

お、臨床症状は3人の医師が別個に評価した。

### C. 研究結果

膿疱性乾癬では著効1例、有効7例、やや有効6例、無効3例、壊疽性膿皮症では著効1例、有効3例、やや有効1例、無効0例、ベーチェット病では著効1例、有効2例、やや有効1例、無効0例であった。潰瘍性大腸炎に伴う結節性紅斑1例では著効、稽留性肢端皮膚炎、関節リウマチに伴う下腿潰瘍、皮膚アレルギー性血管炎、成人ステイル病各1例はすべて有効、スウィート病1例では無効の結果が得られた。悪化例はみられなかった。

膿疱性乾癬において有効以上が47.1%、やや有効以上が82.4%であった。全体では有効以上が62.5%、やや有効以上が87.5%であった(表参照)。

重篤な副作用は観察されなかった。

### D. 考察

今回の臨床研究では80%以上の症例でGCAPによる症状の改善が得られ、副作用は1例も見られなかった。本研究は対照群のないオープンスタディではあったが、これらの結果はGCAPが活性化した好中球に起因する各種皮膚疾患や関連する関節症に安全で有効な治療法として期待し得るものであることを示している。

### E. 結論

活性化した好中球による皮膚疾患32例を対象としてGCAPの臨床効果を検討し、オープンスタディではあるが、本療法は十分な有効性が期待できること、また安全性にも優れていることを示した。GCAPは膿疱性乾癬ほか好中球性皮膚疾患の治療の選択肢になり得ると考えられる。

### F. 健康危険情報

特記すべき事項はない。

### G. 研究発表(平成23年度)

#### 論文発表

1. Xiao R, Kanekura T, Yoshida N, Higashi Y, Lu QJ, Fukushige T, Kanzaki T. Retinoic acid exhibits anti-fibrotic activity via the inhibition of 5-lipoxygenase expression in scleroderma fibroblasts. *J Dermatol* 2011 ; 38 : 345-53.
2. Sakanoue M, Higashi Y, Kawai K, Sugita S, Kanekura T. Henoch-Schönlein purpura with epididymitis in an adult. *J Dermatol* 2011 ; 38 : 620-2.
3. Matsushita S, Yonekura K, Mera K, Kawai K, Kanekura T. Successful treatment of metastatic extramammary Paget's disease with S-1 and Docetaxel combination chemotherapy. *J Dermatol* 2011 ; 38 : 996-8.
4. Higashi Y, Miyoshi H, Takeda K, Saruwatari H, Kubo H, Sakaguchi I, Iwata M, Miyamoto M, Wakamoto H, Takasaki S, Hishida H, Noriki S, Kanekura T. Evaluation of a newly-developed immunochromatography strip test for diagnosing dermatophytosis. *Int J Dermatol* (in press) .
5. Higashi Y, Mera K, Shimokawa M, Hisadome M, Baba A, Matsushita S, Yanagi M, Kanekura T. Sarcoid reaction associated with Merkel cell carcinoma revealed by fluorodeoxyglucose positron emission tomography : Case report. *Journal of Medical Case Reports* 2011 ; 5 : 282-4.
6. Uchida Y, Kawai K, Ibusuki A, Kanekura T. Role for E-cadherin as an inhibitory receptor on epidermal  $\gamma \delta$  T cells. *J Immunol* 2011 ; 186 : 6945-54.
7. Nishibaba R, Higashi Y, Su J, Furukawa T, Kawai K, Kanekura T. CD147-targeting siRNA inhibits cell-matrix adhesion of human malignant melanoma cells by phosphorylating focal adhesion kinase. *J Dermatol* (in press) .

8. 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 (in press) .
9. 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 ERK1/2-Id-1 pathway. Phytother Res (in press) .
10. Sakanoue M, Kawai K, Kanekura T. Bullous pemphigoid associated with type 1 diabetes mellitus responsive to mycophenolate mofetil (MMF) . J Dermatol (in press) .
11. 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 (in press) .
12. Tsukimura T, Kawashima I, Togawa T, Kodama T, Suzuki T, Watanabe T, Chiba Y, Jigami Y, Fukushige T, Kanekura T, Sakuraba H. Efficient uptake of recombinant  $\alpha$ -galactosidase A produced with a gene-manipulated yeast by Fabry mice kidneys. Mol Med (in press) .

neutrophilic dermatoses (Special lecture) . The 15th Annual Meeting of the Korean Society for psoriasis, 24 September 2011, Seoul.

#### 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

#### 学会発表

1. The treatment of the neutrophilic dermatoses. Symposium 44 : Neutrophilic dermatoses (May 27) 22nd World Congress of Dermatology, 24-29 May 2011, Seoul.
2. Treatment of pustular psoriasis and

		著効	有効	やや有効	無効
膿疱性乾癬	(17)	1	7	6	3
壊疽性膿皮症	(5)	1	3	1	
ベーチェット病	(4)	1	2	1	
稽留性肢端皮膚炎	(1)		1		
関節リウマチ + 下腿潰瘍	(1)		1		
潰瘍性大腸炎 + 結節性紅斑	(1)	1			
皮膚アレルギー性血管炎	(1)		1		
成人スティル病	(1)		1		
スウィート病	(1)				1
	(32)	4	16	8	4

皮膚症状: 4; 高度, 3; 中等度, 2; 軽度, 1; 軽微, 0; なし.

著効: 4段階改善, 有効: 3~2段階改善, やや有効: 1段階改善, 無効: 改善なし.

表 膿疱性乾癬および好中球性皮膚疾患に対する GCAP の効果

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

乾癬の発症に関わるサイトカイン

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** 膿疱性乾癬を含む乾癬は、多遺伝子・多因子による自己免疫的な機序によって引き起こされ、表皮と免疫担当細胞の病的クロストークが本態である。最近、乾癬の感受性遺伝子として*IL-12B*, *IL-23A*, *IL-23R*が同定され、遺伝的に*IL-23/Th17*サイトカインによるシグナルが乾癬患者において亢進している可能性も示唆されている。我々は、乾癬モデルマウスを用いた解析により、*IL-23/Th17*シグナルが表皮細胞・免疫細胞間クロストークを介して乾癬の病態を形成することを明らかにした。

共同研究者

中島喜美子 高知大学医学部皮膚科講師  
高石 樹朗 高知大学医学部皮膚科助教  
三好 研 国立病院機構高知病院  
皮膚科  
山本真有子 高知大学医学部皮膚科助教  
樽谷 勝仁 高知大学医学部皮膚科  
准教授  
中島 英貴 高知大学医学部皮膚科助教

投与群では有意に表皮肥厚が軽減した（図1 A, B）。その効果はおおよそ*IL-17A*<*IL-12/23p40*=*IL-23p19*であった。

2. 同マウス背部皮膚に生じる長期TPA外用による乾癬様皮疹においても抗*IL-17*、抗*IL-12/23p40*、抗*IL-23p19*投与は皮疹形成を抑制した。またその効果は前記同様*IL-17A*<*IL-12/23p40*=*IL-23p19*であった（図2 A, B）。*IL-17*ノックアウトマウスとの交配により対照にくらべ有意な症状軽減を認めたがこの抑制はさらに抗*IL-12/23p40*、抗*IL-23p19*抗体の投与により増強された。

3. 同マウス耳介に*IL-23*皮下注射をすることにより、表皮肥厚を誘導できた。このとき所属リンパ節に*IL-22*を産生するTおよびNK細胞の増加をみとめた。

4. 同様に*K5.Stat3C*マウスを*IL-23p19*ノックアウトマウスに交配したマウスを検討したところ、その背部皮膚長期TPA外用による乾癬様皮疹形成は著明に抑制された。一方、*IL-22*ノックアウトマウスとの交配により乾癬様皮疹は影響を受けなかった。

## A. 研究目的

乾癬モデルマウスを用いて、発症に関わるサイトカインを明らかにする。

## B. 研究方法

乾癬モデルマウス*K5.Stat3C*マウスに抗*IL-17A*、抗*IL-12/23p40*、抗*IL-23p19*抗体を投与し、皮疹形成への影響を検討した。また、*IL-17A*ノックアウトマウス、*IL-23p19*ノックアウトマウス、*IL-22*ノックアウトマウスとの交配により、皮疹形成を検討した。

## C. 研究結果

1. *K5.Stat3C*マウスを用い、各抗体処理により短期TPA誘導性耳介皮疹の変化を病理組織学的に判定した。コントロールに比べ、抗*IL-17A*、抗*IL-12/23p40*、抗*IL-23p19*抗体

## D. 考察

*K5.Stat3C*マウスに発症する乾癬様皮疹に*IL-23*は必須であり、その下流で活性化する*Th17*が表皮肥厚に重要な働きをすることを考え

られた。とくにTh17から産生されるIL-22は表皮角化細胞のStat 3活性化を介して増殖を促す。興味深いことにこのときIL-22を産生するCD3-CD56+細胞(NK-22)も誘導され、これも表皮増殖に関与する可能性を示唆している。しかし、Th17より産生されるIL-22は必ずしも必須のサイトカインではない。これはIL-23下流で活性化されるIL-22以外の表皮クロストークに重要なあらたな細胞群の役割を示唆する(図3)。

#### E. 結論

乾癬モデルマウスを用いた解析により、皮疹形成にはIL-23が特に重要であることが明らかになった。IL-23によって活性化するTh17のみならずNK-22,およびその他の細胞から分泌されるサイトカインが表皮角化細胞を増殖させることが示唆された。この結果は、乾癬治療におけるバイオロジックスの位置付けにあらたな知見を与える。

#### 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 K, Kanda T, Takaishi M, Shiga T, Miyoshi K, Nakajima H, Kamijima R, Tarutani M, Benson JM, Elloso MM, Gutschall LL, Naso MF, Iwakura Y, DiGiovanni J, Sano S. Distinct roles of IL-23 and IL-17 in the development of psoriasis-like lesions in a mouse model. *J Immunol*. 2011 Apr 1; 186 (7): 4481-9.
2. Miyoshi K, Takaishi M, Nakajima K, Ikeda M, Kanda T, Tarutani M, Iiyama T, Asao N, DiGiovanni J, Sano S. Stat3 as a therapeutic target for the treatment of psoriasis: a clinical feasibility study with STA-21, a Stat3 inhibitor. *J Invest Dermatol*. 2011 Jan; 131 (1): 108-17.
3. Swindell WR, Johnston A, Carbajal S,

Han G, Wohn C, Lu J, Xing X, Nair RP, Voorhees JJ, Elder JT, Wang XJ, Sano S, Prens EP, DiGiovanni J, Pittelkow MR, Ward NL, Gudjonsson JE. Genome-wide expression profiling of five mouse models identifies similarities and differences with human psoriasis. *PLoS One*. 2011 Apr 4; 6 (4): e18266.

##### 学会発表

1. Yamamoto M, Sano S. Cytokine aberrations in a mouse model of psoriasis arthritis. Society of Investigative Dermatol, Phoenix, USA, 2011. 5. 4-7.
2. Tarutani M, Miyoshi K, Takaishi M, Sano S. Psoriasis-like skin lesion induced by Raf-MAPK signaling requires Stat3 activation. Society of Investigative Dermatol, Phoenix, USA, 2011. 5. 4-7.
3. Takaishi M, Nakajima K, Wenjun O, Sano S. IL-23 is essential, but IL-22 is dispensable for the development of psoriasis-like lesions in K5.Stat3C mice. European Society of Dermatological Research, Barcelona, Spain, 2011. 9. 7-10.
4. Hirai T, Kanda T, Nakajima K, Yamamoto M, Sano S. Inhibitory Effect of a Cathepsin K Inhibitor on the Development of Psoriasis-Like Lesions in a Mouse Model. European Society of Dermatological Research, Barcelona, Spain, 2011. 9. 7-10.
5. Takaishi M, Nakajima K, Wenjun O, Sano S. Development of psoriasis-like lesions in a mouse model by IL-23-dependent but IL-22-independent signaling. Japan Society of Investigative Dermatol, Kyoto, 2011. 12. 9-11.
6. Hirai T, Kanda T, Nakajima K, Yamamoto M, Sano S. Inhibitory Effect of a Cathepsin K Inhibitor on the Development of Psoriasis-Like Lesions in a Mouse Model. Japan Society of Investigative Dermatol,

- tol, Kyoto, 2011. 12. 9-11.
7. Tarutani M, Miyoshi K, Takaishi M, Sano S, Psoriasis-like skin lesion induced by Raf-MAPK signaling requires Stat3 activation. Japan Society of Investigative Dermatol, Kyoto, 2011. 12. 9-11.
  8. Nakajima H, Nakajima K, Tarutani M, Morishige R, Sano S, A novel link between Th17 cytokines and adipokines in psoriasis. Japan Society of Investigative Dermatol, Kyoto, 2011. 12. 9-11.
  9. Sano S. Mouse model for psoriatic Arthritis. World congress of Dermatology, Seoul, Korea, 2011. 5. 24-29.
  10. 佐野栄紀. 免疫疾患としての乾癬、その病態と治療. 第26回日本乾癬学会学術大会、大阪、2011. 9. 9-10.
  11. 高石樹朗、中島喜美子、Ouyang Wenjun, 佐野栄紀. 乾癬マウスモデルにおけるIL-23依存性IL-22非依存性シグナルによる
12. 中島英貴、中島喜美子、樽谷勝仁、佐野栄紀、森重隆次. 乾癬患者における免疫・脂肪組織サイトカインのプロファイル解析. 第26回日本乾癬学会学術大会、大阪、2011. 9. 9-10.
  13. 佐野栄紀. TNF  $\alpha$  の治療指針に基づく乾癬の新たな治療方針. 第41回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会、甲府、2011. 7. 16-17.
  14. 佐野栄紀. 乾癬・関節症乾癬の病態・治療の最新話題. 日本脊椎関節炎学会第21回学術集会、岡山、2011. 9. 17.
- H. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）  
なし

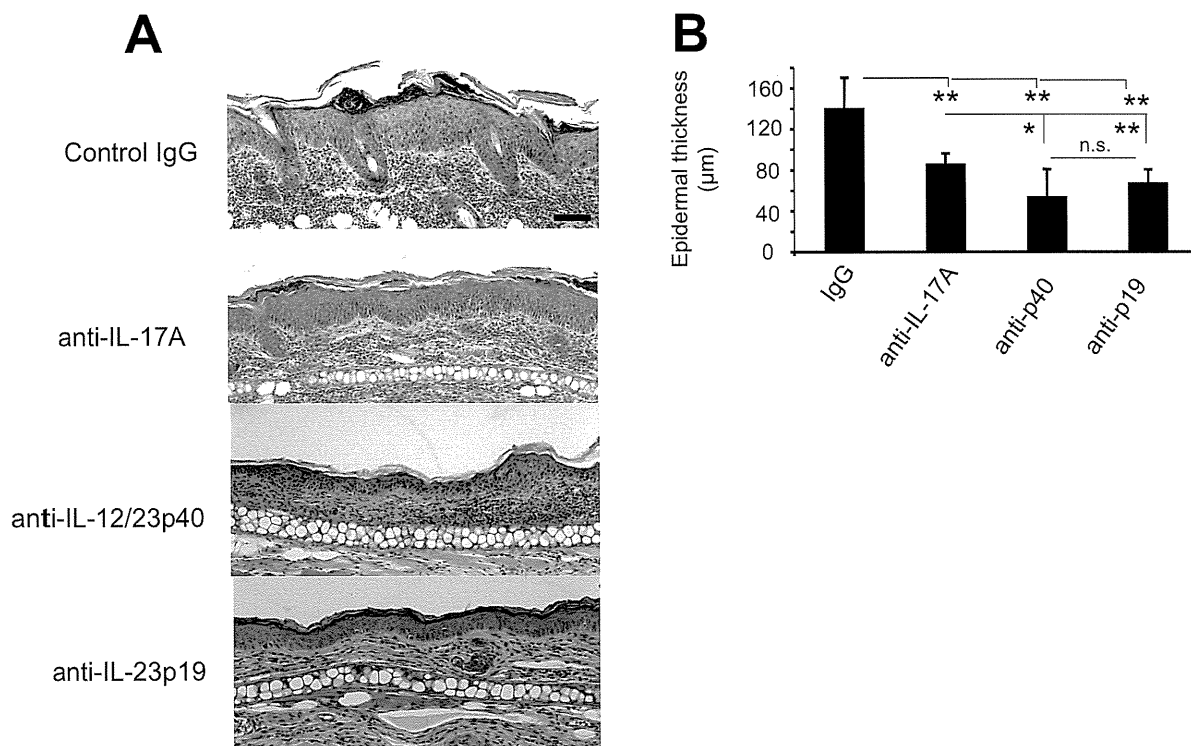


図1 A K5.Stat3Cマウス耳介皮膚TPA外用後皮疹形成における抗IL-17A、抗IL-12/23p40、抗IL-23p19抗体投与の効果。  
B 表皮肥厚の抑制

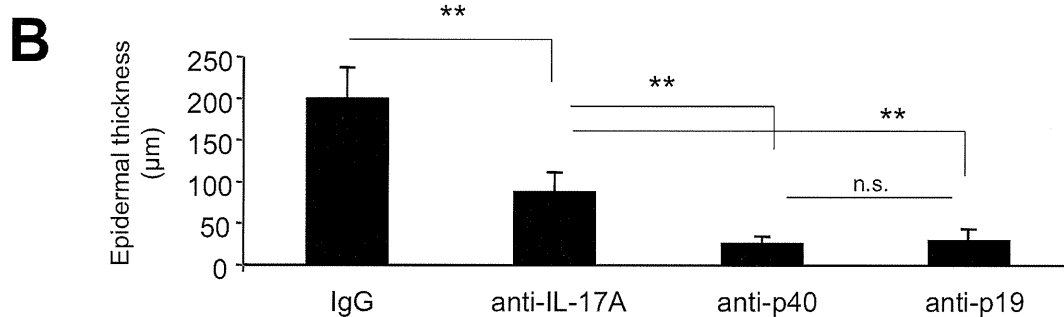
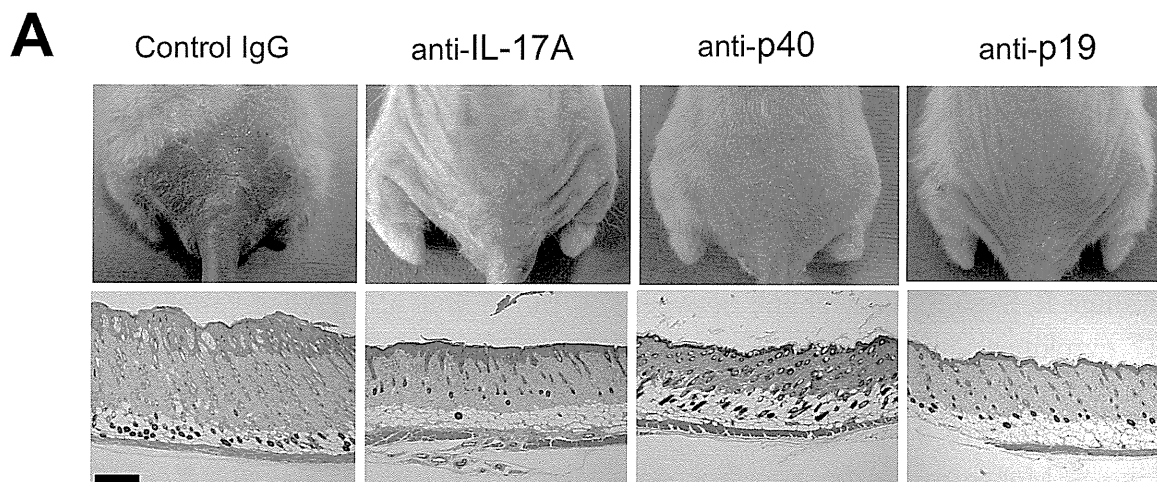


図2 A K5.Stat3C マウス背部に1ヶ月TPA外用して発症する乾癬様皮疹の形成は上記抗体投与により抑制された。  
B 表皮肥厚の評価

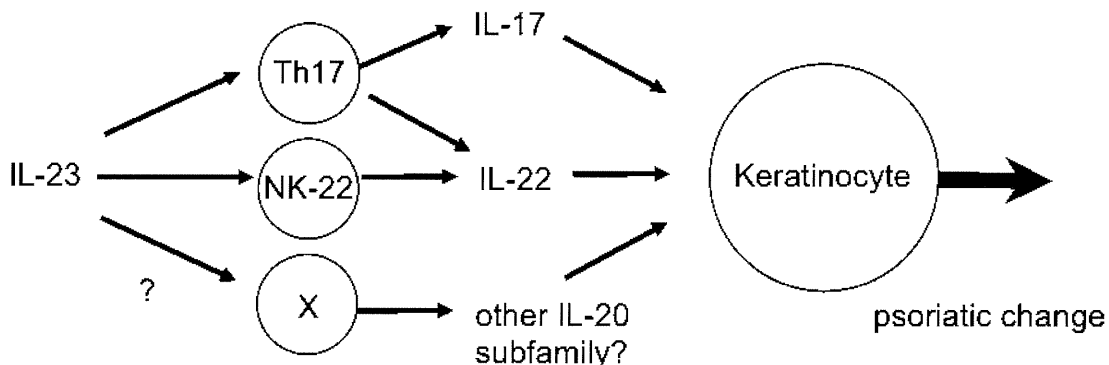


図3 乾癬モデルマウスを用いた乾癬様皮疹形成に関わるサイトカインおよび細胞

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

VII型コラーゲンリコンビナントタンパクを用いた劣性栄養障害型表皮水疱症患者  
における遺伝子型－表現型の相互関係の解析

研究分担者 清水 宏 北海道大学大学院医学研究科皮膚科学分野 教授  
研究協力者 西江 渉 北海道大学大学病院皮膚科 講師

研究要旨 劣性栄養障害型表皮水疱症（RDEB）患者の多くはCOL7A1遺伝子に複合ヘテロ接合変異を有するため、各々のCOL7A1遺伝子変異が、どのような表現型を呈するか解析することは通常困難である。昨年度、個別の遺伝子変異による発症メカニズムを解明するために、VII型コラーゲン（COL7）の発現が完全欠損となるCOL7A1遺伝子変異を片方のアリルに持つ複合ヘテロ接合変異RDEB患者について解析し、ナンセンス変異、欠失変異、スプライスサイト変異が生じた場合、皮膚組織におけるCOL7の発現量と重症度が相関する事を示した。一方、ミスセンス変異を有する患者では、COL7発現量と重症度に相関関係は認めなかった。今回、各種ミスセンス変異を有するリコンビナントCOL7タンパクを作成し、発症メカニズムの解明を試みた。

共同研究者  
新熊 悟 北海道大学皮膚科

#### A. 研究目的

栄養障害型表皮水疱症（DEB）は表皮直下に存在する係留線維の構成タンパクであるVII型コラーゲン（COL7）に異常を呈する表皮水疱症の一型である。DEBは常染色体優性遺伝形式をとる優性栄養障害型表皮水疱症と常染色体劣性遺伝形式をとる劣性栄養障害型表皮水疱症（RDEB）に大別される。RDEB患者の多くはCOL7をコードするCOL7A1遺伝子に複合ヘテロ接合変異を有するため、各々のCOL7A1遺伝子変異が、どのような表現型を呈するか解析することは通常困難である。

個々の変異による発症メカニズム解明を目的とし、平成22年度の研究において、日本人に頻発しCOL7発現の完全欠損をきたす早期終止コドン変異（c.5818delC、c.6573+1G>C）を片方のアリルに持つRDEB患者12名につ

いて解析した。その結果、対立遺伝子にナンセンス変異（E2857X）を有する比較的軽症な3名の患者では、COL7発現量の軽度の低下を認め、臨床との相関を確認した。同様に、早期終止コドン変異を誘導するc.1474delG、c.5756delGを有する2名では、COL7はほぼ欠損し、最重症な臨床症状を呈していた。更に、スプライスサイト変異（c.7272G>A、c.8109+2T>A）を有する患者2名の臨床症状は比較的軽症から中等症であり、COL7発現量との相関を認めた。一方、ミスセンス変異を有する患者では、ほとんどの症例で、COL7の発現量はほぼ正常ないし軽度低下している程度であったが、R2063WやG2316Rを有する患者の臨床症状は非常に重篤であり、COL7発現量と重症度は解離していた。今回、ミスセンス変異による発症メカニズムを解明する目的で、それぞれの変異を有するリコンビナントCOL7タンパクを作製し解析した。



## B. 研究方法

pCMV  $\beta$  ベクターの lacZ 領域をヒト COL7A1 cDNA と遺伝子組み換えし、HEK 293 細胞へリポフェクション法により遺伝子導入した。正常ヒト COL7A1 cDNA 発現 pCMV  $\beta$  ベクター (lacZ<sup>-</sup>) をテンプレートとし、G1815R、R1957Q、R2063W、G2316R、G2623S、E2857X の変異をそれぞれ有する変異 COL7A1 cDNA を、mutagenesis kit (Invitrogen) を用い作成した。同様に293細胞へトランスフェクション後、培養上清を Laemmle's sample buffer と混和後、一部を煮沸無しのまま、4-13% gradient gel を用い SDS-PAGE を行い、PVDF 膜へ転写後、ウェスタンブロットを施行した。COL7 に対する 1 次抗体は、COL7 に対するポリクローナル抗体 (234192, CALBIOCHEM) および NC2 領域に対する抗体 (H-120, Santa Cruz Biotechnology) を用いた。

## C. 研究結果

COL7 に対するポリクローナル抗体および NC2 領域に対する抗体では、いずれも、G1815R、R1957Q、R2063W、G2623S、E2857X から得られたリコンビナント COL7 の発現には大きな変化は無く、臨床症状の重症度との明らかな相関は認めなかった (図 1、2)。一方、G2316R 変異については、作成した cDNA に 1 塩基欠失の変異が生じたため、現在、新たに cDNA を再構築中である。

## D. 考察

皮膚組織での発現程度からは、COL7 タンパクに生じた 1 アミノ酸置換を生じるミスセンス変異では、産生された各々の変異 COL7 の生理機能が重要で、臨床型と強く相関するものと考えられている。今回、各種変異を導入したりコンビナント COL7 タンパクの解析でも、タンパク発現には大きな相違は見られず、タンパク発現量と臨床表現型には大きな相関は認めないものと思われた。

## E. 結論

ミスセンス変異においては、通常の蛍光抗体法による皮膚組織での COL7 発現量と臨床型に相関が得られない場合がある。その理由として、変異 COL7 タンパク自体の発現量より個々のタンパクの生理機能が重要である可能性が高いと考えた。

## F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

## G. 研究発表 (平成23年度)

### 論文発表

1. Yanagi T, Akiyama M, Nishihara H, Miyamura Y, Sakai K, Tanaka S, Shimizu H: AKT plays an anti-apoptotic role in ABCA12-deficient keratinocytes. J Invest Dermatol, in press.
2. Ujiie H, Shibaki A, Nishie W, Shinkuma S, Moriuchi R, Qiao H, Shimizu H: Noncollagenous 16A domain of type XVII collagen-reactive CD4<sup>+</sup> T cells play a pivotal role in the development of active disease in experimental bullous pemphigoid model. Clin Immunol, in press.
3. Natsuga K, Shinkuma S, Kanda M, Suzuki Y, Chosa N, Narita Y, Setoyama M, Nishie W, Akiyama M, Shimizu H: Possible modifier effects of keratin 17 gene mutation on keratitis-ichthyosis-deafness syndrome. Br J Dermatol, in press.
4. Mizuno O, Yanagi T, Baba K, Yamane N, Inokuma D, Ito K, Akiyama M, Shimizu H: Sweet's syndrome presenting with vegetative nodules on the hands: relationship to neutrophilic dermatosis of the dorsal hands. Int J Dermatol, in press.
5. Li Q, Frank M, Akiyama M, Shimizu H, Ho S, Thisse C, Thisse B, Sprecher E, Uitto J: Abca12-Mediated Lipid Transport

- and Snap29-Dependent Trafficking of Lamellar Granules are Critical for Epidermal Morphogenesis in Zebrafish Disease Model of Ichthyosis. *Disease Models & Mechanisms*, in press.
6. Kikuchi K, Arita K, Tateishi Y, Onozawa M, Akiyama M, Shimizu H: Recurrence of hydroxyurea-induced leg ulcer after discontinuation of treatment/therapy. *Acta Derm Venereol*, in press.
  7. Izumi K, Yanagi T, Akiyama M, Moriuchi R, Arita K, Shimizu H: Intractable erythematous plaques on the hands: palmoplantar eosinophilic pustular folliculitis. *Int J Dermatol*, in press.
  8. Hsu CK, Akiyama M, Shimizu H: Update on filaggrin mutations and atopic dermatitis. *Expert Rev Dermatol*, in press.
  9. Fujita Y, Inokuma D, Abe R, Sasaki M, Nakamura H, Shimizu T, Shimizu H: Conversion from human haematopoietic stem cells to keratinocytes requires keratinocyte secretory factors. *Clin Exp Dermatol*, in press.
  10. Umemoto H, Akiyama M, Yanagi T, Sakai K, Aoyama Y, Oizumi A, Suga Y, Kitagawa Y, Shimizu H: New insight into genotype/phenotype correlations in ABCA12 mutations in harlequin ichthyosis. *J Dermatol Sci* 61: 136-138, 2011.
  11. Tanimura S, Tadokoro Y, Inomata K, Binh NT, Nishie W, Yamazaki S, Nakauchi H, Tanaka Y, McMillan JR, Sawamura D, Yancey K, Shimizu H, Nishimura EK: Hair follicle stem cells provide a functional niche for melanocyte stem cells. *Cell Stem Cell* 8: 177-187, 2011.
  12. Shinkuma S, McMillan JR, Shimizu H: Ultrastructure and molecular pathogenesis of epidermolysis bullosa. *Clin Dermatol* 29: 412-419, 2011.
  13. Osawa R, Akiyama M, Shimizu H: Filaggrin gene defects and the risk of developing allergic disorders. *Allergol Int* 60: 1-9, 2011.
  14. Osawa R, Akiyama M, Izumi K, Ujiie H, Sakai K, Nemoto-Hasebe I, Yanagi T, Koizumi H, Shimizu H: Extremely severe palmoplantar hyperkeratosis in a generalized epidermolytic hyperkeratosis patient with a keratin 1 gene mutation. *J Am Acad Dermatol* 64: 991-993, 2011.
  15. Natsuga K, Nishie W, Shinkuma S, Nakamura H, Matsushima Y, Tatsuta A, Komine M, Shimizu H: Expression of exon-8-skipped kindlin-1 does not compensate for defects of Kindler syndrome. *J Dermatol Sci* 61: 38-44, 2011.
  16. Natsuga K, Nishie W, Shinkuma S, Nakamura H, Arita K, Yoneda K, Kusaka T, Yanagihara T, Kosaki R, Sago H, Akiyama M, Shimizu H: A founder effect of c.1938delC in ITGB4 underlies junctional epidermolysis bullosa and its application for prenatal testing. *Exp Dermatol* 20: 74-76, 2011.
  17. Natsuga K, Akiyama M, Shimizu H: Malignant skin tumours in patients with inherited ichthyosis. *Br J Dermatol* 165: 263-268, 2011.
  18. Nakamura H, Natsuga K, Nishie W, McMillan JR, Sawamura D, Akiyama M, Shimizu H: DNA-based prenatal diagnosis of plectin-deficient epidermolysis bullosa simplex associated with pyloric atresia. *Int J Dermatol* 50: 439-442, 2011.
  19. Nakajima K, Sano S, Uchida Y, Akiyama M, Morita Y, Shimizu H: Altered lipid profiles in the stratum corneum of Sjogren-Larsson syndrome. *J Dermatol Sci* 63: 64-66, 2011.
  20. Nakajima K, Sano S, Uchida Y, Akiyama M, Morita Y, Shimizu H: Altered lipid profiles in the stratum corneum of Sjogren-

- Larsson syndrome. *J Dermatol Sci* 63: 64-66, 2011.
21. Murrell DF, Daniel BS, Joly P, Borradori L, Amagai M, Hashimoto T, Caux F, Marinovic B, Sinha AA, Hertl M, Bernard P, Sirois D, Cianchini G, Fairley JA, Jonkman MF, Pandya AG, Rubenstein D, Zillikens D, Payne AS, Woodley D, Zamburino G, Aoki V, Pincelli C, Diaz L, Hall RP, Meurer M, Mascaro JM, Jr., Schmidt E, Shimizu H, Zone J, Swerlick R, Mimouni D, Culton D, Lipozencic J, Bince B, Bystryn JC, Werth VP: Definitions and outcome measures for bullous pemphigoid: Recommendations by an international panel of experts. *J Am Acad Dermatol*, 2011.
  22. Lin HY, Yanagi T, Akiyama M, Iitani MM, Moriuchi R, Natsuga K, Shinkuma S, Yamane N, Inokuma D, Arita K, Shimizu H: Childhood subepidermal blistering disease with autoantibodies to type VII collagen and laminin-332. *Br J Dermatol* 164: 452-454, 2011.
  23. Li Q, Frank M, Akiyama M, Shimizu H, Ho SY, Thisse C, Thisse B, Sprecher E, Uitto J: Abca12-mediated lipid transport and Snap29-dependent trafficking of lamellar granules are crucial for epidermal morphogenesis in a zebrafish model of ichthyosis. *Dis Model Mech* 4: 777-785, 2011.
  24. Kusajima E, Akiyama M, Sato M, Natsuga K, Shimizu H: Type XVII collagen ELISA indices significantly decreased after bullous pemphigoid remission. *Int J Dermatol* 50: 238-240, 2011.
  25. Kikuchi K, Natsuga K, Shinkuma S, Nishie W, Kajita S, Sato H, Shimizu H: Subepidermal blistering disease with 3 distinct autoantibodies: Anti-BP230, anti-laminin gamma-1, and anti-laminin-332. *J Am Acad Dermatol* 65: 878-880, 2011.
  26. Kikuchi K, Abe R, Shinkuma S, Hama-saka H, Natsuga K, Hata H, Tateishi Y, Shibata M, Tomita Y, Abe A, Aoyagi A, Mukai M, Shimizu H: Spontaneous Remission of Solitary-Type Infantile Myofibromatosis. *Case Rep Dermatol* 3: 181-185, 2011.
  27. Kempf M, Miyamura Y, Liu PY, Chen AC, Nakamura H, Shimizu H, Tabata Y, Kimble RM, McMillan JR: A denatured collagen microfiber scaffold seeded with human fibroblasts and keratinocytes for skin grafting. *Biomaterials* 32: 4782-4792, 2011.
  28. Fujita Y, Yoshioka N, Abe R, Murata J, Hoshina D, Mae H, Shimizu H: Rapid immunochromatographic test for serum granulysin is useful for the prediction of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *J Am Acad Dermatol* 65: 65-68, 2011.
  29. Fujita Y, Abe R, Nishie W, Shimizu H: Regenerative medicine for severe congenital skin disorders: restoration of deficient skin component proteins by stem cell therapy. *Inflammation and Regeneration* 31: 282-289, 2011.
  30. Frew J, Lim SW, Klausseger A, Chow CW, Tran K, Su J, Orchard D, Varigos G, Sawamura D, Nishie W, Shimizu H, Murrell DF: Autosomal dominant bullous dermolysis of the newborn associated with a heterozygous missense mutation p.G1673R in type VII collagen. *Australas J Dermatol* 52: e1-4, 2011.
  31. Chen AC, McNeilly C, Liu AP, Flaim CJ, Cuttle L, Kendall M, Kimble RM, Shimizu H, McMillan JR: Second harmonic generation and multiphoton microscopic detection of collagen without the need for species specific antibodies. *Burns* 37:

1001-1009, 2011.

学会発表

1. Vorobyev A, Recke A, Buijsrogge J, Jonkman M, Hashimoto T, Ishii N, Shimizu H, Moriuchi R, Kim S, Kim J, Groves R, Schmidt E, Zillikens D, Ludwig R: Human type VII collagen harbors multiple pathogenically relevant epitopes. 41st Annual Meeting of the European Society for Dermatological Research. Barcelona, Spain, 2011/9/7-10
2. Ujiie H, Shibaki A, Moriuchi R, Shimizu H: Therapeutic Strategies For Targeting Autoreactive T Cells In Autoimmune Bullous Diseases. 22nd World Congress of Dermatology. Soul, Korea, 2011/5/24-29
3. Ujiie H, Nishie W, Fujita Y, Shibaki A, Shimizu H: Novel Mouse Models of Human Skin Diseases. 22nd World Congress of Dermatology. Soul, Korea, 2011/5/24-29
4. Toyonaga E, Abe R, Moriuchi R, Ito K, Abe Y, Shimizu H: Treatment With Oral Indomethacin In Childhood Type Eosinophilic Pustular Folliculitis. 22nd World Congress of Dermatology. Soul, Korea, 2011/5/24-29
5. Saito N, Abe R, Yoshioka N, Qiao H, Fujita Y, Hoshina D, Kase S, Kitaichi N, Ozaki M, Shimizu H: Production of SJS/TEN model mice using patients PBMCs and skin. The 71st annual meeting of the Society for Investigative Dermatology. Phoenix, USA, 2011/5/4-7
6. Nomura T, Shimizu H: Atopic dermatitis and filaggrin gene mutations. 22nd World Congress of Dermatology. Soul, Korea, 2011/5/24-29
7. Horie K, Shinkuma S, Fujita Y, Ujiie H, Kenmotsu Y, Aoyagi S, Shimizu H: Two cases of eruptive syringoma treated with tranilast. 22nd World Congress of Dermatology. Soul, Korea, 2011/5/24-29
8. Hirata Y, Aoyagi S, Mizuno M, Homma E, Hata H, Adachi K, Shimizu H: Bilateral axillary Paget's disease. 22nd World Congress of Dermatology. Soul, Korea, 2011/5/24-29
9. Fujita Y, Abe R, Nishie W, Shimizu H: Exploring Stem Cell Therapies for Junctional Epidermolysis Bullosa Model Mice. 22nd World Congress of Dermatology. Soul, Korea, 2011/5/24-29
10. Abe R, Fujita Y, Nishie W, Shimizu H: Exploring Stem Cell Therapies for Junctional Epidermolysis Bullosa Model Mice. 22nd World Congress of Dermatology. Soul, Korea, 2011/5/24-29

H. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）  
該当なし

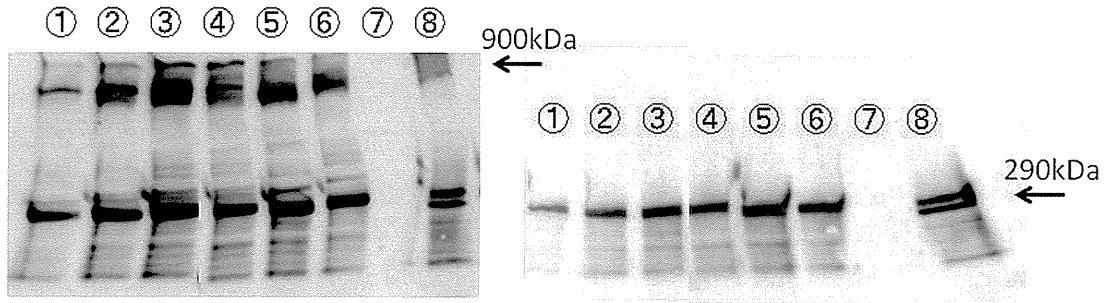


図1.

各種リコンビナントCOL7タンパクのウェスタンブロット（ポリクローナル抗体）  
 非還元状態では、COL7タンパクは総分子量約900kDaの3量体を形成する（左①-⑧）。  
 還元状態では、約290kDaの1本鎖となる（右①-⑧）。①G1815R、②R1957Q、③  
 R2063W、④G2623S、⑤E2857X、⑥正常COL7精製タンパク、⑦コントロール空ベクター、  
 ⑧正常COL7発現Flp-In 293細胞。COL7タンパクの発現に大きな変化は見られない。

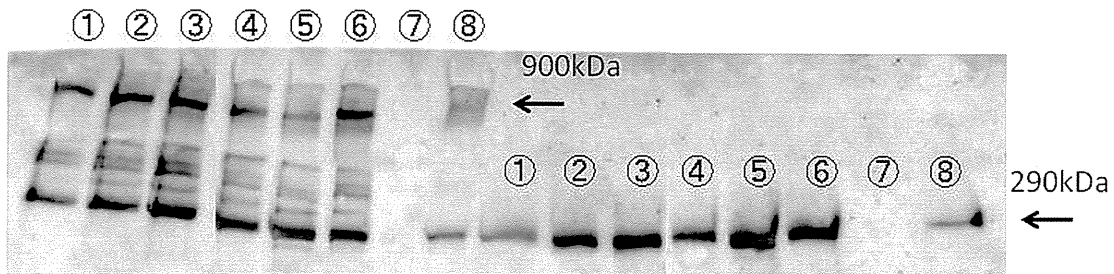


図2.

各種リコンビナントCOL7タンパクのウェスタンブロット（坑NC2抗体）  
 ①G1815R、②R1957Q、③R2063W、④G2623S、⑤E2857X、⑥正常COL7精製タンパク、  
 ⑦コントロール空ベクター、⑧正常COL7発現Flp-In 293細胞。COL7タンパクの発現に  
 大きな変化は見られない。

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

ケラチン5のヘッド領域およびコイル1A領域境界部にアミノ酸置換を生じた  
単純型表皮水疱症の解析

研究分担者 清水 宏 北海道大学大学院医学研究科皮膚科学分野 教授  
研究協力者 西江 渉 北海道大学大学病院皮膚科 講師

**研究要旨** 表皮基底細胞には細胞の構造・形態の維持に重要な役割をもつケラチン5（K5）とK14が発現し、ヘテロ二量体を形成している。これらのいずれかが遺伝子変異を起こし、機能異常が生じることにより、単純型表皮水疱症（EBS）が発症する。K5/K14には分子の中央部に $\alpha$ ヘリックス領域が存在し、この領域は4つのコイル部分（1A、1B、2A、2B）に分かれ、さらに $\alpha$ ヘリックス領域のN、C両末端部分には非ヘリックス構造を取るヘッドおよびテイル領域が存在する。EBSの臨床症状の重症度は遺伝子変異部位の位置や変異アミノ酸の種類と関連することが知られており、最重症型であるDowling-Meara型EBSは、通常、コイルドコイル形成に重要なコイル領域に生じた変異で発症する。今回、K5のヘッド領域～コイル1A領域境界部のアミノ酸置換変異（p.Glu168Asp）を有する単純型表皮水疱症の親子例を経験した。興味深いことに、従来、本変異部位はヘッド領域に該当すると考えられていたが、本症例は最重症型であるDowling-Meara型を呈していた。そのため本症例における遺伝子型-表現型相関を解明する目的で、In Silico解析を行ったところ、本変異部位は、K5タンパクのコイル領域として重要なドメイン中に存在することが明らかとなった。

共同研究者

新熊 悟 北海道大学皮膚科  
氏家英之 北海道大学皮膚科

#### A. 研究目的

単純型表皮水疱症（EBS）は表皮基底細胞の細胞骨格を形成するケラチン5（K5）あるいはケラチン14（K14）に異常を呈する表皮水疱症の一型である。K5とK14はヘテロダイマーを形成し、アミノ酸変異が生じる部位および変異後に翻訳されるアミノ酸の種類により、軽症から重症まで多様な表現型を呈する。K5/K14には分子の中央部に $\alpha$ ヘリックス領域が存在し、この領域は4つのコイル部分（1A、1B、2A、2B）に分かれ、さらに $\alpha$ ヘリックス領域のN、C両末端部分には非ヘリックス構造を取るヘッドおよびテ

イル領域が存在する。最重症型であるDowling-Meara型EBSでは、通常、コイルドコイル形成に重要なコイル領域に生じた変異で発症する。今回、K5のヘッド領域～コイル1A領域境界部のアミノ酸置換変異（p.Glu168Asp）を有する単純型表皮水疱症の親子例を経験した。興味深いことに、従来、本変異部位は軽症型EBSの原因となるヘッド領域に該当すると考えられていた。そのため、今回得られた遺伝子変異と表現型の相関メカニズム解明を試みた。

#### B. 研究方法

症例は8歳、アフリカ人女児。  
生下時から略全身に水疱形成を認める（図1）。40歳の父に同症あり（図2）。父の臨床症状は、加齢に伴い徐々に軽減してきている。

末梢血より genomic DNA を抽出し (QIAGEN)、*KRT5* および *KRT14* の全エクソン・イントロン境界部のダイレクトシーケンスを施行した (1)。K5 のアミノ酸配列に応じた 2 次構造予測には、PAPIA (<http://mbs.cbrc.jp/papia/papiaJ.html>)、3 次構造予測には SWISS-MODEL (<http://swissmodel.expasy.org/>) を用いた。

### C. 研究結果

患児および父いずれも、*KRT5* に c.504G>C (p.Glu168Asp) 変異を認めた (図 3)。同変異は、200 例の健常者には認めなかった。従来、本変異部位はヘッド領域に該当すると考えられていたが、本症例は最重症型である Dowling-Meara 型を呈していた。過去に、ヘッド領域外の変異により生じた Dowling-Meara 型は、数例のみ存在するが、興味深いことに同じ Glu168 に生じたものが 1 例認められた (Glu168Lys) (2)。従って、Glu168 は K5 タンパクに極めて重要な領域である可能性がある。K5 のアミノ酸配列に応じた 2 次構造予測を PAPIA により、3 次構造予測を SWISS-MODEL により、それぞれ In Silico 予測したところ、本変異部位はむしろコイル領域として重要なドメイン中に存在する結果であった (図 4)。更に、本変異部位は異なる種間および他のケラチンファミリー間で高度に保存された部位であった (図 5)。

### K. 考察

K5 は、基底細胞内で K14 とヘテロダイマーを形成し、ヘミデスモゾームを介し表皮真皮間接着に重要な機能を担っている。今回、K5 において認めたアミノ酸置換 p.Glu168Asp を生じる変異により、臨床的に重症型である Dowling-Meara 型 EBS を発症したことから、Glu168 は K5 機能を担う上で重要な領域であることが示唆された。実際に In Silico 予測では、従来ヘッド領域と思われ

ていた Glu168 は、むしろコイル領域に含まれている結果となり、本臨床型と合致したものであった。

### E. 結論

従来ヘッド領域に該当すると考えられていた K5 の Glu168 は、むしろ機能上重要なコイル領域にあり、同部位のアミノ酸置換により、重症型である Dowling-Meara 型 EBS を発症することが明らかとなった。

### F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

### G. 研究発表 (平成 23 年度)

論文発表

1. Yanagi T, Akiyama M, Nishihara H, Miyamura Y, Sakai K, Tanaka S, Shimizu H: AKT plays an anti-apoptotic role in ABCA12-deficient keratinocytes. *J Invest Dermatol*, in press.
2. Ujiie H, Shibaki A, Nishie W, Shinkuma S, Moriuchi R, Qiao H, Shimizu H: Noncollagenous 16A domain of type XVII collagen-reactive CD4+ T cells play a pivotal role in the development of active disease in experimental bullous pemphigoid model. *Clin Immunol*, in press.
3. Natsuga K, Shinkuma S, Kanda M, Suzuki Y, Chosa N, Narita Y, Setoyama M, Nishie W, Akiyama M, Shimizu H: Possible modifier effects of keratin 17 gene mutation on keratitis-ichthyosis-deafness syndrome. *Br J Dermatol*, in press.
4. Mizuno O, Yanagi T, Baba K, Yamane N, Inokuma D, Ito K, Akiyama M, Shimizu H: Sweet's syndrome presenting with vegetative nodules on the hands: relationship to neutrophilic dermatosis of the dorsal hands. *Int J Dermatol*, in press.
5. Li Q, Frank M, Akiyama M, Shimizu H,

- Ho S, Thisse C, Thisse B, Sprecher E, Uitto J : Abca12-Mediated Lipid Transport and Snap29-Dependent Trafficking of Lamellar Granules are Critical for Epidermal Morphogenesis in Zebrafish Disease Model of Ichthyosis. *Disease Models & Mechanisms*, in press.
6. Kikuchi K, Arita K, Tateishi Y, Onozawa M, Akiyama M, Shimizu H : Recurrence of hydroxyurea-induced leg ulcer after discontinuation of treatment/therapy. *Acta Derm Venereol*, in press.
  7. Izumi K, Yanagi T, Akiyama M, Moriuchi R, Arita K, Shimizu H : Intractable erythematous plaques on the hands : palmoplantar eosinophilic pustular folliculitis. *Int J Dermatol*, in press.
  8. Hsu CK, Akiyama M, Shimizu H : Update on filaggrin mutations and atopic dermatitis. *Expert Rev Dermatol*, in press.
  9. Fujita Y, Inokuma D, Abe R, Sasaki M, Nakamura H, Shimizu T, Shimizu H : Conversion from human haematopoietic stem cells to keratinocytes requires keratinocyte secretory factors. *Clin Exp Dermatol*, in press.
  10. Umemoto H, Akiyama M, Yanagi T, Sakai K, Aoyama Y, Oizumi A, Suga Y, Kitagawa Y, Shimizu H : New insight into genotype/phenotype correlations in ABCA12 mutations in harlequin ichthyosis. *J Dermatol Sci* 61 : 136-138, 2011.
  11. Tanimura S, Tadokoro Y, Inomata K, Binh NT, Nishie W, Yamazaki S, Nakauchi H, Tanaka Y, McMillan JR, Sawamura D, Yancey K, Shimizu H, Nishimura EK : Hair follicle stem cells provide a functional niche for melanocyte stem cells. *Cell Stem Cell* 8 : 177-187, 2011.
  12. Shinkuma S, McMillan JR, Shimizu H : Ultrastructure and molecular pathogenesis of epidermolysis bullosa. *Clin Dermatol* 29 : 412-419, 2011.
  13. Osawa R, Akiyama M, Shimizu H : Filaggrin gene defects and the risk of developing allergic disorders. *Allergol Int* 60 : 1-9, 2011.
  14. Osawa R, Akiyama M, Izumi K, Ujiie H, Sakai K, Nemoto-Hasebe I, Yanagi T, Koizumi H, Shimizu H : Extremely severe palmoplantar hyperkeratosis in a generalized epidermolytic hyperkeratosis patient with a keratin 1 gene mutation. *J Am Acad Dermatol* 64 : 991-993, 2011.
  15. Natsuga K, Nishie W, Shinkuma S, Nakamura H, Matsushima Y, Tatsuta A, Kominome M, Shimizu H : Expression of exon-8-skipped kindlin-1 does not compensate for defects of Kindler syndrome. *J Dermatol Sci* 61 : 38-44, 2011.
  16. Natsuga K, Nishie W, Shinkuma S, Nakamura H, Arita K, Yoneda K, Kusaka T, Yanagihara T, Kosaki R, Sago H, Akiyama M, Shimizu H : A founder effect of c.1938delC in ITGB4 underlies junctional epidermolysis bullosa and its application for prenatal testing. *Exp Dermatol* 20 : 74-76, 2011.
  17. Natsuga K, Akiyama M, Shimizu H : Malignant skin tumours in patients with inherited ichthyosis. *Br J Dermatol* 165 : 263-268, 2011.
  18. Nakamura H, Natsuga K, Nishie W, McMillan JR, Sawamura D, Akiyama M, Shimizu H : DNA-based prenatal diagnosis of plectin-deficient epidermolysis bullosa simplex associated with pyloric atresia. *Int J Dermatol* 50 : 439-442, 2011.
  19. Nakajima K, Sano S, Uchida Y, Akiyama M, Morita Y, Shimizu H : Altered lipid profiles in the stratum corneum of Sjogren-Larsson syndrome. *J Dermatol Sci* 63 : 64-66, 2011.
  20. Nakajima K, Sano S, Uchida Y, Akiyama



- M, Morita Y, Shimizu H : Altered lipid profiles in the stratum corneum of Sjogren-Larsson syndrome. *J Dermatol Sci* 63 : 64-66, 2011.
21. Murrell DF, Daniel BS, Joly P, Borradori L, Amagai M, Hashimoto T, Caux F, Marinovic B, Sinha AA, Hertl M, Bernard P, Sirois D, Cianchini G, Fairley JA, Jonkman MF, Pandya AG, Rubenstein D, Zillikens D, Payne AS, Woodley D, Zambruno G, Aoki V, Pincelli C, Diaz L, Hall RP, Meurer M, Mascaro JM, Jr., Schmidt E, Shimizu H, Zone J, Swerlick R, Mimouni D, Culton D, Lipozencic J, Bince B, Bystryn JC, Werth VP : Definitions and outcome measures for bullous pemphigoid : Recommendations by an international panel of experts. *J Am Acad Dermatol*, 2011.
  22. Lin HY, Yanagi T, Akiyama M, Iitani MM, Moriuchi R, Natsuga K, Shinkuma S, Yamane N, Inokuma D, Arita K, Shimizu H : Childhood subepidermal blistering disease with autoantibodies to type VII collagen and laminin-332. *Br J Dermatol* 164 : 452-454, 2011.
  23. Li Q, Frank M, Akiyama M, Shimizu H, Ho SY, Thisse C, Thisse B, Sprecher E, Uitto J : Abca12-mediated lipid transport and Snap29-dependent trafficking of lamellar granules are crucial for epidermal morphogenesis in a zebrafish model of ichthyosis. *Dis Model Mech* 4 : 777-785, 2011.
  24. Kusajima E, Akiyama M, Sato M, Natsuga K, Shimizu H : Type XVII collagen ELISA indices significantly decreased after bullous pemphigoid remission. *Int J Dermatol* 50 : 238-240, 2011.
  25. Kikuchi K, Natsuga K, Shinkuma S, Nishie W, Kajita S, Sato H, Shimizu H : Subepidermal blistering disease with 3 distinct autoantibodies : Anti-BP230, anti-laminin gamma-1, and anti-laminin-332. *J Am Acad Dermatol* 65 : 878-880, 2011.
  26. Kikuchi K, Abe R, Shinkuma S, Hama-saka H, Natsuga K, Hata H, Tateishi Y, Shibata M, Tomita Y, Abe A, Aoyagi A, Mukai M, Shimizu H : Spontaneous Remission of Solitary-Type Infantile Myofibromatosis. *Case Rep Dermatol* 3 : 181-185, 2011.
  27. Kempf M, Miyamura Y, Liu PY, Chen AC, Nakamura H, Shimizu H, Tabata Y, Kimble RM, McMillan JR : A denatured collagen microfiber scaffold seeded with human fibroblasts and keratinocytes for skin grafting. *Biomaterials* 32 : 4782-4792, 2011.
  28. Fujita Y, Yoshioka N, Abe R, Murata J, Hoshina D, Mae H, Shimizu H : Rapid immunochromatographic test for serum granulysin is useful for the prediction of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *J Am Acad Dermatol* 65 : 65-68, 2011.
  29. Fujita Y, Abe R, Nishie W, Shimizu H : Regenerative medicine for severe congenital skin disorders : restoration of deficient skin component proteins by stem cell therapy. *Inflammation and Regeneration* 31 : 282-289, 2011.
  30. Frew J, Lim SW, Klausseger A, Chow CW, Tran K, Su J, Orchard D, Varigos G, Sawamura D, Nishie W, Shimizu H, Murrell DF : Autosomal dominant bullous dermolysis of the newborn associated with a heterozygous missense mutation p.G1673R in type VII collagen. *Australas J Dermatol* 52 : e1-4, 2011.
  31. Chen AC, McNeilly C, Liu AP, Flaim CJ, Cuttle L, Kendall M, Kimble RM, Shimizu H, McMillan JR : Second harmonic generation and multiphoton microscopic

detection of collagen without the need for species specific antibodies. *Burns* 37 : 1001-1009, 2011.

#### 学会発表

1. Vorobyev A, Recke A, Buijsrogge J, Jonkman M, Hashimoto T, Ishii N, Shimizu H, Moriuchi R, Kim S, Kim J, Groves R, Schmidt E, Zillikens D, Ludwig R : Human type VII collagen harbors multiple pathogenically relevant epitopes. 41st Annual Meeting of the European Society for Dermatological Research. Barcelona, Spain, 2011/9/7-10
2. Ujiie H, Shibaki A, Moriuchi R, Shimizu H : Therapeutic Strategies For Targeting Autoreactive T Cells In Autoimmune Bullous Diseases. 22nd World Congress of Dermatology. Soul, Korea, 2011/5/24-29
3. Ujiie H, Nishie W, Fujita Y, Shibaki A, Shimizu H : Novel Mouse Models of Human Skin Diseases. 22nd World Congress of Dermatology. Soul, Korea, 2011/5/24-29
4. Toyonaga E, Abe R, Moriuchi R, Ito K, Abe Y, Shimizu H : Treatment With Oral Indomethacin In Childhood Type Eosinophilic Pustular Folliculitis. 22nd World Congress of Dermatology. Soul, Korea, 2011/5/24-29
5. Saito N, Abe R, Yoshioka N, Qiao H, Fujita Y, Hoshina D, Kase S, Kitaichi N, Ozaki M, Shimizu H : Production of SJS/TEN model mice using patients PBMCs and skin. The 71st annual meeting of the Society for Investigative Dermatology. Phoenix, USA, 2011/5/4-7
6. Nomura T, Shimizu H : Atopic dermatitis and filaggrin gene mutations. 22nd World Congress of Dermatology. Soul, Korea, 2011/5/24-29
7. Horie K, Shinkuma S, Fujita Y, Ujiie H, Kenmotsu Y, Aoyagi S, Shimizu H : Two

cases of eruptive syringoma treated with tranilast. 22nd World Congress of Dermatology. Soul, Korea, 2011/5/24-29

8. Hirata Y, Aoyagi S, Mizuno M, Homma E, Hata H, Adachi K, Shimizu H : Bilateral axillary Paget's disease. 22nd World Congress of Dermatology. Soul, Korea, 2011/5/24-29
9. Fujita Y, Abe R, Nishie W, Shimizu H : Exploring Stem Cell Therapies for Junctional Epidermolysis Bullosa Model Mice. 22nd World Congress of Dermatology. Soul, Korea, 2011/5/24-29
10. Abe R, Fujita Y, Nishie W, Shimizu H : Exploring Stem Cell Therapies for Junctional Epidermolysis Bullosa Model Mice. 22nd World Congress of Dermatology. Soul, Korea, 2011/5/24-29

#### H. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）

該当なし

#### I. 引用文献

1. Yasukawa K, Sawamura D, Goto M *et al.* Epidermolysis bullosa simplex in Japanese and Korean patients : genetic studies in 19 cases. *Br J Dermatol* 2006 ; 155 : 313-7.
2. Müller FB, Küster W, Wodecki K *et al.* Novel and recurrent mutations in keratin KRT5 and KRT14 genes in epidermolysis bullosa simplex : implications for disease phenotype and keratin filament assembly. *Hum Mutat* 2006 ; 27 : 719-20.

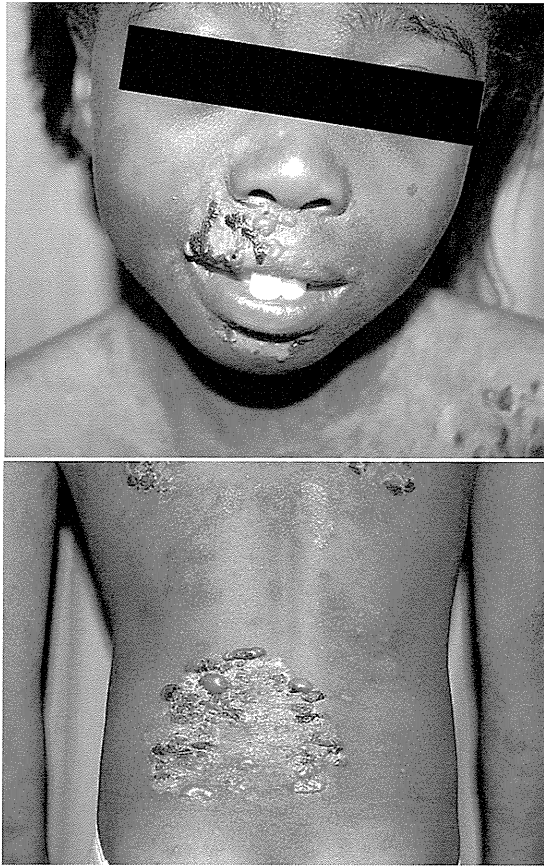


図1. 症例1

8歳、アフリカ人女兒。生下時から略全身に水疱形成を認める。



図2. 症例2

症例1の父、40歳。

# KRT5遺伝子検査

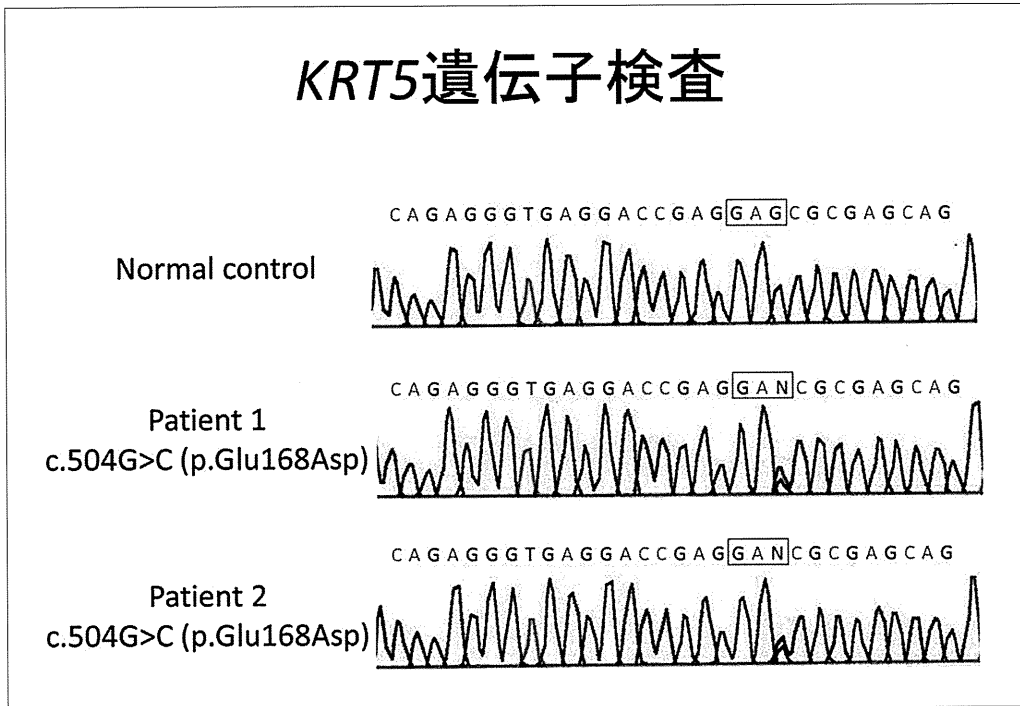


図3. KRT5の遺伝子変異検索の結果  
患者および父いずれも、KRT5に c.504G>C (p.Glu168Asp) 変異を認めた。

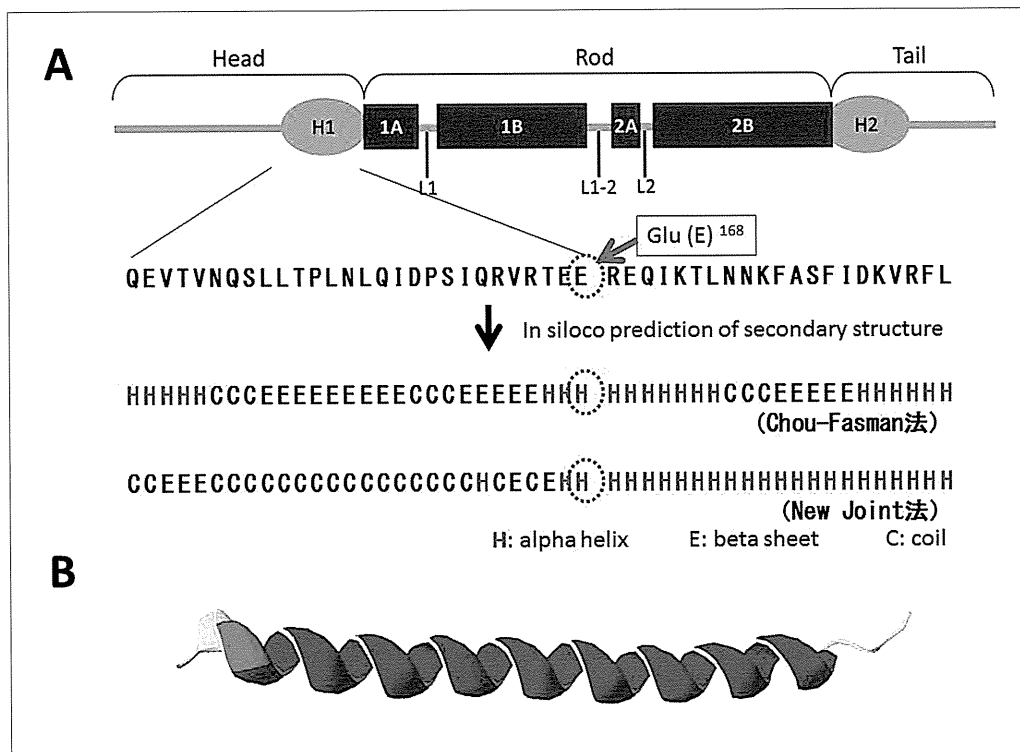


図4. アミノ酸配列に応じたK5の2次構造予測  
A : PAPIA (<http://mbs.cbrc.jp/papia/papiaJ.html>) およびB : SWISS-MODEL (<http://swissmodel.expasy.org/>) による予測。p.Glu168Asp変異部位は、むしろコイル領域として重要な $\alpha$ ヘリックス形成ドメイン (AのH、およびBの左から2色目部位) に存在する。