

201024116A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

さまざまな類天疱瘡の疾患群の抗原の詳細な解析と
新しい検査法の開発による診断基準の作成

平成22年度 総括研究報告書

研究代表者 橋本 隆

平成23年（2011）年 5月

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

さまざまな類天疱瘡の疾患群の抗原の詳細な解析と
新しい検査法の開発による診断基準の作成

平成22年度 総括研究報告書

研究代表者 橋本 隆

平成23年（2011）年 5月

目 次

I. 班員構成	-----	1
II. 総括研究報告		
さまざまな類天疱瘡の疾患群の抗原の詳細な解析と 新しい検査法の開発による診断基準の作成		
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	-----	17
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	19

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

さまざまな類天疱瘡の疾患群の抗原の詳細な解析と新しい検査法の
開発による診断基準の作成

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

研究分担者

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

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

さまざまな類天疱瘡の疾患群の抗原の詳細な解析と新しい検査法の
開発による診断基準の作成

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

自己免疫性水疱症は自己免疫機序により全身に水疱を生じる皮膚疾患群で、大きく抗表皮細胞膜抗体を示す天疱瘡群と抗表皮基底膜部抗体を示す類天疱瘡群に分類される。類天疱瘡群疾患はまだ難病に指定されていないが、通常非常に難治性であり、正確な診断のもとに適正な治療を行わないと死に至る可能性もある皮膚疾患である。類天疱瘡群の疾患は、天疱瘡と同様に、抗皮膚自己抗体により水疱を形成する皮膚疾患の一群である。類天疱瘡群疾患も、将来、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）に指定されることが望まれている。天疱瘡には多くの疾患が含まれるが、水疱性類天疱瘡が代表的疾患であり、他に、粘膜類天疱瘡、後天性表皮水疱症、妊娠性疱疹、ジューリング疱疹状皮膚炎、線状IgA水疱性皮膚症、抗ラミンガンマ1類天疱瘡などがある。本研究の目的は、主として、プロテオミクスの手法を用いて、いまだに未知の各種類天疱瘡群疾患の自己抗原を同定し、その蛋白を用いた抗原検出法を確立し、類天疱瘡の完全な診断システムを確立することである。さらに、その診断確定された患者さんの治療基準の確立も目指し、個々の患者に最良の治療を提供することである。

本研究の特色と独創的な点は、すべての類天疱瘡群の抗原解析を行っている施設であり、当該施設は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ることである。現在、当該施設には国内外から、3000以上の血清サンプルが送られてきている。最近研究代表者はプロテオミクスを用いて、抗p200類天疱瘡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1年間の研究の全体では、現在未知の5種の類天疱瘡群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。

このシステムにより、すべての類天疱瘡の疾患群が確実に診断され、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。

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

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皮膚疾患である。また、その抗原も同定され、血中自己抗体が病変を形成することが動物実験で証明された唯一の疾患である。類天疱瘡の研究は、自己免疫発症機序の解明のパラダイムとなる可能性がある。

今回の研究の目的はすべての類天疱瘡群の疾患の抗原を同定し、その蛋白を用いた診断システムを確立することである。研究代表者の施設では、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プロット法やELISA法などの診断手法を開発してきた。特に、類天疱瘡群では、水疱性類天疱瘡の診断に、

BP180とBP230のリコンビナント蛋白を用いたELISA法を開発し、現在、水疱性類天疱瘡の診断に必須なものとなっている。当該施設には、その診断のために、国内、国外の施設から、3000検体に及ぶ血清サンプルが送られてきている。これが、本研究の特色であり独創的な点である。最近、研究代表者は、プロテオミクスの手法を用いて、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, Hashimoto et al, PNAS, 2009)。

その他に眼型粘膜類天疱瘡、抗p168粘膜類天疱瘡、基底膜下部型線状IgA水疱性皮膚症、線状IgA/IgG水疱性皮膚症 (Kawahara, Hashimoto et al. J Dermatol, 1996) などの自己抗原がまだ明らかとなっていない。今回の研究では、これらの蛋白をすべて同定することを目的とする。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。そして、それらの自己抗原蛋白の cDNA を単離して、各種のリコンビナント蛋白を作成し、この自己抗原に反応する自己抗体を検出するシステムを確立する。このようなシステムにより、すべての類天疱瘡群の疾患を確実に診断できるようになることは、これらの疾患に苦しむ患者のために、最良の治療を行うことが出来、社会的にも大きな意義がある。

B. 研究方法

(1) サンプルの渉猟

当該施設では現在までの約 15 年間において、研究代表者の施設で治療している患者血清および生検皮膚を入手する。さらに、国内外の多くの施設から送られた非常に数多くの自己免疫水疱症血清を当該施設で保存している。今回の研究には、これらのサンプルを用いる。

(2) 実験方法

さまざまな免疫学的・生化学的・分子生物学的手技を用いて基礎研究を行う。

(a) まず、ラミネンガンマ 1 および LAD-1 抗原に関して、それぞれのリコンビナント蛋白を用いた新しい ELISA 法を開発する。すなわち、それぞれの蛋白の cDNA を、PCR 法を用いて単離し、その cDNA を用いてリコンビナント蛋白を作成する。それを 96 well plate にコートして ELISA 法を完成する。

(b) 次に、IgA 抗体のための新しい免疫沈降法を開発する。まず、新しい IgA 特異的結合能を有する物質を用いた IgA 特異的免疫沈降法を検討する。特に、ジャカリンないし protein M セファロースを用いた免疫沈降システ

ムを検討する。

(c) 二次元電気泳動と質量解析を組み合わせたプロテオミクス実験を施行する。すなわち、抗原となる表皮抽出液の免疫沈降後、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、類天疱瘡群血清を用いて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蛋白染色をしてすべての蛋白を染色し、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し、そのゲルをトリプシン処理し、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。研究代表者は、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ネンガンマ 1 であることを報告したことから、当該施設における同手法に熟練している。

(d) 未知の眼型粘膜類天疱瘡の自己抗原解析のため、ヘミデスモソーム濃縮画分の精製を行う。すなわち、ヒト培養ケラチノサイトから、基底膜部のみを残す方法を用いて、ヘミデスモソーム蛋白が濃縮している分画を精製する。

(3) 倫理面への配慮

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。

(4) 診断基準の作成

以上の研究からすべての類天疱瘡群の疾患の診断システムを構築する。その結果から本邦での類天疱瘡群疾患の診断基準を作成する。

C. 研究結果

(1) サンプルの渉猟

現在までの約 15 年間に、当該施設(久留米大学医学部皮膚科)では、その付属病院で治療している患者血清および生検皮膚を入手し保存してきた。血清は約 4000 検体、凍結皮膚は約 1000 件におよぶ。さらに、私共の研究施設には、国内外の多くの施設から非常に数多くの自己免疫水疱症血清が送られており、血清サンプルは約 3000 検体におよぶ。これらのすべての血清と一部の症例の生検皮膚を、当該施設で保存している。今回の研究には、これらのサンプルを用いた。

(2) 研究結果

すべての類天疱瘡の診断システムの開発のため、新しい診断法を開発するとともに未知の抗原の同定のためのさまざまな研究を進めた。

(a) 新規 ELISA 法の確立

まず、私共が最近発見した類天疱瘡群の自己抗原として、抗ラミニンガンマ 1 類天疱瘡抗原のラミニンガンマ 1 および LAD-1 抗原に関して、それぞれドイツのリュベック、ドイツのフライブルグの研究者と共同で、それぞれのリコンビナント蛋白を用いた新しい ELISA 法を開発した。

(b) 未知の自己抗原を同定

次に、sublamina densa 型線状 IgA 水疱性皮膚症の自己抗原を同定する研究を進めた。この抗原はその手がかりが少ない状況であるが、IgA 自己抗体を検出する技術は確立されていない。そのため、まず、新しい IgA 特異的結合能を有する物質を用いた IgA

特異的免疫沈降法を検討し、その結果、ジャカリンないし protein M セファロースを用いたシステムを立ち上げた。研究代表者は、現在までに稀な sblamina densa 型線状 IgA 水疱性皮膚症患者の多くの血清を渉猟・保存している。その多くの症例に関して、今回開発した新しい免疫沈降法に二次元電気泳動と質量解析を組み合わせたプロテオミクス実験を行った。すなわち、抗原となる表皮抽出液の免疫沈降後、2 枚の二次元電気泳動で蛋白を分離した。一方のゲルからは蛋白を電気的にニトロセルロース膜にプロットして、類天疱瘡群血清を用いて免疫プロット法を施行し、それぞれの抗体の反応する蛋白のスポットを同定した。もうひとつのゲルは蛋白染色をしてすべての蛋白を染色し、免疫プ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し、そのゲルをトリプシン処理し、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した。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たことから、当該施設はこの手法に熟練している。その結果、複数の自己抗原の候補を見出し、現在その確認作業を行っている。

(c) 眼型粘膜類天疱瘡の自己抗原の同定を試み

失明にいたる可能性のある重要な類天疱瘡群疾患である眼型粘膜類天疱瘡に関しても、その自己抗原は未知である。私共は、現在までにまれな眼型粘膜類天疱瘡の多くの血清を渉猟・保存している。この血清を用いて、その自己抗原の同定を試みた。まず、ヒト培養ケラチノサイトから多くのヘミデスモソーム蛋白が濃縮している画分の精製した。患者血清と新しい

ヘミデスモソーム画分を用いた新しい免疫ブロット法を用いて、多くの血清がヘミデスモソームの重要な構成蛋白であるインテグリンベータ4に反応することを見出した。現在、さらに多くの血清を渉猟している。また、同時に、インテグリンベータ4インテグリンベータ4のcDNAの単離を進めている。

(d) 動物モデルの作成

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。

(3) 診断基準の作成

以上の研究から、多くの新しい診断法を開発できた。その検索法を用いて、ほぼすべての類天疱瘡群の疾患の診断システムを構築することができた。今後、全国の多くの施設で、多数の患者さんの検索を行い、その結果をまとめて、本邦での類天疱瘡群疾患の診断基準を作成する。

(4) 自己抗原と診断のまとめ

本年度の研究で、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できた。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、

数々の類天疱瘡群疾患を含む、多くの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。

以上の結果から、多くの自己免疫性水疱症の抗原は、デスモソームあるいはヘミデスモ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、現在の時点で知られているすべての類天疱瘡群に属する自己免疫性水疱症の新しい分類を提案することができた。そのすべての疾患の分類を表1に示す。

D. 考察

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、特に類天疱瘡群の疾患として、約500血清を渉猟した。さらに、皮膚生検を行い、約250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500の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、多数の血清と凍結皮膚サンプルを保存しており、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。

本年度は、新しい抗原を同定するために、さまざまな研究を行った。今年度は、sublamina densa型線状IgA水疱性皮膚症の抗原解析を行い、複数の候補蛋白を同定した。今後、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ている。

また新しい診断法として、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。

E. 結論

本研究で取り扱う類天疱瘡群疾患は、自己免疫水疱症に分類される。自己免疫水疱症の代表疾患は各種の天疱瘡群疾患と水疱性類天疱瘡である。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）のひとつであるが、類天疱瘡群の疾患はまだ難病に指定されていない。しかし、天疱瘡以外の、類天疱瘡群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、種々の類天疱瘡群疾患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、未知の自己抗原を同定し、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った。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、上記の類天疱瘡群疾患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前進した。

当該施設では、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、国外を含めて類をみず、事実、当該施設には、その診断のために、国内外の施設から、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。

昨年、研究代表者は、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 T, Hashimoto T et al, PNAS 2009)。また、類天疱瘡群ではないが、最近、腫瘍随伴性天疱瘡の 170kDa 抗原を同定した (Schepens I, Hashimoto T et al, PLoS One 2010)。さらに、眼型粘膜類天疱瘡の抗原がインテグリンベータ 4 である可能性を見出し、sublamina densa 型線状 IgA 水疱性皮膚症の抗原の候補蛋白も検討中である。しかし、168 kDa 粘膜類天疱瘡の抗原などはまだ明らかとなっていない。

最近、研究代表者は、国内外の研究者と共同で、多くの新しい ELISA 法を開発した。すなわち、VII 型コラーゲン、ラミニン 332、LAD-1、エンボプラキシン、ペリプラキシン、デスマコリン、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。これらの実験系を応用し、類天疱瘡群疾患のシステムを構築する。最終的には、天疱瘡群疾患も含めた、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。

このようなシステムの確立は、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ことが期待される。

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。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

論文発表

1. Rafel D, Mueller R, Ishii N, Llamazares Prada M, Hashimoto T, Hertl M, Eming R: IgG autoantibodies against desmocollin 3 in pemphigus sera induce loss of keratinocyte adhesion. Am J Pathol, in press.
2. Mao X, Nagler AR, Farber SA, Choi EJ, Jackson LH, Leiferman KM, Ishii N, Hashimoto T, Amagai M, Zone JJ, Payne AS. Autoimmunity to Desmocollin 3 in Pemphigus Vulgaris. Am J Pathol. 2010 Oct 15. [Epub ahead of print]
3. Abreu-Velez AM, Howard MS, Hashimoto T, Grossniklaus HE. Human eyelid meibomian glands and tarsal muscle are recognized by autoantibodies from patients affected by a new variant of endemic pemphigus foliaceus in El-Bagre, Colombia, South America. J Am Acad Dermatol 62(3):437-447,2010.
4. Csorba K, Sesarman A, Oswald E, Feldrihan V, Fritsch A, Hashimoto T, Sitaru C. Cross-reactivity of autoantibodies from patients with epidermolysis bullosa acquisita with murine collagen VII. Cell Mol Life Sci 67(8):1343-1351,2010.
5. Masu T, Okuyama R, Tsunoda T, Hashimoto T, Aiba S. Paraneoplastic pemphigus associated with malignant gastrointestinal stromal tumour. Acta Derm Venereol 90(1):89-90,2010.
6. Groves RW, Liu L, Dopping-Hepenstal PJ, Markus HS, Lovell PA, Ozoemena L, Lai-Cheong JE, Gawler J, Owaribe K, Hashimoto T, Mellerio JE, Mee JB, McGrath JA. A Homozygous Nonsense Mutation within the Dystonin Gene Coding for the Coiled-Coil Domain of the Epithelial Isoform of BPAG1 Underlies a New Subtype of Autosomal Recessive Epidermolysis Bullosa Simplex. J Invest Dermatol 130(6):1551-1557,2010.
7. Schmidt E, Dähnrich C, Rosemann A, Probst C, Komorowski L, Saschenbrecker S, Schlumberger W, Stöcker W, Hashimoto T, Bröcker EB, Recke A, Rose C, Zillikens D. Novel ELISA systems for antibodies to

- desmoglein 1 and 3: correlation of disease activity with serum autoantibody levels in individual pemphigus patients. *Exp Dermatol.* 19(5):458-463,2010.
8. Chan PT, Ohyama B, Nishifuji K, Yoshida K, Ishii K, Hashimoto T, Amagai M. Immune response towards amino-terminus of desmoglein 1 prevails across different activity stages in nonendemic pemphigus foliaceus. *Br J Dermatol*:1242-1250,2010.
 9. Miura T, Kawakami Y, Oyama N, Ohtsuka M, Suzuki Y, Ohyama B, Hashimoto T, Motoki Y, Yamamoto T. A case of pemphigus herpetiformis with absence of antibodies to desmogleins 1 and 3. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 24(1):101-103, 2010.
 10. 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 antilaminin 332 mucous membrane pemphigoid showing a blister on the bulbar conjunctiva and a unique epitope on the alpha3 subunit. *Br J Dermatol* 162(4):898-899,2010.
 11. 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(4):924-926,2010.
 12. Dainichi T, Ohyama B, Ishii N, Yamaguchi Z, Yasumoto S, Hashimoto T. Refractory oral ulcers with multiple immunoglobulin G/immunoglobulin A autoantibodies without skin lesions. *J Am Acad Dermatol.* 62(4):712-715,2010.
 13. Ishii N, Hamada T, Dainichi T, Karashima T, Nakama T, Yasumoto S, Zillikens D, Hashimoto T. Epidermolysis bullosa acquisita: What's new? *J Dermatol* 37:220-230,2010.
 14. Dainichi T, Koga H, Tsuji T, Ishii N, Ohyama B, Ueda A, Natsuaki Y, Karashima T, Nakama T, Yasumoto S, Zillikens D, Hashimoto T. From anti-p200 pemphigoid to anti-laminin γ 1 pemphigoid. *J Dermatol* 37:231-238,2010.
 15. Yamaki F, Mayuzumi N, Ikeda S, Hashimoto T. Immunoglobulin A antibodies against desmoglein 1, envoplakin, periplakin and BP230 in a patient with atypical bullous pemphigoid. *J Dermatol* 37:255-258,2010.
 16. Nakashima H, Fumimoto M, Watanabe R, Ishiura N, Ishida-Yamamoto A, Hashimoto T, Tamaki K. Herpetiform pemphigus without anti-desmoglein 1/3 autoantibodies. *J Dermatol* 37:264-68,2010.
 17. Kaminaka C, Kanazawa N, Furukawa F, Hashimoto T. Case of anti-laminin- γ 1 pemphigoid associated with psoriatic erythroderma. *J Dermatol* 37:272-275,2010.
 18. Jin K, Nakano H, Akasaka E, Rokunohe D, Minagawa S, Ishii N, Hashimoto T.

- Sawamura D. Linear immunoglobulin A bullous dermatosis possibly induced by mefenamic acid. *J Dermatol* 37:269–271,2010.
19. Koga H, Ishii N, Hamada T, Karashima T, Nakama T, Yasumoto S, Hashimoto T. Successful treatment with mycophenolate mofetil of four Japanese patients with pemphigus vulgaris. *Eur J Dermatol*. 2010 Apr 20. [Epub ahead of print]
 20. Santiago-Et-Sánchez-Mateos D, Juárez Martín A, González De Arriba A, Delgado Jiménez Y, Fraga J, Hashimoto T, García-Diez A. IgG/IgA pemphigus with IgA and IgG antidesmoglein 1 antibodies detected by enzyme-linked immunosorbent assay: presentation of two cases. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2010 May 7. [Epub ahead of print]
 21. Kabashima R, Hino R, Bito T, Kabashima K, Nakamura M, Bungo O, Hashimoto T, Tokura Y. Epidermolysis bullosa acquisita associated with psoriasis. *Acta Derm Venereol*. 90(3):314–316,2010.
 22. Tateishi C, Tsuruta D, Nakanishi T, Uehara S, Kobayashi H, Ishii M, Hashimoto T. Antidesmocollin-1 antibody-positive, antidesmoglein antibody-negative pemphigus herpetiformis. *J Am Acad Dermatol* 63(1):e8–e10,2010.
 23. Endo Y, Kato M, Kitoh A, Kore-Eda S, Fukuda S, Hashimoto T, Toda K, Miyachi Y, Utani A. Pemphigoid without Mucous Involvement Showing Autoantibodies against Laminin-332 Gamma 2 Subunit. *Br J Dermatol*: 163(5):1120–1122 , 2010.
 24. Morimoto K, Fukumoto T, Kobayashi N, Nagashima C, Tateishi C, Tsuruta D, Hashimoto T, Asada H. Pruritic reddish-brown papules and plaques as initial skin lesions in a case of anti-laminin gamma1 pemphigoid without psoriasis. *Br J Dermatol*. 2010 Jul 29. [Epub ahead of print]
 25. Schepens I, Jaunin F, Begre N, Laderach U, Marcus K, Hashimoto T, Favre B, Borradori L. The Protease Inhibitor Alpha -2-Macroglobuline-Like-1 Is the p170 Antigen Recognized by Paraneoplastic Pemphigus Autoantibodies in Human. *PLoS One*. 2010 Aug 18;5(8):e12250.
 26. Groth S, Recke A, Vafia K, Ludwig RJ, Hashimoto T, Zillikens D, Schmidt E. Development of a simple ELISA for the detection of autoantibodies in anti-p200 pemphigoid. *Br J Dermatol*. 164:76–82, 2011.
 27. Dainichi T, Hirakawa Y, Ishii N, Ohyama B, Kohda F, Takahara M, Moroi Y, Furue M, Yasumoto S, Hashimoto T. Mucous membrane pemphigoid with autoantibodies to all the laminin 332 subunits and fatal outcome caused by liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *J Am Acad Dermatol*, in press.

28. Suda-Takayanagi T, Hara H, Ohyama B, Hashimoto T, Terui T. A case of pemphigoid vegetans with autoantibodies against both BP180 and BP230 antigens. *J Am Acad Dermatol* 64(1):206-8, 2011.
29. Koga H, Hamada T, Ishii N, Fukuda S, Sakaguchi S, Nakano H, Tamai K, Sawamura D, Hashimoto T. Exon 87 skipping of the COL7A1 gene in dominant dystrophic epidermolysis bullosa. *J Dermatol*. 2010 Sep 20. [Epub ahead of print]
30. Morita K, Fujisawa A, Yagi Y, Makiura M, Fukuda S, Ishii N, Ohyama B, Hashimoto T. Immunoglobulin A anti-BP230 autoantibodies in linear immunoglobulin A/immunoglobulin G bullous dermatosis. *J Dermatol*. 2011 Mar 2. [Epub ahead of print]
31. Minato H, Ishii N, Fukuda S, Wakasa T, Wakasa K, Sogame R, Hashimoto T, Horiguchi Y. Heterogeneity of Brunsting-Perry type pemphigoid: A case showing blister formation at the lamina lucida, immune deposition beneath the lamina densa and autoantibodies against the 290-kD polypeptide along the lamina densa. *J Dermatol*. 2011 Mar 2.[Epub ahead of print]
32. Tsuruta D, Hashimoto T, Hamill KJ, Jones JC. Hemidesmosomes and focal contact proteins: Functions and cross-talk in keratinocytes, bullous diseases and wound healing. *J Dermatol Sci* 62(1):1-7, 2011.
33. Ishii N, Recke A, Mihai S, Hirose M, Hashimoto T, Zillikens D, Ludwig RJ. Autoantibody-induced intestinal inflammation and weight loss in experimental epidermolysis bullosa acquisita. *J Pathol*. 2011 Jan 10.[Epub ahead of print]
34. Fukuda S, Tsuruta D, Uchiyama M, Mitsuhashi Y, Kobayashi H, Ishikawa T, Ohyama B, Ishii N, Hamada T, Dainichi T, Karashima T, Nakama T, Yasumoto S, Hashimoto T. Brunsting-Perry type pemphigoid with immunoglobulin G autoantibodies to laminin-332, BP230 and desmoplakins I/II. *Br J Dermatol*. 2011 Apr 1. [Epub ahead of print]
35. Saleh MA, Ishii K, Kim YJ, Murakami A, Ishii N, Hashimoto T, Schmidt E, Zillikens D, Shirakata Y, Hashimoto K, Kitajima Y, Amagai M. Development of NC1 and NC2 domains of Type VII collagen ELISA for the diagnosis and analysis of the time course of epidermolysis bullosa acquisita patients. *J Dermatol Sci*. 2011 Mar 16. [Epub ahead of print]
- 学会発表
1. 橋本 隆. 自己免疫性水疱症の新しい病型と治療. 第109回日本皮膚科学会総会(4月16-18日、大阪市)
 2. 濱田尚宏. 自己免疫水疱症の自己抗体の読み方と治療への応用. 第109回日本皮膚科学会総会、平成22年4月16-18日、大阪

3. 下田貴子、新見やよい、川名誠司、石井文人、橋本 隆. 抗表皮細胞膜抗体陽性であった抗 BP230 抗体陽性の水疱症類天疱瘡. 第 109 回日本皮膚科学会総会(4月16-18日、大阪市)
4. 中川秀己、松尾光馬、橋本 隆、福田俊平. 三重瘡を認めた腫瘍随伴性天疱瘡と抗ラミニン 322 型粘膜類天疱瘡の合併例. 第 109 回日本皮膚科学会総会(4月16-18日、大阪市)
5. 小林里実、高山有由美、福田俊平、橋本 隆. Dühring 疱疹状皮膚炎の 2 例. 第 109 回日本皮膚科学会総会(4月16-18日、大阪市)
6. Ishii N, Hamada T, Fukuda S, Koga H, Teye K, Ishikawa T, Sakaguchi S, Dainichi T, Karashima T, Nakama T, Yasumoto S, Hashimoto T. The majority of patients with Neumann type pemphigus vegetans show IgG autoantibodies to human desmocollins 1-3, particularly desmocollin 3. The 70th annual Society for Investigative Dermatology meeting, Atlanta, May5-8, 2010.
7. Natsuaki Y, Koga H, Fukuda S, Ishii N, Dainichi T, Hamada T, Karashima T, Ishikawa T, Yasumoto S, Goto M, Fujiwara S, Hashimoto T. Anti-epiplakin autoantibodies are present in paraneoplastic pemphigus. The 70th annual Society for Investigative Dermatology meeting, Atlanta, May5-8, 2010.
8. 松田光弘、石井文人、名嘉眞武国、安元慎一郎、橋本 隆. 高齢者の水疱症類天疱瘡の治療における病診連携. 第 26 回日本臨床皮膚科医会総会・臨床学術大会(5月29-30日、東京都)
9. 濱田尚宏、石井文人、名嘉眞武国、橋本 隆. 天疱瘡と類天疱瘡の診療ガイドライン. 第 26 回日本臨床皮膚科医会九州支部総会・学術教育講習会(6月20日、福岡市)
10. 橋本 隆. 口腔粘膜免疫学の最前線、口腔粘膜病変が示唆する自己免疫性水疱症のかずかずー新しい診断技術と最新治療法ー. 日本口腔科学会、教育研修会(6月23日、札幌市)
11. Hashimoto T. Recent progress in classification, diagnostic methods, treatments and autoantigen detection in autoimmune bullous skin diseases. 7th Annual Scientific Meeting Australasian Society for Dermatology Research, Australia, June 20, 2010.
12. Kwesi Teye, Ishii N, Hamada T, Teruki Dainichi, Tadashi Karashima, Shinichirou Yasumoto, Koga H, Marek Haftek, Hashimoto T. An attempt to identify desmosealin, an unknown desmosomal protein for KM48 monoclonal antibody, using cultured human keratinocytes. 第 17 回分子皮膚科学フォーラム(7月9日、福岡市)
13. 谷直美、濱田尚宏、石井文人、辛島正志、安元慎一郎、橋本 隆. A case of hyperkeratosis lenticularis perstans. 第 25 回角化症研究会(7月31日、東京都)
14. 橋本 隆. 口腔粘膜病変は自己免疫性水疱症のキーポイント. 第 21 回 NPO 法

- 人日本臨床口腔病理学会総会・学術大会(7月31-8月1日、大阪府)
15. 福田俊平, 石井文人, 辻 貴子, 大山文悟, 濱田尚宏, 名嘉眞武国, 安元慎一郎, 橋本 隆. 当科で診断した乾癬に合併した自己免疫性水疱症の統計学的検討. 第25回日本乾癬学会学術大会(9月3-4日、宇部市)
 16. 橋本 隆, 名嘉眞武国, 辛島正志, 濱田尚宏, 石井文人, 樋口雅子, 安元慎一郎. 久留米大学皮膚科における10例の尋常性乾癬のマダリムマブ(ヒュミラ)治療のまとめ. 第25回日本乾癬学会学術大会(9月3-4日、宇部市)
 17. Ishii N, Teye K, Hamada T, Ishikawa T, Sakaguchi S, Fukuda S, Saruta H, Karashima T, Yasumoto S, Hashimoto T. Anti-desmocollin autoantibodies in pemphigus herpetiformis and pemphigus vegetans: IgG antibodies to desmocollin 1-3 are the key factor for their characteristic phenotypes. 40th Annual ESDR Meeting 2010, Helsinki, Sept. 8-11, 2010.
 18. Koga H, Hamada T, Ishii N, Fukuda S, Sakaguchi S, Nakano H, Tamai K, Sawamura D, Hashimoto T. Exon 87 skipping of the COLA71 gene in dominant dystrophic epidermolysis bullosa. The 40th annual European Society for Dermatological Research meeting. Helsinki, Finland, Sep.8-11, 2010.
 19. Ishii N, Hamada T, Toshie Mori, Ayaka Ohzono, Akihiro Ueda, Takako Ishikawa, Yasumoto S, Hidetoshi Takedatsu, Hiromasa Fujita, Hashimoto T. Esophageal complications of epidermolysis bullosa acquisita. The First Eastern Asia Dermatology Congress, Hakata, Sept. 30-Oct.3, 2010.
 20. Sogame R, Ishii N, Hamada T, Dainichi T, Abe T, Fukuda S, Ishikawa T, Karashima T, Nakama T, Yasumoto S, Hashimoto T. The study of immunoblot and ELISA for linear IgA/IgG bullous dermatosis. International pemphigus & pemphigoid. Washington D.C., USA, Nov.5-6, 2010.
 21. Koga H, Ishii N, Hamada T, Fukuda S, Dainichi T, Karashima T, Nakama T, Yasumoto S, Hashimoto T. An attempt to identify the antigen of intraepidermal neutrophilic dermatosis (IEN)-type IgA pemphigus. 第24回表皮細胞研究会(10月9日、高知市)
 22. 古賀浩嗣, 大山文悟, 石井文人, 福田俊平, 濱田尚宏, 名嘉眞武国, 安元慎一郎, 天谷雅行, 橋本 隆. 口腔内粘膜型落葉状天疱瘡の3例. 第32回水疱症研究会(10月30-31日、京都市)
 23. Koga H, Ohyama B, Ishii N, Hamada T, Chan P, Amagai M, Yasumoto S, Hashimoto T. Three Japanese Cases of Pemphigus with Oral Lesions Detecting Anti-Dsg1 Antibodies but not Anti-Dsg3 Antibodies. JC Bystryn Pemphigus & Pemphigoid Meeting, Bethesda, Nov 5-6, 2010.
 24. Hashimoto T. Attempts to identify many mysterious antigens by proteomics

- techniques. JC Bystryn Pemphigus & Pemphigoid Meeting, Bethesda, Nov 5-6, 2010.
25. Hashimoto T. Role of pemphigus & pemphigoid foundations in uniting physicians and patients. Bystryn Pemphigus & Pemphigoid Meeting, Bethesda, Nov 5-6, 2010.
26. Julie Lin, Branka Marinovic, David Fivenson, Dedee Murrell, Luca Borradori, Hashimoto T, Giuseppe Cianchini, Frederic Caux, Pilar Iranzo, Supriya Venugopal, Linda Martin, Lynn Taylor, Victoria Werth. Photovalidation of Two Outcome Measure Instruments for Pemphigus. Bystryn Pemphigus & Pemphigoid Meeting, Bethesda, Nov 5-6, 2010.
27. 沼田早苗、小川雅弘、Teye Kwesi、十亀良介、古賀浩嗣、福田俊平、石井文人、濱田尚宏、安元慎一郎、橋本 隆。腫瘍随伴性天疱瘡における alpha-2-macroglobulin-like-1(A2ML1) 抗体についての検討。第 14 回九州基礎皮膚科研究会(11月6日、福岡市)
28. Sogame R, Ishii N, Hamada T, Dainichi T, Abe T, Fukuda S, Ishikawa T, Karashima T, Nakama T, Yasumoto S, Hashimoto T. IgG and IgA antibodies in linear IgA/IgG bullous dermatosis react with BP230 and BP180, as well as unknown antigens, by immunoblot and ELISA. The 35th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology. Wakayama, Dec.3-5, 2010.
29. 橋本 隆、石井文人、森 敏恵、樋口雅子、吉村和弘、藤原麻千子、徳田祥子、上田厚登、大日輝記、安元慎一郎。ミゾリビン内服が有効であった自己免疫性蕁麻疹の1例。第40回日本皮膚アレルギー接触皮膚炎学会総会学術大会(12月10-12日、広島市)
- 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

