

体、汎発性膿疱性乾癬が4検体、色素性乾皮症が7検体、先天性魚鱗癬様紅皮症が2検体、DNAとして難病バンクへ寄託されている(平成25年12月現在)。表皮水疱症についても診断が確定次第、DNA試料1検体を寄託予定である。

特筆すべきは、難病バンクへ寄託された生体試料を活用した日本人集団における天疱瘡のゲノム解析(新潟大学)がスタートしたことである(平成25年12月12日に生体試料提供管理委員会にて承認済)。

#### D. 考察

稀少難治性皮膚疾患に係る原因遺伝子を含む高品質な遺伝試料から成る研究資源を、必要とする研究者に供給できる全国レベルのバイオバンクの体制を確立した。

バイオバンク体制の確立に際し苦勞したことは、遺伝資源の利用から生ずる提供者の権利(特許権などの知財財産権)をいかに公正かつ衡平に分配していくかであった。詳細は巻末の文献2に記載している。

臨床情報付き遺伝資源であるがゆえに、得られたゲノム情報を基礎にして多様な臨床情報をデータベース上で、比較することにより、Genotype-Phenotype相関をはじめ、多くの有益な知見がもたらされることが十分期待できる。

今後に残された課題は、遺伝資源をより高純度なものにして次世代シーケンス解析に耐えうる形に生体試料を確保していくことである。そのようにすることで、これまで稀少難治性皮膚疾患であるための弱点であったサンプル収集の困難さを克服することができる。

従来、疾患患者数の把握等、主に疫学的研究手段に拠っていたものが、分子・遺伝子レベルでe-Scienceな国際的議論が展開できる次のステップに入ってきたといえる。

#### E. 結論

稀少難治性皮膚疾患に係るナショナルバイオバンクの基礎を構築し、実際にその遺伝資

源を活用した臨床研究が始まった。

#### F. 健康危険情報

該当なし。

#### G. 研究発表(平成25年度)

論文発表

1. Sugiura K, Takemoto A, Yamaguchi M, Takahashi H, Shoda Y, Mitsuma T, Tsuda K, Nishida E, Togawa Y, Nakajima K, Sakakibara A, Kawachi S, Shimizu M, Ito Y, Takeichi T, Kono M, Ogawa Y, Muro Y, Ishida Y, Yamamoto A, Sano S, Matsue H, Morita A, Mizutani H, Iizuka H, Muto M and Akiyama M: The majority of generalized pustular psoriasis without psoriasis vulgaris is caused by deficiency of interleukin-36 receptor antagonist. *J Invest Dermatol*, 133: 2514-2521, 2013.
2. 武藤正彦: ヒト生体試料を利用した医学研究への実践的対応。山口医学、62: 199-204, 2013.

学会発表

1. Muto M, Ichimiya M, Yamaguchi M, Takemoto A and Naniwa K: Genetic factors related to Japanese patients affected with generalized pustular psoriasis. 2013 International Investigative Dermatology Meeting 8-11 May 2013, Edinburgh, Scotland.

#### H. 知的所有権の出願・登録状況(予定を含む)

なし

表1

生体試料提供機関 [3カ年]  
(倫理審査承認済)

- ①山口大学 (平成23年 6月)
- ②兵庫医科大学(平成24年 3月)
- ③北海道大学 (平成24年 4月)
- ④新潟大学 (平成24年 9月)
- ⑤神戸大学 (平成25年 5月)
- ⑥岡山大学 (平成25年 7月)
- ⑦順天堂大学 (平成25年 7月)

表2

生体試料登録状況(H25年12月現在)

疾患区分	登録数	提供機関
天疱瘡	4	山口大学
膿疱性乾癬	4	山口大学
色素性乾皮症	7	神戸大学 山口大学
先天性魚鱗癬様紅皮症	2	兵庫医科大学

(注) 秘密保持に関する覚書の締結を要する。

[IV]

資 料

稀少難治性皮膚疾患に関する調査研究班 平成25年度 公開シンポジウム

## 見えてきた難治性皮膚疾患の病態と治療の展望

日 時：平成25年 9月14日（土）15：30～17：15

場 所：岡山コンベンションセンター 3F コンベンションホール

主 催：稀少難治性皮膚疾患に関する調査研究班

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）

（平成25年 9月受稿）

### はじめに



稀少難治性皮膚疾患に関する調査研究班 研究代表者

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科  
皮膚科学分野 教授

岩月 啓氏

#### 1. 稀少難治性皮膚疾患に関する調査研究班の取り組み

本研究班は厚生労働省の難治性疾患克服研究事業として、天疱瘡、表皮水疱症、膿疱性乾癬と魚鱗癬様紅皮症の4疾患群の病因・病態研究、臨床統計調査、生体試料収集と、臨床試験の実施ないし解析に取り組んでいます。平成20年度から小職が研究代表を務め、皮膚科と異分野が共同で研究を遂行し、班員を中心に難病医療の診療拠点として情報発信・共有と啓発を実施しています（図1）（研究班ホームページ：kinan.info）。

研究班は、各分科会が一体となって実施すべき共通研究課題（疫学調査、症例レジストリ、生体試料収集や診療拠点など）と、分科会としてより専門的立場で進める研究課題に大別しています。各分科会間に垣根はなく、研究者はオーバーラップしながら研究を進めています。当研究班の研究対象疾患は病因・病態からみると多様であり、学術的観点からは非効率に思われるかもしれませんが、患者視点から見るとそうではありません。私たちは、全国の患者にとってアクセスのしやすい診療拠点化を目指して、班員施設と関連する研究班が連携した all Japan での取り組みをしています（図2）。

#### 2. これまでの主な研究成果

##### 1) 臨床疫学と症例レジストリ

臨床調査個人票を用いた疫学統計を継続し、臨床調査個人票の改訂を行いました。次世代の難病認定システムへ向

けて症例データベース化を進めています。そのために、全国診療施設と遺伝子・血清診断の拠点化を推進しています。

##### 2) 遺伝的相関解析

天疱瘡では、生体試料収集が組織的に進められています。膿疱性乾癬では IL-36 受容体拮抗分子ファミリーの遺伝子変異が発見され、創薬のシーズが見つかりました。表皮水疱症と魚鱗癬様紅皮症で遺伝型／表現型を解析し、新規変異同定に成功し、得られた情報から病態研究が進行中です。当研究班は、国内外のゲノム・血清診断の診療拠点としての役目を果たしています。稀少疾患を正確に、効率よく遺伝子診断し、地域差を解消するように連携をとっています。

##### 3) 病因・病態解明

①天疱瘡：ファージライブラリを用い自己抗体の解析を行ってきました。また、特異的T細胞クローンを用いて、免疫寛容機構を解析しています。プロテオーム解析を用いて天疱瘡抗体による表皮細胞内シグナル伝達機構を解析しています。

②膿疱性乾癬：S100A8/A9とその新規受容体に関連した病態関連分子制御機構から炎症機転を解析中です。炎症メディエーターとしての IL-1系、IL-17、IL-33を検討しました。本邦症例における IL36RN 遺伝子変異を解析し、報告しました。

③表皮水疱症：動物モデルによる遺伝子導入・骨髄幹細胞移植の基礎研究を推進し、後述する骨髄間葉系幹細胞移植（臨床試験）のシーズを提供しました。

④魚鱗癬様紅皮症：K1ケラチン変異表皮細胞やオートファジーに関連した角層バリア機能異常の病態解析を進めています。

##### 4) 診断と新規治療の開発

①天疱瘡：血清診断法（ELISA）を改良しました。久留米大学皮膚科は血清診断拠点としての活動を継続しています。抗CD20抗体（リツキシマブ）の自主臨床試験を4施設で実施中です。

②膿疱性乾癬：S100A8/A9のほかに YKL-40 のバイオマー

カーとしての意義を報告しました。顆粒球吸着・除去療法 (GCAP) の臨床試験をサポートし、GCAPを組み入れた診療ガイドラインと、適正で安全使用の指針を作成しました。

③表皮水疱症：真皮成分に血管を含む新たな自家培養皮膚の開発と臨床応用を推進しました。骨髄幹細胞療法のプロトコルを検討し副反応の基礎的なデータを収集し、治療の安全性について検討を加えました。班員施設において骨髄間葉系幹細胞移植療法の臨床試験 (first-in-man) が開始されるのをサポートしています。

④魚鱗癬様紅皮症：低侵襲性診断法、簡便な遺伝子検体調整法を開発中です。患者 iPS 細胞作成し、表皮細胞分化の条件を検討中です。将来の遺伝子治療や移植治療に発展させることを目標としています。

5) 診療ガイドライン作成

天疱瘡、膿疱性乾癬については、旧版ガイドラインの改訂を実施し、英訳化を進めています。

6) 情報共有と啓発

患者視点を重要視した医療情報共有と啓発活動を展開しています。全国各地での患者・家族支援講演会相談会や、医療者向け講演会を開催しています。医療者、患者家族向けパンフレットを全国配付、ウェブサイトで情報の公開と配信を行い、好評です。

7) 難病診療拠点化と難病専門医

皮膚難病診療機関の拠点化に取り組んでいます。稀少疾患の医療費実態調査を進めています。施設による格差を解消するために、情報提供を行っています。

8) 生体試料収集事業

医薬基盤研究所や他研究班と共同で、班員による症例レジストリと、生体試料収集事業を連結した知財 (遺伝子リファレンスライブラリーを含む) を提案しました。研究参加施設で倫理委員会の申請・承認を進めています。

3. 展望

稀少難治性皮膚疾患 (4 疾患群) について、疾患発生モデルや幹細胞・遺伝子治療など最先端の研究成果が生まれました。しかし、病態や根治的治療についてはなお未解決の問題が残されています。今後、病態解明を進め、新規治療開発につながるシーズを見いだすとともに、予後悪化要因、合併症出現予測因子の解明に取り組み、移植・細胞治療を臨床研究として推進するために、研究を継続する必要があります。

次年度 (平成26年度) は研究班の大きな再編成があります。私たちは新医療開発へ向けて、臨床研究中核病院群と連携した共同臨床試験にシーズを提供できる研究組織を目指していますが (図3)、当研究班がどこまで担当するかは、研究予算規模によって左右されます。

## H25年度稀少難治性皮膚疾患に関する調査研究班組織

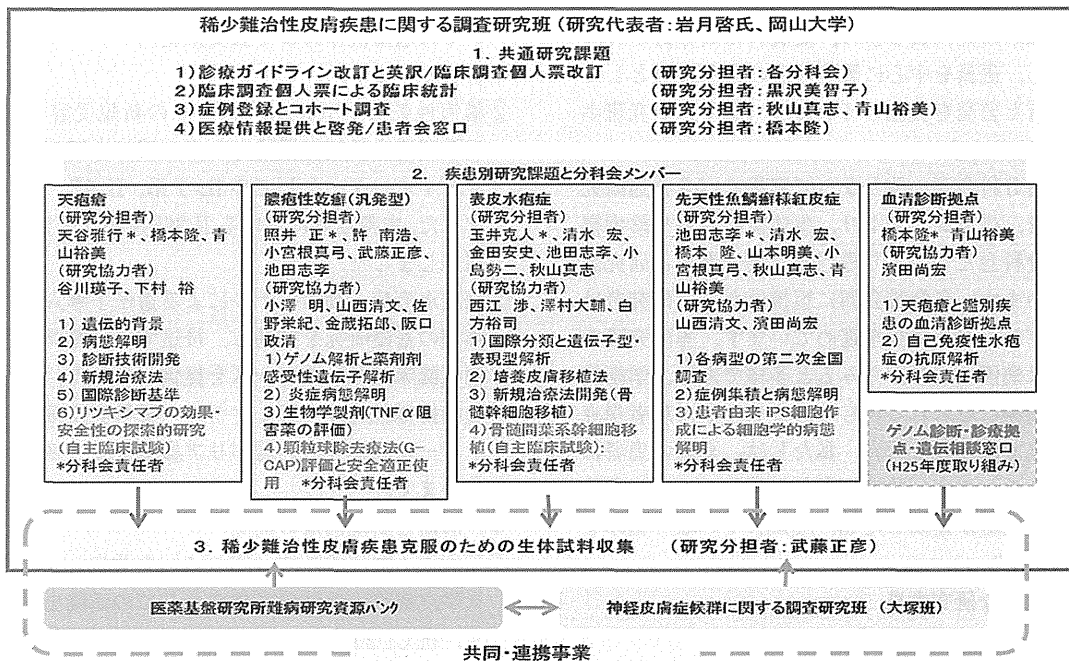


図1 稀少難治性皮膚疾患に関する調査研究班の組織図

## 患者視点で連携・共同＝拠点化

1. 診療・診断・遺伝相談拠点化(難病拠点施設)  
ゲノム・血清診断の集約化・効率化とレビュー  
全国の難病患者に利便性を
2. 生体試料収集事業  
稀少皮膚疾患試料をAll Japan で収集
3. 症例登録・疫学調査  
稀少皮膚疾患患者数・分布の概要把握
4. 情報共有・啓発活動と外部評価  
公開セミナー等の共同開催  
関連学会との連携  
外部評価
5. 臨床研究中核病院 (△)との連携



図2 患者視点からみた皮膚難病診療拠点化

## 稀少難治性皮膚疾患に関する調査研究班再編計画と中期目標(案)

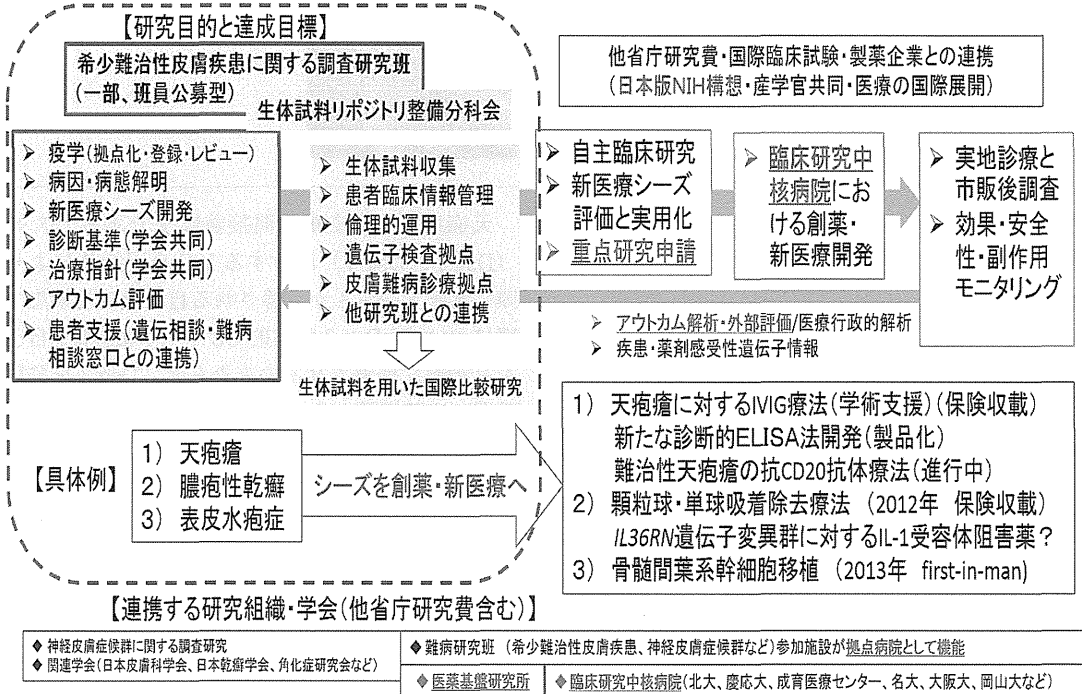


図3 新たな研究班組織案と中期目標(案)

## 膿疱性乾癬



稀少難治性皮膚疾患に関する調査  
研究班 研究分担者

日本大学医学部皮膚科学系皮膚科学  
分野皮膚科学 教授

照井 正

膿疱性乾癬（汎発型）（GPP）は稀な疾患であり、次の4つの特徴を持っている。①発熱あるいは全身倦怠感などの全身症状を伴う、②全身または広範囲の潮紅皮膚面に無菌性膿疱が多発し、時に融合して膿海を形成する、③病理組織学的に Kogoj 海綿状膿疱を特徴とする好中球性角層下膿疱を形成する、④以上の臨床的、組織学的所見を繰り返す。本症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、GPPの病勢をコントロールして患者のQOLを向上させる必要がある。2009年にGPP診療ガイドラインを報告したが、それ以降新たに病因の解明につながる知見（S100関連蛋白、IL36RN 遺伝子変異、ほか）が報告され、治療の面でも生物学的製剤が認可され、新しい治療法である顆粒球吸着除去療法の有効性が報告された。現在、これらの情報・知識を盛り込んだGPP診療ガイドラインの改訂作業中である。今回のシンポジウムでは、「稀少難治性皮膚疾患に関する調査研究班」におけるGPP臨床、病因・病態研究、臨床統計調査に関する研究成果を中心に概説するとともに改訂ガイドラインについても触れたい。

## 先天性魚鱗癬様紅皮症



稀少難治性皮膚疾患に関する調査  
研究班 研究分担者

順天堂大学大学院医学研究科  
皮膚科学・アレルギー学 教授

池田 志 孝

本研究班では、まず北島班で「水疱型先天性魚鱗癬様紅皮症（BCIE）」が調査研究対象疾患として認定され、次に岩月班においてBCIEに加えて非水疱型先天性魚鱗癬様紅

皮症や葉状魚鱗癬などを大きく包括する疾患として、「魚鱗癬様紅皮症」が調査研究対象疾患として認定され、現在に至っている。

調査研究内容としては、まずBCIEの全国疫学調査が行われ、①患者数の推定、②臨床疫学像の把握、③遺伝子型と臨床像の関連調査、などが行われている。次に常染色体劣性魚鱗癬や魚鱗癬症候群に対しても全国疫学調査が行われ、④大まかな「魚鱗癬様紅皮症」患者数の推定が終了しており、現在⑤臨床疫学像の解析が行われている。

基礎研究としては、①遺伝子型と臨床像の関連調査、②TGase1遺伝子改変マウスの解析、③角層ならびに顆粒層における各種接着装置と角化異常の関連解析、④変異ケラチンの機能解析、⑤病因タンパクの発現様式の解明と発症病理解明、⑥ autophagy の角化への関与の検討、などが行われている。

この間、BCIEの診療ガイドラインが試作されたが、稀少疾患であるためRCTなど行われておらず、エビデンスレベルは低いものであった。

## 天疱瘡の病態と治療の最新知見



稀少難治性皮膚疾患に関する調査  
研究班 研究分担者

慶應義塾大学医学部皮膚科学 教授

天谷 雅 行

天疱瘡は、表皮細胞間接着因子であるデスモグレイン（Dsg1, Dsg3）に対するIgG自己抗体により皮膚、粘膜に水疱・びらんが誘導される自己免疫性疾患である。病態において、Dsg3特異的CD4+T細胞は、自己抗体産生をB細胞に誘導させるのみならず、Dsg3を発現している臓器に直接浸潤しInterface Dermatitisを誘導することがマウスモデルで明らかにされた。水疱形成とInterface Dermatitisの組み合わせは、腫瘍随伴性天疱瘡において認められる特徴的な病理学的所見である。さらに、扁平上皮化生により本来発現されない表皮抗原が肺に異所性に発現されることにより、皮膚を攻撃するT細胞が、肺障害を誘導することが示唆された。血清学的診断において、Dsg1, Dsg3に対するELISA法が用いられてきたが、検査の迅速化と測定範囲の広範化を実現した化学発光酵素免疫測定法（CLEIA）が開発された。CLEIA法は、ELISAに比べて

感度が50,000倍高く、免疫反応時間は30倍以上速い（分析時間は20分以内）とされている。また、ダイナミックレンジはELISAに比べ100倍以上広いため、抗体価が高く振り切れてしまう血清に対しても、至適希釈度を検討することなく、1回の反応で真の抗体価が測定できる利点がある。治療においては、B細胞リンパ球表面に特異的に反応するCD20抗原に結合し、B細胞を特異的に除去することができるリツキシマブ（マウス・ヒトキメラ型抗CD20モノクローナル抗体）の有用性が広く報告されている。本研究班においても、臨床試験を施行している。抗CD20抗体療法は、今後の天疱瘡における治療戦略を大きく変える可能性がある。

## 表皮水疱症治療研究の現状と展望



稀少難治性皮膚疾患に関する調査研究班 研究分担者

大阪大学大学院医学系研究科再生誘導医学寄附講座 教授

玉井 克人

表皮水疱症は、皮膚基底膜領域の接着構造遺伝子異常により、日常生活の軽微な外力で全身皮膚の表皮全層が剥離し、重症熱傷様症状が生直後から生涯続く、極めて重篤な遺伝性水疱性皮膚疾患である。現在、稀少難治性皮膚疾患に関する調査研究班では表皮水疱症の根治的治療法開発に向けて精力的に研究を進めている。

表皮水疱症患者皮膚は、長年の表皮剥離の帰結として表皮幹細胞を大量に喪失していることが容易に予期される。しかし、重症表皮水疱症成人患者であっても表皮再生機序が維持されているという臨床的観察事実から、我々は皮膚外組織、特に骨髄から皮膚への幹細胞補充メカニズムの存在を想定し、その実証研究を進めた。その結果、損傷皮膚壊死組織から大量放出される high mobility group box1 (HMGB1) が一定の血中濃度に達すると骨髄内の間葉系幹細胞を刺激して血中へと動員し、さらに損傷皮膚特異的集積を誘導すること、皮膚に集積した間葉系幹細胞は種々の皮膚構成細胞へと分化して損傷皮膚の再生を誘導し、さらに皮膚基底膜領域接着構造分子を発現して皮膚構造維持に強く寄与していることが明らかとなった。

これらの研究成果を基に、現在我々は、健常家族ドナーから得た骨髄間葉系幹細胞を表皮水疱症難治性潰瘍周囲に移植して再生誘導するヒト幹細胞移植臨床研究を進めている。今後、本臨床研究を発展させることにより、重症表皮水疱症に対する安全かつ有効な治療法の確立が可能になると期待する。

## 難病バンクとの連携



独立行政法人医薬基盤研究所  
難病・疾患資源研究部  
難病研究資源バンク 代表

高橋 一朗

難病の研究では、当該疾患の生体試料と情報が重要な役割を果たす。しかし難病患者さんの生体試料を入手することは医学研究者ですら困難である。そこで難治性疾患克服研究事業等により収集された試料・情報を集中化して品質管理を行う難病研究資源バンク（難病バンク）が作られた。

この難病バンク事業と、稀少難治性皮膚疾患に関する調査研究班および神経皮膚症候群に関する調査研究班の「臨床研究促進に向けた生体試料資源の供給体制構築のための合同連絡協議会」において、難治性皮膚疾患の患者さんの生体試料を難病バンクに集中化して長期にわたり管理し、皮膚難病研究に利用する枠組みを作った。枠組みの骨格は、山口大学皮膚科武藤正彦教授により作成されたものである。ここでは難病バンクが関与する部分について概略を示す。

研究班の合同連絡協議会において7疾患の各疾患共通の統一した倫理審査申請書（研究計画書、患者同意説明文書）が作成されており、山口大学および難病バンクの倫理委員会ですべて承認されている。研究班を構成する機関全体を難病バンクでは「共同事業」と位置づけ、この中では患者さんの試料・情報を連結可能匿名化で受け入れ、また提供（分譲）する。共同事業内の各研究機関は、この統一された倫理審査申請書を使って各機関で倫理申請をしていたが承認を得たのち、難病バンク研究倫理審査委員会で承認を得て、この枠組みに参加できるよう計画されている。



## ヒト幹細胞臨床研究実施計画書

### 表皮水疱症患者を対象とした骨髄間葉系幹細胞移植臨床研究

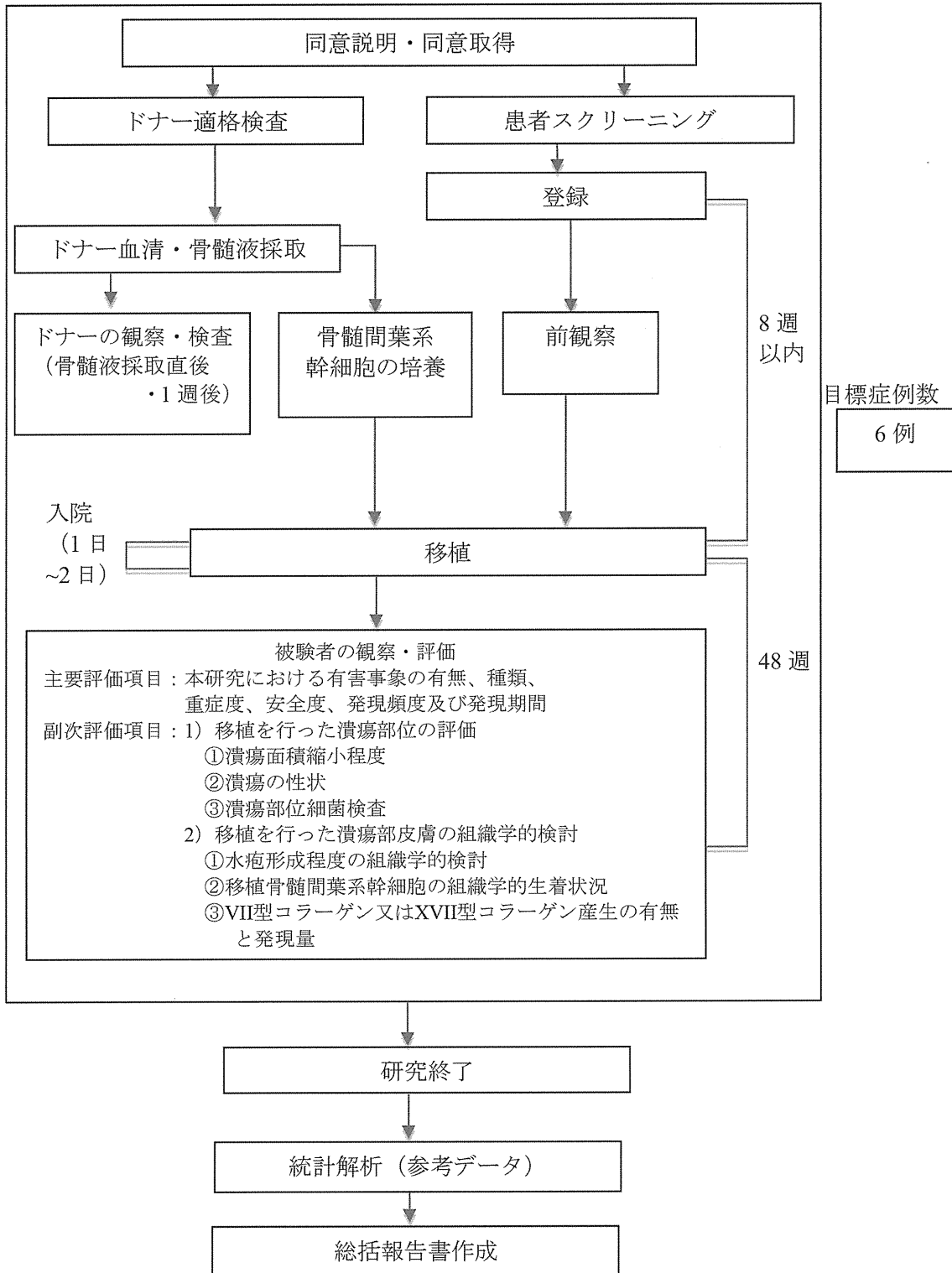
研究責任者 : 玉井克人  
所属機関名 : 大阪大学大学院医学系研究科  
所属科・部署 : 再生誘導医学

## 概要

項目	内容
目的	表皮水疱症（接合部型および栄養障害型）患者に対する家族ドナー由来骨髄間葉系幹細胞移植術に基づく再生療法の安全性、有効性の評価
対象患者	表皮水疱症（接合部型及び栄養障害型）
選択基準（被験者）	1) 表皮水疱症（接合部型又は栄養障害型）と診断された患者 2) 20歳以上60歳未満の患者 3) 6週間以上持続する難治性潰瘍を有する患者 4) ドナーの適格基準に合致し、同意の得られている異性の親、又は異性の兄弟姉妹がいる患者 5) 患者本人の文書による同意が得られている患者
除外基準（被験者）	1) 重度の精神疾患を有する患者 2) アルコール中毒症を有する患者 3) 意識障害を有する患者 4) 皮膚以外の悪性腫瘍を有する患者（過去5年以内に既往がある患者を含む） 5) 妊娠又は妊娠している可能性のある患者 6) 糖尿病を合併している患者 7) その他、研究責任者が移植に適さないと判断した患者
選択基準（ドナー）	1) 20歳以上65歳未満である者 2) 被験者と性の異なる親、又は性の異なる兄弟姉妹である者 3) ドナー本人の文書による同意が得られている者
除外基準（ドナー）	1) 血液疾患、または出血傾向を有する者 2) Hb 11.0g/dL 未満、または血小板 $5.0 \times 10^4/\mu\text{L}$ 未満の者 3) 慢性難治性の感染症を有する者 4) 登録前6ヵ月以内にアルコール中毒症又は薬物依存症の既往を有する者 5) 悪性腫瘍を有する者（過去5年以内に既往がある者を含む） 6) 感染症（梅毒、HIV、HBV、HCV、HTLV、パルボウイルス B19のいずれか）を有する者 7) 伝達性海綿状脳症及びその疑いのある者 8) その他、研究責任者が移植に適さないと判断した者
被験者及びドナーの同意	スクリーニングを行う前に外来において同意説明を行い、被験者本人及びドナーによる同意を得る。 研究責任者又は分担者は、本研究への参加候補となる被験者本人及びドナーに対して、同意説明文書（添付文書「患者さんへ」「骨髄を提供される方へ」参照）を提供し、口頭で十分な説明を行った後、本研究への参加の同意を文書で取得する。（「ヒト幹細胞を用いる臨床研究におけるインフォームド・コンセントに関する手順書」を参照）。 なお、本研究においては、単独で同意を取得できない者は被験者及びドナーとしない。
試験物	骨髄間葉系幹細胞
研究方法 (治療スケジュール)	1) 骨髄間葉系幹細胞の試験移植 移植当日に骨髄間葉系幹細胞約100個分を生理食塩水100 $\mu\text{L}$ に懸濁し、被験者の前腕非潰瘍部の皮下に試験移植する。試験移植後 1

	<p>時間観察し、重篤なアレルギー症状を生じた場合は本試験を中止する。</p> <p>2) 潰瘍部皮膚への骨髄間葉系幹細胞移植</p> <p>皮膚潰瘍（潰瘍部周囲の長さが20cm程度の潰瘍を移植対象基準とするが、適当なサイズの潰瘍がない場合はその大きさを問わない）を1カ所選択する。移植対象潰瘍部の周囲に、2cm間隔で、1箇所につき<math>0.5 \times 10^6</math>個/250<math>\mu</math>Lの培養骨髄間葉系幹細胞を皮下移植する。潰瘍周囲の長さが20cmの場合、移植細胞総数は、<math>5 \times 10^6</math>個（10箇所<math>\times 0.5 \times 10^6</math>個）となる。</p>
併用禁止薬剤及び併用禁止療法	特になし
観察・検査スケジュールの概略	観察・検査スケジュール表参照
主要評価項目	本研究における有害事象の有無、種類、重症度、発現頻度及び発現期間とする。
目標症例数	6例
研究登録期間	病院長による研究実施許可日から3年間
研究実施許可日	2011年10月14日

シエーマ



## 観察・検査スケジュール

### 被験者の観察・検査スケジュール

観察・検査・ 評価日	スクリーニング	前観察	移植直後 (0日)	移植後						中止時
				1週	2週	4週	12週	24週	48週	
実施許容期間	8週以内	8週以内	+3日	±3日	±3日	±5日	±1週	±2週	±3週	
被験者背景	○									
臨床症状の観察	○	○ <sup>*2</sup>	○	○	○	○	○	○	○	○
血液検査・尿検査	○	○ <sup>*2</sup>	○	○		○			○	○
心電図		○	○						○	○
胸部X線検査		○	○						○	○
移植潰瘍部皮膚生検の組織学的検討 <sup>*1</sup>		○			創閉鎖時 <sup>*3</sup>	創閉鎖時 <sup>*3</sup>	創閉鎖時 <sup>*3</sup>	創閉鎖時 <sup>*3</sup>	創閉鎖時 <sup>*3</sup>	
有害事象										→
併用治療										→

\*1：移植後の移植潰瘍部皮膚生検は、創が閉鎖した時点で1回のみ行う。但し、本研究期間内に創閉鎖が見込めないと判断した場合は、その時点での上皮化終了部位から生検する。

\*2：実施許容範囲内であれば、スクリーニングの結果を代用することができる。

\*3：創閉鎖時とは、潰瘍面の完全な上皮化を確認出来た時点とする。

### ドナーの観察・検査スケジュール

観察・検査日	適格検査	骨髓液採取 直後 (0日)	骨髓液採取 1週後
実施許容期間	被験者登録の 3週以内	+1日	±3日
ドナー背景	○		
臨床症状の観察	○	○	○
血液検査	○	○	○
有害事象			→
併用治療			→

先天性表皮水疱症に対する  
同種造血幹細胞移植の有効性に関する研究  
研究計画書(臨床介入研究)(案)

研究代表者:

名古屋大学小児科・教授・小島勢二

名古屋大学小児科・名古屋市昭和区鶴舞65  
TEL 052-744-2294 FAX 052-744-2294

研究事務局:

名古屋大学小児科・名古屋市昭和区鶴舞65  
TEL 052-744-2294 FAX 052-744-2294

平成23年6月5日 作成

Ver.1

注) 本研究計画書は倫理委員会承認前のものである。

## 研究計画書（臨床介入研究）

### I 課題名

先天性表皮水疱症に対する同種造血細胞移植の有効性に関する研究

Clinical study of allogeneic stem cell transplantation for recessive dystrophic epidermolysis bullosa.

### II 研究組織

#### 1 研究責任者(所属・職名・氏名)

名古屋大学小児科・教授・小島勢二

#### 2 研究分担者(所属・職名・氏名)

名古屋大学皮膚科・教授・秋山真志

名古屋大学小児科・助教・村松秀城

#### 3 共同研究者(所属・職名・氏名)

北海道大学皮膚科・教授・清水 宏

#### 4 効果安全性評価委員会

委員の職名・氏名

愛知医科大学造血細胞移植振興寄附講座・教授・小寺良尚

研究実施モニタリング間隔

年 2 回

### III 研究等の概要

#### <研究の背景・意義・目的>

本研究の目的は、先天性表皮水疱症の児に対する同種造血幹細胞移植の有効性を検討することである。

皮膚の脆弱性により、外力による水疱形成とびらんを容易に起こすのが先天性表皮水疱症の特徴である。生下時より痛みを伴う粘膜皮膚の水疱・びらんがあり、手指・足指の融解、食道狭窄、局所・全身の感染、関節破壊、扁平上皮がんなどを起こす。これまで、有効な治療法はなく、平均寿命が 30 年程度の生命予後・QOL とともに不良の疾患である。

本症は遺伝形式、臨床症状ならびに電顕所見に基づき 1) 単純型、2) 接合部型、3) 優性栄養障害型、及び 4) 劣性栄養障害型に分類される。このうち特に重症である、4) 劣性栄養障害型に該当するものを本研究の対象患者とする。

研究分担者の秋山、共同研究者の清水らは、先天性表皮水疱症マウスモデルにおいて同種造血幹細胞移植の有用性を報告している(1)。すなわち、先天性表皮水疱症の原因遺伝子の一つである collagen XVII のノックアウトマウスに対して、正常マウスをドナーとして造血幹細胞移植を施行することで、ドナー由来のケラチノサイトが出現し、collagen XVII の回復および皮膚病変の改善、生存期間の延長が得られることを示した。同様に同種造血幹細胞移植の先天性表皮水疱症に対する有用性を示したマウスモデルによる実験結果は複数報告されている(2, 3)。2010 年、同種骨髄移植により先天性表皮水疱症患者の皮膚症状改善を認めた海外における臨床研究の結果が報告された(4)。

本研究では、国内の先天性表皮水疱症患者に対して、同種造血幹細胞移植を行い、その有用性を検討する。

## <研究の対象>

### 1 対象者の選択基準・症例数

患者選択基準：以下の基準をすべて満たすものとする。

- (1) 劣性栄養障害型の先天性表皮水疱症と診断されている患者。
- (2) 年齢が1歳以上30歳未満の患者。
- (3) 説明文書・同意文書による同意が得られている。
- (4) 以下の臓器機能の基準をすべて満たす。(登録前28日以内)
  - (a) 左室駆出率 40%以上
  - (b) 肺機能検査 一秒率 30%以上かつ予測肺活量 30%以上 (ただし可能な患者のみ)
  - (c) AST/ALT が 5xULN 未満 (NCI-CTC grade 2 以下)
  - (d) 血清クレアチニンが 3xULN 未満 (NCI-CTC grade 2 以下)

入院患者・外来患者の双方を対象とする。

対象人数 10名

7例の先天性表皮水疱症患者に対する造血幹細胞移植の安全性・有効性を評価したアメリカからの報告(4)を国内の先天性表皮水疱症患者において追試するには十分な症例数と考えられる。なお、対象となる先天性表皮水疱症患者は国内に約1,000人いると推定される。

### 2 除外基準

次の項目のいずれかに該当する患者は本試験の対象としない。

- (1) 活動性の感染症を有するもの
- (2) 活動性の精神疾患を有するもの
- (3) 前治療法に用いる薬剤、ならびに急性 GVHD 予防に用いる薬剤に対し過敏症の既往のある患者
- (4) その他、担当医師が本試験の対象に不適合と判断した患者

### 3 採取する試料等

病理材料 (対象臓器名 )    生検材料 (対象臓器名 皮膚 )  
血液材料    遊離細胞    その他 ( )

- ・上記材料の採取期間 西暦 2011 年 7 月～ 西暦 2016 年 6 月
- ・採取の方法 (侵襲性の有無)

皮膚生検はトレパンを用いたパンチ生検を行う。侵襲性は存在するが、低いと考えられる。採血検査は通常の静脈穿刺にて行う。

- ・材料の数量等

皮膚生検は移植前後に2回施行する。

末梢血採血は、通常の診療上必要な血液検査の機会に合わせて施行する。



- ・試料の保管場所（名古屋大学小児科血液グループ研究室）
- ・新規採取試料か、既存試料か  
新規採取試料

#### 4 使用する診療情報

##### 移植前治療開始前評価項目

以下の項目に関しては、移植前に評価・確認を行う。

- (1) 骨髄検査
- (2) 心エコー、呼吸機能検査（%VC, FEV1.0%）（可能な患者のみ）
- (3) 血清学的検査（HBV, HCV, HIV, CMV）
- (4) HCT-CI
- (5) 酸素非投与下の動脈血酸素飽和度もしくは経皮的酸素飽和度
- (6) 患者情報：原疾患・移植時病期
- (7) 移植骨髄細胞情報：細胞数、性別
- (8) 血液型（患者、ドナー）
- (9) HLA タイピング（患者、ドナー）
- (10) 皮膚症状の評価

肉眼的所見および写真撮影により皮膚症状につき評価を行う。移植前に皮膚生検を行い、病理像の変化を移植前後で比較を行う。評価する病理所見は、以下の通りである。

1) 光学顕微鏡による表皮・真皮間の裂隙形成の程度。 2) 電子顕微鏡によるヘミデスマゾームの形成の程度、特に、anchoring fibril の形成、頻度。

##### 移植前治療開始日より移植後 60 日までの評価項目

- (1) Overall survival の評価  
転帰（死亡の有無及び死亡日）、
- (2) 輸注量・移植細胞数
  - (a) 総有核細胞数および CD34 陽性細胞数
  - (b) 移植時に測定した生細胞比率
- (3) 治療関連毒性

心毒性、神経毒性、肺毒性、腎泌尿器毒性、肝毒性、口腔粘膜毒性、消化管毒性、皮膚毒性、TTP/HUS、頭蓋内出血、消化管出血、その他の重篤な出血性合併症、感染性合併症に関しては、移植後 Day1 から Day28 までの重症度を Common Terminology Criteria for Adverse Events v3.0 (NCI-CTCAE v3.0) に従って評価し、記載する。

- (4) 移植前治療の薬剤種類と投与量
- (5) 生着

生着を評価するため、以下の基準を満たすまでの期間は原則として週に 3 回以上血液学的検査を実施する。

- (a) 生着日は白血球数×好中球割合から算出された好中球数が、3 ポイント以上の連続した検査日において 500/ $\mu$ l 以上となった最初の日を記載する。休日などで白血球分画の検査が実施できない日の検査結果については、直前の検査

可能日の分画値を用いて好中球数を計算することとする。

(b) 生着不全（二次性生着不全含む）と診断された場合は診断日を記載する。この場合は主要評価項目については失敗例として扱う。

(6) 造血回復の評価

好中球の回復は白血球数×好中球割合から算出された好中球数が、3ポイント以上の連続した検査日において500/ $\mu$ l以上となった最初の日を記載する。

血小板の回復は3ポイント以上の連続した検査日において20000/ $\mu$ l以上となった最初の日を記載する。

(7) 急性 GVHD

急性 GVHD を発症した場合は、発症日、最終 Staging と Grading、組織学的検査の有無、生検部位、病理判定を記載する。

(8) 慢性 GVHD

慢性 GVHD を発症した場合は、発症日、発症様式、組織学的検査の有無、生検部位、病理判定、診断時重症度、および経過中最高重症度を記載する。

(10) 肝合併症

肝腫大/右上腹部痛および腹水の有無について観察し VOD の発症・転帰を記載する。VOD 以外の肝合併症が認められた際には、その診断方法、検査結果、確定診断日、および転帰を記載する。

(11) 肺合併症

間質性肺炎、成人呼吸窮迫症候群(ARDS)、閉塞性汎細気管支炎(BO)、肺胞出血、その他の非感染性肺合併症がみられた場合にはその診断方法、検査結果、確定診断日、および転帰を記載する。

(12) 出血性膀胱炎

確定診断日、原因、検査方法およびその結果、転帰を記載する。

(13) その他の合併症

合併症名、発症日、転帰を記載する。

(14) 感染症

前処置開始後に合併し、証明された細菌、真菌、ウイルス、原虫感染症については、起炎菌と感染部位、発症日および転帰を記載する。

抗原血症は感染症とは定義せず CMV 抗原血症は別に記載する。組織学的に CMV の証明された、あるいは臨床的に CMV が原因微生物として疑われる CMV 腸炎・CMV 肺炎などの CMV に起因する感染症症状を CMV 感染症として記載する。CMV 感染症の診断として可及的に組織学的診断を試みる。

(15) キメリズムの評価

ドナー型キメリズム検査は Day60-100 の時点で骨髄または末梢血検体を用いて検査する。

(16) 皮膚症状の評価

定期的に肉眼的所見および写真撮影により皮膚症状の変化につき評価を行う。移植後に100日目に皮膚生検を行い、病理像の変化を移植前後で比較を行う。評価する病理所見は、以下の通りである。1) 光学顕微鏡による表皮・真皮間の裂隙形成の程度。2) 電子顕微鏡によるヘミデスモゾームの形成の程度、特に、anchoring fibril の形成、頻度。

## 移植後の長期フォローアップ調査項目

長期フォローアップ調査項目については、1年に1回評価を行う。

- (1) 全生存期間の評価  
転帰(死亡の有無及び死亡日)
- (2) 感染症・その他の合併症  
合併症名、発症日、転帰を記載する。
- (3) 皮膚症状の評価  
肉眼的所見および写真撮影により皮膚症状の変化につき評価を行う。

### <研究期間>

開始：研究実施許可日から

終了：5年後まで

### <実施計画>

先天性表皮水疱症患者を対象に同種造血幹細胞移植を行い、その安全性および短期・長期予後を把握する。造血幹細胞移植の詳細は、以下のように規定する。

#### 1. 造血幹細胞原

第1選択は、HLA一致同胞ドナーとする。第2選択は同胞以外のHLA一致血縁ドナー、第3候補はHLA一致非血縁骨髄ドナーとする。臍帯血およびHLA不一致ドナーは原則として選択しない。

## 2. 移植前処置

ブスルファン (ブスルフェクス®)

0.8mg/kg/dose (患者体重 12kg 以上) × 4 dose/day × 4 days

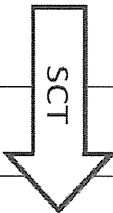
1.1mg/kg/dose (患者体重 12kg 未満) × 4 dose/day × 4 days

フルダラビン (フルダラ®)

25 mg/m<sup>2</sup>/day × 3 days

シクロフォスファミド (エンドキサン®)

1.55g/m<sup>2</sup>/day × 4 days

	Day -9	Day -8	Day -7	Day -6	Day -5	Day -4	Day -3	Day -2	Day -1	Day -0
ブスルファン	↓↓ ↓↓	↓↓ ↓↓	↓↓ ↓↓	↓↓ ↓↓						
フルダラビン					↓	↓	↓			
シクロフォス ファミド					↓	↓	↓	↓		

## 3. GVHD 予防法

### a. HLA 一致同胞ドナー、同胞以外の HLA 一致血縁ドナー

シクロスポリン (ネオーラル®) (3mg/kg/day) 24 時間持続点滴 (day -1~)

および

メトトレキサート (メソトレキセート®)

(15mg/m<sup>2</sup> (max 15mg) (day1)、10mg/m<sup>2</sup> (max 10mg) (day3, 6, 11) 静脈注

射

### b. HLA 一致非血縁ドナー

タクロリムス (プログラフ®) (0.02 mg/kg/day) 24 時間持続点滴 (day -1~)

および

メトトレキサート (メソトレキセート®)

(15mg/m<sup>2</sup> (max 15mg) (day1)、10mg/m<sup>2</sup> (max 10mg) (day3, 6, 11) 静脈

注射

## 4. G-CSF の投与及び感染症予防

G-CSF は原則として移植後 Day5 以降から開始し、好中球の生着確認時まで初期投与量で投与し、その後漸減する。G-CSF によるショック、間質性肺炎、呼吸窮迫症候群などの重篤な副作用や生着時にみられる capillary leak syndrome の発生に十分留意し、これらの症状がみられた場合には直ちに G-CSF の投与を中止し、ステロイド剤の投与など適切な処置を速やかに実施する。

細菌・真菌・ウイルス感染症の予防投薬について以下の方法を用いる。

前処置開始時からポリミキシン B、フルコナゾールを投与する。単純ヘルペス