

201128235A

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23年度 総括研究報告書

研究代表者 橋本 隆

平成24年（2012）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23年度 総括研究報告書

研究代表者 橋本 隆

平成24年（2012）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	-----	16
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

鶴田 大輔	
久留米大学医学部皮膚科学講座	准教授
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
石井 文人	
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）
総合研究報告書 概要版

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

研究要旨

自己免疫水疱症である類天疱瘡群疾患は非常に難治であり、重症例では全身に広汎な熱傷のような臨床像を呈し、嚴重な全身管理を要することも少なくない。このため各種の類天疱瘡群の正確な診断は適切な治療の選択に大いに役立ち、速やかな病状改善が常に求められる。天疱瘡と同様に、抗皮膚自己抗体により水疱を形成する類天疱瘡群の疾患は、表皮真皮間接合を担う各種タンパクに対する後天的な自己免疫反応により水疱を形成する皮膚疾患の一群であり、全身に水疱形成し、組織学的に表皮下水疱を示す皮膚疾患である。代表的疾患である水疱性類天疱瘡のほかに、多数の亜型（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、抗ラミニンガンマ1類天疱瘡など）が存在する。

今回の研究の目的はいまだ詳細に明らかにされていない類天疱瘡疾患群の未知の自己抗原を同定し、その蛋白を用いた診断システムを確立することである。主として、プロテオミクスの手法を用いて、未知の5種の類天疱瘡群抗原を同定し、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の確立、さらにその診断確定された患者さんの治療基準の確立を目指す。

研究期間内で、未知の抗原の同定のためのさまざまな研究を進めた。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、各リコンビナント蛋白を用いた新しいELISA法を開発した。プロテオミクス法で、sublamina densa型線状IgA水疱性皮膚症の抗原解析を行った。複数の候補蛋白を同定し、今後これら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。眼型粘膜類天疱瘡に関しても、その自己抗原も未知であったが、免疫ブロット法にて、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。診断基準の作成については、国際的な水疱性類天疱瘡の診断基準と治療ガイドラインを作成した。

今回の研究では、各種の類天疱瘡群疾患の多く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した。今後、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とを予定している。今まで診断が不可能であった類天疱瘡群疾患をこのシステムで確実に診断され、適切な治療が施されるようになった。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、基礎的な細胞生物学の発展へとつながった。

研究分担者氏名

鶴田 大輔
久留米大学医学部皮膚科学講座 准教授

辛島 正志
久留米大学医学部皮膚科学講座 講師

濱田 尚宏
久留米大学医学部皮膚科学講座 講師

石井 文人
久留米大学医学部皮膚科学講座 講師

A. 研究目的

各種の自己免疫性水疱症は、皮膚構成蛋白に対する自己抗体により、皮膚の細胞接着が傷害されて水疱を形成する疾患である。これら疾患の多くは難治性であり致死性であるものも多い。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数多くある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ブロット法や 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、この 15 年間で 3500 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、研究代表者らは、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)。しかし眼型粘膜類天疱瘡 (ocular MMP) の自己抗原、抗 p165 粘膜類天疱瘡における p165、基底膜下部型線状 IgA 水疱性皮膚症の自己抗原、線状 IgA/IgG 水疱性皮膚症 (Kawahara, Hashimoto et al. J Dermatol, 1996) の自己抗原などが未だに不明である。本研究では、まず、これらの蛋白を同定することを目的とした。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、それらを用いて、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

現在までの約 15 年間に、当該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。

(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) 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96well 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。

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気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。

(c) 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。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画分の精製する。

(3) 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。

(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。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、動物実験は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

(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3500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、研究代表者らが最近発見した類天疱瘡群の自己抗原として、抗ラミネンガンマ1類天疱瘡抗原のラミネンガンマ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(Groth and Hashimoto et al, Br J Dermatol, 2010. Csorba, Hashimoto et al, Orphanet J Rare Diseases, 2011)。

(b) 未知の自己抗原の同定

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。現在この抗原を同定するための 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た。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。現在までにまれな sblamina densa 型線状 IgA 水疱性皮膚症の多くの血清を渉猟・保存しており、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。免疫沈降による抗原解析については、抗原が産生している細胞は検出できず、真皮抽出液での免疫沈降を試みたが、患者血清で特異的なバンドをみつけられなかった。次に、真皮抽出液での WB を施行した。幾つかの患者血清で特異的と思われるバンドが認められ、そのバンドの蛋白の MS 解析で得られた幾つかの同定蛋白から最も可能性のあるものを選択してこれを候補蛋白とし、現在この蛋白のリコンビナントを作成して抗原であるかを確認中である。

(c) 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。研究代表者は、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を精製した。患者血清と新しいヘミデスモソーム画分を

用いた新しい免疫プロット法を用いて、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 の細胞内ドメインのリコンビナント蛋白を精製し、それを用いた免疫プロット法で、多くの血清がインテグリンベータ 4 の細胞内ドメインに反応することを見出した (表 1)。

(3) 診断基準の作成

以上の研究より、多くの新規診断法を開発し、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。国際的な水疱性類天疱瘡の診断基準と治療ガイドラインを作成した (Murrell and Hashimoto et al, JAAD 2011)。現在、全国の多くの施設で、多数の患者さんの検索を行い、国内版のガイドラインを作成中である。

(4) 自己抗原と診断のまとめ

本年度の研究では、前年度に引き続き、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。

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。

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提案することができた。そのすべて疾患の分類を表 2 に示す。

D. 考察

今回の研究では、研究期間内で、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、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。

本研究では、未知の抗原の同定のためのさまざまな研究を進めた。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、各リコンビナント蛋白を用いた新しい ELISA 法を開発した。プロテオミクス法で、sublamina densa 型線状 IgA 水疱性皮膚症の抗原解析を行った。複数の候補蛋白を同定し、今後これら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。眼型粘膜類天疱瘡に関しても、その自己抗原も未知であったが、免疫ブロット法にて、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。診断基準の作成については、国際的な水疱性類天疱瘡の診断基準と治療ガイドラインを作成した。現在までに、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、より正確な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。

本研究の目的は、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の診断システムの構築である。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。各種の類天疱瘡群疾患の多く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した。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)。今後、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とを予定している。今まで診断が不可能であった類天疱瘡群疾患をこのシステムで確実に診断され、適切な治療が施されるようになることが期待される。この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、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、基礎的な細胞生物学の発展へとつながった。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. Rafei D, Müller R, Ishii N, Llamazares M, Hashimoto T, Hertl M, Eming R: IgG autoantibodies against desmocollin 3 in pemphigus sera induce loss of keratinocyte adhesion. *Am J Pathol* 178(2):718-723, 2011.
2. Ishigami T, Kubo Y, Matsudate Y, Ansai S, Arase S, Ohyama B, Hashimoto T. Pananeoplastic pemphigus associated with non-Hodgkin's lymphoma. *Eur J Dermatol* 21(1):122-124, 2011.
3. Abreu-Verez AM, Howard MS, Yi H, Gao W, Hashimoto T, Grossiklaus HE: Neural system antigens are recognized by autoantibodies from patients affected by a new variant of endemic pemphigus foliaceus in Colombia. *J Clin Immunol* 31(3):356-368, 2011.
4. Iida K, Sueki H, Ohyama B, Ishii N, Hashimoto T: A Unique Case of Intra-Epidermal Neutrophilic Dermatitis-Type IgA Pemphigus Presenting with Subcorneal Pustules. *Dermatology* 222(1):15-19, 2011.
5. Prado R, Brice SL, Fukuda S, Hashimoto T, Fujita M. Paraneoplastic pemphigus herpetiformis with IgG antibodies to desmoglein 3 and without mucosal lesions. *Arch Dermatol* 147(1):67-71, 2011.
6. Choi Y, Lee SE, Fukuda S, Hashimoto T, Kim SC. Mucous membrane pemphigoid with immunoglobulin G autoantibodies against full-length and 120-kDa ectodomain of BP180. *J Dermatol* 38(2):169-172, 2011.
7. 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):206-208, 2011.
8. 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* 38(5):489-492, 2011.
9. 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* 38(10):1030-1032, 2011.
10. 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* 38(9):887-892, 2011.
11. 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.
12. 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* 224(2):234-244, 2011.
13. Masunaga K, Toyoda M, Kokuba H, Takahara M, Ohyama B, Hashimoto T, Furue M. Mucous membrane pemphigoid with antibodies to the $\beta 3$ subunit of laminin 332. *J Dermatol* 38(11):1082-1084, 2011.
14. Dainichi T, Ishii N, Hamada T, Karashima T, Fukuda S, Ohyama B, Yoshida M, Komai A, Yomoda M, Ishikawa T, Nakama T, Yasumoto S, Hashimoto T. (2011) Bullous pemphigoid in Asia. In: Asian Skin and Skin Diseases (Eun HC, Kim SC, Lee WS eds.) Medrang Inc: Seoul, 103-11.
15. Wozniak K, Hashimoto T, Fukuda S, Ohyama B, Ishii N, Koga H, Dainichi T, Kowalewskin C. IgA Anti-p200 Pemphigoid. *Arch Dermatol* 147(11):1306-1310, 2011.
16. 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 resulting from liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *J Am Acad Dermatol* 64 (6):1199-1200, 2011.
17. Csorba K, Schmidt S, Florea F, Ishii N, Hashimoto T, Hertl M, Karpati S,

- Bruckner-Tuderman L, Nishie W, Sitaru C. Development of an ELISA for sensitive and specific detection of IgA autoantibodies against BP180 in pemphigoid diseases. *Orphanet J Rare Dis* 6(1):31, 2011.
18. Murase K, Kanoh H, Ishii N, Hashimoto T, Nakano H, Sawamura D, Seishima M. Bullous Dermolysis of the Newborn and Dystrophic Epidermolysis Bullosa Pruriginosa within the Same Family: two phenotypes Associated with a COL7A1 Mutation. *Acta Derm Venereol* 91(6):730-731, 2011.
 19. Endo Y, Tsuji M, Shirase T, Fukuda S, Hashimoto T, Miyachi Y, Yoshikawa Y. Angioimmunoblastic T-cell lymphoma presenting with both IgA-related leukocytoclastic vasculitis and mucous membrane pemphigoid. *Eur J Dermatol* 21(2):274-276, 2011.
 20. Tsuruta D, Ishii N, Hamada T, Ohyama B, Fukuda S, Koga H, Imamura K, Kobayashi H, Karashima T, Nakama T, Dainichi T, Hashimoto T. IgA pemphigus. *Clin Dermatol* 29(4):437-442, 2011.
 21. Davis RF, Ravenscroft J, Hashimoto T, Evans JH, Harman KE. Bullous pemphigoid associated with renal transplant rejection. *Clin Exp Dermatol* 36(7):824-825, 2011.
 22. Hashimoto T, Tsuruta D, Dainichi T, Hamada T, Furumura M, Ishii N. Demonstration of epitope spreading in bullous pemphigoid: results of a prospective multicenter study. *J Invest Dermatol* 131(11):2175-2177, 2011.
 23. Matsuda M, Hamada T, Ishii N, Maeyama Y, Nakama T, Yasumoto S, Hashimoto T. Acquired smooth muscle hamartoma of the patchy follicular variant with meyersen phenomenon. *Arch Dermatol* 147(10):1234-1235, 2011.
 24. Arakawa M, Dainichi T, Ishii N, Hamada T, Karashima T, Nakama T, Yasumoto S, Tsuruta D, Hashimoto T. Lesional Th17 cells and regulatory T cells in bullous pemphigoid. *Exp Dermatol* 20(12):1022-1024, 2011.
 25. 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 IgG autoantibodies to laminin-332, BP230 and desmoplakins I/II. *Br J Dermatol* 165(2):433-435, 2011.
 26. 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* 62(3): 169-175, 2011.
 27. Watanabe T, Kato M, Yoshida Y, Fukuda S, Hashimoto T, Yamamoto O. Mucocutaneous-type pemphigus vulgaris with anti-desmoplakin autoantibodies. *Eur J Dermatol* 21(2): 299-300, 2011.
 28. Yamada Y, Sugita K, Izu K, Nakamura M, Hashimoto T, Tokura Y. A case of dyshidrosiform pemphigoid. *J UOEH* 33(2): 183-187, 2011.
 29. Tsuruta D, Sowa J, Tateishi C, Obase Y, Tsubura A, Fukumoto T, Ishii M, Kobayashi H, Sakaguchi S, Hashimoto T, Hamada T. Atypical epidermolysis bullosa simplex with a missense keratin 14 mutation p.Arg125Cys. *J Dermatol* 38(12):1177-1179, 2011.
 30. 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, Bystryk JC, Werth VP. Definitions and outcome measures for bullous pemphigoid: Recommendations by an international panel of experts. *J Am Acad Dermatol* 66(3):479-485, 2011.
 31. Kanwar AJ, Tsuruta D, Vinay K, Koga H, Ishii N, Dainichi T, Hashimoto T. Efficacy and safety of rituximab treatment in Indian pemphigus patients. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2011 Dec 17. doi: 10.1111/j.1468-3083.2011.04391.x. [Epub ahead of print]
 32. Hosoda S, Suzuki M, Komine M, Murata S, Hashimoto T, Ohtsuki M. A Case of IgG/IgA Pemphigus Presenting Malar Rash-like Erythema. *Acta Derm Venereol*.

- 92(2):164-166, 2012.
33. Yamada H, Nobeyama Y, Matsuo K, Ishiji T, Takeuchi T, Fukuda S, Hashimoto T, Nakagawa H. A case of paraneoplastic pemphigus associated with triple malignancies in combination with anti-laminin-332 mucous membrane pemphigoid. *Br J Dermatol*. 166(1):230-231, 2012.
 34. Kiniwa Y, Ashida A, Ohashi A, Kitoh R, Fukuda S, Hashimoto T, Okuyama R. A case of epidermolysis bullosa acquisita associated with laryngeal stenosis. *Acta Derm Venereol*. 92(1):93-4, 2012.
 35. Monshi B, Richter L, Hashimoto T, Groß E, Haensch N, Rappersberger K. IgA pemphigus of the subcorneal pustular dermatosis type : Successful therapy with a combination of dapsone and acitretin. *Hautarzt*. 2012 Jan 6. (German) PMID: 22218566 [Epub ahead of print]
 36. Hanafusa T, Azukizawa H, Nishioka M, Tanemura A, Murota H, Yoshida H, Sato E, Hashii Y, Ozono K, Koga H, Hashimoto T, Katayama I. Lichen planus-type chronic graft-versus-host disease complicated by mucous membrane pemphigoid with positive anti-BP180/230 and scleroderma-related autoantibodies followed by reduced regulatory T cell frequency. *Eur J Dermatol*. 22(1):140-142, 2012.
 37. Shibuya T, Komatsu S, Takahashi I, Honma M, Takahashi H, Ishida-Yamamoto A, Kamiya T, Fukuda S, Hashimoto T, Iizuka H. Mucous membrane pemphigoid accompanied by ovarian cancer: A case with autoantibodies solely against gamma(2) -subunit of laminin-332. *J Dermatol*, 2012 Jan 10. doi: 10.1111/j.1346-8138.2011.01482.x. [Epub ahead of print]
 38. Koga H, Ohyama B, Tsuruta D, Ishii N, Hamada T, Dainichi T, Natsuaki Y, Sogame R, Fukuda S, Karashima T, Tada J, Yamashiro M, Uezato H, Chan PT, Hashimoto T. Five Japanese cases of anti-Dsg1 antibody positive and anti-Dsg3 antibody negative pemphigus with oral lesions. *Br J Dermatol*. 2012 Jan 13. doi: 10.1111/j.1365-2133.2012.10827.x. [Epub ahead of print]
 39. Kurashige Y, Mitsuhashi Y, Saito M, Fukuda S, Hashimoto T, Tsuboi R. Herpetiform pemphigus with anti-Dsg 1 and full-length BP180 autoantibodies. *Eur J Dermatol*. 2012 Jan 19. PMID: 22265805 [Epub ahead of print]
 40. Ohyama B, Nishifuji K, Chan PT, Kawaguchi A, Yamashita T, Ishii N, Hamada T, Dainichi T, Koga H, Tsuruta D, Amagai M, Hashimoto T. Epitope Spreading Is Rarely Found in Pemphigus Vulgaris by Large-Scale Longitudinal Study Using Desmoglein 2-Based Swapped Molecules. *J Invest Dermatol*. 132(4):1158-68, 2012.
 41. Karashima T, Tsuruta D, Hamada T, Ishii N, Ono F, Hashikawa K, Ohyama B, Natsuaki Y, Fukuda S, Koga H, Sogame R, Nakama T, Dainichi T, Hashimoto T. Interaction of plectin and intermediate filaments. *J Dermatol Sci*, 66(1):44-50, 2012.
 42. Komorowski L, Muller R, Vorobyev A, Probst C, Recke A, Jonkman MF, Hashimoto T, Kim SC, Groves R, Ludwig RJ, Zillikens D, Stocker W, Schmidt E. Sensitive and specific assays for routine serological diagnosis of epidermolysis bullosa acquisita. *J Am Acad Dermatol*, 2012 Feb 15. PMID: 22341608 [Epub ahead of print]
 43. Iida K, Yamaguchi F, Hibi K, Tate G, Ohyama B, Numata S, Hashimoto T, Sato M, Uchida T, Sueki H. Characterisation of inflammatory infiltrates in lesions of the oral mucosa, skin, and bronchioles in a case of paraneoplastic pemphigus. *Eur J Dermatol* 22(1):154-155, 2012.
 44. Hanawa F, Harada K, Andou N, Kawamura T, Shibagaki N, Fukuda S, Hashimoto T, Shimada S. Case of mucous membrane pemphigoid characterized by circulating immunoglobulin A and immunoglobulin G autoantibodies to the gamma-2 subunit of laminin-332. *J Dermatol*, 2012 Feb 27. doi: 10.1111/j.1346-8138.2011.01501.x. PMID:22364356 [Epub ahead of print]
 45. Inaoki M, Nishijima C, Ohyama B, Hashimoto T. Subepidermal blistering disease presenting with anti-plakin antibodies. *Eur J Dermatol*, 2012 Mar 1. PMID:22381589 [Epub ahead of print]
 46. Inoue Y, Adachi A, Ueno M, Fukumoto T, Nishitani N, Fujiwara N, Yamada Y, Ohyama B, Tsuruta D, Hashimoto T.

- Atypical subacute cutaneous lupus erythematosus presenting as lichen planus pemphigoides with autoantibodies to C-terminus of BP180, desmoglein 1 and SS-A/Ro antigen. *J Dermatol*, 2012 Mar 13. doi: 10.1111/j.1346-8138.2012.01536.x. PMID:22413755 [Epub ahead of print]
47. 名嘉真武国、石井文人、橋本 隆. 水疱症：治療の現況. *日本皮膚科学会雑誌* 121(2):145-150, 2011
 48. 大日輝記、橋本 隆. 抗ラミニン γ 1 類天疱瘡抗原の同定と病態解明. *医学のあゆみ* 236(11):1033-1038, 2011
 49. 高橋美貴、尾形麻衣、漆畑真理、日野治子、福田俊平、橋本 隆. 大量免疫グロブリン静注療法が著効した尋常性天疱瘡の 1 例. *皮膚臨床* 53(7):951-955, 2011
 50. 竹内そら、川上民裕、川那部岳志、堤祐子、転法輪泰、松岡摩耶、相馬良直、石井文人、橋本 隆. 尋常性乾癬に合併した抗 p200 類天疱瘡の 1 例. *皮膚臨床* 53(7):995-999, 2011
 51. 山屋雅美、佐藤八千代、福田英嗣、向井秀樹、福田俊平、橋本 隆. 尋常性乾癬に合併した抗ラミニン 332 粘膜類天疱瘡の 1 例. *皮膚臨床* 53(7):1001-1005, 2011
 52. 佐藤三佳、岩田浩明、高橋伸通、望月清文、清島真理子、橋本 隆. ラミニン 332 γ 2 鎖が標的抗原であった粘膜類天疱瘡の 1 例. *皮膚臨床* 53(7):1007-1010, 2011
 53. 松立吉弘、浦野芳夫、佐川禎昭、浅野隆司、福田俊平、橋本 隆. 膿疱を主病変とした抗 BP180 型粘膜類天疱瘡の 1 例. *皮膚臨床* 53(7):1011-1014, 2011
 54. 神山由佳、長谷川道子、永井弥生、石川 治、福田俊平、橋本 隆. 免疫グロブリン大量静注療法が著効した後天性表皮水疱症が疑われた 1 例. *臨床皮膚科* 66(1):35-40, 2012.
 55. 名嘉真武国、橋本 隆. 高齢者の類天疱瘡はステロイドなしでどこまで治療可能か. *What's New in 皮膚科学* 2012-2013:174-175, 2012.
 56. 橋本 隆. 天疱瘡. *今日の皮膚疾患治療指針* 第 4 版:404-409, 2012.
 57. 石井文人、橋本 隆. 天疱瘡：どのような自己抗体があるのか? 1 冊でわかる皮膚アレルギー:351-353, 2012.
 58. 鶴田大輔、橋本 隆. 類天疱瘡：どのような自己抗体があるのか? 1 冊でわかる皮膚アレルギー:361-363, 2012.
- 学会発表
1. 三田村康貴、伊東孝通、辻 弥生、原田佳代、占部和敬、岡村精一、福田俊平、橋本 隆. 濾胞性リンパ腫に合併した腫瘍随伴性天疱瘡の 1 例. *日本皮膚科学会第 356 回福岡地方会* (3月 12 日、福岡県)
 2. Takashi Hashimoto. IgA autoantibodies in pemphigus. 2nd Von Behring-Röntgen Symposium "Pemphigus-from autoimmunity to disease", Giessen, Mar.18-19,2011
 3. Takashi Hashimoto. The recent advance in the study on new autoantigens for various autoimmune bullous diseases, Gwangju, May.23, 2011
 4. Takashi Hashimoto. What's New in Autoimmune Bullous Skin Disease. 22nd World Congress of Dermatology, Seoul,

May 24-29, 2011

5. 古賀浩嗣、石井文人、大日輝記、鶴田大輔、濱田尚宏、辛島正志、安元慎一郎、橋本 隆. 抗ラミニン γ 1類天疱瘡モデルマウス作製の試み. 第43回日本結合組織学会学術大会・第58回マトリックス研究会大会 (6月10-11日、大分県)
6. 廣正佳奈、日野亮介、小林美和、中村元信、福田俊平、橋本 隆. 抗ラミニン γ 1類天疱瘡の1例. 日本皮膚科学会第357回福岡地方会 (6月19日、福岡県)
7. 池澤優子、松倉節子、蒲原 毅、小原澤英之、小川 徹、高橋啓孝、古賀浩嗣、橋本 隆. 血漿交換とリツキシマブ投与が効果的であった、腫瘍随伴性天疱瘡の1例. 第33回水疱症研究会 (10月15-16日、福岡県)
8. 喜多川千恵、矢田部愛、中島英貴、中島喜美子、樽谷勝仁、佐野栄紀、青山裕美、鶴田大輔、橋本 隆. 単純血漿交換療法が口腔粘膜病変には奏効したものの閉塞性細気管支炎様肺病変の進行によって死の転帰をとった腫瘍随伴性天疱瘡の1例. 第33回水疱症研究会 (10月15-16日、福岡県)
9. 沼田早苗、Teye Kwesi、十亀良介、古賀浩嗣、橋川恵子、夏秋洋平、石井文人、濱田尚宏、辛島正志、鶴田大輔、橋本 隆. 腫瘍随伴性天疱瘡における抗 α -2-macroglobuline-like-1 (A2ML1) 抗体についての検討. 第33回水疱症研究会 (10月15-16日、福岡県)
10. 長田真一、吉田流音、菊地伊豆実、安齋眞一、川名誠司、古賀浩嗣、橋本 隆. Lichen planus pemphigoides の1例. 第33回水疱症研究会 (10月15-16日、福岡県)
11. 藤原麻千子、谷 直実、石井文人、古賀浩嗣、十亀良介、大山文悟、濱田尚宏、大日輝記、鶴田大輔、橋本 隆. 水疱性類天疱瘡における抗 BP230 抗体単独検出例と抗 BP230 抗体、抗 BP180 抗体両検出例の BP230 抗原エピトープの違い. 第33回水疱症研究会 (10月15-16日、福岡県)
12. 成瀬明子、立石千晴、廣保 翔、大迫順子、小林裕美、石井正光、古賀浩嗣、鶴田大輔、橋本 隆. 尋常性乾癬に水疱性類天疱瘡と抗ラミニン γ 1類天疱瘡を合併した1例. 第33回水疱症研究会 (10月15-16日、福岡県)
13. 細田里美、藤田悦子、山田朋子、鈴木正之、小宮根真弓、村田 哲、大槻マミ太郎、古賀浩嗣、橋本 隆. 水疱性類天疱瘡に抗 BP180 型および抗ラミニン 332 型粘膜類天疱瘡を合併した1例. 第33回水疱症研究会 (10月15-16日、福岡県)
14. 西脇 薫、松本由香、三橋喜比古、坪井良治、富樫佑基、岡田拓朗、橋本 隆. ラミニン 332 型粘膜類天疱瘡の1例. 第33回水疱症研究会 (10月15-16日、福岡県)
15. 大橋威信、大石明子、菊池信之、花見由華、三浦貴子、佐藤正隆、大塚幹夫、山本俊幸、福田俊平、橋本 隆. 抗7型コラーゲン抗体価の経時的測定が有用であった後天性表皮水疱症の1例. 第33回水疱症研究会 (10月15-1

- 6日、福岡県)
16. 角田孝彦、門馬節子、橋本 隆. 4年前は扁平苔癬、今年天疱瘡と診断されたC型肝炎患者の下口唇びらん. 第33回水疱症研究会(10月15-16日、福岡県)
 17. 山田明子、中村考伸、飯田絵理、吉田龍一、塚原理恵子、出光俊郎、古賀浩嗣、橋本 隆. 右足に濃皮症様症状を呈した特異な天疱瘡の1例. 第33回水疱症研究会(10月15-16日、福岡県)
 18. 小池雄太、穂山雄一郎、福田俊平、橋本 隆、宇谷厚志. 下血を繰り返したANCA陽性尋常性天疱瘡の1例. 第33回水疱症研究会(10月15-16日、福岡県)
 19. 斉藤華奈実、酒井貴史、後藤真由子、伊藤亜希子、石川一志、甲斐宜貴、島田浩光、竹尾直子、波多野豊、岡本 修、藤原作平、瀬口俊一郎、古賀浩嗣、橋本 隆. Intraepidermal neutrophilic (IEN) type IgA pemphigus の1例. 第33回水疱症研究会(10月15-16日、福岡県)
 20. 早川泰平、Teye Kwesi、濱田尚宏、石井文人、古村南夫、鶴田大輔、深野英夫、下郷和雄、新熊 悟、清水 宏、平子善章、尾張部克志、橋本 隆. 抗VII型コラーゲン様抗体の抗原解析. 第15回九州基礎皮膚科研究会(12月3日、福岡県)
 21. Ryosuke Sogame, Yoshiaki Hirako, Daisuke Tsuruta, Norito Ishii, Teruki Dainichi, Hiroshi Koga, Shunpei Fukuda, Bungo Ohyama, Takahiro Hamada, Tadashi Karashima, Takekuni Nakama, Kazuo Tsubota, Shigeru Kinoshita, Takashi Hashimoto. Large scale study defined human $\beta 4$ integrin as the major autoantigen for pure ocular mucous membrane pemphigoid. The 36th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, Kyoto, Dec.9-11, 2011
 22. 橋本 隆. 水疱症の治療はここまで進んだ. (第75回日本皮膚科学会東京支部学術大会、2012年2月18-19日、東京都)
 23. 武藤真悠子、松岡摩耶、中野敦子、土井里沙子、竹内そら、堤 祐子、木村聡子、三井 浩、川上民裕、相馬良直、小川考平、古賀浩嗣、橋本 隆. 口腔内病変が難治であった腫瘍随伴性天疱瘡と水疱性類天疱瘡の合併症. (第75回日本皮膚科学会東京支部学術大会、2012年2月18-19日、東京都)
 24. 佐藤雅道、佐々木美紀、大歳晋平、内田隆夫、末木博彦、加賀美武飛、池田裕一、橋本 隆. ステロイド全身療法に抵抗性を示し、シクロスポリンの併用を必要とした乳児水疱性類天疱瘡の1例. (第75回日本皮膚科学会東京支部学術大会、2012年2月18-19日、東京都)
 25. 佐藤三佳、石塚麻子、渋谷佳直、加納宏行、橋本 隆、清島真理子. 抗7型コラーゲン抗体価の推移を検討した後天性表皮水疱症の1例. (第75回日本皮膚科学会東京支部学術大会、2012年2月18-19日、東京都)
 26. 朝比奈昭彦、新妻厚子、白井 明、齋

藤生朗、齊藤典充、角田裕子、橋本 隆.
diffuse large B-cell lymphoma を合併
し、一部に増殖性病変を伴った SPD 型
IgA 天疱瘡. (第 75 回日本皮膚科学会
東京支部学術大会、2012 年 2 月 1
8 - 19 日、東京都)

27. 石田修一、日野頼真、廣田理央、高村
直子、千葉由幸、堀内義仁、福田俊平、
橋本 隆. 尋常性乾癬に水疱性類天疱
瘡を合併した 1 例. (第 75 回日本皮膚
科学会東京支部学術大会、2012 年
2 月 18 - 19 日、東京都)
28. 田村奈渚、船坂陽子、長田真一、吉田
流音、菊地伊豆実、橋本 隆、川名誠
司. 下剤による薬剤誘発性類天疱瘡の
1 例. (第 75 回日本皮膚科学会東京支
部学術大会、2012 年 2 月 18 - 1
9 日、東京都)
29. 吉川里沙、福安厚子、富田 学、大西
誉光、神田奈緒子、渡辺晋一、橋本 隆.
線状 IgA 水疱症の 1 例. (第 75 回日本
皮膚科学会東京支部学術大会、201
2 年 2 月 18 - 19 日、東京都)
30. 坂口麻莉子、十亀良介、石井文人、名
嘉真武国、鶴田大輔、橋本 隆、古賀
順子. Linear IgA/IgG bullous
dermatosis の 1 例. (第 75 回日本皮
膚科学会東京支部学術大会、2012
年 2 月 18 - 19 日、東京都)

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。

図 1 : デスモソームとヘミデスモソームの模式図

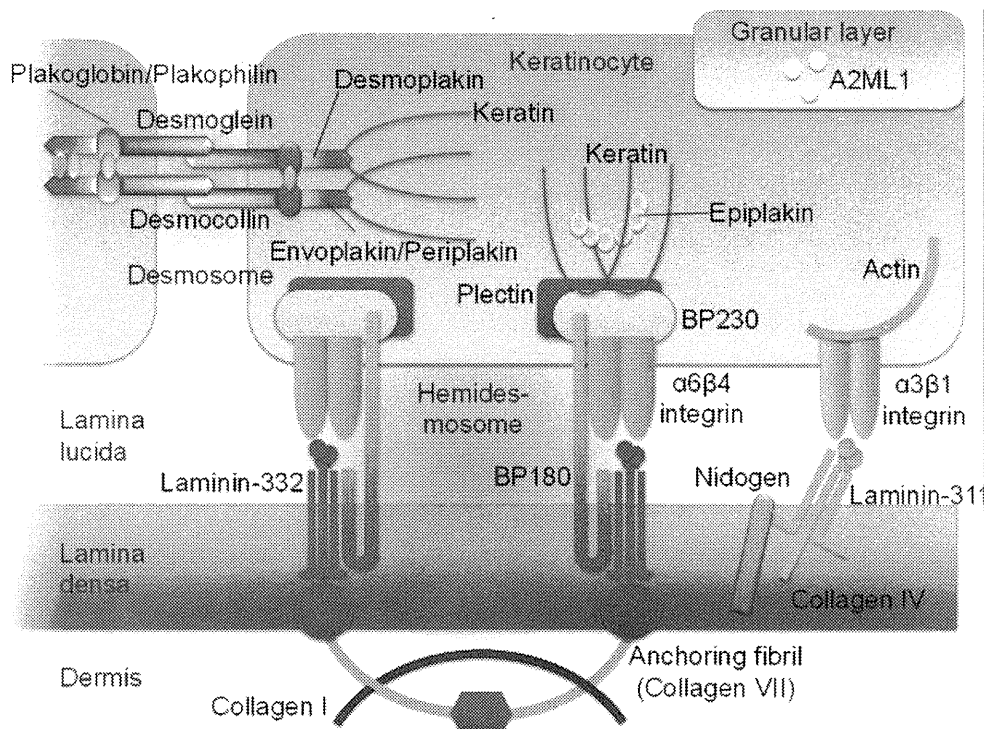


表 1 : インテグリンベータ 4 抗原解析結果

		IgG	IgA
HD-rich fraction	205-kDa β4 integrin	20 (50%)	1 (2.5%)
Recombinant β4 integrin	Intracellular domain	26 (65%)	
Total cases reacted with β4 integrin		29 (72.5%)	

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	<u>未知 p165</u>
眼型 MMP	IgA/IgG	<u>インテグリンベータ 4、LAD-1</u>
口腔粘膜型 MMP	IgG/IgA	<u>インテグリンアルファ 6</u>
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	<u>未知 (なし?)</u>
線状 IgA 水疱性皮膚症		
Lamina lucida 型	IgA	97kDa/120kDa LAD-1
Sublamina densa 型	IgA	<u>未知</u> (VII 型コラーゲン、 <u>ラミニンガンマ 1 サブユニット</u>)
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・1 類天疱瘡	IgG	ラミニンガンマ 1 サブユニット

下線 : 抗原未同定