q I K T L N N K F A S F I D K V R F L E Q Q N Q	Y E E I A Q R S K E E
K3	I Q E V T I N Q S L L Q P L N V E I D P Q I G Q V K A Q E	R E Q I K T L N N K F A S F I D K V R F L E Q Q N K	Y E D I A Q R S K A E
K4	I Q E V T I N Q S L L T P L H V E I D P E I Q K V R T E E	R E Q I K L L N N K F A S F I D K V Q F L E Q Q N K	Y E E I A Q R S K A E
K6a	I Q E V T V N Q S L L T P L N L Q I D P T I Q R V R A E E	R E Q I K T L N N K F A S F I D K V R F L E Q Q N K	Y E E I A Q R S R A E
Type I			
K14		K V T M Q N L N D R L A S Y L D K V R A L E E A N A	Y E K M A E K N R K D
Type III			
Vimentin		K V E L Q E L N D R F A N Y I D K V R F L E Q Q N K	L S E A A N R N N D A
Type IV			
NF-M		K E Q L Q G L N D R F A G Y I E K V H Y L E Q Q N K	L T E S A A K N T D A
Type V			
Lamin		K E D L Q E L N D R L A V Y I D R V R S L E T E N A	A R Q S A E R N S N L

図2 新たに検出された5つの変異が起きたアミノ酸は進化上保存されていた。

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

羊膜付き三次元培養皮膚の有用性に関する研究

分担研究者 橋本公二 愛媛大学大学院医学系研究科 感覚皮膚医学 教授

研究要旨 表皮水疱症の再生治療を改善する目的で、三次元培養皮膚の改良を行った。これまでの研究成果により、培養表皮シートは角層を欠き、基底膜構成タンパクが欠除しており生着性に問題があった。三次元培養皮膚は、基底膜構成成分は存在するが不完全であることが明らかとなった。昨年度形態的に優れた、より正常皮膚に近い新しい三次元培養皮膚として羊膜付き三次元培養皮膚の作製法を開発した。この羊膜付き三次元培養皮膚を獣皮様母斑患者へ臨床応用し、その有用性について検討した。

共同研究者

白方裕司（愛媛大学大学院医学系研究科附属再生医療研究センター）

A. 研究目的

表皮水疱症の遺伝子再生医療の大きな柱の一つは遺伝子導入法の確立であり、もう一つは培養皮膚である。これまでの研究成果により、培養表皮シートは繰り返し移植することで、創傷治癒を促進することが明らかとなった。しかし、生着性については非常に低いものであることも明らかとなった。生着性の向上をはかる目的で三次元皮膚移植法を確立した。この三次元皮膚は真皮と表皮を併せ持ち、角層を有する点が特徴であり、基底膜構成成分も発現していたが、その発現は不十分であった。そこで、昨年度に基底膜構成タンパクを十分発現する羊膜付き三次元皮膚を開発した。羊膜付き三次元皮膚は形態的には正常皮膚に極めて近いもので、マウス移植実験においても生着性は良好であった。そこで羊膜付き三次元皮膚を用いて獣皮様母斑患者を治療し、その有用性について検討した。

B. 研究方法

患者生検皮膚から outgrowth 法を用い

て線維芽細胞を培養し、継代5代目の細胞を使用した。角化細胞は無血清培養法にて培養し、3回継代した細胞を使用した。コラーゲンゲル中で線維芽細胞を培養し、5日間静置培養した。5日目に無細胞化した羊膜をゲルの上に置き、密着させるためにさらに1日間静置培養した。翌日、患者由来角化細胞をゲルの上に播種した。2日後に空気に曝露することにより重層化させ、7日間気相下にて培養したものを移植に用いた。

C. 研究結果

HE染色所見では、従来の三次元培養皮膚は基底細胞が不揃いで、角化細胞の配列に乱れがみられた。羊膜付き三次元培養皮膚では角化細胞の乱れはみられず、形態学的には正常皮膚に近似していた。この状態は21日後まで保たれていた。羊膜なし三次元皮膚では21日後には表皮真皮境界部に裂隙が認められたが、羊膜付き三次元皮膚ではそのような傾向はみられなかった（図1）。羊膜付き三次元培養皮膚を用いて獣皮様母斑の治療を行った。獣皮様母斑患者の背部の母斑（12x18cm）を全身麻酔下に切除し、止血後に wet dressing にて処置した。毎日消毒、洗浄、生食湿布を繰り返すことに

より肉芽の形成を促した。細菌培養を行い、無菌状態であることを確認した。切除後2週で肉芽の形成が充分となった時点で移植を行った。肉芽の表面をメスにて薄く切除し、表面をできる限り平坦化し、羊膜付き三次元皮膚をパッチ状に移植した。パッチグラフトは4日目の時点で良好に生着し、以後植皮片は急速に拡大し、術後21日目には完全に上皮化した。

D. 考察

栄養障害型表皮水疱症の最終的な治療の目標は遺伝子治療である。遺伝子治療には大きく *in vivo* 法と *ex vivo* 法があり、水疱形成の抑制に関しては *in vivo* 法が適していると思われる。しかし、水疱後のびらん、潰瘍については、欠損している表皮を再生する必要がある。我々はこれまでに栄養障害型表皮水疱症に対する自己培養表皮シート移植、自己三次元培養皮膚移植の有用性を示してきた。昨年度までの研究成果で羊膜を併用した新たな三次元培養皮膚を開発した。この新たな三次元培養皮膚はマウスへの移植実験では良好な生着性を示し、形態学的にも優れたものであった。そこで、本年度まず獣皮様母斑患者においてその有用性を検討した。従来の三次元培養皮膚に比べ生着性では明らかに優れており、パッチグラフトでも良好に生着した。また、生着した培養皮膚は急速に拡大し、皮膚欠損面を覆うことができた。今回の検討により羊膜付き三次元培養皮膚の臨床での有効性が示された。この新しい三次元皮膚が実際に栄養障害型表皮水疱症に対して有効であるかについての検討が必要であると思われる。

E. 結論

羊膜付き三次元培養皮膚を用いて獣皮様母斑患者の皮膚欠損部を治療し良好な結果を得た。羊膜付き三次元皮膚はこれまでの培養皮膚のなかで最も優れたものであり、

栄養障害型表皮水疱症の再生医療としても期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表（平成18年度）

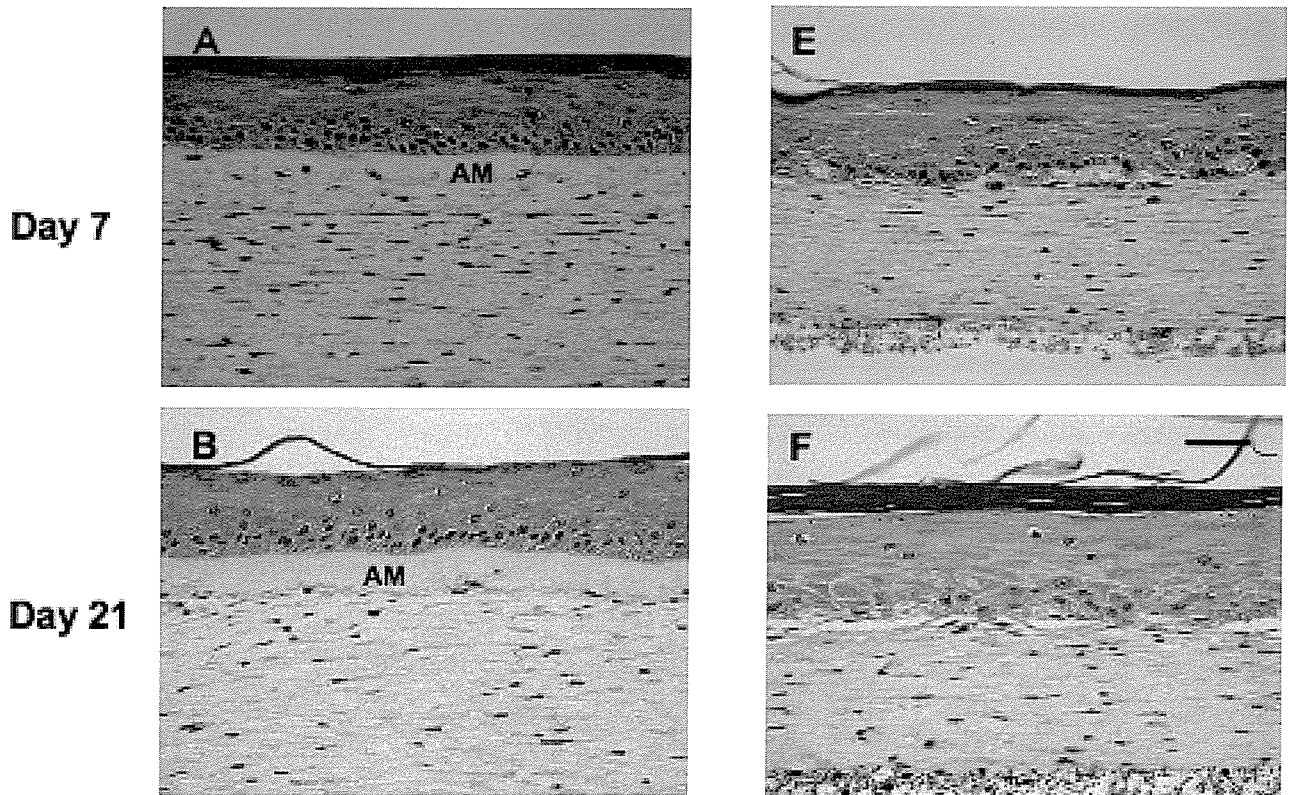
論文発表

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.** 42:111-9, 2006
2. Dai X, Sayama K, Yamasaki K, Tohyama M, Shirakata Y, Hanakawa Y, Tokumaru S, Yahata Y, Yang L, Yoshimura A, Hashimoto K: SOCS1 negative feedback of STAT1 activation is a key pathway in the dsRNA-induced innate immune response of human keratinocytes. **J Invest Dermatol.** 126:1574-81, 2006
3. Yahata Y, Shirakata Y, Tokumaru S, Yang L, Dai X, Tohyama M, Tsuda T, Sayama K, Iwai M, Horiuchi M, Hashimoto K: A novel function of angiotensin II in skin wound healing: Induction of fibroblast and keratinocyte migration by angiotensin II via HB-EGF-mediated EGF receptor transactivation. **J Biol Chem** 281:13209-16, 2006.
4. Yang L, Shirakata Y, Shudou M, Dai X, Tokumaru S, Hirakawa S, Sayama K, Hamuro J, Hashimoto

- K: New skin-equivalent model from de-epithelialized amnion membrane. **Cell Tissue Res** 326:69-77, 2006.
5. Sayama K, Hanakawa Y, Nagai H, Shirakata Y, Dai X, Hirakawa S, Tokumaru S, Tohyama M, Yang L, Sato S, Akira S, Hashimoto K: TAK1 is essential for differentiation and the prevention of apoptosis in epidermis. **J Biol Chem**. 281:22013-20, 2006.
 6. Shiraishi K, Yamasaki K, Nanba D, Inoue H, Hanakawa Y, Shirakata Y, Hashimoto K, Higashiyama S: Pre-B-cell leukemia transcription factor 1 is a major target of promyelocytic leukemia zinc-finger-mediated melanoma cell growth suppression. **Oncogene** 26:339-48, 2007.
 7. Shirakata Y, Kishimoto J, Tokumaru S, Yamasaki K, Hanakawa Y, Tohyama M, Sayama K, Hashimoto K: Epiregulin, a member of the EGF family, is over-expressed in psoriatic epidermis. **J Dermatol Sci** 45:69-72, 2007.
 8. Nanba D, Kinugasa Y, Morimoto C, Koizumi M, Yamamura H, Takahashi K, Takakura N, Mekada E, Hashimoto K, Higashiyama S.: Loss of HB-EGF in smooth muscle or endothelial cell lineages causes heart malformation. **Biochem Biophys Res Commun** 350:315-321, 2006.
 9. Komatsuzawa H, Ouhawa K, Yamada S, Fujiwara T, Sayama K, Hashimoto K, and Sugai M.: Innate defences against methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) infection. **J Pathol** 208:249-260, 2006.
 10. Yoshida M, Hamada T, Amagai M, Hashimoto K, Uehara R, Yamaguchi K, Imamura K, Okamoto E, Yasumoto S, Hashimoto T.: Enzyme-linked immunosorbent assay using bacterial recombinant proteins of human BP-230 as a diagnostic tool for bullous pemphigoid. **J Dermatol Sci** 41:21-30, 2006.
 11. Niiya H, Lei J, Guo Y, Azuma T, Yakushijin Y, Sakai I, Hato T, Tohyama M, Hashimoto K, Yasukawa M.: Human herpesvirus 6 impairs differentiation of monocytes to dendritic cells. **Exp Hematol** 34:642-653, 2006.
 12. Cao F, Hata R, Zhu P, Ma YJ, Tanaka J, Hanakawa Y, Hashimoto Y, Hashimoto K, Niinobe M, Yoshikawa K, Sakanaka M.: Overexpression of SOCS3 inhibits astroglialogenesis and promotes maintenance of neural stem cells. **J Neurochem** 98:459-470, 2006.
 13. Niyonsaba F, Ushio H, Nakano N, Sayama K, Hashimoto K, Nagaoka I, Okumura K, Ogawa H.: Antimicrobial peptides human b defensins stimulate keratinocyte migration, proliferation of proinflammatory cytokines and chemokines. **J Invest Dermatol** (in press)
- 学会発表
1. Y Shirakata, X Dai, S Tokumaru, Y Hanakawa, M Tohyama, L Yang, K Sayama, and K

- Hashimoto : PPAR γ /C/EBP α signaling pathway plays a key role in 1,25-dihydroxyvitamin D₃-induced keratinocyte differentiation. The 67th Annual Meeting of the Society for Investigative Dermatology, Philadelphia, Pennsylvania, May4-6, 2006
2. S Tokumaru, Y Shirakata, Y Hanakawa, X Dai, K Kameda, M Tohyama, K Sayama, K Hashimoto : hBD1-induced keratinocyte migration is mediated through HB-EGF/EGFR trans-activation mechanism. The 67th Annual Meeting of the Society for Investigative Dermatology, Philadelphia, Pennsylvania, May4-6, 2006
 3. L Yang, K Yamasaki, Y Shirakata, X Dai, S Tokumaru, M Tohyama, Y Hanakawa, K Kameda, K Sayama, K Hashimoto : Bone morphogenetic protein-2 modulates Wnt and frizzled expression and enhances the canonical pathway of Wnt signaling in normal human keratinocytes. The 67th Annual Meeting of the Society for Investigative Dermatology, Philadelphia, Pennsylvania, May4-6, 2006
 4. K Shiraishi, Y Shirakata, K Yamasaki, Y Hanakawa, S Higashiyama, K Hashimoto : Pbx1 is a major target of PLZF-mediated melanoma cell growth suppression. The 67th Annual Meeting of the Society for Investigative Dermatology, Philadelphia, Pennsylvania, May4-6, 2006
 5. Y. Shirakata, X. Wang, L. Yang, M. Tohyama, S. Tokumaru, K. Sayama, K Hashimoto : Keratinocyte growth factor has an anti-apoptotic effect on UVB-irradiated normal human keratinocytes. The 34th Annual Meeting of the European Society for Dermatological Research, Paris, France, Sep 7-9, 2006
- 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1 羊膜付き三次元培養皮膚の HE 染色所見



羊膜付き三次元培養皮膚は形態学的に正常皮膚に近似しており、角化細胞の配列に乱れは認めない。羊膜なし三次元培養皮膚では21日後には表皮真皮境界部に裂隙を認め、角化細胞の配列に乱れが生じている。

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

栄養障害型表皮水疱症に対する羊膜付き三次元培養皮膚の有用性の検討

分担研究者 橋本公二 愛媛大学大学院医学系研究科 感覚皮膚医学 教授

研究要旨 劣性栄養障害型表皮水疱症（RDEB）に対する再生医療法を確立する目的で培養皮膚の改良・開発を行い、昨年度までの研究成果として羊膜付き三次元培養皮膚を開発した。この新たな培養皮膚は基底膜を十分保持し、形態的には正常皮膚に最も近いもので、獣皮様母斑の切除部への臨床応用にて非常に有用であることを示した。そこで、今回我々は RDEB に対する羊膜付き三次元培養皮膚の有用性を検討した。手指の棍棒状癒着と手掌の瘢痕拘縮を解除し、皮膚欠損部に羊膜付き自己三次元皮膚を移植固定した。羊膜付き自己三次元皮膚は良好に生着し、手指の機能は著しく改善し、患者 QOL の向上も得られた。羊膜付き自己三次元皮膚は RDEB に対する再生医療として有用であると思われる。

共同研究者

白方裕司（愛媛大学大学院医学系研究科附属再生医療研究センター）

A. 研究目的

表皮水疱症の遺伝子再生医療の大きな柱の一つは遺伝子導入法の確立であり、もう一つは培養皮膚である。これまでの研究成果により、培養表皮シートは繰り返し移植することで、創傷治癒を促進することが明らかとなった。しかし、生着性については非常に低いものであることも明らかとなった。生着性の向上をはかる目的で三次元皮膚移植法を確立した。この三次元皮膚は真皮と表皮を併せ持ち、角層を有する点が特徴であり、基底膜構成成分も発現していたが、その発現は不十分であった。そこで、昨年度に基底膜構成タンパクを十分発現する羊膜付き三次元皮膚を開発した。羊膜付き三次元皮膚は形態的には正常皮膚に極めて近いもので、マウス移植実験においても生着性は良好であった。この羊膜付き三次元皮膚を用いて獣皮様母斑患者の母斑部を広範囲に切除し、肉芽の形成が得られた時点で移植したところ、羊膜付き三次元培養皮膚

は良好に生着し、速やかに上皮化した。そこで、羊膜付き三次元培養皮膚は表皮水疱症の再生医療にも有用であると考え、栄養障害型表皮水疱症の手指棍棒状癒着を解離し、皮膚欠損部に移植し、その有用性を検討した。

B. 研究方法

患者生検皮膚から outgrowth 法を用いて線維芽細胞を培養し、継代 5 代目の細胞を使用した。角化細胞は無血清培養法にて培養し、3 回継代した細胞を使用した。コラーゲンゲル中で線維芽細胞を培養し、5 日間静置培養した。5 日目に無細胞化した羊膜をゲルの上に置き、密着させるためにさらに 1 日間静置培養した。翌日、患者由来角化細胞をゲルの上に播種した。2 日後に空気に曝露することにより重層化させ、7 日間気相下にて培養したものを移植に用いた。

C. 研究結果

24 歳の栄養障害型表皮水疱症女性患者で、右手は示指から小指の 4 本が癒着し、拘縮した状態で、手掌は手指と癒着していた。

腕神経叢ブロック下で右手掌の瘢痕拘縮形成術を施行し、人工真皮を移植した。術後2週後には肉芽の形成が良好となり、創面に羊膜付き三次元培養皮膚を移植した。移植片はほぼ生着し、移植後2—3週で上皮化が認められた。手掌の開大ができるようになったため、患者の日常生活は大幅に改善された。一ヶ月後、手掌の状態が落ち着いた時点で、示指から小指の分離術を施行した。分離した手指は表皮が欠損した状態であったが、真皮の状態は比較的良好であったため、保存的に処置を行った。分離術2週後には肉芽の状態が良好となったため羊膜付き三次元培養皮膚を移植した。移植片はワセリンを含ませた非固着性ガーゼで覆い、4—5日間静置した。移植片は良好に生着し、術後4週でほぼ完全に上皮化した。手指は5本となり、対立機能が回復した。

D. 考察

栄養障害型表皮水疱症の最終的な治療の目標は遺伝子治療であるが、遺伝子治療が実際に開始されるには乗り越えなければならないハードルがいくつも残されており、開始までにはまだかなりの時間を要すると思われる。遺伝子治療の開始までには再生医療を用いた治療法を確立しておかなければならない。我々はこれまでに栄養障害型表皮水疱症に対する自己培養表皮シート移植、自己三次元培養皮膚移植の有用性を示してきた。昨年度までの研究成果で羊膜を併用した新たな三次元培養皮膚を開発し、この新たな三次元培養皮膚はマウスへの移植実験では良好な生着性を示し、形態学的にも優れたものであった。さらに、獣皮様母斑患者においてその有用性を検討したところ、従来の三次元培養皮膚に比べ生着性では明らかに優れており、パッチグラフトでも良好に生着した。また、生着した培養皮膚は急速に拡大し、皮膚欠損面を覆うことができた。今回我々は羊膜付き自己三次

元培養皮膚を用いて栄養障害型表皮水疱症患者の棍棒状手指癒着を治療した。棍棒状癒着の治療は皮膚移植のみであったが、比較的早期に再発し、繰り返し移植をする必要があった。その点、培養皮膚移植は1回の皮膚採取で繰り返し移植用の培養皮膚が作製できることからその有用性が期待されていた。しかし従来の培養皮膚ではしっかりと表皮の形成が不十分であり、特に手指に移植した場合には生着不良がしばしばみられた。羊膜付き三次元培養皮膚は手指の棍棒状手指癒着治療に非常に有用であることが今回の研究にて明かとなった。今後はさらに症例数を増やし、その有用性を検討することが必要であると思われる。

E. 結論

羊膜付き三次元培養皮膚はこれまでの培養皮膚のなかで最も優れたものであり栄養障害型表皮水疱症の再生医療として有用であると思われる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表（平成18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.* 42:111-9, 2006
2. Dai X, Sayama K, Yamasaki K, Tohyama M, Shirakata Y, Hanakawa Y, Tokumaru S, Yahata Y, Yang L, Yoshimura A, Hashimoto K: SOCS1 negative

- feedback of STAT1 activation is a key pathway in the dsRNA-induced innate immune response of human keratinocytes. **J Invest Dermatol** 126:1574-81, 2006
3. Yahata Y, Shirakata Y, Tokumaru S, Yang L, Dai X, Tohyama M, Tsuda T, Sayama K, Iwai M, Horiuchi M, Hashimoto K: A novel function of angiotensin II in skin wound healing: Induction of fibroblast and keratinocyte migration by angiotensin II via HB-EGF-mediated EGF receptor transactivation. **J Biol Chem** 281:13209-16, 2006.
 4. Yang L, Shirakata Y, Shudou M, Dai X, Tokumaru S, Hirakawa S, Sayama K, Hamuro J, Hashimoto K: New skin-equivalent model from de-epithelialized amnion membrane. **Cell Tissue Res** 326:69-77, 2006.
 5. Sayama K, Hanakawa Y, Nagai H, Shirakata Y, Dai X, Hirakawa S, Tokumaru S, Tohyama M, Yang L, Sato S, Akira S, Hashimoto K: TAK1 is essential for differentiation and the prevention of apoptosis in epidermis. **J Biol Chem** 281:22013-20, 2006.
 6. Shiraishi K, Yamasaki K, Nanba D, Inoue H, Hanakawa Y, Shirakata Y, Hashimoto K, Higashiyama S: Pre-B-cell leukemia transcription factor 1 is a major target of promyelocytic leukemia zinc-finger-mediated melanoma cell growth suppression. **Oncogene** 26:339-48, 2007.
 7. Shirakata Y, Kishimoto J, Tokumaru S, Yamasaki K, Hanakawa Y, Tohyama M, Sayama K, Hashimoto K: Epiregulin, a member of the EGF family, is over-expressed in psoriatic epidermis. **J Dermatol Sci** 45:69-72, 2007.
 8. Nanba D, Kinugasa Y, Morimoto C, Koizumi M, Yamamura H, Takahashi K, Takakura N, Mekada E, Hashimoto K, Higashiyama S.: Loss of HB-EGF in smooth muscle or endothelial cell lineages causes heart malformation. **Biochem Biophys Res Commun** 350:315-321, 2006.
 9. Komatsuzawa H, Ouhawa K, Yamada S, Fujiwara T, Sayama K, Hashimoto K, and Sugai M.: Innate defences against methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) infection. **J Pathol** 208: 249-260, 2006.
 10. Yoshida M, Hamada T, Amagai M, Hashimoto K, Uehara R, Yamaguchi K, Imamura K, Okamoto E, Yasumoto S, Hashimoto T.: Enzyme-linked immunosorbent assay using bacterial recombinant proteins of human BP-230 as a diagnostic tool for bullous pemphigoid. **J Dermatol Sci** 41:21-30, 2006.
 11. Niiya H, Lei J, Guo Y, Azuma T, Yakushijin Y, Sakai I, Hato T, Tohyama M, Hashimoto K, Yasukawa M.: Human herpesvirus 6 impairs differentiation of monocytes to dendritic cells. **Exp Hematol** 34:642-653, 2006.
 12. Cao F, Hata R, Zhu P, Ma YJ, Tanaka J, Hanakawa Y, Hashimoto Y, Hashimoto K,

Niinobe M, Yoshikawa K, Sakanaka M.: Overexpression of SOCS3 inhibits astroglialogenesis and promotes maintenance of neural stem cells. **J Neurochem** 98:459-470, 2006.

13. Niyonsaba F, Ushio H, Nakano N, Sayama K, Hashimoto K, Nagaoka I, Okumura K, Ogawa H.: Antimicrobial peptides human b defensins stimulate keratinocyte migration, proliferation of pro-inflammatory cytokines and chemokines. **J Invest Dermatol** (in press)

学会発表

1. Y Shirakata, X Dai, S Tokumaru, Y Hanakawa, M Tohyama, L Yang, K Sayama, and K Hashimoto: PPAR γ /C/EBP α signaling pathway plays a key role in 1,25-dihydroxyvitamin D₃-induced keratinocyte differentiation. The 67th Annual Meeting of the Society for Investigative Dermatology, Philadelphia, Pennsylvania, May4-6, 2006
2. S Tokumaru, Y Shirakata, Y Hanakawa, X Dai, K Kameda, M Tohyama, K Sayama, K Hashimoto: hBD1-induced keratinocyte migration is mediated through HB-EGF/EGFR transactivation mechanism. The 67th Annual Meeting of the Society for Investigative Dermatology, Philadelphia, Pennsylvania, May4-6, 2006
3. L Yang, K Yamasaki, Y Shirakata, X Dai, S Tokumaru, M Tohyama, Y Hanakawa, K Kameda, K Sayama, K Hashimoto:

Bone morphogenetic protein-2 modulates Wnt and frizzled expression and enhances the canonical pathway of Wnt signaling in normal human keratinocytes. The 67th Annual Meeting of the Society for Investigative Dermatology, Philadelphia, Pennsylvania, May4-6, 2006

4. K Shiraishi, Y Shirakata, K Yamasaki, Y Hanakawa, S Higashiyama, K Hashimoto: Pbx1 is a major target of PLZF-mediated melanoma cell growth suppression. The 67th Annual Meeting of the Society for Investigative Dermatology, Philadelphia, Pennsylvania, May4-6, 2006
5. Y. Shirakata, X. Wang, L. Yang, M. Tohyama, S. Tokumaru, K. Sayama, K Hashimoto: Keratinocyte growth factor has an anti-apoptotic effect on UVB-irradiated normal human keratinocytes. The 34th Annual Meeting of the European Society for Dermatological Research, Paris, France, Sep 7-9, 2006

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

羊膜付き自己三次元培養皮膚を用いた栄養障害型表皮水泡症棍棒状手指癒着の治療

治療前



治療後



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

表皮水疱症の医療受給者の特徴—臨床調査個人票データを用いて

分担研究者 黒沢美智子 順天堂大学医学部衛生学講師

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を用いて、表皮水疱症の臨床疫学特性を把握することを目的とする。今回、表皮水疱症の臨床調査個人票H13～17年度全国分の利用申請を行い、電子化データを入手した。各年の入力率を確認したところ、H16年度データが61.2%と最も高かった。H16年度新規（11例）・更新（186例）、計197例を用いて、申請時の性・年齢分布、発症年齢分布、病型、社会生活状況、日常生活、経過、有症状割合を示した。年齢分布は男の10—19歳にピーク、女は1—9歳と40歳代に次のピークが認められ、二峰性を示した。発症年齢は0歳が81%、1—9歳が10%であった。10歳代や20歳代以上での発症も僅かに認められ、これらの症例については確認の必要があると思われる。病型は接合部型が15%、栄養障害型が79%、その他5%であった。病型別に臨床症状を確認したところ、「水疱・びらん治癒後の瘢痕」、「爪変形・爪脱落」、「稗粒腫」、「粘膜の水疱・びらん」、「指（趾）間癒着」、「脱毛」、「食道狭窄」を有する割合は栄養障害型に多く、「掌蹠角化」は接合部型に多かった。歯牙形成不全は両型に30%強認められた。筋ジストロフィーや幽門狭窄の合併症は栄養障害型のみ数%、皮膚悪性腫瘍は両型に数%認められた。

共同研究者

池田志孝 順天堂大学医学部皮膚科学教授
北島康雄 岐阜大学大学院医学研究科教授
稲葉 裕 順天堂大学医学部衛生学教授
永井正規 埼玉医科大学公衆衛生学教授

臨床調査個人票の入力状況を把握し、最も入力率の高い年度のデータを用いて臨床疫学特性を把握することとした。

（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。また使用者は研究班の分担研究者、研究協力者に限定されている。

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、表皮水疱症の受給者の臨床疫学特性（年齢分布、病型、症状等）を分析することを目的とする。

B. 研究方法

H18年10月に厚生労働省に稀少難治性皮膚疾患（天疱瘡、表皮水疱症、膿疱性乾癬）のH13～17年度全国分臨床調査個人票データの利用申請を行い、11月初旬に電子化データを入手した。

表皮水疱症のH13～17年度までの各年の

C. 研究結果とD. 考察

表1に表皮水疱症の臨床調査個人票H13～17年度分の電子化データ数と受給者数、入力率を示す。昨年度9月に入手した際はH15年度データの入力率が最も高く52%であったが、今年度10月に入手した同年度データは入力率57.5%、今年度H16年度データは197例（61.2%）に上昇していた。

分析対象197例の内、男は94例（47.7%）、女は114例（52.3%）で男女比は1：1.2と

女性がやや多かった。表皮水疱症は遺伝性の疾患であるが、新規申請11例の内、家族歴を有するのは4例(36.3%)であった。

図1に性・年齢分布を示す。男は10—19歳にピークがあり、1—9歳、20歳代、30歳代が次に多い。女は1—9歳が最も多く、次に40歳代が多い二峰性を示す。発症年齢は0歳が最も多く81%を占め、1—9歳までの発症が10%程度あった(図2)。しかし本データには10—19歳、20歳以上の発症も僅かに含まれており、これらの症例については確認の必要があると思われる。

図3に病型別割合を示す。接合部型は29例(15%)、栄養障害型156例(79%)、その他10例(5%)であった。表皮水疱症の公費対象は接合部型と栄養障害型で、単純型は対象となっていないが、今回その他の中に単純型が4例含まれていた。これについても確認が必要と思われる。

図4に表皮水疱症受給者の日常生活状況を示す。「正常」に生活している人と「やや不自由であるが独力で生活している」人は共に37%、「制限があって部分解除」が必要な人は16%、「全面介助」が6%であった。社会活動については「就労」が65例(33%)、「就学」55例(28%)、「家事」29例(15%)、「在宅療養」25例(13%)、「入院」が5例(2.5%)であった。経過は「軽快しつつある」29例(16%)、「不変」138例(70%)、「悪化しつつある」24例(13%)であった(図5)。「悪化しつつある」は全て更新者で、男性より女がやや多く、年齢は男性の10歳未満、女性の40歳未満に多かった。病型は接合部型がやや多かった。

表2に接合部型(29例)と栄養障害型(156例)の各有症状割合を示す。「皮膚の水疱・びらん」を有する割合は接合部で100%、栄養障害型98%といずれも高かった。接合部型より栄養障害型に多く認められた症状は「粘膜の水疱・びらん」99例(63%)、「水疱・びらん治癒後の瘢痕」151例(97%)、「稗粒腫」112例(72%)、「指

(趾)間癒着」61例(39%)、「爪変形・爪脱落」146例(94%)、「脱毛」47例(30%)で、接合部型に多く認められたのは「掌蹠角化」14例(48%)であった。歯牙形成不全は両型の30%強に認められた。食道狭窄は栄養障害型に多く24%、筋ジストロフィーや幽門狭窄は栄養障害型のみ数%、皮膚悪性腫瘍は両型に数%認められた。

今後も詳細な分析を継続し、過去に行われた全国調査の結果との比較も行う予定である。

E. 結論

表皮水疱症の臨床調査個人票電子化データ平成13~17年度全国分のデータベースを用いて表皮水疱症受給者の臨床疫学特性(性・年齢分布、発症年齢分布、病型、症状等)を示した。

年齢分布は男の10—19歳にピーク、女は1—9歳にピークがあるものの40歳代にも次のピークが認められ、二峰性を示した。発症年齢は80%が0歳で発症、1—9歳が10%であった。しかし10代や20代以上での発症も僅かに認められ、これらの症例については確認の必要があると思われる。病型は接合部型が15%、栄養障害型が79%、その他5%であった。病型についても確認必要と思われる。臨床症状は「水疱・びらん治癒後の瘢痕」、「爪変形・爪脱落」、「稗粒腫」、「粘膜の水疱・びらん」、「指(趾)間癒着」、「脱毛」、「食道狭窄」を有する割合は栄養障害型に多く、「掌蹠角化」は接合部型に多かった。歯牙形成不全は両型に30%強認められた。筋ジストロフィーや幽門狭窄の合併症は栄養障害型のみ数%、皮膚悪性腫瘍は両型に数%認められた。

文献

1) 厚生統計協会：国民衛生の動向。厚生指標，2003；50(9)：148。

2) 厚生統計協会：国民衛生の動向。厚生指標，2004；51(9)：153。

3) 厚生統計協会：国民衛生の動向. 厚生
生の指標, 2005 ; 52 (9) : 150.

4) 厚生統計協会：国民衛生の動向. 厚生
生の指標, 2006 ; 53 (9) : 149.

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)

全てなし

表1 表皮水疱症のH13-17年度全国分臨床調査個人票入力率と各年の受給者数

年度	電子化データ数(入力率)		受給者数
	H17年入手分	H18年入手分	
H13	2(0.6%)	2(0.6%)	313 ¹⁾
H14	59(17.4%)	59(17.4%)	339 ²⁾
H15	169(52.0%)	187(57.5%)	325 ³⁾
H16	153(47.5%)	197(61.2%)	322 ⁴⁾
H17	—	137(42.4%)	

表2 表皮水疱症の病型別にみた有症状

症状	接合部型		栄養障害型	
	有り	%	有り	%
皮膚の水疱・びらん	29	100%	153	98%
粘膜の水疱・びらん	16	55%	99	63%
水疱・びらん治癒後の瘢痕	21	72%	151	97%
稗粒腫	11	38%	112	72%
指(趾)間癒着	6	21%	61	39%
掌蹠角化	14	48%	49	31%
脱毛	7	24%	47	30%
爪変形・爪脱落	23	79%	146	94%
歯牙形成不全	10	34%	60	38%
筋ジストロフィー	0	0%	4	3%
食道狭窄	1	3%	37	24%
肥厚性幽門狭窄	0	0%	4	3%
皮膚悪性腫瘍(扁平上皮癌)	1	3%	12	8%

図1 H16年度臨床調査個人票表皮水疱症の性・年齢分布

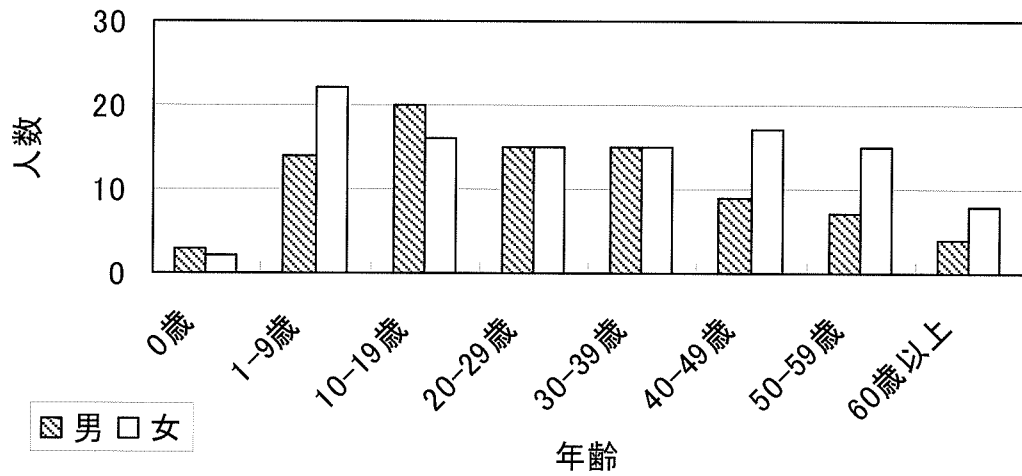


図2 H16年度表皮水疱症の性別発症年齢分布

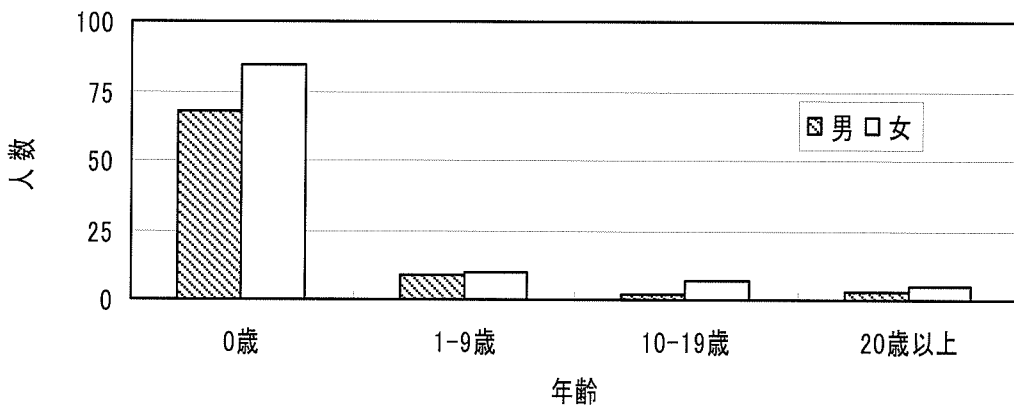


図3 H16年度表皮水疱受給者の疾患分類

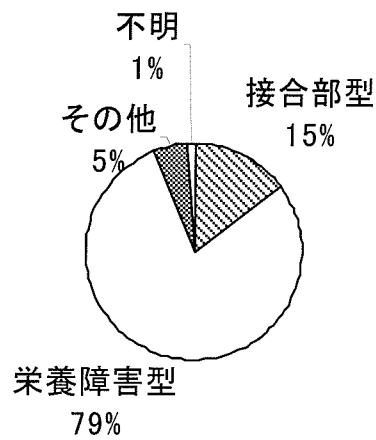


図4 H16年度表皮水疱症受給者の日常生活

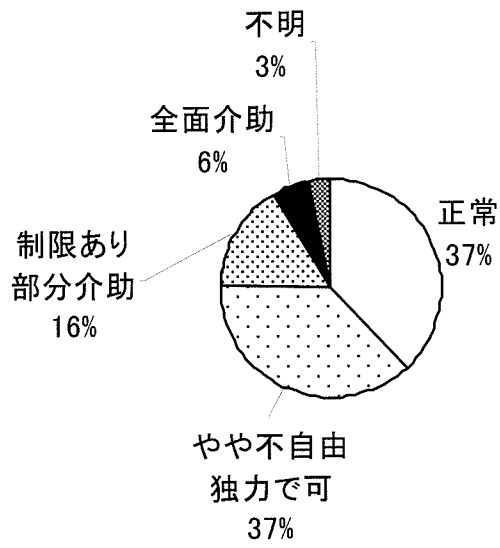
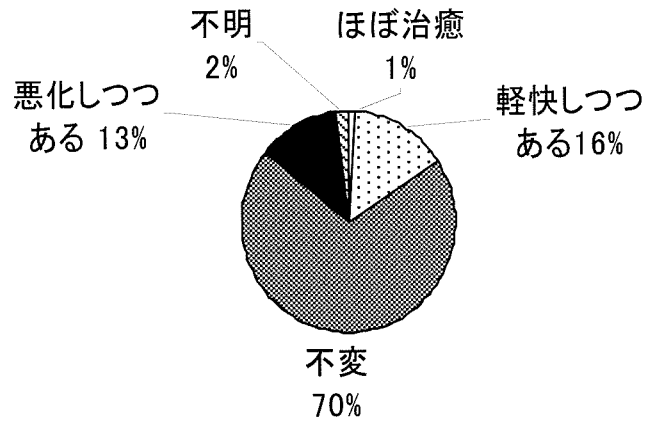


図5 H16年度表皮水疱症受給者の経過



厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

胎生期骨髄移植による外来遺伝子発現皮膚の長期生着の検討

分担研究者 金田安史 大阪大学大学院医学系研究科遺伝子治療学教授

研究要旨 遺伝性皮膚疾患に対する究極的な治療法は遺伝子治療であるが、有効かつ安全な遺伝子治療法を確立するためには、治療用遺伝子産物に対する拒絶免疫反応を回避して治療細胞が長期に個体内に保持される必要がある。骨髄移植によりドナー由来細胞に対する免疫寛容が生じることが知られており、治療用遺伝子を導入した自家骨髄細胞移植による免疫寛容誘導の可能性が示唆される。今回我々は、外来性遺伝子（GFP 遺伝子）導入骨髄細胞を胎生期に移植したマウスに GFP 発現皮膚を移植することにより、出生後長期間にわたる皮膚生着に成功した。

共同研究者
玉井克人
大阪大学大学院医学系研究科助教授
知野剛直
岐阜大学医学部皮膚科
北島康雄
岐阜大学医学部皮膚科 教授

A. 研究目的

先天性表皮水疱症や先天性魚鱗癬の劣性重症型では原因遺伝子の両アレルにナンセンス変異を持つことが殆どである。そのため、これら重症型遺伝子変異を持つ患者では原因遺伝子産物が先天的に完全欠損していることが多く、欠損蛋白に対する免疫寛容が破綻している可能性が示唆される。遺伝性皮膚疾患に対する遺伝子治療はこれら最重症病型に適応されることが期待されるため、治療用導入遺伝子産物に対する免疫寛容誘導法の開発は、有効かつ安全な遺伝子治療法確立にとって最重要課題のひとつである。一方、同種骨髄移植によりドナー由来組織に対する宿主免疫寛容誘導が可能であることが知られており、遺伝子導入自家骨髄移植は治療用遺伝子産物に対する免疫寛容誘導法として臨床応用できる可能性

がある。今回我々は、マウス胎仔循環系を利用した胎生期骨髄移植による免疫寛容誘導の可能性を検討した。

B. 研究方法

胎生14日目マウス（C57/Bl6）に対し、胎盤由来胎児循環を利用して10週令同種 GFP トランスジェニックマウス（GFP マウス）由来骨髄細胞（ 5×10^5 個）を移植。出生後 6 週令の GFP 骨髄移植マウス背部皮膚に GFP マウス皮膚を移植して、その生着について検討した。

C. 研究結果

胎生14日目に GFP 骨髄を移植したマウスでは、出生12週後において GFP 養成のリンパ球や樹状細胞が骨髄、脾臓、胸腺、パイエル板、リンパ節などの免疫担当組織に生着しており、骨髄におけるキメリズムは約0.5%程度であった。出生 6 週後に移植した GFP マウス皮膚片は拒絶されず生着し、20週以上でも GFP を発現していた。骨髄移植をしなかったマウスや、さらに出生後 GFP 遺伝子を皮下に注入して免疫したマウスでは、移植 2 週目から拒絶反応が起こり、4—5 週で全例移植皮膚が脱落し