

網の目状の構造であることは、顆粒細胞が細胞死して角質へと移行する際に隣接する細胞間のTJネットワークがとぎれることのない仕組みを提供しているという意義があると考えた。

#### E. 結論

ヒトおよびマウスの表皮においてTJは複数層にまたがる網の目状構造をとっていると結論した。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表（平成24年度）

##### 論文発表

1. Ishida-Yamamoto A, Kishibe M, Murakami M, Honma M, Takahashi H, Iizuka H, Lamellar granule secretion starts before the establishment of tight junction barrier for paracellular tracers in mammalian epidermis. PLoS One, 2012 ; 7 (2) : e31641
2. Kishibe M, Bando Y, Tanaka T, Ishida-Yamamoto A, Iizuka H, Yoshida S, Kallikrein-related peptidase 8-dependent skin wound healing is associated with upregulation of kallikrein-related peptidase 6 and PAR2. J Invest Dermatol, 2012 Jun ; 132 (6) : 1717-24
3. de Koning HD, van den Bogaard EH, Bergboer JG, Kamsteeg M, van Vlijmen-Willems IM, Hitomi K, Henry J, Simon M, Takashita N, Ishida-Yamamoto A, Schalkwijk J, Zeeuwen PL, Expression profile of cornified envelope structural proteins and keratinocyte differentiation-regulating proteins during skin barrier repair. Br J Dermatol, 2012 Jun ; 166 (6) : 1245-54
4. 山本明美, 井川哲子, 岸部麻里, 皮膚疾患の病態 コルネオデスモソームが異常

になる疾患 Netherton症候群と炎症型 peeling skin症候群. 臨床皮膚科, 2012 ; 66 : 59-62

##### 学会発表

1. 山本明美, 皮膚バリア構造に関する私見、とくに表皮タイトジャンクションについて. 日本皮膚科学会宮城地方会学術大会第358回例会 イブニングセミナー, 2012, 6, 23, 宮城県建設産業会館、仙台市
2. 山本明美, 皮膚バリア構造に関する私見、とくに表皮タイトジャンクションについて. 皮膚基礎研究クラスターフォーラム第7回教育セミナー 特別講演, 2012, 7, 26, タワーホール船堀、東京都
3. 山本明美, 角化症を理解するための基礎皮膚科学. 第111回日本皮膚科学会総会教育講演, 2012, 6, 1-3, 国立京都国際会館、京都市
4. 山本明美, 電子顕微鏡が開拓する皮膚宇宙の果て. 第111回日本皮膚科学会総会教育講演, 2012, 6, 1-3, 国立京都国際会館、京都市
5. 山本明美, 表皮の細胞間接着構造の基礎電顕でみるときのコツ. 第39回皮膚かたち研究学会 教育講演, 2012, 7, 29, 東京慈恵会医科大学、3階講堂
6. 山本明美, 皮膚バリア機能の立役者ータイトジャンクションと層板顆粒をめぐる最近の知見. 第64回日本皮膚科学会西部支部学術大会西部支部企画講習会, 2012, 10, 26, 広島国際会議場、広島市
7. 山本明美, 魚鱗癬の新国際分類. 平成24年度日本皮膚科学会研修講習会必須Aコース講師, 2012, 8, 25, ベルサール半蔵門、東京都

#### H. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）

該当なし。

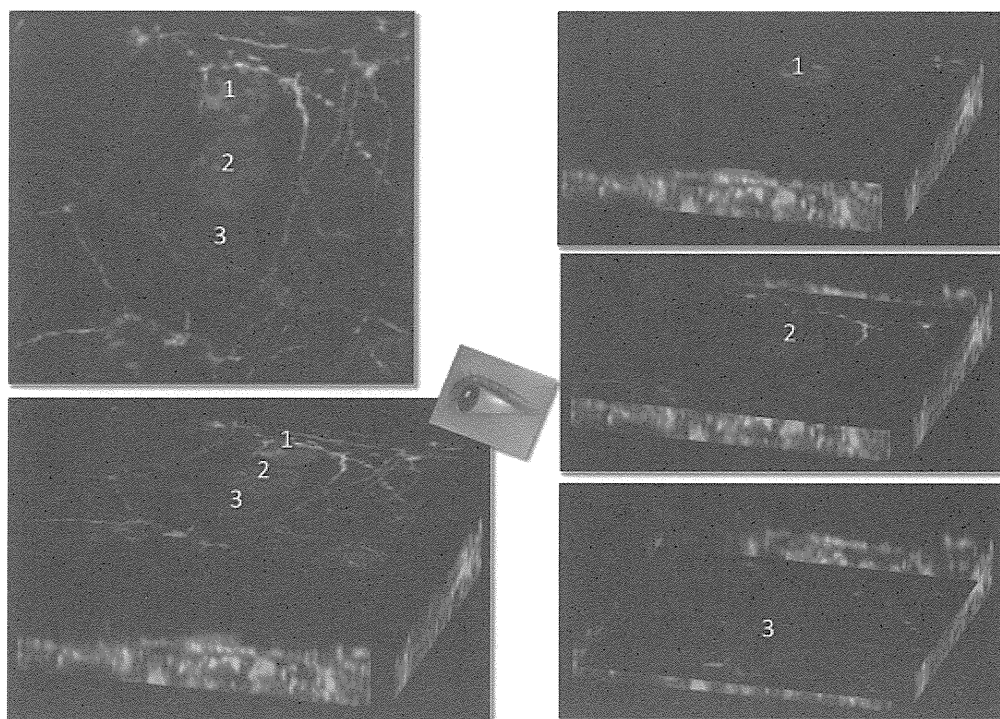


図1 正常ヒト表皮シートでのoccludin抗体染色。1、2、3は顆粒層の上から1、2、3層目の細胞の核を示している。それぞれの細胞の周囲にoccludin陽性の網目がみられる。

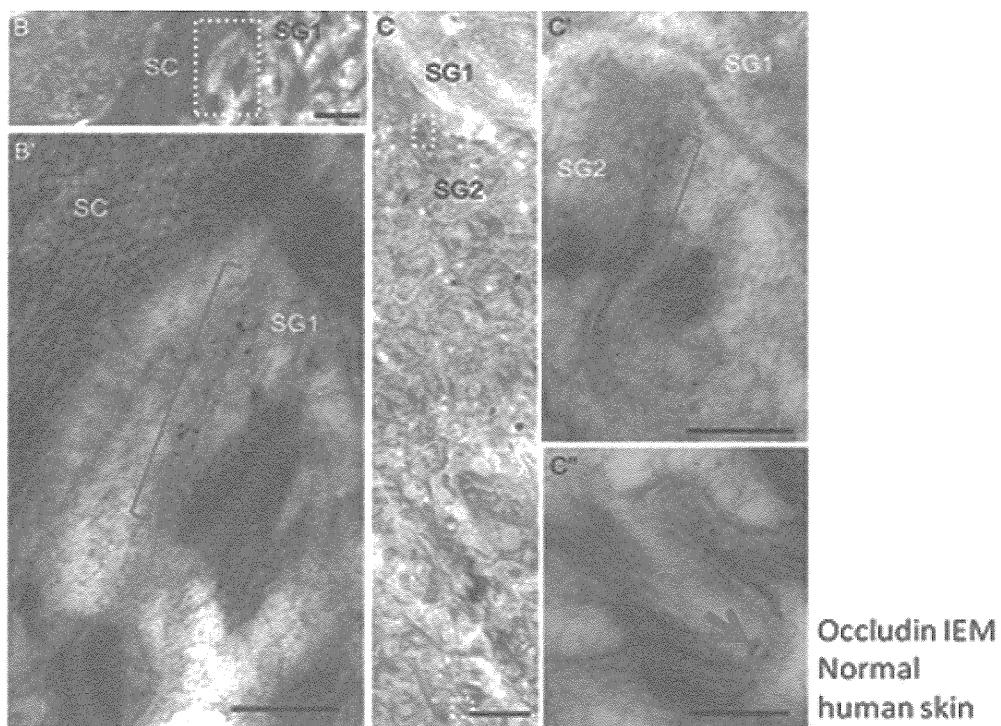
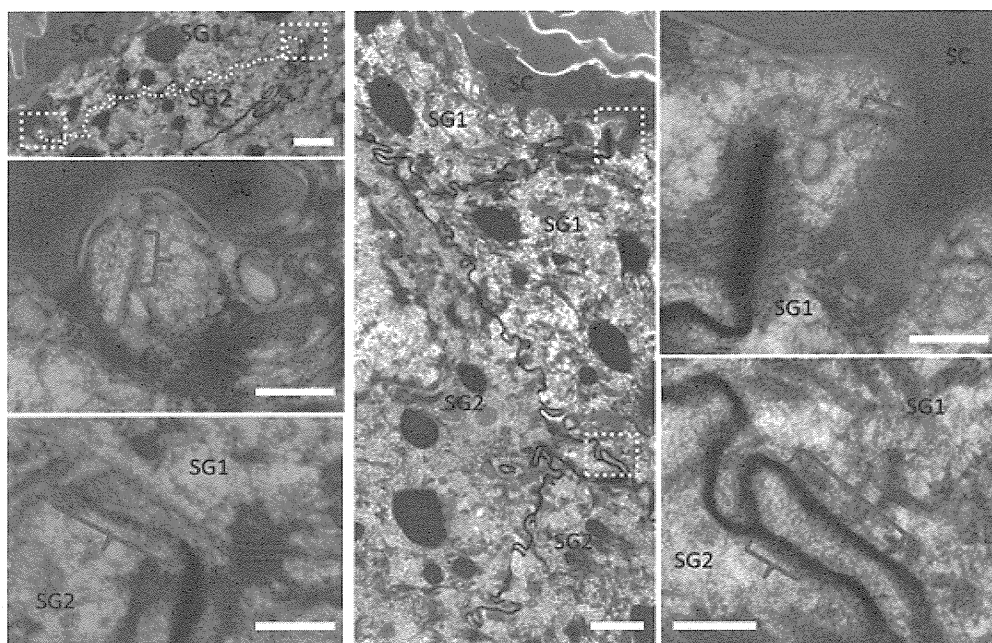


図2 正常ヒト表皮角層にみられるoccludin抗体をもちいた免疫電顕。SG1、SG2のタイトジャンクションが陽性に標識されている。



Lanthanum nitrate penetration assay, newborn hairless mouse  
 Ishida-Yamamoto A, et al., *PLoS ONE*, 2012

図3 正常マウス皮膚における硝酸ランタンの透過性試験。左の図ではSG2のタイトジャンクションにおいて浸透がブロックされている。右の図ではSG2のタイトジャンクションは通過し、硝酸ランタンはSG1のタイトジャンクション下部にまで達している。

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

表皮角層最表層の細胞接着構造の解析  
－魚鱗癬群表皮の角層肥厚を理解するために－

研究分担者 山本明美 旭川医科大学皮膚科 准教授

**研究要旨** 魚鱗癬群の疾患患者の表皮では共通して角層が著しく肥厚している。これは角層細胞の剥離機構に障害があることが一因と推定される。これを理解するためにまず正常表皮角層の剥離機構を知らなければならない。2012年、他の研究者は角層細胞が剥離する際には細胞間の接着構造であるコルネオデスモソーム（CD）が存在しないと見解を発表したが、今回我々はこれとは逆に明らかにCDが存在することを確認した。

共同研究者

井川 哲子 旭川医大皮膚科  
岸部 麻里 旭川医大皮膚科

#### A. 研究目的

魚鱗癬群の疾患患者の表皮では共通して角層が著しく肥厚している。これは角層細胞の剥離機構に障害があることが一因と推定される。これを理解するためにまず正常表皮角層の剥離機構を知らなければならない。

かつて表皮角層は細胞をレンガに細胞間脂質をモルタルにたとえてとらえられ、細胞間接着に働いているのは細胞間脂質と考えられてきた。しかし我々は幾つかの証拠から、角層細胞同士の接着は脂質ではなくコルネオデスモソーム（CD、顆粒層から角層に分化する際にデスモソームが修飾されて形成される接着構造）に負う部分が大きいと主張してきた。

CDの分布様式についても異論があり、我々や他の複数のグループは角層下層（stratum compactum）ではCDが細胞全周に存在し、中層から上層（stratum disjunctum）では扁平化した細胞の辺縁に局限し、最表層まで辺縁に残存していることを発表してきた。しかし、Eliasのグループは2012年の論文で角層上層においてコルネオデスモソームは存在し

ないと述べた（Lin TK, et al. *J Invest Dermatol.* 2012 ; 132 : 2430-9.）。彼らは我々の主張を“an optical illusion due to the progressive flattening of corneocytes”であると記述した。今回の研究は我々が主張してきたように最表層にCDが存在することを確認するために行った。

#### B. 研究方法

正常成人の前腕屈側の角層最表層を瞬間接着剤を滴下したプラスチックのディスクをあてることにより剥離し、ディスクごと通常の透過電顕法に供した。

#### C. 研究結果

角層最表層の細胞同士の間は扁平な細胞の辺縁が凹凸を伴って接しており、細胞間には複数のCDが認められた（図1）。

#### D. 考察

角層の最表層の細胞同士がCDによって接着していることから、魚鱗癬群の患者ではCD分解酵素の働きに異常をきたして角層が異常堆積するという事態に陥っている場合があることが推定される。

## E. 結論

正常ヒト表皮角層の最表層では明らかにCDが存在することを確認した。

## F. 健康危険情報

なし。

## G. 研究発表（平成24年度）

### 論文発表

1. Ishida-Yamamoto A, Kishibe M, Murakami M, Honma M, Takahashi H, Iizuka H, Lamellar granule secretion starts before the establishment of tight junction barrier for paracellular tracers in mammalian epidermis. PLoS One, 2012 ; 7 (2) : e31641
2. Kishibe M, Bando Y, Tanaka T, Ishida-Yamamoto A, Iizuka H, Yoshida S, Kallikrein-related peptidase 8-dependent skin wound healing is associated with upregulation of kallikrein-related peptidase 6 and PAR2. J Invest Dermatol, 2012 Jun ; 132 (6) : 1717-24
3. de Koning HD, van den Bogaard EH, Bergboer JG, Kamsteeg M, van Vlijmen-Willems IM, Hitomi K, Henry J, Simon M, Takashita N, Ishida-Yamamoto A, Schalkwijk J, Zeeuwen PL, Expression profile of cornified envelope structural proteins and keratinocyte differentiation-regulating proteins during skin barrier repair. Br J Dermatol, 2012 Jun ; 166 (6) : 1245-54
4. 山本明美、井川哲子、岸部麻里、皮膚疾患の病態 コルネオデスモソームが異常になる疾患 Netherton症候群と炎症型 peeling skin 症候群. 臨床皮膚科, 2012 ; 66 : 59-62

### 学会発表

1. 山本明美, 皮膚バリア構造に関する私見、とくに表皮タイトジャンクションについ

て. 日本皮膚科学会宮城地方会学術大会第358回例会 イブニングセミナー, 2012, 6, 23, 宮城県建設産業会館、仙台市

2. 山本明美, 皮膚バリア構造に関する私見、とくに表皮タイトジャンクションについて. 皮膚基礎研究クラスターフォーラム第7回教育セミナー 特別講演, 2012, 7, 26, タワーホール船堀、東京都
3. 山本明美, 角化症を理解するための基礎皮膚科学. 第111回日本皮膚科学会総会教育講演, 2012, 6, 1-3, 国立京都国際会館、京都市
4. 山本明美, 電子顕微鏡が開拓する皮膚宇宙の果て. 第111回日本皮膚科学会総会教育講演, 2012, 6, 1-3, 国立京都国際会館、京都市
5. 山本明美, 表皮の細胞間接着構造の基礎電顕でみるときのコツ. 第39回皮膚かたち研究学会 教育講演, 2012, 7, 29, 東京慈恵会医科大学、3階講堂
6. 山本明美, 皮膚バリア機能の立役者ータイトジャンクションと層板顆粒をめぐる最近の知見. 第64回日本皮膚科学会西部支部学術大会西部支部企画講習会, 2012, 10, 26, 広島国際会議場、広島市
7. 山本明美, 魚鱗癬の新国際分類. 平成24年度日本皮膚科学会研修講習会必須Aコース講師, 2012, 8, 25, ベルサール半蔵門、東京都

## H. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）

該当なし。

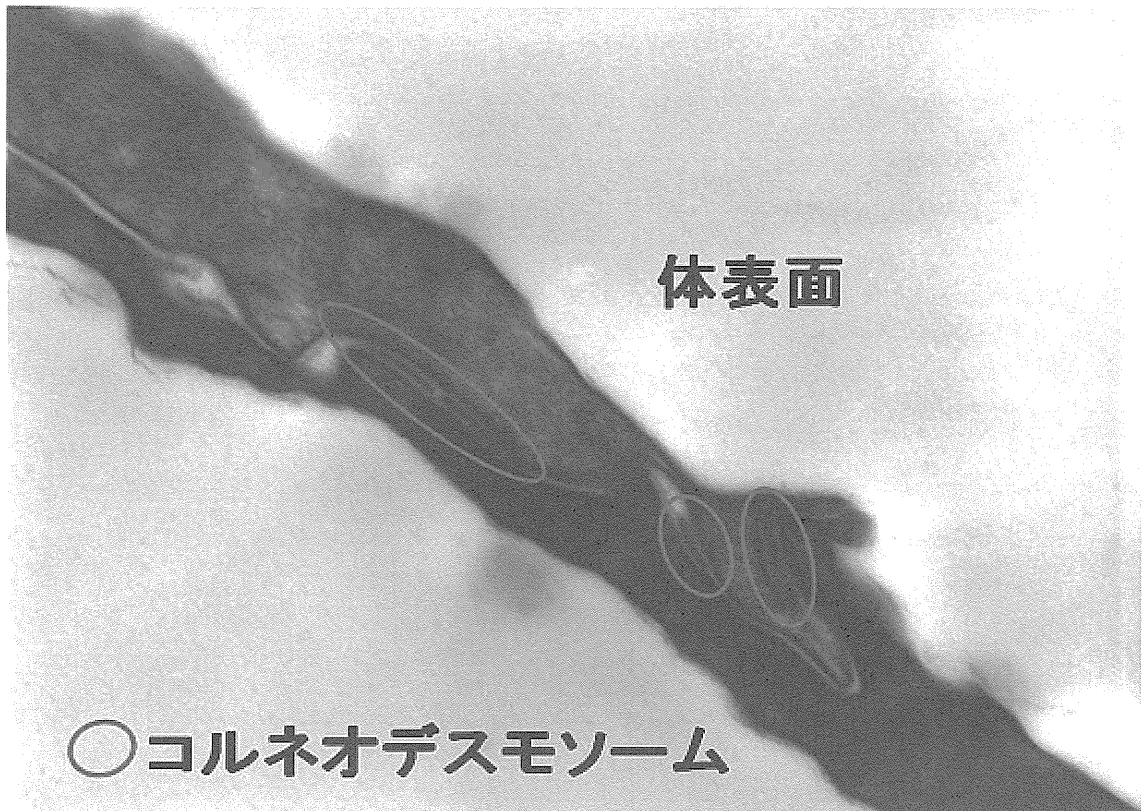


図1 正常ヒト表皮角層の最表層を瞬間接着剤で剥離し、電顕的に観察したところ、CDによって細胞同士が接着していることが示された。

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

水疱型先天性魚鱗癬様紅皮症の皮疹形成機序についての検討  
— 炎症性サイトカインの影響 —

研究分担者 小宮根真弓 自治医科大学皮膚科学 准教授

**研究要旨** 昨年度までは水疱型先天性魚鱗癬様紅皮症（BCIE）における機械的  
刺激の関与を検討してきたが、今回は、炎症性サイトカインによる刺激について検  
討した。プレリミナリーな結果であるが、変異ケラチンK1を導入した表皮細胞では、  
IFN  $\gamma$  による刺激に対して、IL-33産生が高い傾向があった。野生型、変異型ともに、  
ケラチン1遺伝子導入表皮細胞では、IL-33の受容体であるST2Lおよびその可溶性  
であるsST2の産生が高い傾向があった。表皮細胞におけるIL-33発現調節について  
も検討した。

共同研究者

津田 英利 自治医大 皮膚科  
大塩 智之 自治医大 皮膚科  
唐川 大 自治医大 皮膚科  
Jitlada Meephansan 自治医大 皮膚科  
花川 靖 愛媛大学 皮膚科  
佐山 浩二 愛媛大学 皮膚科  
富永 眞一 自治医大 病態生化学  
大槻マミ太郎 自治医大 皮膚科

A. 研究目的

水疱型先天性魚鱗癬様紅皮症（BCIE）は、  
ケラチン1あるいはケラチン10の遺伝子異常  
により生じる遺伝性疾患である。変異の部位  
によって、臨床症状に違いがあることが知ら  
れている。ケラチンは中間径フィラメントに  
属する細胞骨格蛋白のひとつであり、表皮細  
胞の形状を維持し、外界からの機械的刺激に  
対して細胞を守る働きがあると考えられる。  
昨年度までに伸展刺激に対する変異ケラチン  
1導入表皮細胞の挙動について検討してきた  
が、今年度は、変異ケラチン導入細胞の炎症  
性サイトカインに対する応答について検討し  
た。昨年度までに機械的伸展刺激によって  
IL-1 $\beta$ 、IL-18などとともDANGER signalの  
一つと考えられているIL-33が誘導されるこ

とが明らかとなっているが、正常表皮細胞に  
おけるIL-33の発現調節についても検討した。

B. 研究方法

- 1) 表皮細胞は、正常培養ヒト表皮角化細  
胞（クラボウ）を用いた。正常ヒト表皮  
角化細胞は、InvitrogenのKeratinocyte-  
SFMにR & Dsystems社のEGF（5ng/  
ml）、極東製薬のBPE（40  $\mu$ g/ml）を加  
えたもの（KGM）にて継代培養した。
- 2) 野生型および変異型ケラチンK1アデノ  
ウイルスベクターは、愛媛大学花川先生、  
佐山先生より供与いただいたものを使用  
した。
- 3) 正常ヒト表皮角化細胞に野生型および  
変異型ケラチンK1を導入し、無刺激、  
TNF  $\alpha$  刺激、IFN  $\gamma$  刺激にて24時間培養  
してRNAを回収し、リアルタイムPCR  
にてIL-33、ST2L、sST2発現について検  
討した。リアルタイムPCRに用いたプライ  
マーはアプライドバイオシステムズか  
ら購入した。また、正常ヒト表皮角化細  
胞からのIL-33産生誘導機序について検  
討を行った。

## C. 研究結果

- 1) 変異ケラチン1導入表皮細胞では、IFN  $\gamma$  によるIL-33産生誘導が高い傾向があった。
- 2) ケラチン1導入細胞では、変異型、野生型ともに、IL-33の受容体であるST2Lおよび可溶型であるsST2産生が高い傾向があった。
- 3) 正常表皮細胞をIFN  $\gamma$  で刺激することによりIL-33産生が誘導されるが、その誘導は、EGF受容体、ERK、p38、STAT1、JAKに依存していることが明らかとなった。

## D. 考察

IL-33は、上皮細胞や血管内皮細胞において通常核に存在すると報告され、壊死に陥った細胞や侵襲的な刺激を受けた細胞から放出されて、danger signalの一つとして働くことが報告されている。

表皮細胞においても、機械的刺激という一つの外的刺激によって細胞内での産生が誘導されることは、さらに強い刺激、あるいは変異ケラチンの発現といった、細胞にストレスが加わる状況によって細胞が壊死に陥った際には、細胞外に放出されて、その機能を発現する可能性があると考えられる。今回、野生型、変異型ケラチン1導入細胞において、無刺激、TNF  $\alpha$  刺激、IFN  $\gamma$  刺激後にRNAを回収してIL-33産生について検討した。無刺激状態ではあきらかな変動は認めなかったが、IFN  $\gamma$  刺激により変異ケラチン導入細胞にて誘導が強い傾向があったが、いまだプレリミナリーな結果であり、今後の検討を要する。IL-33受容体であるST2Lと、その可溶型であるsST2産生は、変異型、野生型にかかわらず、ケラチン1導入によってその産生が亢進する傾向があった。コントロールとして用いたIL-8はその逆に、ケラチン1導入によってその産生が抑制される傾向があった。IL-33およびST2L、sST2がSuprabasalに発現しているのに対し、IL-8はBasalに発現し

ていることから、ケラチン1導入によって強制的に分化したケラチノサイトはIL-33、ST2L、sST2を産生しやすい状況となっている可能性を考えた。ケラチン1導入によって他の分化マーカーが誘導されるか否か今後検討する予定である。

また、IFN  $\gamma$  によるIL-33産生には、EGF受容体、ERK、JAK、STAT1が関与していることから、ケラチン1導入によってこれらの経路に何らかの変動がもたらされる可能性を考えた。

## E. 結論

ケラチン1導入によって、表皮細胞ではIL-33、ST2L、sST2が産生されやすい状況となっていると考えられた。

変異ケラチン1導入による表皮細胞の形質変化のメカニズムを解明することにより、今後BCIEの新たな治療法の解明につながるものと考えられる。

## F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

## G. 研究発表（平成24年度）

### 論文発表

1. Tsuda H, Komine M, Karakawa M, Etoh T, Tominaga S, Ohtsuki M. Novel splice variants of IL-33: differential expression in normal and transformed cells. *J Invest Dermatol.* 2012 Nov; 132(11): 2661-4.
2. Meephanan J, Tsuda H, Komine M, Tominaga S, Ohtsuki M. Regulation of IL-33 expression by IFN- $\gamma$  and tumor necrosis factor- $\alpha$  in normal human epidermal keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 2012 Nov; 132(11): 2593-600.
3. Wakatabi K, Komine M, Meephanan J, Matsuyama Y, Tsuda H, Tominaga S, Ohtsuki M. The levels of soluble ST 2 in sera and bullous fluid from patients



with bullous pemphigoid. *Eur J Dermatol*. 2012 May-Jun ; 22 (3) : 333-6.

4. Meephansan J, Komine M, Tsuda H, Tominaga S, Ohtsuki M. Ultraviolet B irradiation induces the expression of IL-33 mRNA and protein in normal human epidermal keratinocytes. *J Dermatol Sci*. 2012 Jan ; 65 (1) : 72-4.

学会発表

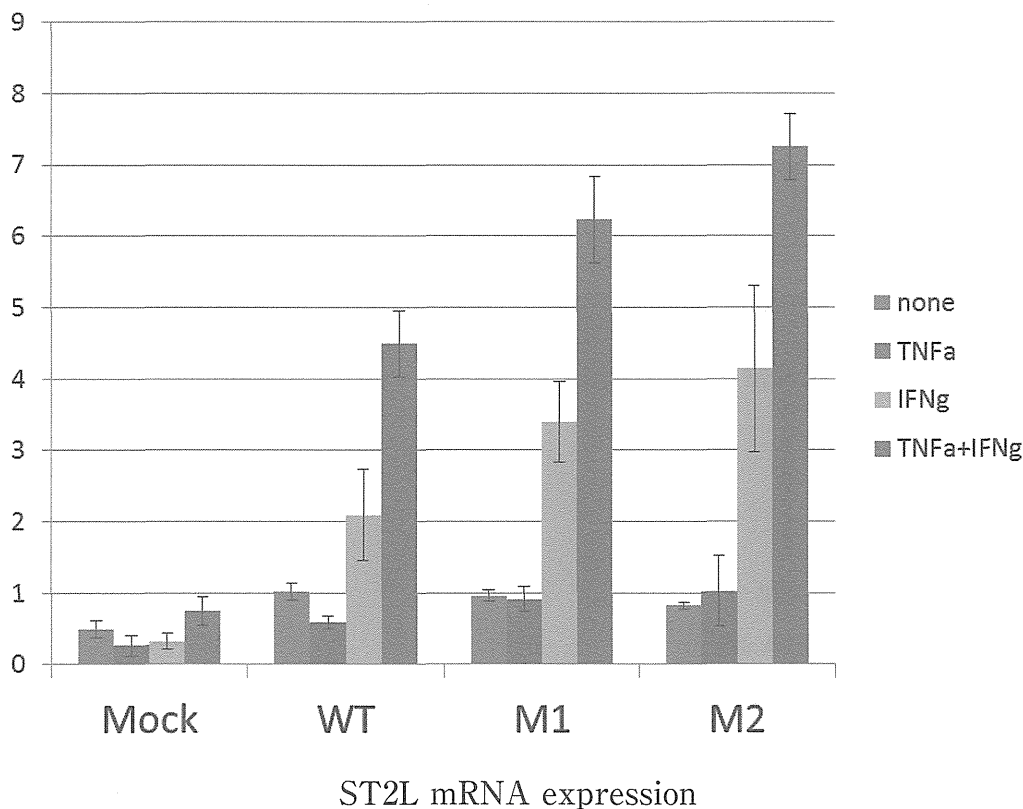
1. 小宮根真弓；表皮細胞におけるケラチン遺伝子の発現制御と炎症性疾患の治療、第36回静岡皮膚病カンファレンス、平成24年3月14日、浜松
2. 小宮根真弓；分子標的薬の展望、平成24年6月1日、教育講演、第112回日本皮膚科学会総会、京都
3. Meephansan Jitlada, Mayumi Komine, Hidetoshi Tsuda, Tomoyuki Oshio, Masaru Karakawa, Shin-ichi Tominaga, Mamitaro Ohtsuki. Regulation of IL-33

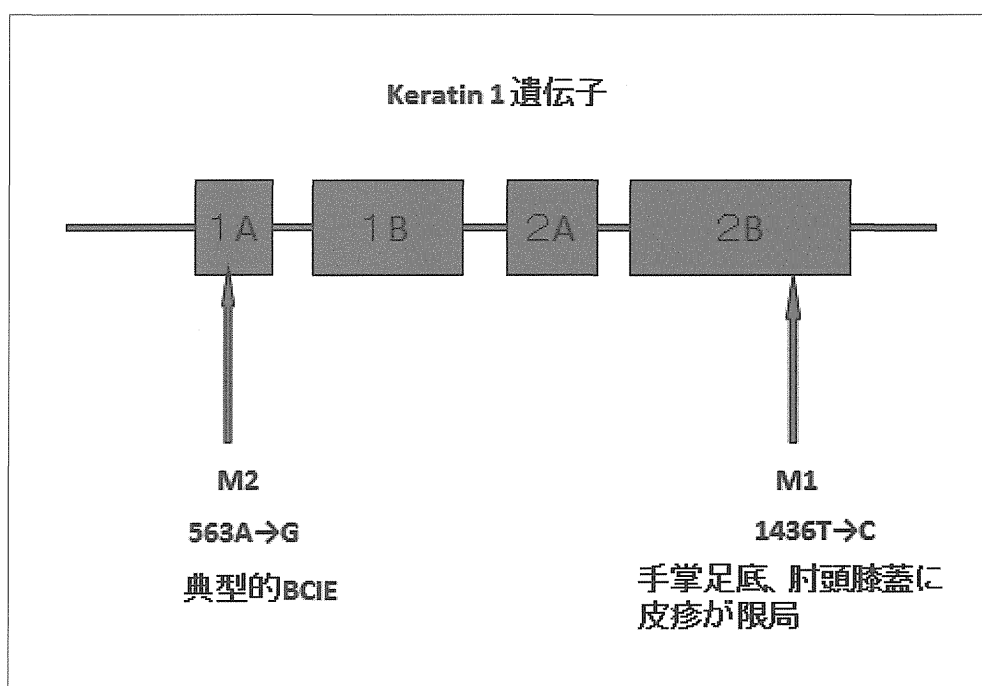
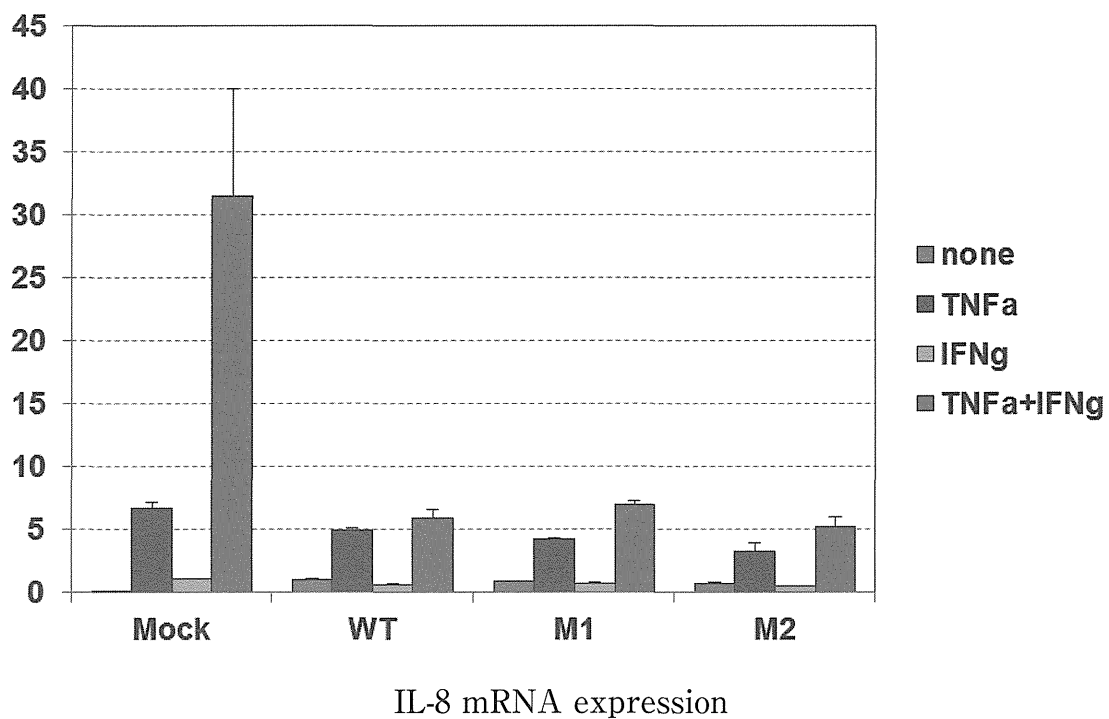
expression by inflammatory cytokines and its putative role in inflammatory skin disorders. 第37回日本研究皮膚科学会総会、平成24年12月、沖縄

4. Jitlada Meephansan, Mayumi Komine, Hidetoshi Tsuda, Shoichiro Yano, Shin-ichi Tominaga, Mamitaro Ohtsuki. IL-33 is produced by normal human keratinocytes with environmental and inflammatory stimuli : a novel "alarmin" in the skin. 72nd Society for Investigative Dermatology Annual Meeting, May 9-12, Raleigh, USA.

H. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得  
該当なし。
2. 実用新案登録  
該当なし。





厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

トランスグルタミナーゼ1に点突然変異を持つ魚鱗癬様紅皮症モデルマウスの作成

研究分担者 山西清文 兵庫医科大学皮膚科学 主任教授

**研究要旨** ES細胞における標的遺伝子組換えとCAG-Creトランスジェニックマウスの交配により、トランスグルタミナーゼ1 (TG1) にR142C変異を持つマウスを作成した。ヘテロ変異マウスは野生型と区別がつかず生育するが、ホモ変異マウスは生後数時間以内に死亡した。19.5 dpcのホモ変異マウス皮膚では変異TG1 mRNAの発現は野生型と同程度であったが、変異TG1タンパクの発現は著しく低下し、表皮角化細胞のTG1活性もTG1欠損マウスと同程度まで低下した。この点突然変異マウスは魚鱗癬様紅皮症に対する変異修復研究に寄与すると期待される。

共同研究者

津田 達也 兵庫医科大学皮膚科学  
松木 正人 兵庫医科大学皮膚科学  
中川 登 兵庫医科大学皮膚科学  
今井 康友 兵庫医科大学皮膚科学  
山本 雅章 兵庫医科大学皮膚科学  
坂口 祥子 兵庫医科大学皮膚科学  
瀧澤 俊広 日本医科大学分子解剖学  
瀧澤 孝美 日本医科大学分子解剖学  
人見 清隆 名古屋大学大学院創薬生物科学  
竹田 潤二 大阪大学大学院環境生体機能学  
太田 昇 高輝度光科学研究センター  
八木 直人 高輝度光科学研究センター  
八田 一郎 高輝度光科学研究センター

A. 研究目的

トランスグルタミナーゼ (TG) は、タンパクのグルタミン残基とリシン残基の間に架橋結合反応を触媒する酵素で、タンパク間の共有結合形成を介して、生体の種々な機能に関わっている。TGアイソザイムのなかで、トランスグルタミナーゼ1 (TG1) は表皮の顆粒層で発現し、細胞膜に移行してロリクリンなどのタンパクを重合し、角層細胞辺縁に強固な周辺帯(コーニファイドエンベロープ) (CE) を形成するために必須の酵素である。また、ヒトTG1をコードする遺伝子TGM1

の変異は常染色体劣性魚鱗癬の発症に関わり、とりわけR143C変異は、比較的重症の葉状魚鱗癬あるいは魚鱗癬様紅皮症の表現型を示すことが報告されている。本研究では、ヒトTG1のR143C変異に相当するR142C変異を持つマウスを作出し、変異TG1タンパクの発現と活性、変異が皮膚の表現型に及ぼす影響を明らかにする目的で研究を行った。

B. 研究方法

129/SVJマウスTG1遺伝子 (*Tgm1*) の exon 3に存在するアルギニンをコードするCGTをシステインをコードするTGTに置換した配列と、*loxP*を両側に持つネオマイシン耐性遺伝子 (*neo*) をintron 3にもつターゲットベクターを構築し、ES細胞に導入後G418共存下で培養し、相同組換えを起こしたクローンを選別した。このES細胞を集合キメラ法により胚盤胞期まで培養し、偽妊娠マウスに移植してキメラマウスを作成した。雄キメラを雌C57BL/6と交配し、この変異と*neo*遺伝子をもつマウス*Tgm1*<sup>+/R142CfloxNeo</sup>を樹立後、CAG-*cre*トランスジェニックマウスと交配して*neo*を除き、R142C変異をヘテロに持つマウス系統*Tgm1*<sup>+/R142C</sup>を樹立した。

### (倫理面への配慮)

本研究は遺伝子組換え生物を用いる実験に該当するため、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律に従い、各施設の遺伝子組換え実験安全管理規程に基づいて手続きを行い、機関より承認を得た上で実施した。また、実験動物の取り扱いについても、各施設の動物実験委員会による審査を受け、承認を得た上で実施した。

### C. 研究結果

*Tgm1*<sup>+</sup>/R142C マウス同士を交配し、R142C 変異をホモに持つ *Tgm1* R142C/R142C を作成した。*Tgm1* R142C/R142C は生育せず、生後数時間程度で死亡した。出生直前の19.5 dpc の変異マウス皮膚において、定量的 RT-PCR では TG1 mRNA の発現は野生型、*Tgm1*<sup>+</sup>/R142C と同程度であったが、TG1 タンパクの発現量は著しく低下していた。培養表皮角化細胞における TG1 活性も細胞質、細胞膜ともに *Tgm1* R142C/R142C では野生型に比して著しく低かった。*Tgm1* R142C/R142C の HE 染色像では顆粒層の肥厚がみられ、TG1 抗体を用いた蛍光抗体法では TG1 の発現低下、in situ TG アッセイでも顆粒層細胞辺縁における TG 活性の低下が観察された。基質となるロリクリンは野生型では細胞辺縁に局在するが、*Tgm1* R142C/R142C では細胞内に顆粒状に局在した。電顕では *Tgm1* R142C/R142C において角層の著しい肥厚と周辺帯の形成不全、角層細胞内に異常な顆粒の存在、不規則な角層細胞間層板構造、CE に架橋するリピッドエンベロープ (CLE) の形成不全が観察された。角層バリア機能に関して、*Tgm1* R142C/R142C では CE は壊れやすく、トルイジンブルーの皮膚透過性が亢進し、経表皮水分蒸散量 (TEWL) が著しく増加した。19.5 dpc マウス角層細胞間脂質の分子配向を X 線小角散乱を用いて解析したところ、野生型角層では 13 nm 間隔の周期的な脂質分子の配向をしめす回折像がみられたが、*Tgm1* R142C R142C 角層ではそ

のパターンは消失した。

### D. 考察

TG1 に R143C 変異をもつヒトの先天性魚鱗癬は生存可能であるが、R143C に対応する変異をもつマウス *Tgm1* R142C/R142C は生後すぐに死亡し、皮膚の形態および機能的にも、以前松木らが作成した TG1 ノックアウトマウスに酷似した表現型であった。皮膚における TG1 遺伝子の発現は野生型と同程度であるが、皮膚抽出液および組織切片上で TG1 タンパクは減少し、組織切片上の TG 活性の減弱と培養角化細胞における酵素活性の低下が特徴的であった。その原因として、R142C 変異がマウス TG1 の立体構造に影響し、酵素の活性部位の機能が低下した可能性と、変異 TG1 の分解が亢進している可能性が考えられる。*Tgm1* R142C/R142C の皮膚バリア機能については、トルイジンブルーの透過性亢進と TEWL の著しい増加から、outside-inside バリア、inside-outside バリアの両方が障害されていると推測される。CE アッセイおよび電顕所見に示されるように CE が不完全で、TG1 の基質となるロリクリンが表皮顆粒層から角層の細胞辺縁に分布せず、細胞質内に異常な局在を示すこと、CLE の欠如、不規則な角層細胞間層板構造の所見から、TG1 活性の減少によって CE が失われ、それを土台として形成される角層細胞間脂質層によるシール機能が障害された結果と思われる。今回の研究では、Spring-8 で作られるマイクロビーム X 線を用いて、マウス角層の X 線回折像を得ることができた。*Tgm1* R142C/R142C の角層からは正常の角層で観察される 13 nm 間隔の周期的な回折パターンがみられず、電顕所見と併せて考えると、恐らくは、マウスの角層でも角層細胞間脂質分子の配向が不規則になっていると想像される。

### E. 結論

マウスにおいて、R142C 変異 (ヒト R143C に相当) は TG1 酵素の不安定化を生じ、ホ

モ変異マウスではTG1欠損マウスと同様の表現型を示すに至ると推測した。この点突然変異マウスは魚鱗癬様紅皮症に対する変異修復研究に寄与すると期待される。

#### F. 健康危険情報

該当なし

#### G. 研究発表（平成24年度）

論文発表

1. Nakagawa N, Yamamoto M, Imai Y, Sakaguchi Y, Takizawa T, Ohta N, Yagi N, Hatta I, Hitomi K, Takizawa T, Takeda J, Tsuda T, Matsuki M, Yamanishi K. Knocking-in the R142C mutation in transglutaminase 1 disrupts the stratum corneum barrier and postnatal survival of mice. *J Dermatol Sci*, 65, 196-206, 2012
2. Takei-Taniguchi R, Imai Y, Ishikawa C, Sakaguchi Y, Nakagawa N, Tsuda T, Hollenberg MD, Yamanishi K. Interleukin-17-and protease-activated receptor 2-mediated production of CXCL1 and CXCL8 modulated by cyclosporine A, vitamin D3 and glucocorticoids in human keratinocytes. *J Dermatol*, 39 : 625-631, 2012
3. Yamamoto M, Tsuda T, Otaki Y, Nakanishi T, Yamanishi K. Case of epidermolytic ichthyosis (bullous congenial ichthyosiform erythroderma) with a novel L157P mutation in KRT10 complicated by hypercalcemia. *J Dermatol*, 39 : 716-718, 2012
4. Yamamoto M, Sakaguchi Y, Itoh M, Nakagawa N, Fukunaga A, Hitomi K, Yamanishi K. Bathing suit ichthyosis with summer exacerbation : a temperature-sensitive case. *Br J Dermatol*, 166 : 672-674, 2012

学会発表

1. 山西清文 角化症診療のカッティング・エッジ：非水疱型先天性魚鱗癬様紅皮症における表現型と責任遺伝子の多様性，第111回 日本皮膚科学会総会，2012，6月
2. Yamamoto M, Imai Y, Koga H, Hashimoto T, Yamanishi K. Subepidermal bullous dermatosis with IgG autoantibodies against various basement membrane protein, The 2nd Eastern Asia Dermatology Congress, 2012, 6月
3. Yamanishi K. The phenotype of transglutaminase-1 deficiency, Transglutaminases in human disease processes. Gordon Research Conference, 2012, 7月
4. 真鍋 蘭, 今井康友, 山西清文, 佐野統, 青地聖子, 岩月啓氏, 関節症性における血中YKL-40 (Chitinase 3-Like-1) 値の検討, 第27回日本乾癬学会学術大会, 2012, 9月
5. Yamanishi K, Imai Y, Aochi S, Iwatsuki K, Sano H. Serum YKL-40 as a possible biomarker for psoriatic arthritis, 42nd annual ESDR meeting, 2012, 9月

#### H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

なし

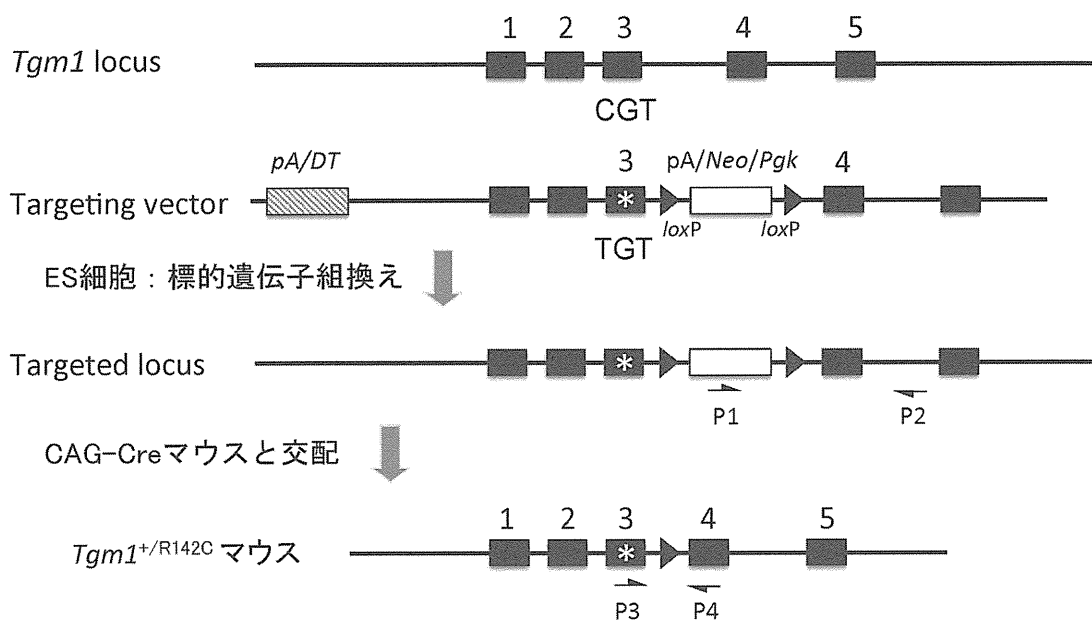


図1 TG1にR142C変異を持つマウスの作成

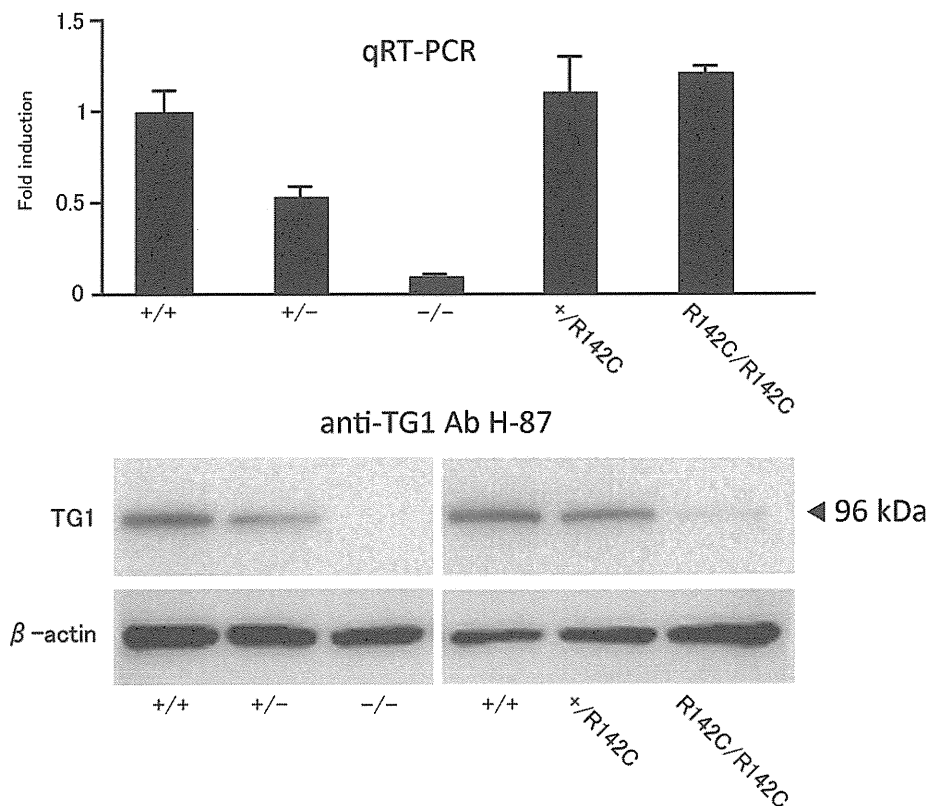


図2 変異マウス皮膚におけるTG1遺伝子・TG1タンパクの発現

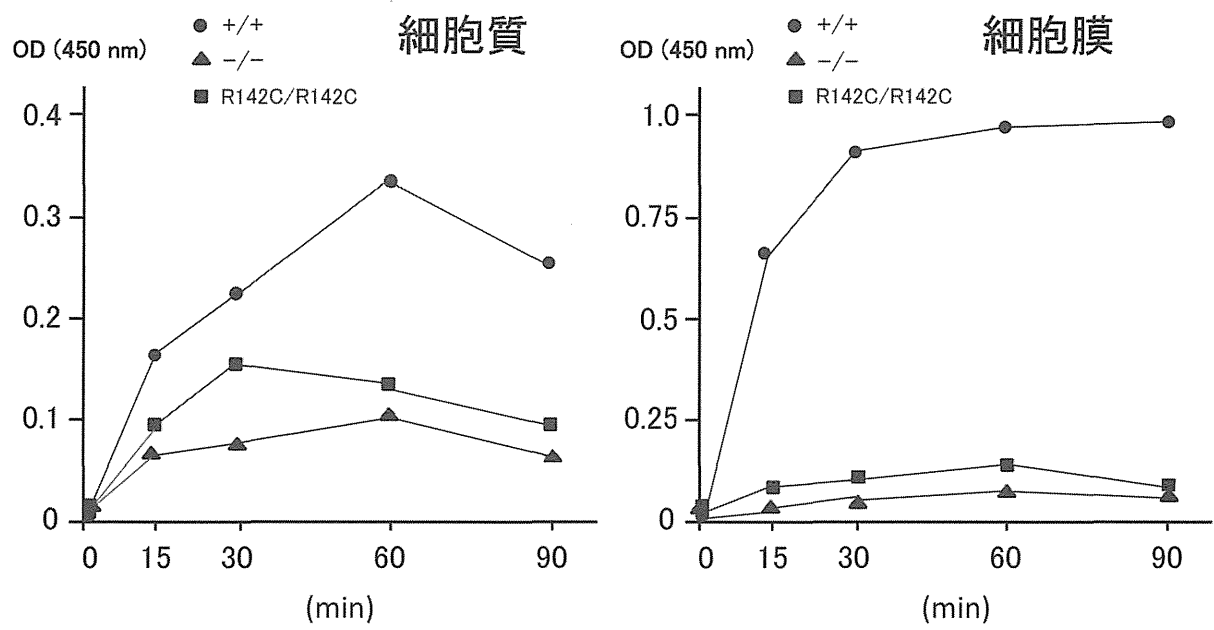


図3 変異マウス角化細胞のTG1活性

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

水疱型・非水疱型先天性魚鱗癬様紅皮症の遺伝子変異と表現型相関、  
および効果的な治療法についての検討

研究協力者 須賀 康 順天堂大学浦安病院皮膚科 教授  
研究分担者 池田志孝 順天堂大学大学院医学研究科皮膚科学・アレルギー学 教授

**研究要旨** 先天性魚鱗癬様紅皮症における角層機能・恒常性保持因子の解明の1つとして、水疱型、および非水疱型の患者症例の遺伝子変異と表現型相関を検討した。これらは本症の病態解明にもつながり、さらにより上手な疾患コントロールを行なうための効果的な治療法を検討するためにも有用と考えられた。

### A. 研究目的

水疱型先天性魚鱗癬様紅皮症（BCIE）は常染色体優性遺伝の疾患であり、原因はケラチン1（K1）またはK10の遺伝子変異により、表皮細胞の細胞骨格が脆弱化することで発症する。前者では掌蹠角化、とくに角化による手足指趾の屈曲拘縮を伴う症例も多く、遺伝子型／表現型相関が指摘されている。

一方、葉状魚鱗癬は常染色体劣性遺伝性の疾患であり、原因は主にトランスグルタミナーゼ1（TGM1）の変異によるもので、表皮上層で形成される辺縁帯が菲薄化することで発症する。広義には非水疱型先天性魚鱗癬様紅皮症（NBCIE）の範疇に属する疾患であり、眼瞼外反、脱毛をはじめ指趾拘縮なども合併する。その他にABCA12遺伝子変異によるものも報告されており、今日ではこれらのNBCIEはautosomal recessive congenital ichthyosis（ARCI）とも呼ばれている。本年度はこれらの多数例について病態解明と上手な疾患コントロールを行なうための効果的な治療法の検討を行なう。

### B. 研究方法

BCIE 3例（症例1～3）、NBCIE 3例（症例4～6）の白血球よりgenomic DNAを抽出し、K1遺伝子、およびTGM1遺伝子を中心にDNA解析を行なった。その他、効果

的な治療法についての検討として、保水機能、角層機能を簡便かつ効果的に維持するための治療法の調査も実施し、さらに合併症でみられる指趾拘縮、眼瞼外反、脱毛などの臨床症状の治療・予防についても合わせて検討した。

### C. 研究結果

K1遺伝子の変異同定例は、症例1（46歳、男）：N188S、症例2（26歳、男）：T301P、症例3（9歳、女）：I479Tであり、症例1はK1の1Aドメインに、症例2と3では2Bドメインにそれぞれ一塩基変異を認めている。これら3症例はいずれも掌蹠角化を伴っているが、症例1では指趾に屈曲拘縮を認め、症例2では屈曲拘縮が著しい。症例3は今のところ拘縮はみられていない。

TGM1遺伝子変異例は、症例4（21歳、男）ではC918T [exon6, 活性部位] とG1166T [exon6, コアドメイン] のcompound heterozygote。症例5（28歳、男）、および症例6（32歳、女：症例2の姉）では371 del A [exon3,  $\beta$  サンドイッチ構造] のhomozygoteであった。特に症例4では魚鱗癬が四肢を中心に斑状に認められ、症例5では眼瞼外反が著しく、症例6では手指の一部に拘縮がみられた。

治療は発症機序に合わせた保湿剤や角質溶解剤などの外用薬以外にも活性型ビタミンD



3 軟膏などが使用されており、乾燥症状の治療と予防を行なうための日常スキンケアとしても有用と思われた。症例 1, 2, 5, 6 では重症のためエトレチナート内服も組み合わせており、症例 5 では眼瞼外反の手術が施行されている。

なお、症例 1 と 6 の遺伝子解析については、久留米大学医学部皮膚科学教室の橋本隆先生と濱田尚宏先生のご厚意によるものである。

#### D. 考察

乾燥は先天性魚鱗癬様紅皮症の皮疹悪化の大きな増悪因子になることが知られている。遺伝子変異と表現型相関から予想される長期予後に合わせた、外用・内服治療は上手な疾患コントロールのために有用であると考えられた。また、症例 2 では眼瞼外反の手術も施行されており、今後は眼瞼外反については外科的な治療法も視野に入れて検討を行なうことが大切である。

#### E. 結論

種々の増悪因子に対する治療対応が不適当であった場合、魚鱗癬様紅皮症をはじめとした遺伝性角化症の症状は悪化する。とくに乾燥は皮疹悪化の大きな増悪因子になることが知られている。保水機能、角層生理機能を改善するきめ細かい投薬、生活指導で上手に対応していくことが実際の臨床でも大切である。とくに過角化による眼瞼外反、手指、足趾などの拘縮や鱗屑剥離による脱毛症の予防は患者 QOL を保ってゆくために大切であり、今後も治療法を工夫していく必要がある。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表（平成24年度）

論文発表

1. Kimura U, Kinoshita A, Haruna K, Mizuno Y, Sekigawa I, Takamori K, Suga Y : Generalized pustular psoriasis-

like eruptions induced after the first use of adalimumab in the treatment of psoriatic arthritis. J Dermatol. 39 : 286-287, 2012.

2. Kimura U, Kinoshita A, Sekigawa I, Takamori K, Suga Y : Successful treatment with adalimumab in a patient with psoriatic arthritis and generalized pustular psoriasis. J Dermatol 39 : 1071-1072, 2012.

3. Suzuki A, Haruna K, Mizuno Y, Kuwae Y, Ono Y, Okumura K, Negi O, Kon Y, Takeuchi K, Takamori K, Ikeda S, Suga Y : Successful treatment of three cases of generalized pustular psoriasis with granulocyte and monocyte adsorption apheresis. Ther Apher Dial 21 : 16 : 445-448, 2012

4. Kida N, Sokabe T, Kashio M, Haruna K, Mizuno Y, Suga Y, Nishikawa K, Kanamaru A, Hongo M, Oba A, Tominaga M : Importance of transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4) in epidermal barrier function in human skin keratinocytes. Eur J Physiol. 463 : 715-725, 2012.

#### H. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）

なし。

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

稀少難治性皮膚疾患に関する医療情報提供と啓発

— 天疱瘡・類天疱瘡の患者交流会と地方自治体主催の公開講座における講演活動を中心に —

研究分担者 橋本 隆 久留米大学医学部皮膚科学教室 教授

**研究要旨** 稀少難治性皮膚疾患に関する調査研究班では、各疾患の症状や診断・治療法、研究成果、患者の生活環境などを広く社会に普及させる目的で様々な方法で医療情報提供と啓発の活動を進めている。平成23年に発足した天疱瘡・類天疱瘡の患者会は、第2回の患者交流会・学習会を平成24年3月に開催した。我々は、この交流会に参加して本疾患の診断や治療に関する講演を行うとともに、患者・家族に対する医療相談を実施した。4月には横須賀市保健所主催の難病講演会に参加し、天疱瘡に関する講演を行った。また、毎年参加を続けている魚鱗癬の会でも医療相談などを行った。これらの講演会や交流会には患者・家族のほか、医療者や一般を含む30-70名程度の参加者が集まり、活発な情報交換や討論がなされている。今後も同様の活動を積極的に推進することにより、患者・医療者・一般の理解や協力が一層深まり、稀少難治性皮膚疾患の調査や研究がさらに発展することが期待される。

共同研究者

武藤 正彦 山口大学大学院医学系研究科皮膚科学、教授  
濱田 尚宏 久留米大学医学部皮膚科学教室、講師  
石井 文人 久留米大学医学部皮膚科学教室、講師  
古賀 浩嗣 久留米大学医学部皮膚科学教室

家族に対して啓発活動を推進すること、地域の一般臨床医や医療従事者へ新しい医療情報を提供することに基づく教育活動を行うことなどを目的とする。

**A. 研究目的**

稀少難治性皮膚疾患に関する調査研究班の研究対象疾患である天疱瘡、表皮水疱症、膿疱性乾癬、先天性魚鱗癬様紅皮症では近年の急速な科学の進歩に伴い、病態解明や新しい診断、治療法開発などが進められている。一方でこれらの疾患に対する社会的認知度は未だ低く、臨床症状や診断・治療法、厚生労働科学研究を含む研究成果、患者の生活環境などの情報を積極的に公開し普及させることは非常に重要である。そのため、本研究の施行は公開講座や患者団体の交流会への参加やマスメディアなどを通して、国民・患者とその

**B. 研究方法**

公開講座や患者団体の交流会、新聞において、本研究班の成果を紹介したり、医療相談を実施したりすることなどにより、医療情報提供と啓発活動を行うこととした。

**C. 研究結果**

1) 天疱瘡

平成24年3月17日に福岡県久留米市で開催された「第2回 天疱瘡・類天疱瘡友の会交流会」に参加し、石井文人と古賀浩嗣が天疱瘡の病態や治療に関する講演を行った。また、4月29日には横須賀市で開かれた市民公開講座「表皮水疱症・天疱瘡講演会」にて橋本隆が講演を行った。また、平成24年12月4-9日の朝日新聞朝刊生活面「患者を生きる」に天疱瘡について掲載された。橋本 隆が患

者会や最近の診断や治療の進歩などについて紹介した。

## 2) 膿疱性乾癬

平成24年4月22日と10月21日に福岡市で開かれた「大分乾癬友の会」「ふくおか乾癬友の会」に橋本 隆、武藤正彦が参加し、乾癬の最新の知見などを含めて講演を行った。

## 3) 先天性魚鱗癬様紅皮症

平成24年6月16日に福岡県宗像市で開催された「魚鱗癬の会 2012交流会」に参加し、橋本 隆と濱田尚宏が患者・家族に対する医療相談などを実施した。

## D. 考察

稀少難治性皮膚疾患のうち、天疱瘡は最初の特定疾患治療研究事業対象疾患であり、昭和50年度から患者への医療費公費負担受給が開始された。平成21年の受給者数は4,557人にのぼる。重篤な皮膚粘膜症状により、患者の生活の質は著しく低下するが、社会的認知度は未だ高くはない。患者団体の「天疱瘡・類天疱瘡友の会」は平成23年に発足したばかりで現在までの会員数は約80名である。稀な自己免疫水疱症である天疱瘡患者の交流と社会への広い理解・支援を得るために今後の活動が期待される。我々は、これまでに開催された2回の交流会において、本研究班の成果や本症の診断や治療に関する新しい知見を紹介することなどにより、医療情報提供と啓発活動に努めた。また、横須賀市保健所主催の講演会においても同様の活動を行った。さらに、朝日新聞「患者を生きる」に天疱瘡が掲載され、本研究班の成果も取り上げられた。これにより天疱瘡が多くの国民に認知されたばかりでなく、患者団体の情報も提供されて今後の活動の起点として非常に深い意味があったと考えられる。

先天性魚鱗癬のうち、水疱型先天性魚鱗癬様紅皮症、非水疱型先天性魚鱗癬様紅皮症、道化師様魚鱗癬、Sjögren-Larsson症候群の4疾患は平成17年に小児慢性特定疾患の認定を受けた。しかし、現時点で根治療法のない

本症において、医療費自己負担分について国からの補助は基本的に18歳未満までという問題点が残された。平成20年6月には水疱型先天性魚鱗癬様紅皮症、非水疱型先天性魚鱗癬様紅皮症、葉状魚鱗癬、道化師様魚鱗癬、魚鱗癬症候群が難病指定を受けた。両者の認定には魚鱗癬の患者団体である「魚鱗癬の会」が、企業や個人のサポートを受けながら新聞やテレビなどのマスメディアにおいて本症の難病指定を訴える活動を続け、十分な署名を得て厚生労働省へ陳情を行ったことが大きく寄与していると考えられる。一方で、今後残される課題としては医療費の公費負担が受けられる特定疾患治療研究事業への認定であるが、これについては未だなされていないのが現状である。

我々は、毎年5月ごろに開催される「魚鱗癬の会」交流会に参加している。この交流会は2日間にわたって開かれ、全国から会員が集まり、日常診療とは異なった形で情報や意見の交換を行うことができる。同時に、我々は診療や研究における新しい情報の提供を目的とした講演も行っている。現在、根治療法の存在しない魚鱗癬に対して、今後の医学の方向性などについて、患者や家族とともに様々な方向から論議できる点でも意義深いと考えている。

公開講座や患者団体の交流会における生の情報提供や活発な討論により、患者と家族ばかりでなく、診療を担当する臨床医・コメディカルを含めた医療者にも本疾患に対する理解が徐々に得られていると考える。一方、医療者や社会に対する啓発活動の推進を望む患者側からの意見も多く、今後の我々の活動も見なおしていく必要がある。

## E. 結論

稀少難治性皮膚疾患に関する医療情報を積極的に提供し普及させることにより、国民・患者・医療者の理解や協力を得ることができると考えられる。これらの成果は本疾患の調査・研究のさらなる発展につながるものと期待される。

## F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

## G. 研究発表（平成24年度）

### 論文発表

1. 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.
2. 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.
3. Fukuda S, Hamada T, Ishii N, Sakaguchi S, Sakai K, Akiyama M, Shimizu H, Masuda K, Izu K, Teye K, Tsuruta D, Karashima T, Nakama T, Yasumoto S, Hashimoto T. Novel ATP-binding cassette, subfamily A, member 12 (ABCA12) mutations associated with congenital ichthyosiform erythroderma. *Br J Dermatol* 166 (1) : 218-221, 2012.
4. Hashikawa K, Niino D, Yasumoto S, Nakama T, Kiyasu J, Sato K, Kimura Y, Takeuchi M, Sugita Y, Hashimoto T, Ohshima K. Clinicopathological features and prognostic significance of CXCL12 in blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm. *Am Acad Dermatol* 66 (2) : 278-291, 2012.
5. 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) : 93-94, 2012.
6. Tsuruta D, Hashimoto T. Commentary : Facial plexiform neurofibromatosis in a patient with neurofibromatosis type 1 : A case report. *Our Dermatol Online* 3 (1) : 28, 2012 Iffat Hassan, Abid Keen, Parvaiz Ahmad Shah.
7. Monshi B, Richter L, Hashimoto T, Groiss E, Haensch N, Rappersberger K. [IgA pemphigus of the subcorneal pustular dermatosis type : Successful therapy with a combination of dapsone and acitretin]. *Hautarzt* 63 (6) : 482-486, 2012.
8. 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.
9. 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* 39 (10) : 882-884, 2012.
10. 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* 166 (5) : 976-980, 2012.
11. Ichimura Y, Matsushita T, Hamaguchi Y,