

200936065A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

皮膚難病の自己免疫水疱症の自己抗原のプロテオミクス  
による同定と診断システムの確立

平成21年度 総括研究報告書

研究代表者 橋本 隆

平成22年(2010)年5月

## 目 次

I. 班員構成	-----	1
II. 総括研究報告		
皮膚難病の自己免疫水疱症の自己抗原のプロテオミクスによる同定と 診断システムの確立に関する研究		
橋本 隆		
久留米大学医学部皮膚科学講座 教授		
久留米大学皮膚細胞生物学研究所 所長兼任	-----	2
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	13
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	15

# I. 班員構成



厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)  
総括研究報告書

皮膚難病の自己免疫水疱症の自己抗原のプロテオミクスによる  
同定と診断システムの確立

研究代表者

橋本 隆 久留米大学医学部皮膚科学講座 久留米大学皮膚細胞生物学研究所	教授 所長兼任
---	------------

研究分担者

安元 慎一郎 久留米大学医学部皮膚科学講座 久留米大学皮膚細胞生物学研究所	准教授 副所長兼任
---	--------------

名嘉真 武国 久留米大学医学部皮膚科学講座 久留米大学皮膚細胞生物学研究所	講師 運営委員
---	------------

辛島 正志 久留米大学医学部皮膚科学講座 久留米大学皮膚細胞生物学研究所	講師 運営委員
--	------------

濱田 尚宏 久留米大学医学部皮膚科学講座 久留米大学皮膚細胞生物学研究所	講師 運営委員
--	------------

## Ⅱ. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
総括研究報告書

皮膚難病の自己免疫水疱症の自己抗原のプロテオミクスによる同定と  
診断システムの確立

研究代表者 橋本 隆 久留米大学医学部皮膚科学講座 教授  
久留米大学皮膚細胞生物学研究所 所長兼任

### 研究要旨

今回の研究の第一の目的は、稀少な自己免疫性水疱症の生体試料を多数収集し、生体試料バンクを作成することである。また、第二の目的は、これらの多数の生体試料サンプルを利用し、プロテオミクスの手法を用いて、現在まで未知である多くの自己免疫性水疱症の抗原を同定し、その蛋白を用いた抗原検出法を確立し、自己免疫水疱症の完全な診断システムを確立することである。

自己免疫性水疱症における生体試料のバンクの作成に関して、当該施設の患者および国内外の多くの施設から血清サンプルを渉猟することができた。すなわち、今回の研究では、研究期間の1年間で、当該研究施設にて診察した各種の自己免疫性水疱症の患者から、約800検体の血清を渉猟した。さらに、皮膚生検を行い、約400検体の凍結皮膚サンプルを渉猟した。また、国内外の多くの施設から、非常に稀な疾患を中心に、約600例の患者血清サンプルを渉猟した。

この新しいサンプルと、当該施設に20年間以上保存していた生体試料をあわせ、当該施設では、現在、各種の自己免疫性水疱症の患者から、約10,000検体の血清と約4,000検体の凍結皮膚サンプルを保存している。この規模の生体試料バンクは世界的にも最高峰のものであり、以降の研究ならびに診断システムの確立に非常に重要なものとなった。その生体試料バンクを用いて、多くの実験を行い、現在の抗原の種類をまとめ、自己免疫性水疱症の新しい分類を作成することが出来た。

未知の自己抗原の同定に関して、さまざまな実験を行い、新しい抗原の同定に関する研究を進めるとともに、その病原性を検討した。まず、2009年に、抗p200類天疱瘡の抗原がラミニンガンマ1であることをプロテオミクス手技で同定したので、この抗体の病原性を検討した。すなわち、マウスのラミニンガンマ1のC末端部をコードするcDNAを単離し、大腸菌発現系を用いて、リコンビナント蛋白を作成した。このリコンビナント蛋白をウサギに免疫して作成した抗体を新生マウスに投与し皮膚病変の作成を試みた。さらに、このリコンビナント蛋白を直接マウスに免疫して、病変の発生を観察した。

IEN型IgA天疱瘡の抗原解析に関しては、免疫ブロット法と免疫沈降法を用いた2次元電気泳動法で、多数の患者血清が、約120kDaの分子量の蛋白と特異的

に反応することを見出した。この蛋白スポットを質量解析で解析し、その蛋白がケラチノサイトの膜蛋白であることを同定した。この蛋白について、特異抗体を作成し、その特異抗体の反応を患者血清の反応と比較して、実際の抗原蛋白である可能性を検討した。すなわち、二次元電気泳動法で、患者血清と特異抗体が反応するスポットが同一であるかどうか確認し、免疫電顕法で、患者血清と特異抗体が反応する抗原の超微細構造が同一であるかどうか確認した。その結果、この蛋白が自己抗原である可能性が高いことを見出した。さらに、次年度は、確認のための追加の生化学的検査を行う予定である。

一方、これらの蛋白以外にも、複数の患者血清の反応する蛋白を、プロテオミクス手技を用いて同定し、その蛋白が自己抗原であることの確認実験を行っている。現在、多数のsublamina densa型の線状IgA水疱性皮膚症の患者血清を渉猟し、今後、その抗原を検討する予定である。また、未知である、170 kDa腫瘍随伴性天疱瘡抗原に関しても、現在、プロテオミクスの技術を用いて同定を進めており、ひとつの候補蛋白を得ている。現在、この蛋白が真の抗原であることを確認する作業を行っている。

さらに、現在まで、Dsg1, Dsg3, BP230, BP180のELISA法を開発したが、さらに、Dsg1, Dsg3, BP230, BP180のELISA法を改善するための研究を続けている。また、新しいELISAとして、VII型コラーゲン、ラミニン332、LAD-1、エンボプラキン、ペリプラキン、ラミニンガンマ1のELISAを作成した。今後、多数の患者血清を利用して、その診断への有用性を確認し、診断システムの確立に向かう予定である。

#### 研究分担者氏名

安元 慎一郎

久留米大学医学部皮膚科学講座 准教授  
久留米大学皮膚細胞生物学研究所 副所長兼任

名嘉真 武国

久留米大学医学部皮膚科学講座 講師  
久留米大学皮膚細胞生物学研究所 運営委員

辛島 正志

久留米大学医学部皮膚科学講座 講師  
久留米大学皮膚細胞生物学研究所 運営委員

濱田 尚宏

久留米大学医学部皮膚科学講座 講師  
久留米大学皮膚細胞生物学研究所 運営委員

## A. 研究目的

厚生労働省の難治性疾患克服研究事業の対象疾患である特定疾患（難病）のひとつである天疱瘡は、自己免疫水疱症の代表疾患である。自己免疫水疱症は皮膚の表皮の構成蛋白に対する自己抗体により皮膚に水疱を形成する皮膚疾患で、正確な診断のもとに適正な治療を行わないと死に至ることもある重要な疾患である。今回の研究の第一の目的は、これらの各種の自己免疫性水疱症の患者から、なるべく多くの血清サンプルと凍結生皮膚サンプルを得ることである。そのため、当該研究施設にて診察している患者から経過によって複数のサンプルを集める。さらに、国内外の施設から多くのサンプルを集める。そして、本施設で過去20年以上にわたって渉猟してきたサンプルとあわせて非常に多数の生体試料バンクを構築する。

その後、これらの多数のサンプルを利用し、プロテオミクスの手法を用いて、現在まで未知である5種の自己免疫性水疱症の抗原を同定し、その蛋白を用いた抗原検出法を確立し、自己免疫水疱症の完全な診断システムを確立することを第二の目的とする。

本研究の特色と独創的な点のひとつは、自己免疫水疱症の抗原解析をシステムティックに行っている施設は国内、国外を含めて他にないことである。事実、私共の施設には、国内、国外の施設から、多数の血清サンプルが送られてきており、最近13年間で約3,000検体に及ぶ。さらに、最近私共はプロテオミクスの手法を用いて、今まで未知であった抗p200類天疱瘡の抗原がラミンガンマ1であること

を証明した。この新しいプロテオミクス手法を駆使することも本研究の特色であり独創的な点である。

今回の研究の全体では、現在未知の5種の各種自己免疫水疱症の自己抗原をすべて同定し、そのcDNAを単離し、各種リコンビナント蛋白を作成する。その蛋白を用いて、各種の生化学的、分子生物学的手法により、新しい診断法を確立する。そして、従来の診断法と合わせて、すべての自己免疫水疱症を診断するシステムを構築する。当該事業年度には、主として、2種の新しい天疱瘡の抗原を同定するとともに、プロテオミクスの手技をより完全なものとする。

このシステムにより、すべての自己免疫水疱症が確実に診断され、それぞれの患者に最も適切な治療が施されるようになることは、重篤な皮膚病変に苦しむ患者の救済に大いに役立つことで、厚生労働行政の課題に合致している。本研究を遂行するにあたって、すべての研究は久留米大学の生命の倫理委員会の承認を得ている。すべての患者の採血は、倫理委員会の示すインフォームドコンセントを得た後に行っている。患者から採血で得た血清を用いるため患者に危害をおよぼすことはない。組替えDNA実験に関しては、その承認手続きを受けている。また、動物実験も含まれていないため、実験動物に対する動物愛護上の配慮等を必要としない。

## B. 研究方法

現在までの約20年間に、私共の施設には、本施設で治療している患者血清および国内外の多くの施設から当該施設での抗原解析の依頼を受けて送



付された血清を合わせ、非常に数多くの自己免疫水疱症血清を保存している（橋本 隆担当）。

さらに、今回の研究では、当該研究施設にて診察している患者から経過によって複数のサンプルを集める。さらに、国内外の施設から多くのサンプルを集める。そして、本施設で過去20年以上にわたって渉猟してきたサンプルとあわせて非常に多数の生体試料バンクを構築することを第一の目的とする。

その後、これらの多数のサンプルを利用し、プロテオミクス的手法を用いて、現在まで未知である5種の自己免疫性水疱症の抗原を同定し、その蛋白を用いた抗原検出法を確立し、自己免疫水疱症の完全な診断システムを確立することを第二の目的とする。

今回用いるプロテオミクス解析では、抗原となる表皮ないし培養ケラチノサイトの抽出液を2枚の二次元電気泳動で蛋白を分離する。一方のゲルからは蛋白を電氣的にニトロセルロース膜にブロットして、各種の血清や抗体を用いて通常の方法で免疫ブロット法を施行し、それぞれの抗体の反応する蛋白のスポットを同定する。もうひとつのゲルはクマシーブルー蛋白染色をしてすべての蛋白を染色する。そして、免疫ブロット法で検出したスポットと同一の部位に見られる蛋白スポットをゲルから切り出す。そのゲルをトリプシン処理し、マススペクトロメトリーによる蛋白質量解析を行い、得られたアミノ酸配列の結果とヒトゲノムデータベースを比較することにより、抗原蛋白を同定する（橋本 隆、安元慎一郎、名嘉眞武国担当）。私共は、このプロテオミクス

解析を用いて、抗p200類天疱瘡の自己抗原がラミニンガンマ1であることを報告しており、当施設はこの手法に熟練している。

まず、デスモソーム関連蛋白の同定に挑む。現在までに、多くのデスモソーム構成蛋白が存在することが明らかとなっている。細胞膜蛋白としては、カドヘリンファミリーに属するデスマグレイン群とデスモコリン群がある。今回検討する、腫瘍随伴性天疱瘡血清の反応する170 kDa蛋白と、IEN型のIgA天疱瘡抗原は、現在までの組織学的・生化学的な検討から、デスモソーム関連蛋白であることが明らかとなっているが、いずれも、現在まで知られているデスモソーム構成蛋白ではないことが示唆されている。今回の研究でも、これらの抗原について、私共が培ってきた研究方法を用いてその性質を明らかにする（辛島正志、濱田尚宏担当）。その後、上述のプロテオミクス解析によって最終結果を得る（橋本 隆、安元慎一郎、名嘉眞武国担当）。

次に、ヘミデスモソーム関連蛋白の同定に挑む。現在までに、多くのヘミデスモソーム構成蛋白が存在することが明らかとなっている。今回検討する、粘膜類天疱瘡の165kDa抗原、眼型粘膜類天疱瘡抗原、sublamina densa型線状IgA水疱性皮膚症の抗原は、現在までの組織学的・生化学的な検討から、ヘミデスモソーム関連蛋白であることが明らかとなっているが、いずれも、現在まで知られているヘミデスモソーム構成蛋白ではないことが示唆されている。今回の研究でも、この抗原について、私共が培ってきた研究方法を用いてその性質を明らかにする

(辛島正志、濱田尚宏担当)。その後、上述のプロテオミクス解析によって最終結果を得る(橋本 隆、安元慎一郎、名嘉眞武国担当)。

次に、同定された5種の蛋白について、ゲノムデータベースから、それぞれの cDNA 配列を同定する。その配列から、最善の各種プライマーを設定し、正常ヒト表皮 cDNA ライブラリーをテンプレートとして用いた PCR 法により、それぞれの蛋白の cDNA をクローニングする。

まず、得られた cDNA クローンを大腸菌発現ベクターにクローニングし、大量のリコンビナント蛋白を作成する。また、バキュロウイルス発現系にクローニングし、昆虫細胞により、より高度のリコンビナント蛋白を作成する。さらに、有核細胞発現ベクターにクローニングし COS-細胞に発現させる。これらのリコンビナント蛋白を用いた免疫ブロット法、ELISA 法、cDNA transfection 法を確立する(辛島正志、濱田尚宏担当)。これらの新しい抗原検出法に従来の検査法を組み合わせ、すべての自己免疫水疱症の診断を可能にするシステムを構築する(橋本隆担当)。

#### (倫理面への配慮)

本研究を遂行するにあたって、相手方の同意・協力を必要とする研究、個人情報の取り扱いの配慮を必要とする研究、生命倫理・安全対策に対する取組を必要とする研究などは、久留米大学の生命の倫理委員会の承認を得ている。すべての患者に対して、その採血は、倫理委員会の示すインフォームドコンセントを得た後に行っている。ほとんどの研究は腫瘍随伴性天疱瘡患者、IgA 天疱瘡、粘膜類天疱瘡、

線状 IgA 水疱性皮膚症などの患者から採血で得た血清を用いるため患者に危害をおよぼすことは全くなく、研究・生命倫理・安全対策に対する取り組みを満足している。組替え DNA 実験に関しては、久留米大学内の必要な講習を受け、必要な書類を提出して、その承認手続きを受けている。本研究で用いられる多量のモノクローナル抗体の産生には各種の培養技術を用いているが、特に、人権の保護及び法令の遵守への対応を必要としない。さらに、本研究では、個人情報を伴うアンケート調査・インタビュー調査はない。また、動物実験も含まれていないため、実験動物に対する動物愛護上の配慮等を必要としない。

#### C. 研究結果

今回の研究で、非常に多くの患者血清を渉猟し、世界有数の生体試料バンクを構築することが出来た。その生体試料バンクを用いて、多くの実験を行い、現在の抗原の種類をまとめ、自己免疫性水疱症の新しい分類を作成することができた。

これらの結果から、図1に示すように、多くの自己免疫性水疱症の抗原は、デスマソームあるいはヘミデスマソームの抗原蛋白であることが確認された。それらの抗原蛋白の模式図をまとめた(図1)。

この結果、天疱瘡群と類天疱瘡群の二つに大別できる、自己免疫性水疱症の新しい分類を表1と表2に示す。天疱瘡群には多数の疾患があることが明らかとなった(表1)。また、類天疱瘡を中心とする抗表皮基底膜部自己抗体を示す疾患にも多くの種類があることが明らかとなった(表2)。

今回の研究では、研究期間の1年間

で、当該研究施設にて診察した各種の自己免疫性水疱症の患者から、約 800 検体の血清を渉猟した。さらに、皮膚生検を行い、約 400 検体の凍結皮膚サンプルを渉猟した。また、国内外から、非常に稀な疾患を中心に、約 600 例の患者血清サンプルを渉猟した。

これにより、当該施設では、現在、各種の自己免疫性水疱症の患者から、約 10,000 検体の血清と 4,000 検体の凍結皮膚サンプルを保存している。この規模の生体試料バンクは世界的にも最高峰のものであり、以降の研究ならびに診断システムの確立に非常に重要なものとなった。

さらに、さまざまな研究を行い、新しい抗原の解析を進めた。2009 年に、抗 p200 類天疱瘡の抗原がラミニンガンマ 1 であることをプロテオミクス手技で同定したので、次に、マウスのラミニンガンマ 1 の C 末端部をコードする cDNA を単離し、大腸菌発現系を用いて、リコンビナント蛋白を作成した。このリコンビナント蛋白をラビットに免疫して特異抗体を作成した。このラビット血清は、蛍光抗体法と免疫ブロット法で、非常に高い抗体価の特異抗体を有していることを確認した。この抗血清を多数の新生マウスに投与して水疱形成を生じる可能性を検討した。その結果、この特異抗体がマウスの基底膜部に反応することを確認し、患者皮膚と同様の炎症反応を検出した。しかしながら、マウスにははっきりした水疱形成が見られなかったことから、今後さらに、抗原蛋白を直接マウスに反復投与する動物モデルを行うこととした。

IEN 型 IgA 天疱瘡の抗原解析に関しては、免疫ブロット法と免疫沈降法を用いた 2 次元電気泳動法で、多数の患

者血清が、約 120kDa の分子量の蛋白と特異的に反応することを見出した。この蛋白スポットを質量解析で解析し、その蛋白がケラチノサイトの膜蛋白であることを同定した。この蛋白について、特異抗体を作成し、その特異抗体の反応を患者血清の反応と比較して、実際の抗原蛋白である可能性を検討した。すなわち、二次元電気泳動法で、患者血清と特異抗体が反応するスポットが同一であるかどうか確認し、免疫電顕法で、患者血清と特異抗体が反応する抗原の超微細構造が同一であるかどうか確認した。その結果、この蛋白が自己抗原である可能性が高いことを見出した。さらに次年度は、確認のための追加の生化学的検査を行う。

一方、この蛋白以外にも、複数の患者血清の反応する蛋白を同定した。今後、これらの蛋白についても、プロテオミクス手技を用いて蛋白を同定し、その蛋白が自己抗原であることの確認検索を行う予定である。そのため、現在、多数の sublamina densa 型の線状 IgA 水疱性皮膚症の患者血清を渉猟し、今後、その抗原を検討する予定である。また、未知である、170 kDa 腫瘍随伴性天疱瘡抗原に関しても、現在プロテオミクスの技術を用いて同定を進めており、ひとつの候補蛋白を得ている。今後、この蛋白が真の抗原であることを確認する作業を予定している。

さらに、現在まで、Dsg1, Dsg3, BP230, BP180 の ELISA 法を開発したが、さらに、Dsg1, Dsg3, BP230, BP180 の ELISA 法を改善するための研究を続けている。また、新しい ELISA として、VII 型コラーゲン、ラミニン 332、LAD-1、エンボプラキン、ペリプラキ

ン、ラミニンガンマ1のELISAを作成した。今後、多数の患者血清を利用して、その診断への有用性を確認し、診断システムの確立に向かう。

#### D. 考察

本研究で取り扱う自己免疫水疱症の代表疾患である天疱瘡は、厚生労働省の難治性疾患克服研究事業の対象疾患である特定疾患（難病）のひとつである。ほかの自己免疫水疱症も天疱瘡と同様の自己免疫的機序によって発症し非常に難治である。このため、天疱瘡をはじめとする種々の自己免疫性水疱症の正確な診断は適切な治療の選択に大いに役立つものである。

今回の研究の第一の目的は、この稀少な疾患群の生体試料を多数少量して生体試料バンクを作成することである。当該施設は、当該施設で診察した患者と、国内外の多くの施設から送られた血清を渉猟した。その結果、各種自己免疫水疱症の血清サンプルと凍結生皮膚サンプルを非常に多数渉猟することに成功し、世界有数の各種自己免疫水疱症の生体試料バンクを作成することが出来た。

今回の研究の第二の目的は、自己抗原をすべて同定し、その cDNA を単離して、そのリコンビナント蛋白を作成することである。そして、その蛋白を用いた新しい診断法を確立し、従来の診断法と合わせて、すべての自己免疫水疱症を診断するシステムを構築する。今回の研究では、上記の世界有数の各種自己免疫水疱症の生体試料バンクを用いてさらに抗原の詳細な研究を行い、完全な診断システムの構築に向けてさらに前進した。

このシステムにより、すべての自己免疫水疱症が確実に診断され、それぞれの

患者に最も適切な治療が施されるようになることは、重篤な皮膚病変に苦しむ患者の救済に大いに役立つことで、厚生労働行政の課題に合致している。また、現在、これらの疾患には多額の医療費がかかっているが、適切な治療を行なうことで、速やかな病勢の改善と、医療費の軽減が得られる。また、この研究の副次的産物として、デスモソームとヘミデスモソームの新しい構成蛋白が同定されることは、基礎的な細胞生物学の発展にも寄与するもので、行政及び社会への貢献度が高い。さらに、この難病の治療が改善することは、国民の保健・医療・福祉の向上等についても大いに意義のあるものである。

#### E. 結論

自己免疫水疱症は表皮の構成蛋白に対する自己抗体により皮膚に水疱を形成する皮膚疾患で、正確な診断のもとに適正な治療を行わないと死に至ることもある重要な疾患である。今回の研究の第一の目的は、この稀少な疾患群の生体試料を多数少量して生体試料バンクを作成することであった。今回の研究で、当該施設、国内外の多くの施設から非常に多数のサンプルを渉猟することが出来た。その結果、世界有数の各種自己免疫水疱症の生体試料バンクを作成することが出来た。

今回の研究の第二の目的はすべての自己免疫性水疱症の抗原を同定し、その蛋白を用いた診断システムを確立することであった。私共の施設では、今までに、天疱瘡群と水疱性類天疱瘡を中心に、数多くの疾患の自己抗原蛋白を同定し、その蛋白ないし cDNA から作成したリコンビナント蛋白を用いた、免疫ブロット法や ELISA 法など

の診断手法を開発してきた。特に、天疱瘡の診断にはデスマグレインのリコンビナント蛋白が、水疱性類天疱瘡の診断には、BP180 と BP230 のリコンビナント蛋白を用いた ELISA 法が一般的になった。このような研究をシステムティックに行っている施設は、国内、国外を含めて他にない。事実、私共の施設には、その診断のために、国内、国外の施設から、血清サンプルが送られてきており、この 12 年間で 3000 検体に及ぶ。これが、本研究の特色であり独創的な点である。

さらに、最近、私共は、プロテオミクスの手法を用いて、今まで未知であった抗 p200 類天疱瘡の抗原がラミニンガンマ 1 であることを証明した (Dainichi et al, PNAS, re-submit)。その他、腫瘍随伴性天疱瘡の 170kDa 抗原、IEN 型 IgA 天疱瘡の抗原 (Ishii et al, Clin Exp Dermatol. 29:62, 2004)、165kDa 粘膜類天疱瘡の抗原、眼型粘膜類天疱瘡、sublamina densa 型線状 IgA 水疱性皮膚症などがまだ明らかとなっていない。

今回の研究では、まず、これらの蛋白をすべて同定することを目的とし、上記の世界有数の各種自己免疫水疱症の生体試料バンクを用いて、多くの未知の抗原の同定の研究を進行中である。その多くは、プロテオミクスの手技を用いている。すなわち、それぞれの蛋白源を二次元電気泳動し、一枚は免疫プロットで抗原のスポットを同定し、もう一枚のゲルからそのスポットを切り出し、トリプシン処理後、マススペクトロメロリー手法を用い

て、抗原を同定する。現在まで、多くの実験から、多くの未知の抗原の候補蛋白を検出した。今後、その抗原として確認する作業を行う予定である。

最近、新しい ELISA 法を多数開発した。すなわち、VII 型コラーゲン、ラミニン 332、LAD-1、エンボプラキン、ペリプラキン、ラミニンガンマ 1 の ELISA を作成した。今後、上記の未知の自己抗原蛋白の cDNA を単離して、各種のリコンビナント蛋白を作成し、それらを用いて、これらの自己抗原に反応する自己抗体を検出する実験系を確立する。これらの実験系をすべてまとめて、すべての自己免疫水疱症を確実に診断できるようなシステムを構築する予定である。このような診断システムを構築することは、これらの難病に苦しむ患者のために、最良の治療を行うことができ、社会的にも大きな意義があると思われる。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

1. 論文発表 巻末に添付した。
2. 学会発表 巻末に添付した。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

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。

#### I. 文献別冊

巻末に添付した。



図 1：デスモソームとヘミデスモソームの模式図

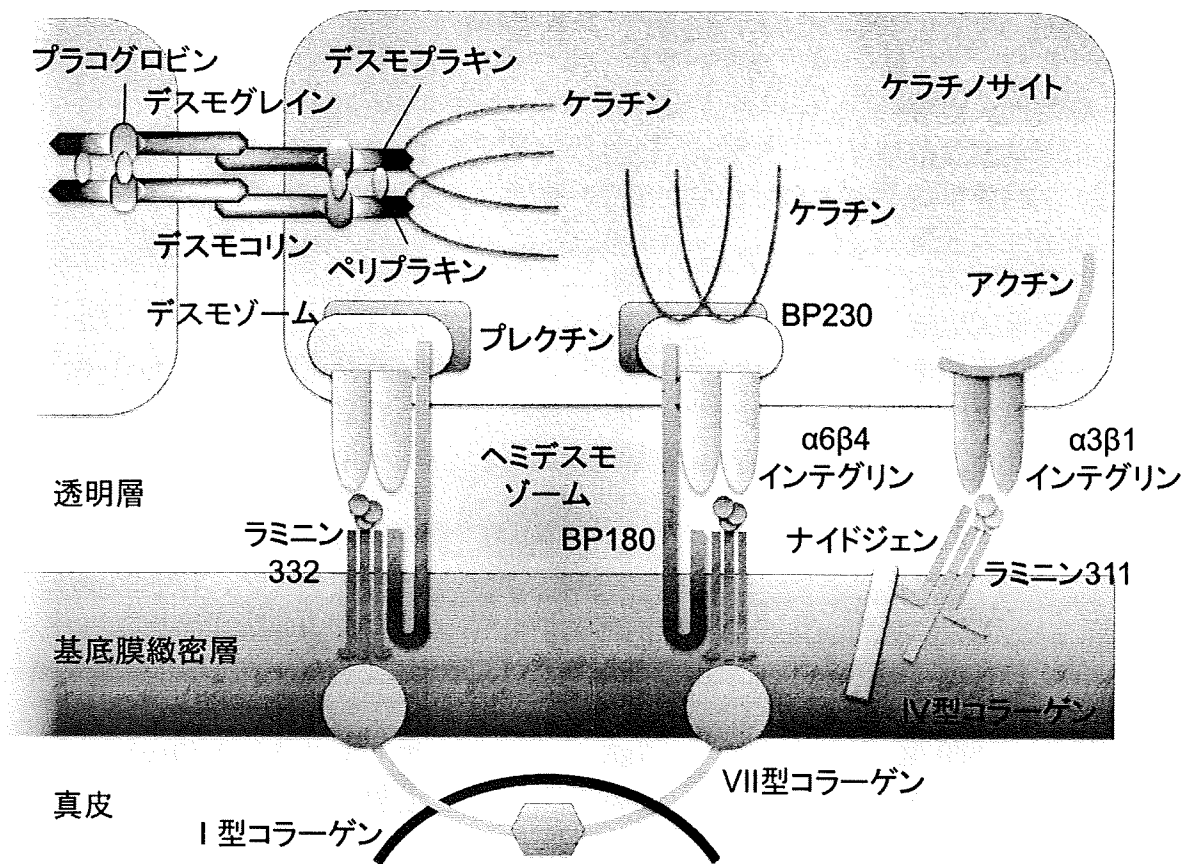


表 1: 抗表皮細胞膜抗体を示す自己免疫性水疱症の分類と抗原

病名	イムノグロブリン	抗原
尋常性天疱瘡		
粘膜優位型	IgG	Dsg3
粘膜皮膚型	IgG	Dsg3+Dsg1
増殖性天疱瘡	IgG	Dsg3、Dsg1、 <u>Dsc1-3</u>
落葉状天疱瘡	IgG	Dsg1
紅斑性天疱瘡	IgG	Dsg1
疱疹状天疱瘡	IgG	Dsg1、(Dsg3)、 <u>Dsc1-3</u>
薬剤誘発性天疱瘡	IgG	Dsg1 主体
腫瘍随伴性天疱瘡	IgG	プレクチン、 <u>エピプラキン</u> デスモプラキン I/II、BP230 210kDa エンボプラキン、190kDa ペリプラキン、 <u>170kDa 蛋白</u> Dsg3、Dsg1、 <u>Dsc1-3</u>
抗デスモコリン天疱瘡	IgG/IgA	<u>Dsc1-3</u>
IgA 天疱瘡		
SPD 型	IgA	デスモコリン 1 (Dsc1)
IEN 型	IgA	<u>不明</u>

下線：抗原未同定

表 2: 抗表皮基底膜部抗体を示す自己免疫性水疱症の分類と抗原

病名	イムノグロブリン	抗原蛋白
水疱性類天疱瘡	IgG	BP230、BP180
妊娠性疱疹	IgG	BP180
粘膜類天疱瘡 (MMP)		
抗 BP180 型 MMP	IgG/IgA	BP180 (C 末端部)
抗ラミニン 332 型 MMP	IgG	ラミニン 332 (ラミニン 5、エピリグリン)
抗 p165 型 MMP	IgG	未知 p165
眼型 MMP	IgA/IgG	<u>β4</u> インテグリン、LAD-1
口腔粘膜型 MMP	IgG/IgA	<u>α6</u> インテグリン
ジューリング疱疹状皮膚炎	IgA	表皮トランスグルタミナーゼ
C3 疱疹状皮膚炎 (仮称)	C3	未知 (なし?)
線状 IgA 水疱性皮膚症		
Lamina lucida 型	IgA	97kDa/120kDa LAD-1
Sublamina densa 型	IgA	未知 (VII 型コラーゲン、 <u>ラミニンγ1</u> サブユニット)
後天性表皮水疱症	IgG	VII 型コラーゲン
水疱性 SLE	IgG	VII 型コラーゲン
抗ラミニンγ1 類天疱瘡	IgG	ラミニンγ1サブユニット

下線：抗原未同定

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

## 研究成果の刊行に関する一覧表

### 雑誌

1. Dainichi T, Kurono S, Ohyama B, Ishii N, Sanzen N, Hayashi M, Shimono C, Taniguchi Y, Koga H, Karashima T, Yasumoto S, Zillikens Z, Sekiguchi K, Hashimoto T.  
Anti-laminin gamma-1 pemphigoid.  
Proc Natl Acad Sci USA 106:2800-2805,2009.
2. Tanaka N, Dainichi T, Ohyama B, Yasumoto S, Oono T, Iwatsuki K, Elfert S, Bruckner-Tuderman L, Hashimoto T.  
A case of epidermolysis bullosa acquisita with clinical features of Brunsting-Perry pemphigoid showing an excellent response to colchicines.  
J Am Acad Dermatol 61:715-719,2009.
3. Muller R, Heber B, Hashimoto T, Messer G, Mullegger R, Niedermeier A, Hertl M.  
Autoantibodies against desmocollins in European patients with pemphigus.  
Clin Exp Dermatol 34: 898-903,2009.
4. Abreu-Velez AM, Howard MS, Hashimoto K, Hashimoto T.  
Autoantibodies to sweat glands detected by different methods in serum and in tissue from patients affected by a new variant of endemic pemphigus foliaceus.  
Arch Dermatol Res 301: 711-718,2009.
5. Amagai M, Ikeda S, Shimizu H, Iizuka H, Hanada K, Aiba S, Kaneko F, Izaki S, Tamaki K, Ikezawa Z, Takigawa M, Seishima M, Tanaka T, Miyachi Y, Katayama I, Horiguchi Y, Miyagawa S, Furukawa F, Iwatsuki K, Hide M, Tokura Y, Furue M, Ihn H, Fujiwara S, Nishikawa T, Ogawa H, Kitajima Y, Hashimoto K, Hashimoto T.  
A randomized double-blind trial of intravenous immunoglobulin for pemphigus. J Am Acad Dermatol 60:595-603,2009.
6. Probst C, Schlumberger W, Stocker W, Recke A, Schmidt E, Hashimoto T, Zhu XJ, Zillikens D, Komorowski L.  
Development of ELISA for the specific determination of autoantibodies against envoplakin and periplakin in paraneoplastic pemphigus.  
Clin Chim Acta 410:13-18, 2009.
7. Takahara M, Tsuji G, Ishii N, Dainichi T, Hashimoto T, Kohno K, Kamezaki K, Nagafuji K, Takeuchi S, Moroi Y, Furue M.  
Mucous membrane pemphigoid with antibodies to the beta(3) subunit of Laminin 332 in a patient with acute myeloblastic leukemia and graft-versus-host disease.  
Dermatology 219: 361-364,2009.
8. Düker I, Schaller J, Rose C, Zillikens D, Hashimoto T, Kunze J.  
Subcorneal pustular dermatosis-type IgA pemphigus with autoantibodies to desmocollins 1, 2, and 3.  
Arch Dermatol 145:1159-62,2009.
9. Koga H, Hamada T, Ohyama B, Nakama T, Yasumoto S, Hashimoto T.  
An association of idiopathic chronic eosinophilic pneumonia with pemphigoid nodularis: a rare variant of



bullous pemphigoid.  
Arch Dermatol 145:1339-1340,2009.

10. Ando S, Sato-Matsumura KC, Kasai M, Nemoto-Hasebe I, Hoshina D, Ohyama B, Hashimoto T, Shimizu H. Desmoglein1 and BP 180 ELISA indexes correlating with disease activity in a patient with coexisting pemphigus foliaceus and bullous pemphigoid. Clin Exp Dermatol 34:995-996,2009.
11. Ishii N, Yoshida M, Ishida-Yamamoto A, Fritsch A, Elfert S, Bruckner-Tuderman L, Hashimoto T. Some epidermolysis bullosa acquisita sera react with epitopes within the triple-helical collagenous domain as indicated by immunoelectron microscopy. Br J Dermatol 160: 1090-93,2009.
12. Arakawa M, Dainichi T, Yasumoto S, Hashimoto T. Lesional Th17 cells in pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus. J Dermatol Sci 53: 228-31,2009.
13. Yasukawa S, Dainichi T, Kokuba H, Moroi Y, Urabe K, Hashimoto T, Furue M. Bullous pemphigoid followed by pustular psoriasis showing immunological dynamics among Th1, Th2, Treg and Th17. Eur J Dermatol 19: 69-71,2009.
14. Dainichi T, Ohyama B, Ishii N, Yamaguchi Z, Yasumoto S, Hashimoto T. Refractory oral ulcers with multiple IgG/IgA autoantibodies without skin lesions. J Am Acad Dermatol 62: 712-715,2010.
15. Ishii N, Hashimoto T, Zillikens D, Ludwig RJ. High-Dose Intravenous Immunoglobulin (IVIg) Therapy in Autoimmune Skin Blistering Diseases. Clin Rev Allergy Immunol 38: 186-195,2010.
16. Howard MS, Yepes MM, Maldonado-Estrada JG, Villa-Robles E, Jaramillo A, Botero JH, Patiño PJ, Hashimoto T, Abreu-Velez AM. Broad histopathologic patterns of non-glabrous skin and glabrous skin from patients with a new variant of endemic pemphigus foliaceus-part 1. J Cutan Pathol 37: 222-230,2010.
17. Natsuga K, Nishie W, Shinkuma S, Moriuchi R, Shibata M, Nishimura M, Hashimoto T, Shimizu H. Circulating IgA and IgE autoantibodies in anti-laminin-332 mucous membrane pemphigoid. Br J Dermatol. 162:513-517,2010.
18. Hashimoto T, Dainichi T, Ohyama B, Hamada T, Ishii N, Sato N, Tanigawa O, Nakayama J, Amano S, Nishiyama T, Karashima T, Nakama T, Yasumoto S. A case of anti-laminin-332 mucous membrane pemphigoid showing a blister on the bulbar conjunctiva and a unique epitope on the  $\alpha 3$  subunit. Br J Dermatol 162:887-908,2010
19. Hashimoto T, Hamada T, Dainichi T, Ishii N, Karashima T, Nakama T, Yasumoto S. How does intramolecular epitope spreading occur in BPAG2 (BP180)? J Invest Dermatol 130:924-926,2010

#### IV. 研究成果の刊行物・別刷