

図10 16年度臨床調査個人票(新規・更新)  
天疱瘡2503例の病型別分布

経過	尋常性	増殖性	落葉状	紅斑性	その他・不明
軽症 (5点以下)	1157(73.8)	36(78.3)	403(73.0)	124(82.1)	71(83.5)
中等症 (6～9点)	319(20.3)	8(17.4)	128(23.2)	24(15.9)	12(14.1)
重症 (10点以上)	92(5.9)	2(4.3)	21(3.8)	3(2.0)	2(2.4)
計	1568(100.0)	46(100.0)	552(100.0)	151(100.0)	85(100.0)

注) 重症スコア不明を除く

表3 H16年天疱瘡臨床調査個人票(新規・更新)の病型別重症度(合計スコアより)

経過	尋常性	落葉状	紅斑性	その他・不明
軽症 (5点以下)	50(30.1)	28(34.6)	6(54.5)	9(64.3)
中等症 (6～9点)	71(42.8)	42(51.9)	5(45.5)	5(35.7)
重症 (10点以上)	45(27.1)	11(13.6)	0(0.0)	0(0.0)
計	166(100.0)	81(100.0)	11(100.0)	14(100.0)

注) 重症スコア不明を除く。H16年の新規入力データに増殖性天疱瘡はなし。

表4 H16年天疱瘡新規臨床調査個人票の病型別重症度(合計スコアより)

症 状	接合部型 32例	栄養障害型 180例
皮膚の水疱・びらん	32 (100%)	175 (97%)
粘膜の水疱・びらん	18 (56%)	112 (62%)
水疱・びらん治癒後の瘢痕	24 (75%)	163 (91%)
稗粒腫	19 (59%)	116 (64%)
指(趾)間癒着	6 (19%)	74 (41%)
掌蹠角化	15 (47%)	61 (34%)
脱毛	8 (25%)	55 (31%)
爪変形・爪脱落	26 (81%)	170 (94%)
歯牙形成不全	12 (38%)	70 (39%)
筋ジストロフィー	1 (3%)	4 (2%)
食道狭窄	2 (6%)	44 (24%)
肥厚性歯門狭窄	3 (9%)	11 (6%)
皮膚悪性腫瘍(扁平上皮癌)	1 (3%)	14 (8%)

表5 H16年度表皮水疱症臨床調査個人票(新規・更新)データの病型別有症状割合

症 状	新規：申請時 (90例)		新規：発症時または 最悪化時(90例)		更新：1年間で最悪 化時(886例)	
	例数	割合	例数	割合	例数	割合
紅斑 ほぼ全身	39	43.30%	48	53.30%	250	28.20%
紅斑 体表面積50%	22	24.40%	18	20.00%	229	25.80%
紅斑 一部の皮膚	25	27.80%	10	11.10%	375	42.30%
紅斑 なし	1	1.10%	0	0.00%	30	3.40%
膿疱形成 ほぼ全身	12	13.30%	18	20.00%	54	6.10%
膿疱形成 体表面積50%	11	12.20%	25	27.80%	112	12.60%
膿疱形成 一部の皮膚	48	53.30%	32	36.60%	457	51.60%
膿疱形成 なし	17	18.90%	0	0.00%	254	28.70%
膿海	23	25.60%	33	36.70%	140	15.80%
粘膜疹	12	13.30%	14	15.60%	62	7.00%
発熱 39℃以上	7	7.80%	16	17.80%	59	6.70%
発熱38℃以上39℃未満	6	6.70%	20	22.20%	99	11.20%
発熱38℃未満	25	27.80%	19	21.10%	201	22.70%
発熱なし	49	54.40%	15	16.70%	516	58.20%

表6 H16年度膿疱性乾癬の新規(申請時、発症時または最も悪化時)・更新(最近1年間で最も悪化時)別、有症状割合

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

稀少難治性皮膚疾患臨床症例前向き登録・追跡システムの構築

研究協力者 大野貴司 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚科学分野 准教授

**研究要旨** 稀少難治性皮膚疾患調査研究対象疾患（天疱瘡、膿疱性乾癬、先天性表皮水疱症、先天性魚鱗癬様紅皮症）の年齢分布、治療の選択、治療のアウトカムを把握するために、全国レベルでのシステム化された登録システムの構築が不可欠である。本年度は膿疱性乾癬を対象に研究班参加施設からのWebサイト前向き登録のシステム構築を行った。

共同研究者

厚生労働省稀少難治性皮膚疾患に関する調査研究参加施設（岡山大学、慶應義塾大学、久留米大学、岐阜大学、日本大学、自治医科大学、北海道大学、愛媛大学、順天堂大学、旭川医科大学、東海大学、山口大学、兵庫医科大学、大阪大学）

A. 研究目的

国際分類に準拠した臨床、検査、治療データをweb入力し、稀少難治性皮膚疾患の動向、治療効果、予後について詳細な臨床データの収集、解析を実施する。

B. 研究方法

拠点施設が参加し、毎年の全症例についての登録を事務局が管理するフォーマットに従ってオンラインで行なう。各施設から、指定されたパスワードにより、webサイト登録画面にアクセスし、当該年度の膿疱性乾癬新規症例に関しての、患者情報を連結可能匿名化情報として入力する。（図1）

（倫理面への配慮）

参加施設の倫理委員会で承認を得る。

C. 研究結果

膿疱性乾癬をモデルケースとして入力画面を構築した。①病型、②性別、③年齢、④家

族歴、⑤発症に至る経過、⑥臨床症状、⑦臨床病理所見、⑧遺伝子学的診断データ、⑨選択した治療法、⑩治療効果、⑪臨床経過、⑫転帰についての登録を実施する。

2008年度の新規登録患者情報の入力を開始した。（図2,3）

D. 考察

天疱瘡、膿疱性乾癬、先天性表皮水疱症、先天性魚鱗癬様紅皮症などの稀少難治性皮膚疾患は厚生労働省特定疾患治療研究事業における臨床調査個人票データベースをもとに、臨床症状、患者数、治療効果が解析されている。しかし、その臨床疫学統計は十分にはシステム化されておらず、全国レベルでの稀少難治性皮膚疾患患者の総数、年齢分布や治療の選択などの把握は困難である。平成19年度までに厚生労働省科学研究費補助金難治性皮膚疾患克服研究事業、稀少難治性皮膚疾患調査研究班はこれらの、難治性皮膚疾患の疫学的調査研究を進めてきたが、全国レベルでシステム化された疾患登録システムの確立が不可欠である。平成20年度と同調査研究班研究事業の一環として、膿疱性乾癬のオンラインによる登録システムを確立し、臨床情報の収集、蓄積を実施する。このシステムの構築により、システム参加施設の新規膿疱性乾癬症例に関し、今後の治療経過、治療アウトカムなどについて長期の経過観察が可能となる。

## E. 結 論

厚生労働省特定疾患治療研究事業における臨床調査個人票のデータに加えて、本登録システムの構築は今後の症例、患者データの集積、新規治療の有効性の判定、患者動向について、把握が可能となる。

## F. 健康危険情報

該当なし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Hamada T, Matsuura H, Oono T, Yamasaki, Asagoe K, Yamamoto T, Tsuji K, Iwatsuki K. Karyotypic analysis of marrow cells in pyodermic lesions associated with myelodysplastic syndrome. Arch Dermatol 2008;144:643-8.

### 2. 学会発表

なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

なし

## I. 引用論文

1. Kashino K, Senoo A, Yamasaki O, Iwatsuki K. Gangrenous staphylococcal infections localized on the lesions of acquired reactive perforating collagenosis. J Dermatol. 2008;35:594-7.
2. Tokuyama Y, Senoh A, Setsu N, Iwatsuki K. Pustular psoriasis induced by terbinafine: differential diagnosis from acute generalized exanthematous pustulosis. Eur J Dermatol 2008;18:725-6

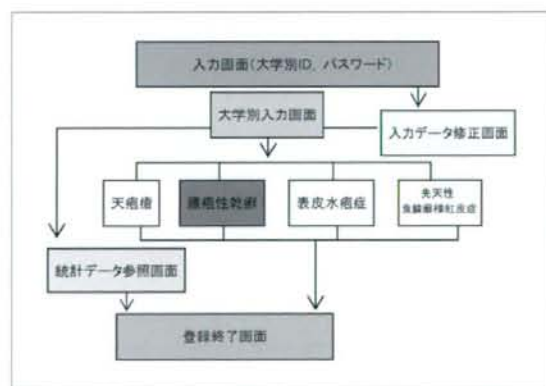


図 1



- 新規症例登録
- 症例検索・修正
- 統計
- 担当者情報変更
- トップページ
- ログアウト

## GPP 症例データベースシステム

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚科学分野  
大野貴司 様

WEB版 Ver1.00

左のメニュー一覧から選択してください。

■新規症例登録  
症例の詳細データを入力します。

■症例検索・修正  
タイトルで検索して、入力済みの症例データを検索できます。  
データの修正ができます。

■統計  
症例の統計を表示、ダウンロードできます。

図2 URL <http://www3.winsystemz.ne.jp/GPP/lym/>

### 譲渡性乾癬

患者基本情報 臨床検査項目 診断項目 治療・経過  
    
※印刷は印刷機が必要です。

---

タイトル

---

**患者基本情報**

登録年月日	2018年 <input type="checkbox"/> 月 <input type="checkbox"/> 日		
施設	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚科学分野		
登録者	<input type="text" value="大野貴司"/>		
施設登録番号	<input type="text"/>		
生年月日	西	年	月 日
性別	<input type="text"/>		
初診日	西	年	月
初診時年齢	<input type="text"/> 歳		
既往歴・合併症	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> 糖尿病 <input type="checkbox"/> 高血圧症 <input type="checkbox"/> 慢性腎臓病 <input type="checkbox"/> 慢性肝臓病 <input type="checkbox"/> 慢性心臓病 <input type="checkbox"/> 慢性骨髄性白血病 <input type="checkbox"/> 肝臓病 <input type="checkbox"/> B型肝炎 <input type="checkbox"/> C型肝炎 <input type="checkbox"/> その他 <input type="checkbox"/> その他 <input type="text"/>		
家族歴	<input type="checkbox"/> なし <input type="checkbox"/> あり <input type="checkbox"/> 祖父 <input type="checkbox"/> 祖母 <input type="checkbox"/> 兄弟 <input type="checkbox"/> 兄弟 <small>*ありの場合、病名も記載してください。</small>		
診断のための主要項目	1) <input type="checkbox"/> 診断あるいは全身病態等の中身症状を詳す。 2) <input type="checkbox"/> 全身または一部の病変に特徴的な免疫性細胞が多数見出し、ときに融合し腫瘍を形成する。 3) <input type="checkbox"/> 高解離抗原性(CD45RO陽性)細胞を特徴とする好中球性免疫下腫瘍を証明する。 4) <input type="checkbox"/> 以上の臨床的、組織学的所見を繰り返し生じること、ただし、初発の場合は臨床経過から下記の疾患を除外できること。 <small>以上の項目を満たす場合は譲渡性乾癬（診断）（確定例）とする。            1) 皮膚病 2) 3) を満たす場合を疑い-確定とする</small>		
除外診断	<input type="checkbox"/> 蕁麻疹 <input type="checkbox"/> 乾癬 <input type="checkbox"/> 乾癬様皮膚炎 <input type="checkbox"/> 乾癬様皮膚炎 <input type="checkbox"/> 乾癬様皮膚炎 <input type="checkbox"/> 乾癬様皮膚炎 <input type="checkbox"/> 慢性乾癬 (acute generalized exanthematous pustulosis) <input type="checkbox"/> 乾癬様皮膚炎 <input type="checkbox"/> 乾癬様皮膚炎 <input type="checkbox"/> 慢性乾癬の一種腫瘍化 <input type="checkbox"/> 乾癬様皮膚炎 <input type="checkbox"/> 乾癬様皮膚炎		
診断	<input type="checkbox"/> 確定例 <input type="checkbox"/> 疑い-乾 <input type="checkbox"/> 診断基準を満たさない		
病型	<input type="checkbox"/> 急性汎発性譲渡性乾癬 <input type="checkbox"/> 慢性乾癬 <input type="checkbox"/> 慢性乾癬様皮膚炎の汎発化 <input type="checkbox"/> 小児汎発性譲渡性乾癬		

図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

デスマグレインELISA法の改良を目指した天疱瘡自己抗体の病的エピトープの解析

研究分担者 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** 天疱瘡自己抗原であるデスマグレイン(Dsg)は前駆体pro-Dsgの形で生成され、プロセッシング(前駆体切断)により細胞間接着機能を持つ成熟Dsg(mature-Dsg)となる。病的活性を持つ抗Dsg1モノクローナル抗体は、mature-Dsg1のみに結合した。さらに、天疱瘡自己抗体の大部分は、Dsgプロセッシングで露呈される部位を認識した。Mature-Dsgのみを抗原として用いたELISA法はより病勢と反映する検査法となり得ると期待される。

研究協力者

石井 健、

横内麻里子 慶應義塾大学医学部皮膚科学教室

#### A. 研究目的

天疱瘡は自己抗体を介する自己免疫性水疱性疾患であり、その自己抗原はカドヘリン型の細胞接着因子のデスマグレイン(Dsg)である。天疱瘡の病態解明を目的として、phage displayを用いて天疱瘡患者から多数のモノクローナル抗デスマグレイン(Dsg)抗体を単離し解析している。さらに、病的活性を有する抗体、持たない抗体があることが示されており、自己抗体の結合する部位(エピトープ)がその病原性に重要であると考えられている。一方で、天疱瘡自己抗原であるDsgは前駆体Dsg(pro-Dsg)の形で生成され、細胞内でprocessingを受けることにより、細胞間接着機能を持った成熟したDsg(mature-Dsg)となることが知られている。今回、我々は、processingで影響を受けるDsgのエピトープに着目して抗体の反応性を検討した。

#### B. 研究方法

- 1)病的活性を持つ抗Dsg1モノクローナル抗体(PA-1抗体)、病的活性を持たない抗Dsg1モノクローナル抗体(NPA-1、NPA-2抗体)のpro-Dsg1とmature-Dsg1との反

応性を免疫沈降法で検討した。

- 2)さらに、pro-Dsg1とmature-Dsg1を分離精製し、ELISAプレートにそれぞれ固相化した。落葉状天疱瘡53例の両者への反応性を比較検討した。

#### (倫理面への配慮)

インフォームドコンセントを得たうえで、一般検査検体の残りをご提供頂いた。

#### C. 研究結果

1. 病的活性を持つ抗Dsg1抗体(PA-1抗体)は、mature-Dsg1のみに反応し、pro-Dsg1には反応しなかった。また、病的活性を持たない抗体NPA-1抗体は、Pro-Dsg1のみ認識し、mature-Dsg1には反応せず、病的活性を持たないもうひとつの抗体NPA-2抗体は、Pro-Dsg1、mature-Dsg1の両者を認識した。(図1)
2. 落葉状天疱瘡患者53例につき、Mature Dsg1 ELISA プレート、Pro-Dsg1 ELISA プレートに対する反応性を比較した。ほぼ全例で、Mature-Dsg1 ELISA 値がPro-Dsg1 ELISA 値に比べ高値を示した。2例は、pro-Dsg1に対する反応性が強かった。

#### D. 考察

天疱瘡患者血清中の自己抗体の大部分は、

Proteolytic processingで露呈される部位を認識していることが判明した。このことは、天疱瘡において、自己抗体がDsg分子間の相互作用を直接阻害することによって水疱形成が誘導されるという説を支持するものである。また、現行のDsg ELISAの抗原はpro-Dsgとmature-Dsgの混合物であるため、mature-Dsgのみを抗原としたELISA法は、より病勢を反映した検査法になりうると考えられた。

## E. 結 論

病的活性を持つ抗Dsg1モノクローナル抗体は、Proteolytic processingで露呈される部位に結合し、さらに、天疱瘡自己抗体の大部分は、同部位を認識することが明らかになった。

## F. 健康危険情報

該当なし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

なし。

### 2. 学会発表

1. Ishii K, Adly M, Yokouchi M, Stanley JR, Amagai M: Two pathogenic anti-desmoglein 1 (Dsg1) monoclonal antibodies isolated from one pemphigus foliaceus (PF) patient define major Dsg1 epitopes recognized by most pemphigus patients.

International Investigative Dermatology 2008, Kyoto, Japan, 2008.05.

2. Yokouchi M, Ishii K, Stanley JR, Amagai M. Proteolytic processing of precursor desmoglein 1 (Dsg1) unmasks pathogenic epitopes Post IID 2008 satellite international meeting on autoimmune bullous diseases, Otsu, Japan, 2008.05.

3. 横内麻里子、石井 健、黒田慶子、蜂矢隆久、天谷雅行

病的エピトープに着目したデスマogleインELISAの改良

第30回水疱症研究会, 東京, 2008.10.

4. 石井健、横内麻里子、Marwah Adly、黒田慶子、蜂矢隆久、天谷雅行

デスマogleイン (Dsg) ELISA法の改良を目指した天疱瘡自己抗体の病的エピトープの解析 第822回日本皮膚科学会東京支部研究地方会, 東京, 2008.12.

## H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む) なし。

## I. 引用論文

1. Ishii K, Lin C, Siegel DL, Stanley JR (2008) Isolation of pathogenic monoclonal anti-desmoglein 1 human antibodies by phage display of pemphigus foliaceus autoantibodies. *J Invest Dermatol* 128:939-48

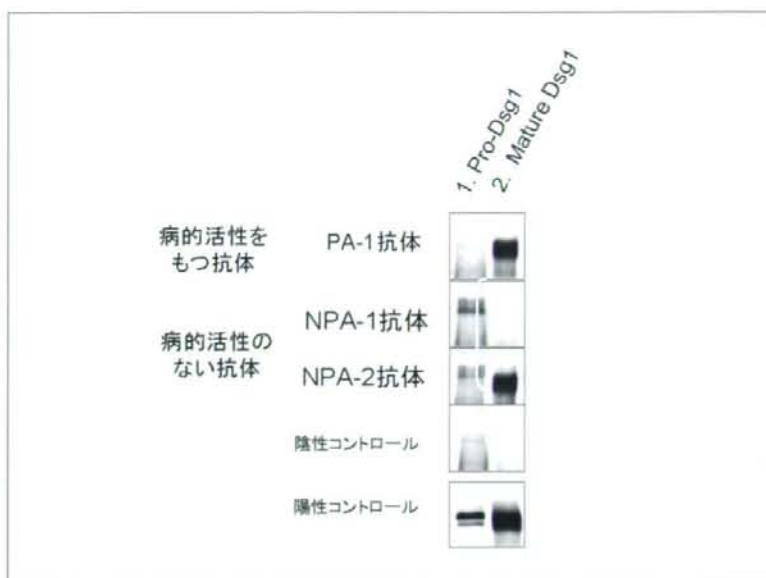


図1. 抗Dsg1モノクローナル抗体を用いたpro-Dsg1またはmature Dsg1への反応性の検討

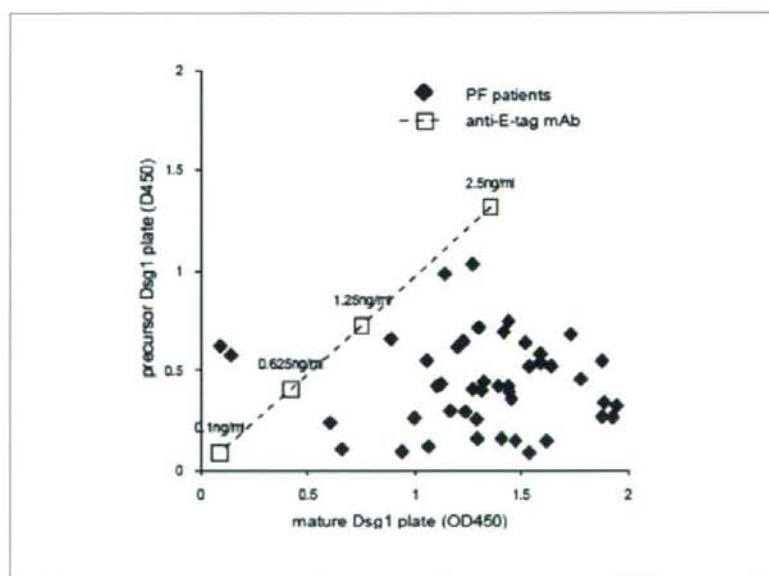


図2. 落葉状天疱瘡血清を用いたpro-Dsg1、mature-Dsg1への反応性の検討



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

PDAI(Pemphigus Disease Area Index)と新しい天疱瘡評価法の検討

研究分担者 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** 天疱瘡の病勢評価方法であるPDAI (Pemphigus Disease Area Index) はInternational Pemphigus Committeeにより提案された新しい国際基準で、体の各部位における病変の数・大きさを点数化したものである。評価点数のrangeが広く、急性期の病勢変化を捉えやすいなどの利点がある。今回、PDAIと現行の天疱瘡重症度基準、特定疾患臨床調査個人票用に評価項目を簡略化した簡易版PDAI、および評価者による主観的な重症度を主な評価項目として、岡山大学・久留米大学・岐阜大学・順天堂大学・慶應義塾大学にて調査を行い、その結果を集計した。各々の基準の比較を行うとともに、PDAIを用いた重症度基準の設定や今後の天疱瘡の病勢評価法について検討した。

研究協力者

谷川 瑛子 慶應義塾大学医学部皮膚科学教室  
清水 智子 慶應義塾大学医学部皮膚科学教室  
岩月 啓氏 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科  
皮膚科学分野  
青山 裕美 岐阜大学病院皮膚科  
橋本 隆 久留米大学病院皮膚科  
池田 志孝 順天堂大学医学部皮膚科

(倫理面への配慮)

連結不可能匿名化された臨床情報を集計した。

A. 研究目的

1. 国際的な病勢評価方法であるPDAI(表1)と現行の天疱瘡重症度基準、および簡易版PDAI(表2)の有効性を比較検討する
2. PDAI、簡易版PDAIでの重症度判定の至適スコア設定する

B. 研究方法

平成20年8月から11月までに岡山大・岐阜大・久留米大・順天堂大・慶應義塾大を受診した天疱瘡患者を対象とし、PDAI・簡易版PDAI・現行の天疱瘡重症度基準・評価者の主観的重症度(軽症・中等症・重症)・Physician's Global Assessment(PGA)を主要評価項目として評価した。

C. 研究結果

全症例 29例  
(尋常性天疱瘡20例 落葉状天疱瘡9例)のべ評価回数 42回

1. PDAIで30を越える重症例では現行基準よりPDAIの方が病勢評価に適している(図1)。
2. PDAIを用いた重症度判定基準のスコアとして 軽症:0~9 中等症:10~24 重症:25~ が妥当と思われる(図2)。
3. PGAとPDAIは強い相関関係を示し、PDAIは評価者の主観的重症度をよく反映している(図3)。
4. 重症例では簡易版PDAIのスコアがPDAIより低くなる傾向にあり、重症度設定は  
軽症:0~9 中等症:10~19  
重症:20~ が妥当である(図4)。

D. 考察

稀少疾患である天疱瘡は、これまで国際的に統一された病勢評価のスコアがなく、その

ため治療効果の比較やmeta-analysisが困難であった。これをふまえ、国際基準を作る動きがあり、International Pemphigus Committeeは新たに国際基準であるPDAIを提案した。

PDAIは現行の天疱瘡重症度基準と比べてスコアのrangeが広いため重症例の病勢変化を反映しやすく、治療初期の効果判定により適しているといえる。

しかし、PDAIは評価項目が多く煩雑であり、特定疾患臨床調査個人票に用いるには適さないと考えられたため、簡易版PDAIを作成した。簡易版PDAIでは重症例のスコアがPDAIよりも低くなるが、症例の大半を占める軽症・中等症例ではPDAIのスコアとほぼ同じスコアであり、重症度判定に用いるには問題はないと考えられた。ただし、簡易版PDAIは本邦独自のものであり、治験や国際的に発表するデータの場合にはPDAIを使うことが望ましい。

## E. 結論

今回の研究により、国際的な病勢評価スコアを用いた重症度判定の至適スコアが示された。今後、急性期の治療効果判定などにおいて有用と考えられる。また今回の結果は、これまでの現行基準を用いて得られたデータと比較をする際の貴重な基礎資料になると考えた。

## F. 健康危険情報

該当なし。

## G. 研究発表

なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

なし

## I. 引用論文

1. Gaines E, Werth VP. Development of outcome measures for autoimmune dermatoses. Arch Dermatol Res 2008;300:3-9.

### 1. 皮膚

部位	点数
耳	
鼻	
顔(鼻・耳を除く)	
顔部	
胸部	
腹部	
背脊・臀部	
上肢	
手	
下肢	
足	
陰部	
合計	

びらん/水疱または新しい紅斑\*

点数: 0点 = なし

1点 = 1~3個 かつ>長径2cmの皮疹は1個以下

2点 = 2~3個 かつ2個以上が>長径2cm

3点 = 4個以上 かつ>長径6cmの皮疹がない

5点 =>長径6cm(かつ16cm以下)の皮疹が1個以上

10点 =>長径16cmの皮疹が1個以上あるいは領域全体

\* 上皮化した部分や炎症後の色素沈着は含まない

### 2. 頭皮

部位	点数
頭皮	

びらん/水疱または新しい紅斑\*

点数: 0点 = なし

1点 = 1/4領域

2点 = 1/2領域

3点 = 3/4領域

4点 = 頭皮全体

10点 = 少なくとも1個は>長径6cm

\* 上皮化した部分や炎症後の色素沈着は含まない

### 3. 粘膜

部位	点数
眼	
鼻腔	
硬口蓋	
軟口蓋	
上歯肉	
下歯肉	
舌	
口腔底	
後咽頭	
外陰部	
合計	

びらん/水疱

点数: 0点 = なし

1点 = 1個

2点 = 2~3個

5点 = 4個以上

または>長径2cmが2個以上

10点 = 領域の全体

表1 日本語版PDAI PDAIスコア = 皮膚スコア + 頭皮スコア + 粘膜スコア

皮膚症状（びらん/水疱または新しい紅斑）

部位	点数
頭皮	
顔頸部	
胸部・腹部	
背部・臀部	
上肢・手	
下肢・足	
計 (A)	

- 点数：0点 = なし  
 1点 = 1～3個 >長径2cmの皮疹は1個以下  
 2点 = 2～3個 2個以上>長径2cm  
 3点 = 4個以上 >長径6cmの皮疹がない  
 5点 = 4個以上 少なくとも1個は>長径6cm  
 10点 = 4個以上 少なくとも1個は>長径16cm  
 あるいは融合した皮疹の長径が>16cm

注\* 上皮化した部分や炎症後の色素沈着は含まない

粘膜（びらん/水疱）

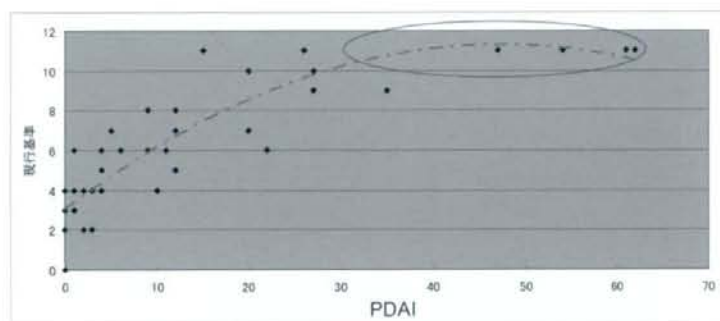
部位	点数
頬粘膜	
口蓋	
上歯肉	
下歯肉	
舌	
外陰部	
計 (B)	

- 点数：0点 = なし  
 1点 = 1個  
 2点 = 2～3個  
 5点 = 4個以上 または>長径2cmが2個  
 10点 = 領域の全体

PDAI簡易スコア(A)+(B)= 点

表2 簡易版PDAI

現行基準とPDAIスコアの分布



PDAIで $\geq 30$ から現行基準スコアはプラトーになる

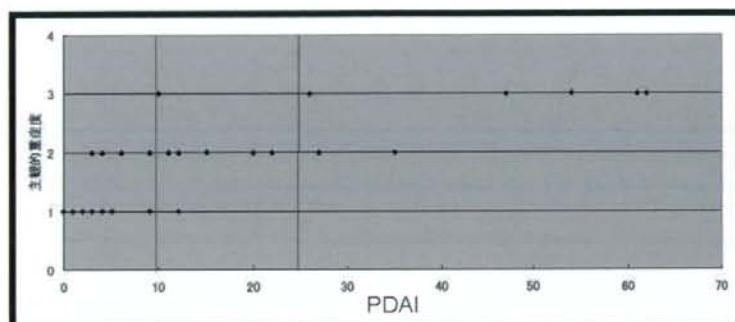
→重症例ではPDAIの方が評価に適している

図1 現行基準とPDAIスコアの分布

PDAIスコアが30を越える重症例では現行基準よりもPDAIの方が病勢評価に適している

### 評価者の主観的重症度とPDAI

(主観的重症度 1=軽症 2=中等症 3=重症)

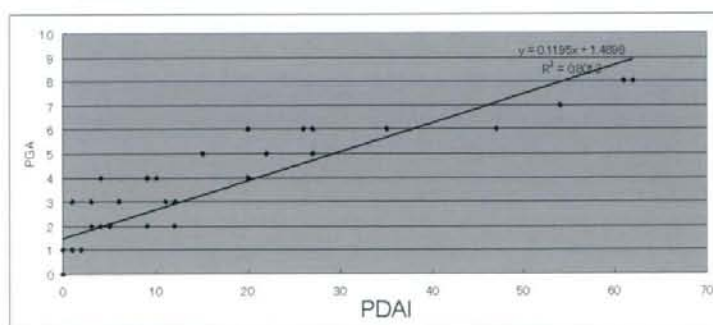


軽症:0-9 中等症:10-24 重症:25- が妥当

図2 評価者の主観的重症度とPDAI

### PGA(Physician's Global Assessment)とPDAIの分布

PGA:評価者の主観的重症度を0(症状なし)~10(想像しうる最も悪い状態)で  
評価したもの



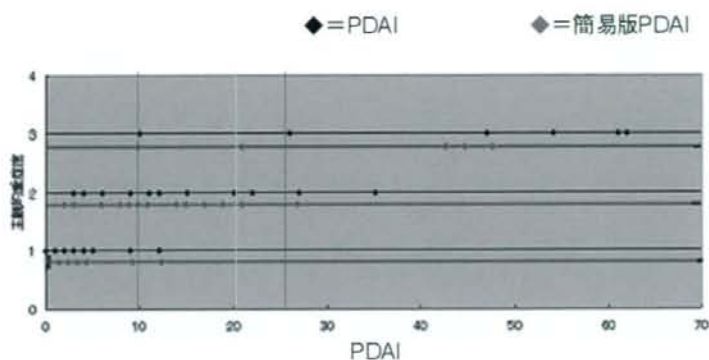
評価者の主観的重症度を数値化したPGAとPDAIは強い相関関係を示している

図3 PGA (Physician's Global Assessment) とPDAIの分布および相関



## PDAIと簡易版PDAIにおける重症度設定

(主観的重症度 1=軽症 2=中等症 3=重症)



簡易版では重症例ほどスコアがPDAIより低くなる傾向にある  
重症度設定は 軽症:0-9 中等症:10-19 重症:20- くらい

図4 評価者の主観的重症度とPDAI/簡易版PDAIの分布  
10点と25点(濃い実線)がPDAIでの重症度ライン  
20点(薄い実線)は簡易版PDAIにおける重症例の重症度設定ライン

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

病原性抗デスモグレイン3抗体によるデスモグレイン3の分解機構の解析  
水疱形成への関与の検討

研究分担者 青山裕美 岐阜大学大学院医学系研究科皮膚病態学分野 講師

**研究要旨** 培養表皮細胞を用いて病原性抗デスモグレイン (Dsg) 3抗体で刺激後、Dsg3の分解過程を検討した。Dsg3は、抗体添加後1分後にDsg3の細胞外ECドメイン2で切断された。EC1-EC2断片は未刺激時に検出され、抗体刺激により増加した。Dsg3の切断はMetalloproteinase (MMP)-9阻害剤で部分的に阻害された。以上より、Dsg3の切断は、生理的なものでもあり、AK23mAbが細胞外ドメインに結合しDsg3が凝集することにより、さらに急速に進行すると考えられる。切断にMMP-9の関与が示唆された。

共同研究者

北島 康雄 岐阜大学大学院医学系研究科  
皮膚病態学分野教授

伊佐 保香 岐阜大学大学院医学系研究科  
皮膚病態学分野

(AKシリーズ 慶應大学医学部皮膚科  
天谷雅行教授より供与)、AHP319  
(serotech社)Dsg3C末端ポリクロナール  
抗体、BOS6抗体(200-229A Aで免役し  
たポリクロナール抗体)を使用した。

## A. 研究目的

天疱瘡抗体による水疱形成関連シグナルとその調節機構を検討し、分子反応を阻害する薬剤を見いだすことによって水疱形成を抑制し新規治療の開発に発展させる。

## B. 研究方法

### 1. 免疫沈降法によるデスモグレイン(Dsg)3の分解産物の検出

培養細胞(DJM-1細胞)を天疱瘡IgGおよび病原性の異なるAkmAb(0.3 mg/ml)で刺激後、PBSで洗い、タンパク質分解酵素阻害剤を加えた1% Brij buffer (1% Brij 58, 20mM Tris [pH7.8], 150 mM NaCl, 5m M iodoacetamide) で可溶化した。Dsg3のC末を認識する抗体(AHP319)を結合したproteinAビーズで免疫沈降した。免疫沈降物をウエスタンブロッティングで検討した。

### 2. 使用抗体 抗Dsg3モノクロナール抗体

## C. 研究結果

### 1. 異なるエピトープと病原性を持つ抗Dsg3抗体によるDsg3分解の検討。

DJM-1細胞をサブコンフレント状態に培養し、病原性の低いAK20, 18mAb, 病原性の高いAK23mAbと天疱瘡(PV) IgGを0.3 mg/mlの濃度で10分間刺激した。細胞を1% Brij bufferで可溶化し、Dsg3のC末を認識するDsg3抗体を用いた免疫沈降法-ウエスタンブロッティングでDsg3の分解産物を検出した。病原性の高いAK23mAbと天疱瘡(PV) IgGで刺激時のみ全長Dsg3(130kDa)に加え110kDaの分解産物を検出した(Fig. 1)。

### 2. AK23抗体刺激により誘導されるDsg3の分解の時間経過における変化。

DJM-1細胞をサブコンフレントの状態に培養し、病原性の高いAK23mAbを0.3mg/mlの濃度で30分間まで刺激した。細胞を1% Brij bufferで可溶化し、

結果 1 と同様に免疫沈降法で Dsg3 の分解産物を検出した。AK23 刺激 1 分後から 110kDa の分解産物が検出され 30 分の間分解産物の量が増加し、全長 Dsg3 の量が減少していた (Fig. 2)。

### 3. AK23 抗体による Dsg3 の分解部位の検討。

110kDa の Dsg3 分解産物を異なるエピトープをもつ (Fig. 3 上) Dsg3 抗体でウエスタンブロットティングした (Fig. 3 下)。AK23, 19, 18mAb は 130kDa のみを認識し、AK15mAb と BOS6 抗体は 130kDa と 110kDa を共に認識した。

110kDa が細胞外 EC2 ドメインで切断されるならば、EC1 を含む断片が細胞培養中に放出されると考え、DJM-1 細胞を AK23 で刺激し培養液を AK23mAb で免疫沈降を行い AK23mAb でウエスタンブロットティングを行った。未刺激時には約 30kDa の短い断片が検出され AK23mAb 刺激により増加した (Fig. 4)。

### 4. MMP-9 阻害剤とチロシンキナーゼ阻害剤 (PP-1) は Dsg3 の分解に対する影響。

これまでにアポトーシスの過程で Dsg3 が MMP9 によって切断されるという報告 (1, 2) があるので、AK23 によって誘導される Dsg3 の切断に MMP-9 が関与するかどうか確認した。培養 DJM-1 細胞の培地中に MMP-9 阻害剤を加え 1 時間後に AK23mAb で刺激した。同様に免疫沈降法で Dsg3 の分解産物の産生を確認した。MMP-9 阻害剤添加により 110kDa-Dsg3 の産生が部分的に抑制された (Fig. 5)。チロシンキナーゼ抑制剤である genistein, PP-1 前処理後 PP-1 は部分的に分解を抑制したが genistein は抑制効果がなかった。

### 5. AK23mAb による MMP-9 の活性の時間的推移。

培養 DJM-1 細胞に AK23mAb (0.3 mg/ml) を加え 1 から 24 時間後の

MMP-9 の活性を測定した。MMP-9 の活性は刺激後 1 時間以内では未刺激と差がなく活性の増加はわずかで、24 時間後には AK23mAb 刺激により 1.0 ng/ml に活性が増加し、未刺激サンプルに比較し有意な変化であった (Fig. 6)。

## D. 考察

病原性が高い抗体を加えると Dsg3 の分解産物の産生を亢進させる。また AK23mAb が EC1 ドメインの特定領域 (ホモフィリック結合に関与するエピトープと考えられている) に結合することが Dsg3 の分解を誘導するきっかけになると考えることもできる。抗体が Dsg3 の細胞外ドメインに結合することによって Dsg3 に対して与える影響として、1. Trans-iteration (隣接する細胞の Dsg3 との相互結合) を阻害すること、2. parallel association (同一細胞膜上で平行に 2 量体を形成するための結合) を阻害する、3. 細胞膜上で Dsg3 分子を凝集させることが考えられる。

病原性 AK23mAb が Dsg3 の細胞外ドメインに結合すると速やかに Dsg3 分子は分解し始める。その反応は 30 分間持続している。この分解は抗体が Dsg3 に結合することによって誘導されていることが示唆される。

110kDa 分解産物は EC2 ドメインで切断されている。未刺激時にも培養上清に 30kDa の Dsg3 の細胞外ドメインの断片が検出されたことは、この切断が生理的なものでもあり、AK23mAb が細胞外ドメインに結合し Dsg3 が凝集することにより、さらに急速に進行すると考えられる。

MMP-9 阻害剤が分解を部分的に抑制したため Dsg3 の分解への関与が示唆される。これまでに Dsg3 が MMP-9 により分解されると報告された論文があるが、天疱瘡において抗体結合後に MMP-9 を介して Dsg3 の分解消失に関与するか検討するために AK MMP-9 の活性は AK23mAb 刺激後 MMP-9 の活性を測定した。mAb 刺激後 1 時間以内には著明な上



昇がなかったため、抗体刺激後短時間でのMMP-9の活性化が急激に誘導されることはない。しかし、限局した部位でMMP-9の活性がわずかに増加しDsg3の細胞外ドメインが切断される反応が生じている場合、著明に活性の増加としてとらえられないこともあり得るので、MMP-9の関与は大いにあり得ると考えている。

さらにMMP-9ノックアウトマウスの表皮細胞を用いて分解が確実に抑制されるかどうか、新生マウスを用いて抗体による水疱形成能を検討し、MMP-9のDsg3分解と水疱形成への関与の程度を確認検討する必要がある。

## E. 結 論

病原性のある天疱瘡抗体によるDsg3細胞外ドメインでの分解過程の存在を初めて確認できた。その候補分子としてMMP-9に着目して検討した。水疱形成に関する影響の程度をさらに深く追求するためにMMP-9KOマウスを用いた検討を行う必要がある。

## F. 健康危険情報

該当なし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Kanno M, Aoyama Y, Isa Y, Yamamoto Y, Kitajima Y: p120 catenin is associated with desmogleins when desmosomes are assembled in high-Ca<sup>2+</sup> medium but not when disassembled in low-Ca<sup>2+</sup> medium in DJM-1 cells. *J Dermatol* 35:317-24, 2008
2. Kanno M, Isa Y, Aoyama Y, Yamamoto Y, Nagai M, Ozawa M, Kitajima Y: p120-catenin is a novel desmoglein 3 interacting partner: identification of the p120-catenin association site of desmoglein 3. *Exp Cell Res* 314:1683-92, 2008
3. Aoyama Y, Nagasawa C, Nagai M, Kitajima Y: Severe pemphigus vul-

garis: successful combination therapy of plasmapheresis followed by intravenous high-dose immunoglobulin to prevent rebound increase in pathogenic IgG. *Eur J Dermatol* 18:557-60, 2008

4. Iwata H, Kamio N, Aoyama Y, Yamamoto Y, Hirako Y, Owaribe K, Kitajima Y: IgG from patients with bullous pemphigoid depletes cultured keratinocytes of the 180-kDa bullous pemphigoid antigen (type XVII collagen) and weakens cell attachment. *J Invest Dermatol* 2009 Jan 29
5. Iwata H, Hiramitsu Y, Aoyama Y, Kitajima Y: A case of anti-p200 pemphigoid; evidence for a different pathway in neutrophil recruitment compared to bullous pemphigoid. *Br J Dermatol* 2008 Dec 19
6. Aoyama Y, Yamamoto Y, Yamaguchi F, Kitajima Y: Low to high Ca<sup>2+</sup>-switch causes phosphorylation and association of desmocollin 3 with plakoglobin and desmoglein 3 in cultured keratinocytes. *Exp Dermatol* in press
7. 鈴木 彩, 市川裕子, 青山裕美, 北島康雄, 河内隆宏, 山田俊樹, 森脇久隆: B細胞リンパ腫に伴った腫瘍随伴性天疱瘡の1例. *皮膚科の臨床* 50(1):31-4, 2008
8. 奥田容子, 新田悠紀子, 大野稔之, 青山裕美, 北島康雄: 線状IgA/IgG水疱症の小児例. *臨床皮膚科* 62(6):386-9, 2008
9. 浅井かなこ, 日置加奈, 林 美穂, 米田和史, 青山裕美, 北島康雄: 後天性表皮水疱症の1例. *皮膚科の臨床* 50(12):1613-6, 2008
10. 青山裕美 角化症診断・治療マニュアル, 水疱型先天性魚鱗癬様紅皮症 *Derma* 142:21-29, 2008
11. 【水疱症の診断と治療】自己免疫性水



疱疹 妊娠性疱疹と新生児類天疱瘡の  
診断と治療 青山裕美 北島康雄  
Derma,137:49-54,2008

12. 【水疱症の診断と治療】自己免疫性水  
疱症 尋常性天疱瘡と落葉状天疱瘡の  
診断と治療 Author:北島康雄,青山  
裕美 Derma,137:27-34,2008

13. Kitajima Y,Aoyama Y:Desmosome  
assembly,disassembly and signaling  
in keratinocytes:Lessons from  
pemphigus,a desmosome-remodeling  
disease.Pathophysiology of the  
Desmosome,in press,Research Sign-  
post,2009 刊行予定

## 2. 学会発表

Isa Y,Aoyama Y,Nagai M,Tsunoda  
K,Amagai M,Kitajima Y:Pemphigus IgG  
and pathogenic monoclonal anti-desmo-  
glein 3 antibody induced cleavage of ex-  
tracellular domain of membrane-pooled  
desmoglein 3 during endocytosis.Interna-  
tional Investigative Dermatology 2008.  
Kyoto,2008

Aoyama Y,Isa Y,Kanno M,Ozawa  
M,Kitajima Y:p120-catenin associates in-  
directly with Desmoglein 3,recruits it to  
the plasma membrane and stabilizes it at  
the cell surface.International Investigative  
Dermatology 2008.Kyoto,2008

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)  
なし

## I. 引用論文

1. Weiske J,Schöneberg T,Schröder  
W,Hatzfeld M,Tauber R,Huber O.J Biol  
Chem.2001 Nov 2;276(44):41175-81

2. Cirillo N,Femiano F,Gombos F,Lanza  
A.Oral Dis.2007 May;13(3):341-5.

Pathogenic anti Dsg3 mAb induced Dsg3 degradation into 110kDa, but nonpathogenic Dsg3 mAb did not.

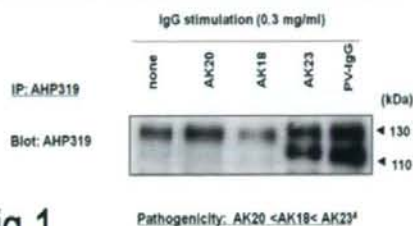
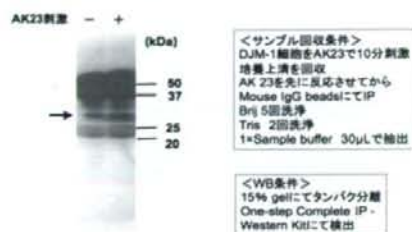


Fig.1

Fig.4

培養上清中のDsg3切断断片



AK23 mAb induced rapid Dsg3 degradation

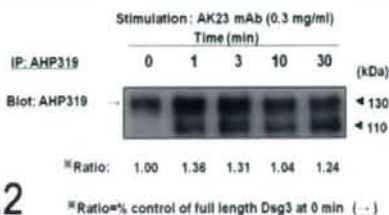
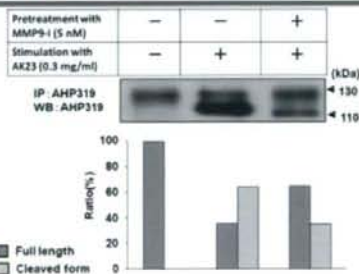


Fig.2

Fig.5 MMP9 is involved in Dsg3 cleavage of extracellular domain



AK23 mAb induced cleavage of Dsg3 at EC2 domain

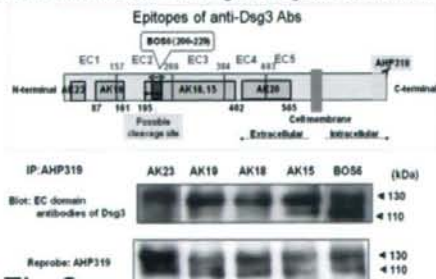


Fig.3

MMP-9 activity assay

<Assay protocol>  
DJM-1 cells were incubated with AK23mAb for indicated times.  
After incubation, incubated medium were collected and used as MMP-9 activity assay samples.  
MMP-9 activity was measured by using MMP-9 activity assay kit (GE healthcare).

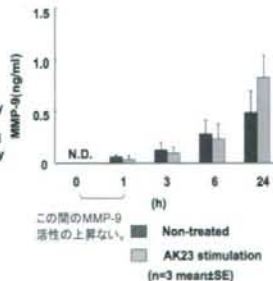


Fig.6

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

ラミニン $\gamma$ 1類天疱瘡

研究分担者 橋本 隆 久留米大学医学部皮膚科学教室 教授

**研究要旨** 抗p200類天疱瘡は、表皮下水疱を形成し、皮膚の基底膜領域に存在する分子量 200 kDa のタンパク (p200) に対する自己抗体の存在によって特徴づけられる自己免疫性水疱症である。p200 を同定するために、真皮抽出物の2次元電気泳動を行い、ウエスタンブロット法で患者血清が特異的に反応するバンドを検出した。このバンドの質量解析を行った結果、ラミニン $\gamma$ 1であった。さらに、ウエスタンブロット法で、32症例の患者血清のうち90%がラミニン $\gamma$ 1組換え体と反応し、そのほとんどがラミニン $\gamma$ 1のC末端側の組換えE8断片に反応性を示した。患者血清および患者由来精製IgGは、還元条件下のウエスタンブロット法で、血管由来ラミニン $\gamma$ 1よりも真皮由来ラミニン $\gamma$ 1に高い反応性を示した。以上より、p200はラミニン $\gamma$ 1であると考えられ、本疾患名を「抗ラミニン $\gamma$ 1類天疱瘡」と改めることを提唱したい。

共同研究者

大日 輝記 久留米大学医学部皮膚科学教室  
古賀 浩嗣 久留米大学医学部皮膚科学教室  
大山 文悟 久留米大学医学部皮膚科学教室  
石井 文人 久留米大学医学部皮膚科学教室  
黒野 定 大阪大学大学院医学系研究科保健学専攻  
Detlef Zillikens University of Lübeck  
関口 清俊 大阪大学蛋白質研究所

スタンブロット法で患者血清が特異的に反応するバンドを検出した。クマシー染色上でこのバンドと一致するバンドの質量解析を行った(9)。

(倫理面への配慮)

本研究は久留米大学倫理委員会により承認を受けて行った。

A. 研究目的

抗p200類天疱瘡は、表皮下水疱を形成し、皮膚の基底膜領域に存在する分子量 200 kDa のタンパク (p200) に対する自己抗体の存在によって特徴づけられる自己免疫性水疱症である(1-6)。1996年に我々が初めて報告して以来(1,2)、70例を超える症例を経験している。多くの研究者の試みにも関わらず、今日に至るまで、p200は同定されていなかった(7,8)。本研究の目的は、p200を同定することである。

B. 研究方法

真皮抽出物の2次元電気泳動を行い、ウエ

C. 研究結果

質量解析を行った結果、患者血清が特異的に反応するバンドはラミニン $\gamma$ 1であった(図1)。2次元電気泳動を行った真皮抽出物に対して、ラミニン $\gamma$ 1に対するモノクローナル抗体でウエスタンブロット法を行ったところ、患者血清が検出したバンドと同じバンドに反応した(図1)。また、患者血清で真皮抽出物の免疫沈降法を行ったところ、沈降物はウエスタンブロット法で抗ラミニン $\gamma$ 1モノクローナル抗体と反応した。さらに、ウエスタンブロット法で、32症例の患者血清のうち90%がラミニン $\gamma$ 1組換え体と反応した(図2)。ラミニン $\gamma$ 1のC末端に対するモノ



クローナル抗体は、ウエスタンブロット法で、真皮抽出物中の p200 に対する患者血清の反応を競合阻害した。逆に、患者由来精製 IgG は、ウエスタンブロット法で、真皮抽出物中のラミニン  $\gamma$  1 に対するこのモノクローナル抗体の反応性を競合阻害した。患者血清のほとんどが、ラミニン  $\gamma$  1 の C 末端側の組換え E 8 断片 (10) に反応性を示した (図 2)。健常皮膚を用いた蛍光抗体間接法では、通常、患者血清は表皮の基底膜領域に反応する一方、血管壁には反応しない (図 3)。患者血清および患者由来精製 IgG は、還元条件下のウエスタンブロット法で、血管由来ラミニン  $\gamma$  1 よりも真皮由来ラミニン  $\gamma$  1 に高い反応性を示した (図 3)。

#### D. 考 察

p200 はラミニン  $\gamma$  1 であることが示唆された (9)。ラミニン  $\gamma$  1 の C 末端は、インテグリン結合領域であり、真皮表皮間結合に重要な役割を果たしている (10)。患者の自己抗体のエピトープは、表皮に特異的な翻訳後修飾を受けた、ラミニン  $\gamma$  1 の C 末端の 246 アミノ酸に存在すると考えられた。

#### E. 結 論

本疾患名を「抗ラミニン  $\gamma$  1 類天疱瘡」と改めることを提唱したい (9)。

#### F. 健康危険情報

該当なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Murrell DF, Dick S, Ahmed AR, Amagai M, Barnadas MA, Borradori L, Bystryk JC, Cianchini G, Diaz L, Fivenson D, Hall R, Harman KE, Hashimoto T, Hertl M, Hunzelmann N, Iranzo P, Joly P, Jonkman MF, Kitajima Y, Korman NJ, Martin LK, Mimouni D, Pandya AG, Payne

- AS, Rubenstein D, Shimizu H, Sinha AA, Sirois D, Zillikens D, Werth VP. Consensus statement on definitions of disease, end points, and therapeutic response for pemphigus. *J Am Acad Dermatol.* 58(6), 1043-1046, 2008
2. Ishii N, Hamada T, Yasumoto S, Hashimoto T. A case of epidermolytic hyperkeratosis with no facial involvement associated with mutation in keratin 10. *Clin Exp Dermatol* 33(2): 353-354, 2008
3. Hamada T, Fukuda S, Ishii N, Sakaguchi S, Ishikawa T, Abe T, Yasumoto S, Hashimoto T, Nakano H, Sawamura D. Genotype-phenotype correlation in non-Hallopeau-Siemens recessive dystrophic epidermolysis bullosa: The splice site mutation c.6216+5G>T in the COL7A1 gene results in aberrant and normal splicings. *J Dermatol Sci* 50: 147-150, 2008
4. Demitsu T, Kakurai M, Yoneda K, Iida E, Takada M, Hiratsuka Y, Suzuki M, Yamada T, Ohyama B, Hashimoto T. Localized pemphigoid (Brunsting-Perry type) with IgG antibody to BP180 NC16a domain resembling lupus erythematosus successfully treated with topical tacrolimus therapy. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 23(1): 79-80, 2009
5. Ishii N, Ohyama B, Yamaguchi Z, Hashimoto T. IgA autoantibodies against the NC16a domain of BP180 but not 120-kDa LAD-1 detected in a patient with linear IgA disease. *Br J Dermatol.* 158(5), 1151-1153, 2008
6. Hamada T, Fukuda S, Sakaguchi S, Yasumoto S, Kim SC, Hashimoto T. Molecular and clinical characterization in Japanese and Korean patients with Hailey-Hailey disease: Six new mu-