

图 4

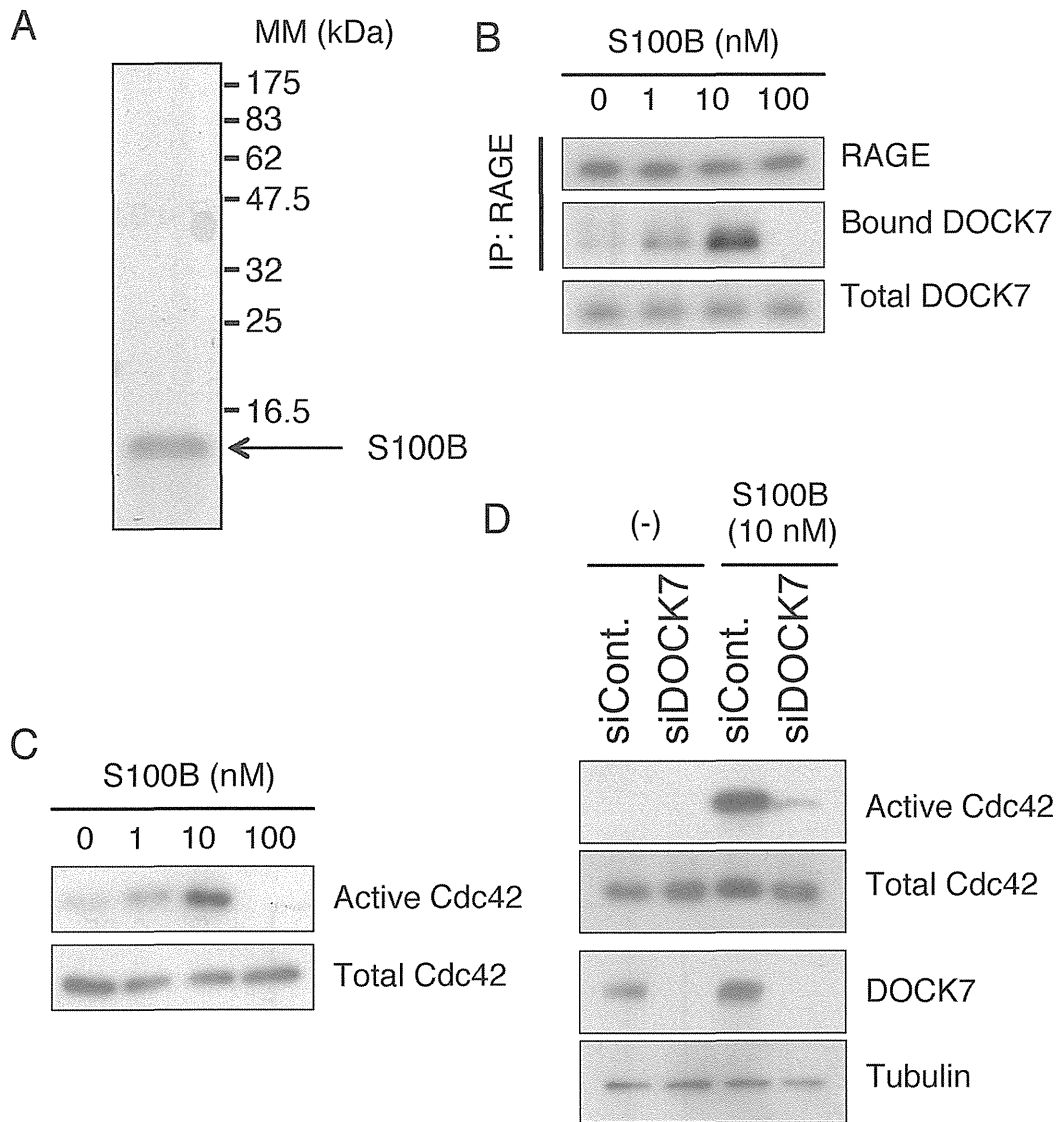


图 5

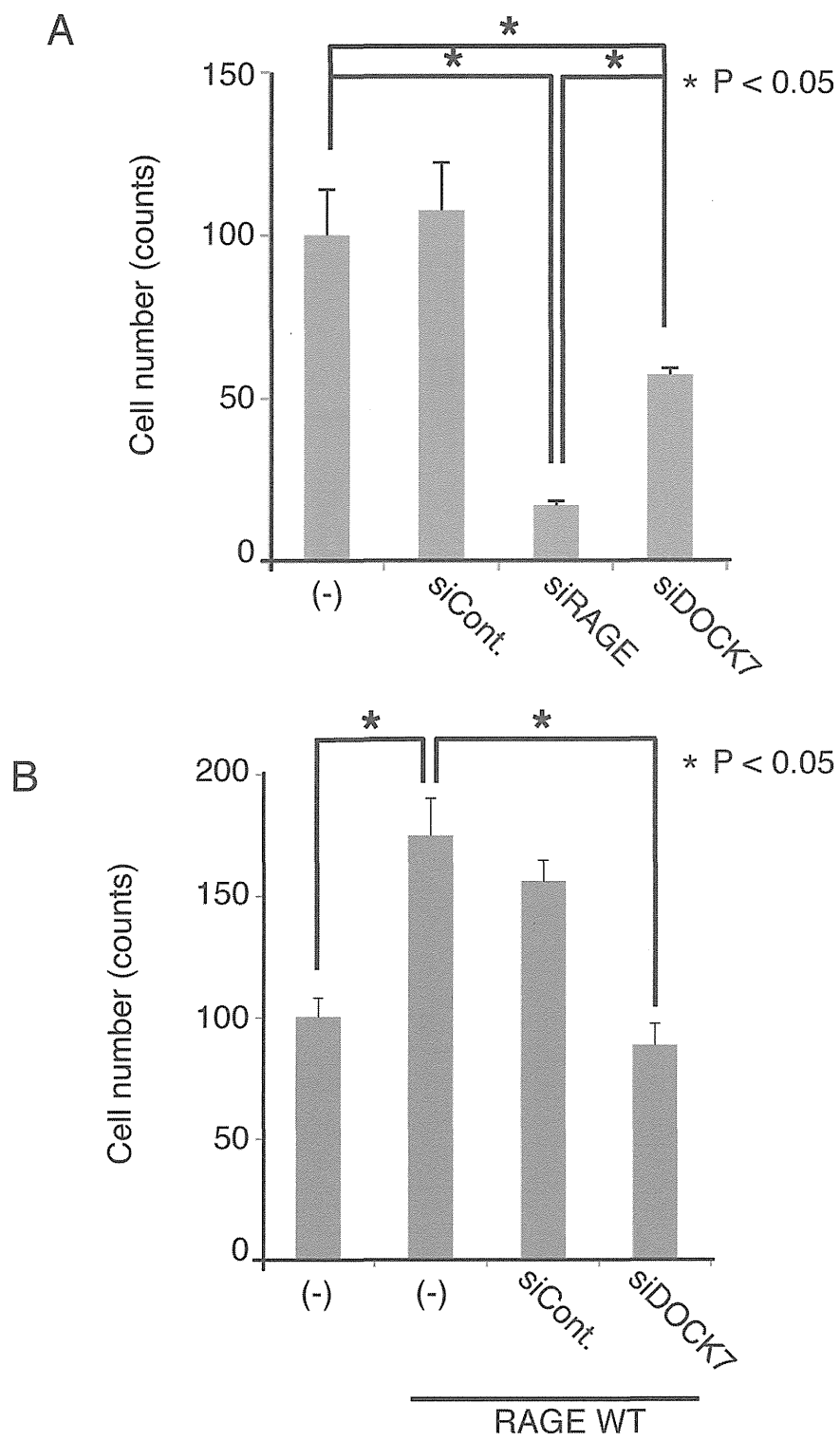


图 6

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

膿疱性乾癬（汎発型）の機序解析－ビタミンD3産生代謝酵素の  
皮膚特異的強発現の影響

研究分担者 照井 正 日本大学医学部皮膚科学系皮膚科学分野 教授

**研究要旨** これまでの研究で、乾癬病変部位では角層バリア機能が低下し、それにセラミドとフィラグリンの低下が関与しているを明らかにした。セラミドの産生に重要な酵素である serine palmitoyl transferase (SPT) と enlongase of very long fatty acid (ELOVL) の誘導に活性型ビタミンD3が関係することから、活性型ビタミンD3がセラミドを介して角層バリア機能を制御している可能性が示唆されている。

本研究では、昨年度に引き続き表皮細胞におけるCYP27B1（活性化ビタミンD3産生酵素）とCYP24A1（活性化ビタミンD3不活化酵素）の役割を解明する目的で、表皮特異的に発現するビタミンD3関連酵素のコンストラクトを作製する。

共同研究者

佐野 栄紀 高知大学 皮膚科  
玉井 克人 大阪大学 皮膚科  
山西 清文 兵庫医大 皮膚科  
葉山 惟大 日本大学 皮膚科

乾癬が誘導されることが報告されている。また膿疱性乾癬では血中カルシウム濃度が低下することがある。近年、掌蹠膿疱症患者の健康皮膚でビタミンD3代謝酵素であるCYP27B1とVDRの発現が低下していることが報告された。

A. 研究目的

活性型ビタミンD3は表皮細胞の増殖を抑制し、角化を正常化し、分化を正常化させる。この作用のため活性型ビタミンD3は乾癬の治療に広く用いられている。皮膚への紫外線療法はビタミンD3の活性化やその受容体の発現を促進するため、乾癬に有用である。ビタミンD3は循環血漿中では活性化酵素、不活化酵素により厳密に濃度が管理されている。表皮でも同様の酵素が働いており、循環血漿中よりやや高い濃度に維持されている。乾癬の病態を知るためにはこれらの酵素の機能が重要となるが、表皮細胞におけるビタミンD3、その代謝酵素についてはいまだ不明な点が多い。

膿疱性乾癬でのカルシウム濃度とビタミンD3の関与も不明な点が多い。乾癬患者において活性型ビタミンD3製剤の外用で膿疱性

これまでの研究で乾癬病変部位の角層バリア機能が低下しているのが分かった。乾癬の病変部位では角質水分量の維持に必要なセラミドが有意に低下している。Low doseの紫外線はセラミドの産生酵素であるSPTのmRNAの発現や活性型ビタミンD3産生酵素であるCYP27B1の発現を増強させる。また長鎖セラミドの産生に必要なELOVLはVDRの活性化により発現が促進される。このようにビタミンD3はセラミドの代謝にも深く関与している。

これまで培養表皮細胞に添加した活性型ビタミンD3の影響は研究されている。本研究ではビタミンD3代謝酵素を表皮細胞特異的に強発現させることにより、その分化や脂質代謝への影響を解析することを目的とする。その第一歩として活性型ビタミンD3産生・代謝酵素を表皮特異的に発現するプロモー

ターを組み込んだコンストラクトを作製する。さらにこのコンストラクトの発現を確かめるためにマウス扁平上皮癌セルラインである SCC VII に導入する。

## B. 研究方法

### 実験1：コンストラクトの作製

前回までの研究でビタミンD3産生酵素である Cyp27b1 とビタミンD3代謝酵素である Cyp24a1 のプラスミドを作製した。これらを皮膚特異的に発現させるためにトランスグルタミナーゼ1プロモーターを結合する。

トランスグルタミナーゼ1の組み込まれたベクターを制限酵素で切断して目的プロモーター断片を取り出し、ベクターからプロモーター配列を除去し、目的遺伝子2種（約1.5 kb）をそれぞれ連結したプラスミド DNA の Nhe I サイトを用いてそれぞれプロモーターを連結する。

得られたクローンについて連結方向が2種類発生するため、制限酵素 ApaI の切断パターンにて判定し、有意なクローンの連結部位のシーケンス解析を行った。

### 実験2：目的遺伝子の発現確認

実験1にて得られたクローンを293AD細胞にトランスフェクションして24時間培養し、RT-PCRによる目的遺伝子の発現確認を行った。

## C. 研究結果

### 実験1

Cyp27b1 と Cyp24a1 断片が入ったベクターをそれぞれ制限酵素で切断して目的プロモーター断片の連結作業を実施した。その結果、所定方向に連結されたクローンが1つずつ得られたので（図1）、塩基解析を行った。

その結果、所定の塩基配列と一致していた。（図2、3）

### 実験2

塩基配列が確認できたクローンをマウス293AD細胞にトランスフェクションして24時間培養し、RT-PCRによる目的遺伝子の発現確認を行った。

その結果、Cyp27b1、Cyp24a1共に目的サイズ（pTgm + Cyp27b1：約510bp、pTgm + Cyp24a1：約360bp）に顕著な増幅バンドが見られ、目的遺伝子の mRNA の発現が確認できた。（図4）

## D. 考察

作製したコンストラクトに目的遺伝子が組み込まれていることを確認し、mRNAレベルで発現していることを確かめた。

## E. 結論

今後、作製したコンストラクトをマウス扁平上皮癌セルラインである SC VII に遺伝子導入し発現を確かめる。また細胞の増殖能、角層細胞間脂質産生酵素の発現などを調べる。

## F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

## G. 研究発表（平成24年度）

### 論文発表

1. Torii H, Sato N, Yoshinari T, Nakagawa H; Japanese Infliximab Study Investigators. Dramatic impact of a Psoriasis Area and Severity Index 90 response on the quality of life in patients with psoriasis: an analysis of Japanese clinical trials of infliximab. J Dermatol. 39 (3): 253-9, 2012
2. Igarashi A, Kato T, Kato M, Song M, Nakagawa H; Japanese Ustekinumab Study Group. Efficacy and safety of ustekinumab in Japanese patients with moderate-to-severe plaque-type psoriasis: long-term results from a phase 2/3 clinical trial. J Dermatol. 39 (3): 242-52, 2012
3. 鳥居秀嗣、大槻マミ太郎、照井正、森

田明理、飯塚 一、中川秀己、渡辺 彰、  
乾癬におけるインフリキシマブの使用指針  
作製ワークグループ. 乾癬におけるインフ  
ルキシマブの使用指針. 臨床皮膚 66(2):  
171-175, 2012

4. 照井 正. 【皮膚科最新治療のすべて】掌  
蹠膿疱症の治療戦略. Derma 190; 137-  
41, 2012

## H. 知的所有権の出願・登録状況（予定 を含む）

1. 特許取得  
該当なし
2. 実用新案登録  
該当なし

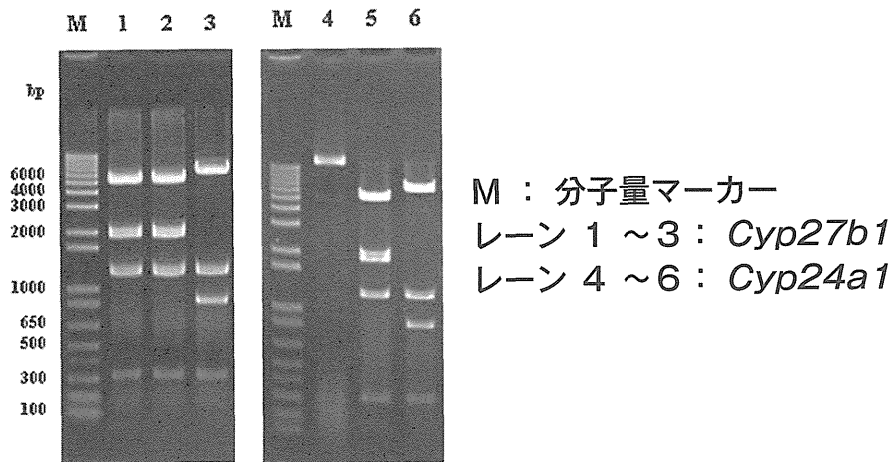


図 1 : 目的プロモーターの連結

*Cyp27b1* と *Cyp24a1* 断片が入ったベクターをそれぞれ制限酵素で切断して目的プロモーター断片の連結作業を実施した。その結果、所定方向に連結されたクローンが 1 つずつ得られた。

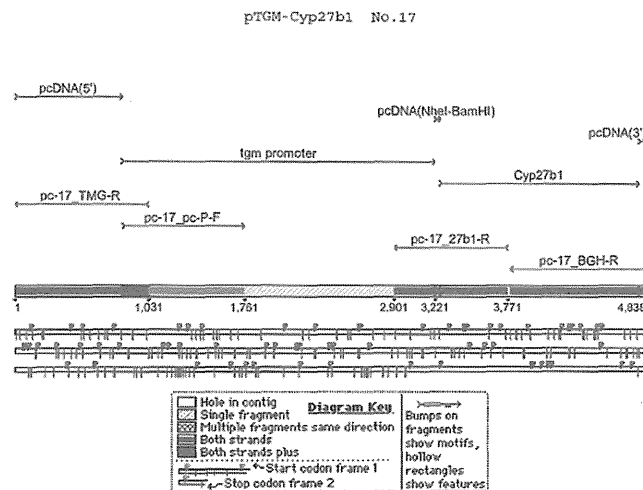


図 2 : 遺伝子配列の確認 (*Cyp27b1*)

得られたクローンの連結部位の遺伝子配列を確認した。その結果、所定の塩基配列が得られた。

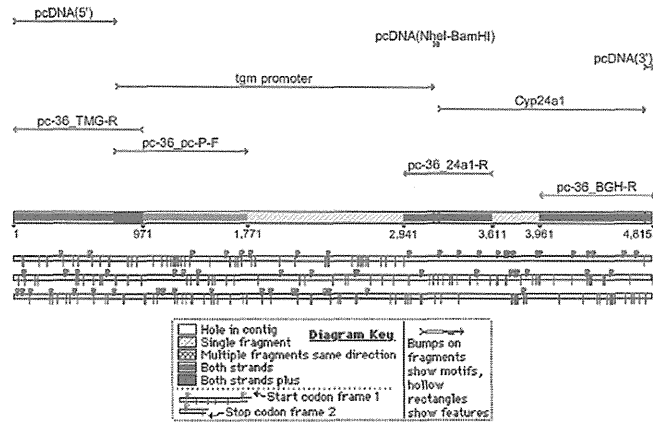


図 3 : 遺伝子配列の確認 (*Cyp24a1*)

得られたクローンの連結部位の遺伝子配列を確認した。その結果、所定の塩基配列が得られた。

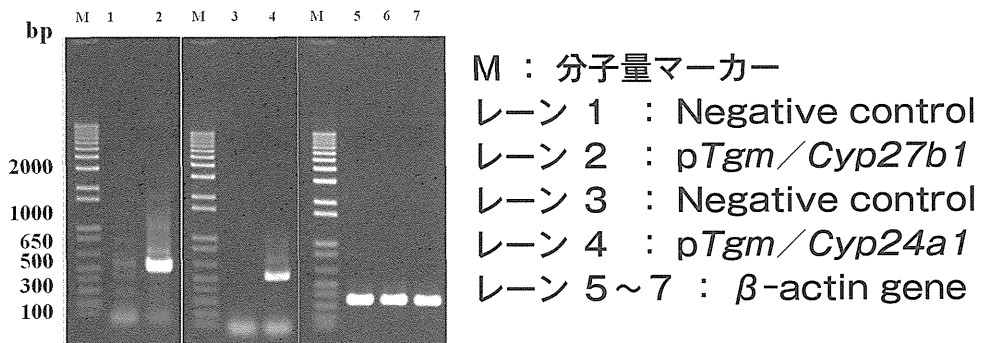


図 4 : RT-PCRによる目的遺伝子の発現確認

塩基配列が確認できたクローンを 293AD 細胞にトランスフェクションして 24 時間培養し、RT-PCR による目的遺伝子の発現確認を行った。その結果、*Cyp27b1*、*Cyp24a1* 共に目的サイズに顕著な増幅バンドが見られ、目的遺伝子の mRNA の発現が確認できた。



厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

乾癬患者におけるアディポカインと Th17 関連サイトカインの相関

研究協力者 佐野栄紀 高知大学医学部皮膚科 教授

**研究要旨** 乾癬は Th17 細胞が関与する自己免疫疾患の一つであり、Th17 関連サイトカインが重要な働きをしている。また、乾癬はメタボリック症候群との関連が明らかにされている。我々は、乾癬患者において脂肪組織から分泌されるアディポカインにも変動が認められることを報告してきた。今回、我々は乾癬患者の血清中 Th17 関連サイトカインとアディポカインの相関を検討し、これらに明らかな関連性を認めた。以上より、乾癬の病態にはアディポカインと Th17 関連サイトカインの相互作用が関与していることが示唆された。

共同研究者

中島 英貴 高知大学医学部皮膚科  
中島貴美子 高知大学医学部皮膚科  
樽谷 勝仁 高知大学医学部皮膚科

#### A. 研究目的

乾癬患者および健常人血清中のアディポカインと Th17 関連サイトカインを測定して、両者間の相関を検討することにより、乾癬との関連を検討する。

#### B. 研究方法

乾癬患者30人と健常人30人において、血清中のアディポカイン（ケマリン、レプチン、アディポネクチン、高分子量アディポネクチン、レチノール結合蛋白4）および Th17 関連サイトカイン（TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-17、IL-22、IL-23）につき、ELISA を用いて測定し統計学的に相関を検討した。

#### C. 研究結果

1. 健常人においては、ケマリンとレジスチン、さらにアディポネクチンと高分子量アディポネクチンの間に有意な正の相関を認めた (Table 1)。
2. 乾癬患者においては、レジスチンは TNF  $\alpha$  と強い正の相関を示したが、レチ

ノール結合蛋白4と IL-6 間には負の相関がみられた (Table 2)。

3. 乾癬患者においては、IL-22 はアディポネクチンと著明な正の相関が認められた (Table 2)。
4. 乾癬患者においては、レプチンは IL-6 と正の相関を示したが、有意ではなかった (Table 2)。

#### D. 考察

ケマリンは、形質細胞様樹状細胞の遊走と活性化に関与する炎症性アディポカインであるが、抗炎症作用を併せ持つことが知られている。また、レジスチンは炎症性サイトカインの産生を促進するアディポカインである。我々の研究において、ケマリンとレジスチンは健常人において正の相関を示したが、乾癬においては負の相関がみられたことから、ケマリンは正常状態では炎症を惹起し、乾癬では炎症抑制する方向へシフトする可能性が考えられる。

レジスチンは TNF  $\alpha$  によって発現が増加し、逆に TNF  $\alpha$  はレジスチンや IL-6 を増加させることが知られており、レジスチンと TNF  $\alpha$  が乾癬患者において正の相関を示したことは、乾癬患者血清におけるレジスチンの上昇は、TNF  $\alpha$  誘導性の炎症と関係して

いることが示唆される。

IL-22 とアディポネクチンの相関を示した報告は、今までのところ認められていないが、以前の我々の研究において、アディポネクチンとPASI は正の相関を示し、かつIL-22 とPASI も正の相関を示したことから、アディポネクチンは乾癬の病態の進行に関与していることが考えられる。

## E. 結論

乾癬は、Th17 関連サイトカインとアディポカインによるパラクラインもしくはオートクラインによる細胞間の相互作用のもとで病態を形成していると考えられる。

## F. 健康危険情報

なし。

## G. 研究発表（平成23年度）

### 論文発表

1. Nakajima H, Nakajima K, Tarutani M, Sano S. Clear association between serum levels of adipokines and T-helper 17-related cytokines in patients with psoriasis. Clin Exp Dermatol. 2012 Oct 22.doi : 10.1111 / j.1365-2230.2012.04465.x. [Epub ahead of print]
2. 中島英貴、志賀建夫、高田智也、樽谷勝仁、佐野栄紀. アダリムマブが奏効した関節炎を伴う汎発性膿疱性乾癬. Visual Dermatology 11 : 544-548, 2012.
3. 佐野栄紀. 【成人に対する生物学的製剤と免疫抑制薬】リウマチ領域 生物学的製剤 乾癬. アレルギー・免疫. 19 : 82-88, 2012.
4. 佐野栄紀. IL-36ファミリーと乾癬：自然免疫およびIL-23/Th17 axisとの新たなリンク. 細胞工学. 31 : 802-806, 2012.
5. 佐野栄紀. 乾癬の発症におけるIL-17とIL-23の役割. 臨床免疫・アレルギー科. 58 : 25-32, 2012.
6. 佐野栄紀. 皮膚免疫学-免疫臓器として

の意義と病態. 乾癬の発症機序にかかわる皮膚免疫. 医学のあゆみ. 242 : 799-804, 2012.

7. 佐野栄紀. 乾癬・関節症性乾癬の病態と治療. 日本脊椎関節炎学会雑誌. 4 : 7-12, 2012.
8. 佐野栄紀. I. リウマチ領域 2.生物学的製剤 4) 乾癬. アレルギー・免疫19 : 82-88,2012.
9. 佐野栄紀. 乾癬. 分子標的薬 がんから他疾患までの治療をめざして. 日本臨床. 70 : 550-554,2012.

### 学会発表

1. Nakajima K, Kataoka S, Inoue N, Terao M, Murota H, Azukizawa H, Setou M, Katayama I, Takeda J, Sano S. Ceramide deficiency in epidermis leads to the development of psoriasis-like lesions associated with IL-23-dependent proliferation of gd-17 cells. Annual Meeting of Society of Investigative Dermatol, Raleigh, USA.
2. Nakajima H, Nakajima K, Tarutani M, Morishige R, Sano S. Clear association between serum levels of adipokines and Th17-related cytokines in patients with psoriasis. EADS, Beijing, China.
3. Sato K, Takaishi M, Tokuoka S, Sano S. Involvement of TNF- $\alpha$  converting enzyme in the development of psoriasis-like lesions in K5.Stat 3 C transgenic mice, Annual Meeting of European Society for Dermatological Research, Venice, Italy.
4. Sano S. The hierarchy of cytokines for the development of psoriasis, 9<sup>th</sup> Australian Society for Dermatology Research Conference, Sidney, Australia.
5. Nakajima K, Kataoka S, Goto-Inoue N, Terao M, Murota H, Azukizawa H, Setou M, Katayama I, Takeda J, Sano S. Ceramide deficiency in epidermis leads to

the development of psoriasis-like lesions associated with IL-23-dependent proliferation of gd-17 cells. Montagna Symposium on the Biology of Skin, Newport, USA.

5. Sato K, Takaishi M, Sano S. The rationale of TNF- $\alpha$  converting enzyme for a potential therapeutic target of psoriasis. Annual Meeting of the Japanese Society of Investigative Dermatology, Okinawa, Japan.

6. Nakajima K, Kataoka S, Azukizawa H, Katayama I, Sano S. Ceramide deficiency in epidermis leads to the development of psoriasis-like lesions associated with IL-23-dependent proliferation of gd-17 cells. Annual Meeting of Japanese Society of Immunology, Kobe, Japan

H. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）  
なし

**Table 1** Pearson correlation analysis for each of the adipokines in normal control subjects and patients with psoriasis.

	Chemirin		Leptin		Adiponectin		HMW adiponectin		RBP-4	
	Controls	Patients	Controls	Patients	Controls	Patients	Controls	Patients	Controls	Patients
Chemerin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Leptin	0.11	0.24	-	-	-	-	-	-	-	-
Adiponectin	0.12	-0.02	-0.23	-0.28	-	-	-	-	-	-
HMW-adiponectin	0.09	0.169	-0.10	-0.26	0.95*	0.40	-	-	-	-
RBP-4	-0.20	-0.07	0.14	-0.15	-0.34	-0.25	-0.34	-0.02	-	-
Resistin	0.48*	-0.01	0.29	-0.02	-0.07	-0.25	-0.16	-0.22	0.15	0.22

健常人において

ケマリンはレジスチンと有意な正の相関を示す ( $r = 0.48, P = 0.01$ )

アディポネクチンは高分子量アディポネクチンと有意な正の相関を示す ( $r = 0.95, P < 0.001$ )

**Table 2** Pearson correlation analysis of Th-17 related cytokines with adipokines in patients with psoriasis.

	IL-6	IL-22	TNF- $\alpha$
IL-6	-	-	-
IL-22	0.18	-	-
TNF- $\alpha$	-0.08	-0.05	-
Chemerin	0.11	-0.21	0.04
Leptin	0.32	-0.23	0.01
Adiponectin	0.01	0.60+	-0.08
HMW-adiponectin	-0.02	0.14	-0.28
RBP-4	-0.45*	-0.17	-0.03
Resistin	0.08	-0.00	0.45*

乾癬患者において

レジスチンは TNF- $\alpha$  と有意な正の相関を示す ( $r = 0.45, P = 0.02$ )

IL-22 はアディポネクチンと有意な正の相関を示す ( $r = 0.60, P = 0.01$ )

レチノイン結合蛋白 4 は IL-6 と有意な負の相関を示す ( $r = -0.45, P = 0.02$ )

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

膿疱性乾癬皮疹部における樹状細胞についての免疫組織学的検討

研究分担者 小宮根真弓 自治医科大学 皮膚科学 准教授

**研究要旨** 膿疱性乾癬と尋常性乾癬の病理学的差異は、膿疱性乾癬の病態と深く関連していると考えられる。これらの疾患を免疫組織学的に比較検討した結果、膿疱性乾癬においては、表皮内ランゲルハンス細胞が尋常性乾癬に比較して減少していることが明らかとなった。表皮内ランゲルハンス細胞の減少が、膿疱形成に関連している可能性と、今後の治療のターゲットの一つとしてのランゲルハンス細胞の可能性について考察した。

共同研究者

Jitlada Meephansan 自治医大 皮膚科  
唐川 大 自治医大 皮膚科  
大槻マミ太郎 自治医大 皮膚科

#### A. 研究目的

膿疱性乾癬では、尋常性乾癬で特徴的な棍棒状の表皮肥厚や著明な過角化は目立たず、代わりに著明な好中球の表皮内への浸潤と膿疱形成が特徴的である。膿疱性乾癬と尋常性乾癬ではこのように組織学的な大きな違いがあるため、病変部に浸潤しているリンパ球や樹状細胞、あるいは表皮細胞が発現する分子などにも相違があると考えられ、その相違は、膿疱性乾癬の病態に深く関与していると考えた。膿疱性乾癬と尋常性乾癬における病理組織学的相違の基礎にある浸潤細胞や表皮細胞が発現する分子について検討するため、これらの疾患の病変部皮膚について、免疫組織学的検討を行った。

#### B. 研究方法

膿疱性乾癬患者病変部皮膚、および尋常性乾癬患者病変部皮膚より行った皮膚生検組織を用いて、免疫組織学的染色を行った。ホルマリン固定、パラフィン包埋ブロックは4  $\mu$ mに薄切し、脱パラフィン後、前処置のち内因性ペルオキシダーゼの不活化を行っ

た。正常血清でブロッキングを行った後、一次抗体を4℃、18時間反応後、PBSで洗浄、2次抗体を室温で1時間反応させ、洗浄後、ABC法にてDiaminobenzidineを基質に免疫染色を行った。発色を確認したのち、脱水して包埋し、顕微鏡下に観察した。

#### C. 研究結果

膿疱性乾癬患者病変部、特に膿疱直下の表皮内には、CD1a陽性、ランゲリン陽性のランゲルハンス細胞が消失していた。代わりにCD11c陽性真皮樹状細胞は多数浸潤を認めた。

同一患者で、皮疹軽快時と悪化時に生検した組織を比較すると、皮疹軽快時には多数のCD1a陽性ランゲルハンス細胞が認められたが、悪化時には、CD1a陽性ランゲルハンス細胞数は減少していた。

#### D. 考察

膿疱性乾癬における尋常性乾癬とは異なる点として、ランゲルハンス細胞数の極端な減少を見出した。また、膿疱直下において、ランゲルハンス細胞が極端に減少している代わりに、CD11c陽性真皮樹状細胞の著増を認めた。これまでの我々の検討から、尋常性乾癬局面のすぐ外側のPeri-lesionにおいて、ランゲルハンス細胞数が増加していることが

明らかとなっているが、ランゲルハンス細胞数の増加が、局面の拡大に抑制的に関与している可能性についても考察してきた。今回、膿疱性乾癬皮疹部でのランゲルハンス細胞数の減少と、膿疱直下でのランゲルハンス細胞の消失を認めたことから、ランゲルハンス細胞の減少が、膿疱の形成に何らかの直接的な関与をしている可能性を考えた。もう一つの可能性として、膿疱形成によって産生されたケモカインやサイトカインの影響によって、ランゲルハンス細胞が表皮内から消失している可能性も考慮される。

ランゲルハンス細胞が膿疱化と関連するとなれば、ランゲルハンス細胞を今後の治療の1つのターゲットとしてとらえることも考慮される。

#### E. 結論

表皮内ランゲルハンス細胞の減少が膿疱化と関連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24年度）

論文発表

1. Meephansan J, Komine M, Tsuda H, Ohtsuki M. Suppressive effect of calcipotriol on the induction of matrix metalloproteinase (MMP) -9 and MMP-13 in a human squamous cell carcinoma cell line. Clin Exp Dermatol. 2012 Dec ; 37 (8) : 889-96.
2. Hosoda S, Komine M, Karakawa M, Tsuda H, Ohtsuki M. Nadifloxacin down-regulates the production of matrix metalloproteinases in the human epidermal keratinocyte cell line HaCaT. J Dermatol. 2012

学会発表

1. 小宮根真弓：乾癬に対する生物学的製剤の効果、平成24年9月29日、東部支部総会、

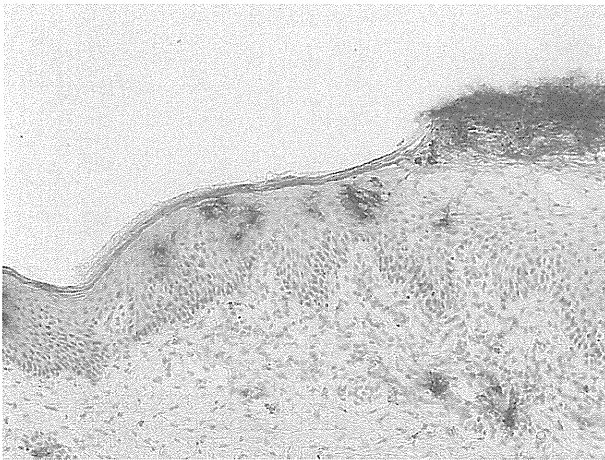
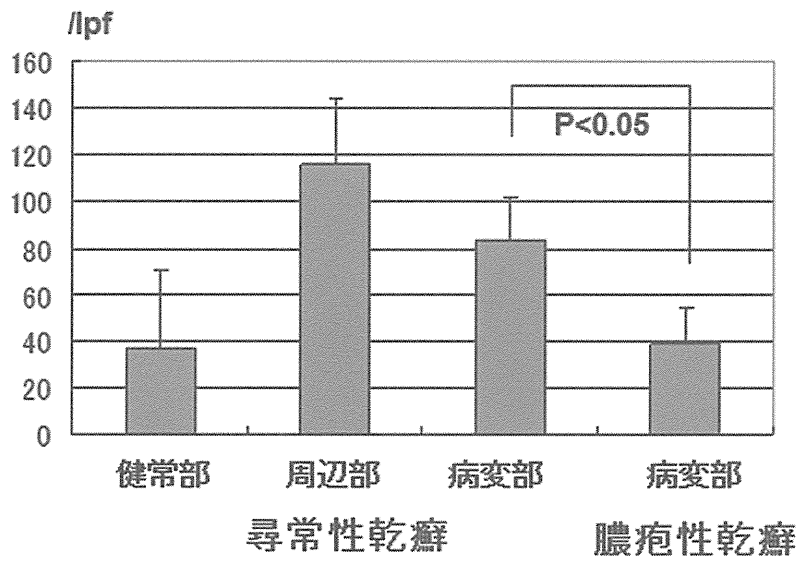
ランチョン講演、札幌。

2. 小宮根真弓：乾癬の薬物療法：生物製剤時代の免疫抑制剤の役割、平成24年9月30日、東部支部総会、教育講演、札幌。
3. 小宮根真弓：膿疱性乾癬の免疫組織学的検討、第146回免疫研修セミナー、平成24年12月21日、伊勢原、神奈川

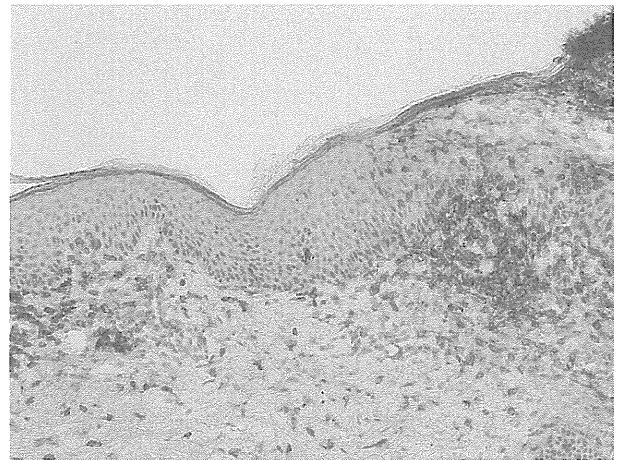
#### H. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）

なし。

### 表皮内のCD1a陽性細胞数



CD 1 a



CD11c

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

膿疱性乾癬に対する顆粒球吸着除去療法  
—多施設共同試験の結果を中心に—

研究協力者 金蔵拓郎 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科皮膚科学 教授

**研究要旨** 我々は壊疽性膿皮症、ベーチェット病、膿疱性乾癬、掌蹠膿疱症、関節症性乾癬、皮膚アレルギー性血管炎など活性化した顆粒球に起因する皮膚疾患に対する顆粒球吸着除去療法（Granulocyte and monocyte adsorption apheresis：GCAP）の有用性を報告してきた。また本療法で用いられる酢酸セルロースビーズ表面に吸着された補体iC3bと、活性化した顆粒球がその表面に発現している接着分子Mac-1の結合を介して活性化した病的好中球のみが選択的に吸着・除去される機序についても明らかにした。これらの成果を踏まえ2010年からGCAPの膿疱性乾癬に対する全国多施設共同試験が実施され、有効性と安全性が示された。

共同研究者

（多施設共同試験治験責任医師）

高橋 英俊（旭川医科大学）  
清島真理子（岐阜大学）  
大熊 慶湖（順天堂大学）  
須賀 康（順天堂大学附属浦安病院）  
衛藤 光（聖路加国際病院）  
江藤 隆史（東京逋信病院）  
森田 明理（名古屋市立大学）  
今井 康友（兵庫医科大学）  
高橋 一夫（横浜市立大学）  
蒲原 毅（横浜市立大学附属  
市民総合医療センター）

A. 研究目的

汎発型および限局型膿疱性乾癬に対するGCAPの有効性と安全性を検討する。

B. 研究方法

オープン、シングル試験とし、15例（汎発型10例以上）を目標症例数とする。GCAPによる体外循環は、1週間に1回の頻度で5週連続で行なった。1回の体外循環は、原則として循環流速30mL/分にて60分間（総血液処理量1800mL）の施行とする。GCAP最

終使用日（GCAP使用5回目）から14日後を「治験の判定日」として、有効性と安全性を判定する。なお、有効性の判定は「膿疱性乾癬（汎発型）診療ガイドライン2008年版」に示される“重症度判定スコア”による。

C. 研究結果

1. 登録症例数

試験実施症例数は15例であった。1例は1回目の体外循環療法後脱落したため、有効性は14例、安全性は15例で評価した。

2. 有効性

紅斑面積は $76.8 \pm 13.7\%$ が $47.9 \pm 30.7\%$  ( $p = 0.0042$ )、膿疱を伴う紅斑面積は $24.7 \pm 12.8\%$ が $5.2 \pm 8.1\%$  ( $p = 0.0031$ )、浮腫の面積は $26.3 \pm 19.1\%$ が $6.4 \pm 11.0\%$  ( $p = 0.0014$ )へといずれも有意に改善した。

「膿疱性乾癬（汎発型）診療ガイドライン2008年版」に示される“重症度判定スコア”は治療前が $8.6 \pm 1.3$ 、治療後が $4.0 \pm 0.3$  ( $p = 0.0027$ )で有意に低下した。

治療前後のDLQI (dermatology life quality index) は $16.6 \pm 7.9$ と $9.7 \pm 7.8$ でGCAPにより患者のQOLが有意に改善した。

### 3. 安全性

副作用は3例で報告された。頭痛・めまいが1例でGCAP治療との因果関係は“たぶん有”とされた。1例で合併症(水疱性類天疱瘡)の悪化がみられたが因果関係は“不明”である。胸部陰影がみられたものが1例あり因果関係は“たぶん有”とされた。但し、この症例はGCAP開始の2ヵ月前にインフリキシマブの投与歴があり、1ヶ月前から試験終了時までメソトレキサートを併用されていた治療歴がある。

いずれも重篤な副作用ではなくGCAPの安全性が示された。

### D. 考察

全国11施設で実施された膿疱性乾癬に対する多施設共同試験でGCAPの有効性と安全性が示された。この共同試験の結果を受けて顆粒球吸着除去療法の膿疱性乾癬に対する適応が承認され2012年10月に保険に収載された。

我々は、血液をGCAPのカラムを通すと酢酸セルロースビーズの表面に補体iC3bが吸着されること、一方活性化した好中球の表面にはiC3bのリガンドである接着分子Mac-1が発現しており、両者の結合を介して活性化した病的な好中球のみが選択的に吸着・除去され、その結果TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8などの炎症性サイトカインの血中レベルが低下し病態が改善する機序を明らかにし、この作用機序からGCAPが副作用の少ない安全な治療法であることを提唱してきた。今回の多施設共同試験で本療法の安全性が裏付けられた。

GCAPの適応症の拡大に伴い広く使用されるようになると、小児と妊婦に対する安全性の確立が重要になる。小児と妊婦に対する系統的な臨床試験は未だになされていないが、炎症性腸疾患における市販後調査には18歳未満の症例が27例含まれており、18歳以上の症例と比較して有効性と不具合の発生率には有意差がなく、副作用の発生率は有意に高いが重篤なものはないことが示された。また同じ

く炎症性腸疾患がGCAPで有効かつ安全に治療された小児および妊婦例の報告が蓄積されつつある。

GCAPは有効かつ安全な治療法であり、皮膚疾患への適応の更なる拡大が期待される。

### E. 結論

全国11施設で実施された多施設共同試験でGCAPの膿疱性乾癬に対する有用性が確認された。この共同試験の結果を受けて顆粒球吸着除去療法の膿疱性乾癬に対する適応が承認され2012年10月に保険に収載された。

### F. 健康危険情報

多施設共同試験で観察された3例の副作用以外に特記すべき事項はない。

### G. 研究発表 (平成24年度)

論文発表

1. Yoshifuku A, Oyama K, Ibusuki A, Kawasaki M, Sakanoue M, Matsushita S, Kawai K, Kawahara K, Maruyama I, Kanekura T. Granulocyte and monocyte adsorption apheresis as an effective treatment of Reiter's disease. Clin Exp Dermatol 2012; 37: 241-4.
2. Tada K, Kawahara K, Matsushita S, Hashiguchi T, Maruyama I, Kanekura T. MK615, a *Prunus mume* Steb. Et Zucc (Ume) extract, attenuates the growth of A375 melanoma cells by inhibiting the ERK 1 / 2 -Id- 1 pathway. Phytother Res 2012; 26: 833-8.
3. Egawa N, Kawai K, Egawa K, Honda Y, Kanekura T, Kiyono T. Molecular cloning and characterization of a novel human papillomavirus, HPV 126, isolated from a flat wart-like lesion with intracytoplasmic inclusion bodies and a peculiar distribution of Ki-67 and p53. Virology 2012; 422: 99-104.
4. Tsukimura T, Kawashima I, Togawa T,



- Kodama T, Suzuki T, Watanabe T, Chiba Y, Jigami Y, Fukushima T, Kanekura T, Sakuraba H. Efficient uptake of recombinant-galactosidase A produced with a gene-manupulated yeast by Fabry mice kidneys. *Mol Med* 2012 ; 18 : 76-82.
5. Lian X, Xiao R, Hu X, Kanekura T, Jiang H, Li Y, Wang Y, Yang Y, Zhao M, Lu Q. DNA demethylation of CD40L in CD4<sup>+</sup> T-cells from women with systemic sclerosis - A possible explanation for female susceptibility. *Arthritis Rheum* 2012 ; 64 : 2338-45.
6. Togawa T, Tsukimura T, Kodama T, Tanaka T, Kawashima I, Saito S, Ohno K, Fukushima T, Kanekura T, Satomura A, Kang D, Lee BH, Yoo H, Doi K, Noiri E, Sakuraba H. Fabry disease : Biochemical, Pathological and Structural Studies of the  $\alpha$ -Galactosidase A with E66Q amino acid substitution. *Mol Genet Metab* 2012 ; 105 : 615-20.
7. Jiang H, Xiao R, Lian X, Kanekura T, Luo Y, Yin Y, Zhang G, Ynag Y, Wang Y, Zhao M, Lu Q. Demethylation of TNFSF7 contributes to CD70 overexpression in CD4<sup>+</sup> T cells from patients with systemic sclerosis. *Clin Immunol* 2012 ; 143 : 39-44.
8. Matsushita S, Ikeda R, Fukushima T, Tajitsu Y, Gunshin K, Okumura H, Ushiyama M, Akiyama S, Kawai K, Takeda Y, Yamada K, Kanekura T. p53R2 is a prognostic factor of melanoma and regulates proliferation and chemosensitivity of melanoma cells. *J Dermatol Sci* 2012 ; 68 : 19-24.
9. Ikeda S, Takahashi H, Suga Y, Eto H, Etoh T, Okuma K, Takahashi K, Kanbara T, Seishima M, Morita A, Imai Y, Kanekura T. Therapeutic Depletion of myeloid lineage leucocytes in patients with generalized pustular psoriasis indicates a major role for neutrophils in the immunopathogenesis of psoriasis. *J Am Acad Dermatol* (in press)
- 学会発表
1. Ibusuki A, Kawai K, Uchida Y, Kanekura T. The skin-specific NKG2D ligand H60c directly triggers cytotoxicity in epidermal  $\gamma\delta$  T cells. The 4nd Annual Meeting of European Society for Dermatological Research, 19-22, September 2012, Venice, Italy.
2. 皮膚疾患に対するアダカラム®. 第33回日本アフェレシス学会学術大会ランチョンセミナー、2012年11月9日、佐世保市
- 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

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

膿疱性乾癬（汎発型）診療ガイドラインの改訂に向けての素案作り

研究分担者 照井 正 日本大学医学部皮膚科学系皮膚科学分野 教授

**研究要旨** 膿疱性乾癬（汎発型）（GPP）は稀な疾患であり、その病態は明らかでなく治療法も確立されていない。そのような状況下で患者の健康を保つために、これまでの情報や知識を集積して、GPP病勢をコントロールし患者のQoLを向上させる必要がある。2009年にGPP診療ガイドラインが報告されたが、それ以降新たに病因の解明につながる知見が報告され、治療の面では生物学的製剤が認可され、新しい治療法であるGCAPが有効であることが報告された。今回、これらの知識を盛り込んだGPP診療ガイドライン2013（素案）の作成を試みた。

共同研究者

小澤 明	東海大学	皮膚科
馬淵 智生	東海大学	皮膚科
武藤 正彦	山口大学	皮膚科
岩月 啓氏	岡山大学	皮膚科
青山 裕美	岡山大学	皮膚科
山西 清文	兵庫医大	皮膚科
今井 友康	兵庫医大	皮膚科
池田 志孝	順天堂大学	皮膚科
黒沢美智子	順天堂大学	衛生学
金蔵 拓郎	鹿児島大学	皮膚科
佐野 栄紀	高知大学	皮膚科
中島喜美子	高知大学	皮膚科
秋山 真志	名古屋大学	皮膚科
小宮根真弓	自治医科大学	皮膚科
稲富 徹	日本大学	皮膚科
葉山 惟大	日本大学	皮膚科

A. 研究目的

2009年に膿疱性乾癬（汎発型）（GPP）診療ガイドラインが発表されたが、その後病因や治療に関する新しい報告が数多くなされている。新しい文献を収集すると共に、新知見を織り込んでGPP診療ガイドラインを改定すると共に、それを英訳して海外でも公表することが最終目標であり、平成24年度中にその素案を完成するのが目的である。

B. 研究方法

2009年の膿疱性乾癬（汎発型）（GPP）診療ガイドラインが公開されて以降に発表された病因や治療に関連する国内外の文献を渉猟し訂正・加筆した。

C. 研究結果

<病因-IL-36RN 遺伝子変異>

GPPの家族発症例で*IL36RN*の遺伝子変異があることが報告された。IL-36は自然免疫に関与するサイトカインであり、NF- $\kappa$ Bを介して炎症性サイトカインを誘導する働きをする。そのIL-36の働きを抑制するサイトカインがIL-36 receptor antagonist (IL-36RA)と呼ばれている。そのIL-36RAをコードする遺伝子が*IL36RN*であり、GPPの家族発症例でこの遺伝子変異がみられる。まだ、論文報告はなされていないが、尋常性乾癬と関連がなく発症するGPP孤発例でもこの遺伝子があることを稀難皮班員の一人である名古屋大学秋山らが報告している。

<GPP治療>

1. 生物学的製剤

尋常性乾癬に対する生物学的製剤として、ウステキヌマブが本邦においても認可され、GPPに対するインフリキシマブ（IFX）が認

可されている。また、アダリムマブ (ADA) が有効な GPP 症例の報告がみられる。GPP 治療に関する Review が追加された。妊婦や小児での使用症例の報告が各 1 例ずつ追加された

## 2. GCAP

炎症性腸疾患 (IBD) や関連して発症する壊疽性膿皮症はいずれも好中球が発症に関与する疾患であるが、この治療として TNF  $\alpha$  阻害薬と GCAP 療法があげられる。GPP も好中球が関与する疾患であり、発症に自然免疫が関連することが想定される点で共通しており、治療法も類似点がみられる。実際、TNF  $\alpha$  阻害薬が IBD と GPP に有効である。

IBD との共通性から GCAP 療法が GPP に有効であることが報告され、治験が行われ、2012年、GPP に対して GCAP が適応拡大された。

### <小児と妊婦の治療>

小児に対するシクロスポリンの長期投与時の副作用について記載した。妊婦に対する TNF  $\alpha$  阻害剤の胎児異常について記載を追加した。小児に対する TNF  $\alpha$  阻害剤の副作用について記載した。

### <合併症治療とアウトカム>

関節症性乾癬における IFX とメトトレキサート (MTX) の併用療法が有効であることが報告されているので追加した。関節症性乾癬に対する TNF  $\alpha$  阻害剤の有効性に対する新たな報告があったので追加記載した。

## D. 考察

IL-36RN 遺伝子変異の報告は、今後新規治療を開発に寄与する可能性があり、さらなる研究成果が待たれる。

生物学的製剤の中で、唯一 IFX が保険適応となっているが、IFX では一次無効例や二次無効例が散見される。そのような症例において、ADA など他の生物学的製剤が有効で

ある症例が報告されており今後、適応拡大が期待される。

新規治療として GCAP が昨年適応となった。その施行マニュアルに関して、GPP 分化学会の金蔵と池田が指針案を作成して本研究会で報告している (表 1)。そのマニュアルには、1. 操作方法、2. CGCAP 治療中に注意すべき副作用、3. 留置針刺入部からの感染防御について、4. 使用禁忌ならびに慎重に使用すべき患者について記載されている。

また、その治験の際に用いられたプロトコールは、GPP の治療エンドポイントを検証する上で参考になる。

妊婦や小児にシクロスポリンや生物学的製剤などの全身療法を行う場合には、副作用について十分説明を行い、リスクベネフィットを勘案して使用する必要があることが再確認された。

GPP の約 40% で関節症状を伴うと言われている。関節症性乾癬において IFX と MTX の併用療法、TNF  $\alpha$  阻害剤が有効であることを追加記載した。

## E. 結論

以上、今回の報告書に記載した点を盛り込み、最近の関連文献を加えて 2012 年度版の GPP 診療ガイドライン (素案) 作りを行った。次年度中に改訂版を完成させ、日本皮膚科学会の HP に掲載するとともに、日本皮膚科学会雑誌などに発表して情宣活動を行う予定である。また、英語版を作成し、論文掲載して広く海外でも利用できるようにする計画である。

## F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

## G. 研究発表 (平成 24 年度)

論文発表

1. Torii H, Sato N, Yoshinari T, Nakagawa H; Japanese Infliximab Study Investigators. Dramatic impact of a Psoriasis Area

- and Severity Index 90 response on the quality of life in patients with psoriasis : an analysis of Japanese clinical trials of infliximab. J Dermatol. 39 (3) : 253-9, 2012
2. Igarashi A, Kato T, Kato M, Song M, Nakagawa H ; Japanese Ustekinumab Study Group. Efficacy and safety of ustekinumab in Japanese patients with moderate-to-severe plaque-type psoriasis : long-term results from a phase 2 / 3 clinical trial. J Dermatol. 39 (3) : 242-52, 2012
3. 鳥居秀嗣、大槻マミ太郎、照井 正、森田明理、飯塚 一、中川秀己、渡辺彰、乾癬におけるインフリキシマブの使用指針作製ワークグループ. 乾癬におけるインフリキシマブの使用指針. 臨床皮膚 66 (2) : 171-175, 2012
4. 照井 正. 【皮膚科最新治療のすべて】 掌蹠膿疱症の治療戦略. Derma 190 : 137-41, 2012

#### H. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得  
該当なし
2. 実用新案登録  
該当なし