

加えなかったものに比べ、AK23IgG添加では48種、AK20IgG添加では37種のタンパク質で有意に発現の差を認めた。AK23IgG添加で有意に発現の差がみられたものは、細胞の分化・増殖や、DNA/RNA、タンパク質の生合成や修飾、細胞の骨格や極性、代謝や酸化ストレス、各種細胞小器官に関与するものであった。

D. 考察

実際本研究において今までに有意に発現の差がみられたタンパク質の種類は多岐にわたっていた。これらの更に詳しい解析を行っていくことで新たなシグナル伝達や反応経路を見出すことが可能になると思われる。Western blottingや免疫染色法等を用いて尋常性天疱瘡の更なる機能解析に繋げたい。

E. 結論

天疱瘡培養モデル系で、質量分析法を用いて、分子の分解系に着目したプロトマップ法による解析を開始し、順調に進捗していることを報告する。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表（平成24年度）

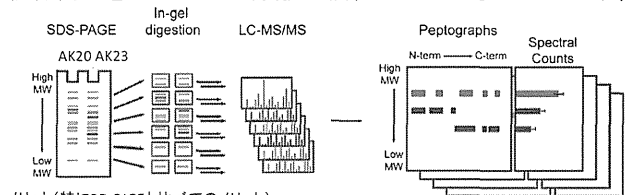
論文発表
なし

学会発表
該当なし。

H. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）

該当なし。

検体同士を1Dのゲルで分離比較、MSにかける GeLC-MS法



メリット(特に2D-DIGEと比べてのメリット)
 ・2D-DIGEに比べて、同定されるタンパク質の数が多い点です。
 ・分子量の異なる位置にタンパク質が同定されるので、予想していないタンパク質の状態が観察されること。

・2D-DIGEでは、1D(等電点分離ゲル)に入りやすいタンパク質(水溶性のタンパク質)を観察しやすいが、GeLC-MSは、難溶性のタンパク質でもゲルに入って分離できるメリットがある。
 ・定量比較は、一応できる。・糖鎖修飾、タンパク分解経路の検討に適している。

刺激に用いた抗体は、
 病因性モノクロー抗体AK23(IgG) vs 非病因性AK20 vs Normal IgG

蛋白の機能	種数	UP	DOWN
表皮細胞の分化・増殖	1	1	-
一般的な分化	3	2	1
DNA合成	3	3	-
RNA合成	1	1	-
転写因子	1	-	1
翻訳開始	1	1	-
タンパク質の生合成	4	2	2
タンパク修飾	2	2	-
細胞骨格制御	5	3	2
細胞内pH & Naチャンネルの調整	1	1	-
細胞極性	2	1	1
G-protein	2	1	-
脂質代謝	1	-	1
活性酸素 酸化ストレス制御調節因子	4	3	1
ミトコンドリア機能	3	1	2
ゴルジ体機能	1	-	1
リソゾーム	1	1	-
小胞体	3	2	1
機能不明	9	7	2

図1 解析データの結果

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

GeLC-MS法を用いた天疱瘡の病因抗体によるシグナル経路の解析（2）

研究分担者 青山裕美 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚科学 准教授

研究要旨 天疱瘡抗体には病因性抗体と非病因性抗体があり、天疱瘡抗体刺激により細胞内伝達機構が活性化されることがわかっている。われわれは、病因シグナル経路をさらに解析する目的で、プロテオーム解析を行った。その結果をもとにウエスタンブロッティングと免疫染色でタンパクの発現量の変化と局在の変化を順次確認している。細胞接着分子の調節タンパクとミトコンドリアの酸化還元調節分子の結果を紹介する。

共同研究者

山口麻里、藤井一恭、岩月啓氏（岡山大学）、
近藤 格（国立がん研究センター研究所）

A. 研究目的

天疱瘡の病因シグナルを解析する。特に新規の経路を見いだす。

B. 研究方法

1. 細胞培養

正常ヒト表皮細胞を無血清培地 Epilife (Ca^{2+} 0.06mM) を用いて70%コンフレントに培養した。 Ca^{2+} 濃度を1.2 mMに変更し9時間後より、実験に用いた。

2. 抗体

病因性のある抗デスマグレイン3抗体マウスモノクロナル抗体 AK23と非病因性抗体 AK20、ウシのVII型コラーゲンとのみ反応するマウスモノクロ抗体 BMO34をコントロール IgGとして用いた。ハイブリドーマ細胞を無血清培地に馴化し、培養上清をプールして、IgG分画を精製した。

精製プロトコール（AK23）

精製カラム：Hitrap proteinA HP 5 mL、
Wash Buffer：3 M NaCl、10mM Tris-Cl pH8.0、
Elution Buffer：50mM NaOAc pH5.0、カラムを Wash buffer 50mL で洗浄後、ハイブリドーマ上清を200～300mL程度カラムに流し、

Wash buffer 50mL で洗浄後10～20mLの Elution Buffer で溶出した。OD280で濃度測定し濃度の高いフラクションを得た。収量は500mLで0.25 (mg/mL) × 12 (mL) = 3 (mg) 程度であった。ELISA で抗体価を確認した。

3. サンプル調製

培養した表皮細胞に AK20、AK23、コントロールとして BM034 を 0.3mg/ml 添加し24時間刺激した。

サンプル調整 10%TCA で固定後、Urea 含有バッファーでタンパク抽出を行った。

コントロール、AK20、AK23刺激後の抽出サンプルを、3通りの組み合わせで1Dゲル2レーンに泳動し特異抗体にて発現量を確認した（図1）

C. 研究結果

抗体は40種類に及ぶため、中で比較的差がみられた2分子について分子名は明らかにできないが、報告する。

Ras 関連タンパク分子 X AK23と AK20 どちらでも増加していた。病変部位では、棘融解を起こした細胞や水疱底の基底細胞の上部に強く発現していた（図1）。

ミトコンドリア酸化還元調節因子 Y AK23と AK20 どちらでも増加していた。棘融解を起こしている細胞で強く染色性が增强していた（図2）。

D. 考察

プロテオーム解析結果の再現性を複数種の分子で再確認したが、抗体の性能やエピトープによるのか、再現性のない分子もあり、丁寧に解析をしていく必要がある。今回差がみられた分子が棘融解に直接関与しているかどうかを見当するためにRNAiで発現を低下させて棘融解を抑制できるかどうか、スクリーニングをかける方法も今後考慮したい。

E. 結論

天疱瘡培養モデル系で、質量分析法を用いて、分子の分解系に着目したプロトマップ法による解析を開始し、タンパクレベルで結果の再現性を見当している。量と局在のみならず、機能解析を組み合わせることにより、より中心的な役割をする病因シグナル伝達経路を解析していきたい。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表（平成25年度）

論文発表

なし

学会発表

該当なし。

H. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）

該当なし

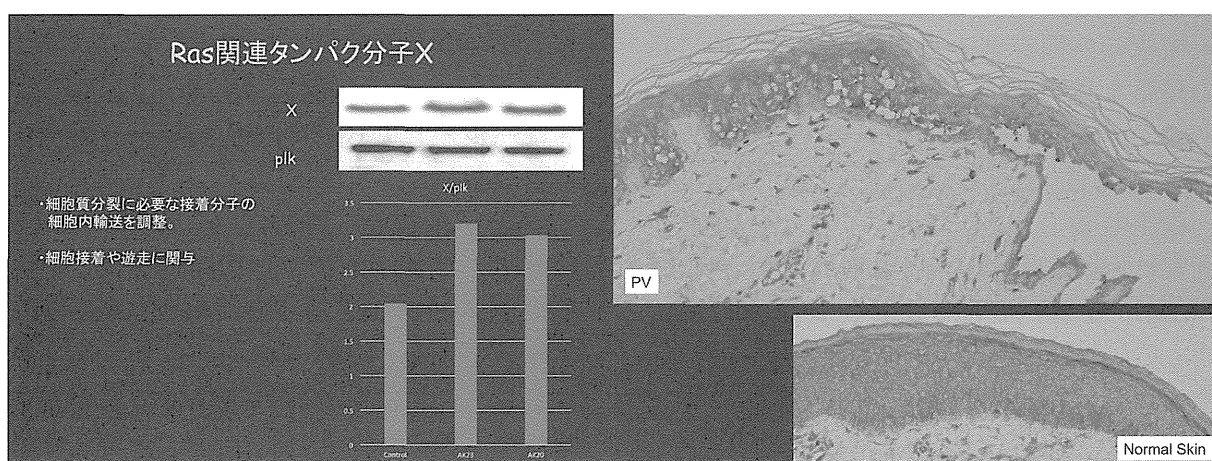


図1 Ras関連分子XはAK23、AK20いずれの刺激でも増加し、棘融解細胞でより濃染していた。

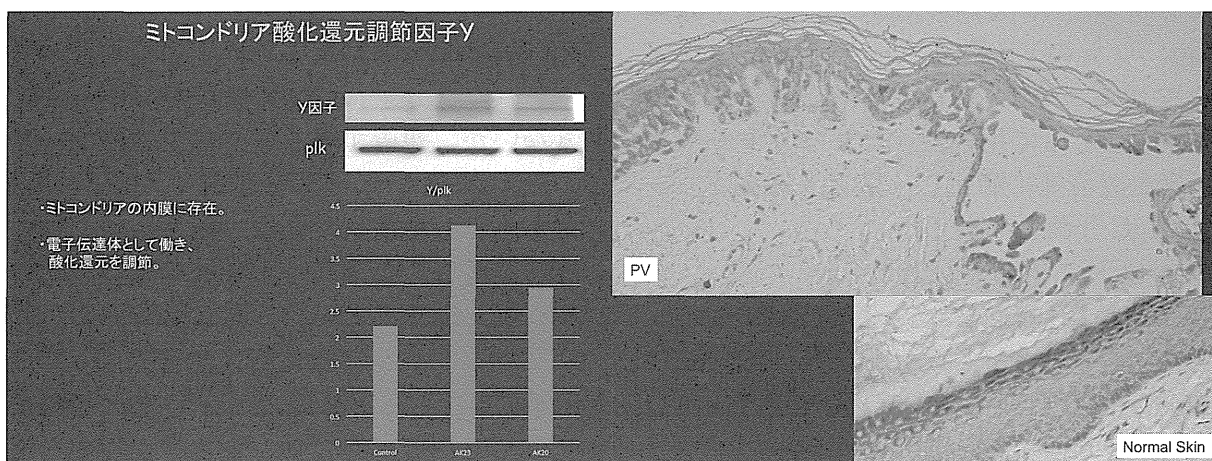


図2 ミトコンドリア酸化還元調節因子YはAK23刺激で増加し水疱形成部位で増加していた。

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

腫瘍随伴性天疱瘡の臨床と血清学的抗原抗体解析

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 腫瘍随伴性天疱瘡（PNP）は主に血液系悪性腫瘍を伴い、重篤なびらん性粘膜病変と多彩な皮疹を呈する自己免疫性水疱症である。血中に抗Dsg抗体のみでなく、プラキンファミリー-蛋白に対する自己抗体を検出することを特徴とする。本研究では、PNPの104例について臨床及び血清学的抗原抗体について検討した。

共同研究者

古村南夫 久留米大学医学部皮膚科学教室
准教授
大畑千佳 久留米大学医学部皮膚科学教室
准教授
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
大園綾花 久留米大学医学部皮膚科学教室
助教
十亀良介 久留米大学医学部皮膚科学教室
助教

A. 研究目的

腫瘍随伴性天疱瘡（PNP）は、悪性または良性的な新生物を伴い、口腔内の粘膜病変を主体とし、多彩な皮膚病変を認める自己免疫性疾患である。PNPにおいては、多くの抗原蛋白に対する自己抗体を有することが特徴的とされ、免疫沈降法により250kDa、230kDa、210kDa、190kDa、170kDaの蛋白群とさまざまなパターンで反応することが知られている。

今回、過去16年間当科で経験したPNP症例と、国内外から当科に依頼のあったPNP症例104名について、臨床及び血清学的抗原抗体解析を行った。

B. 研究方法

今回のPNPの選択（診断）基準として、表皮抽出液を用いた免疫ブロット法で210kDa（エンボプラキン）と190kDa（ペリプラキン）が共に陽性で、粘膜症状を有しPNPと診断された症例とした。

発症年齢、性別、臨床症状、随伴腫瘍、蛍光抗体法、免疫ブロット法、ELISA法、治療法、予後などの臨床及び血清学的抗原抗体解析の各項目についてretrospectiveに検討した。

C. 研究結果

発症年齢は11歳～88歳で平均は56.7歳であり、男女比は1：1.5であった。

臨床所見では、詳細について調べ得ることが出来た83症例について、全例に粘膜疹を認めた。粘膜疹のみの症例が83例中24例（29%）であり、粘膜疹と皮疹を認めたのは83例中59例（71%）であった。粘膜疹の病変部位の内訳は、口唇、口腔内部の病変が95%と高率であり、眼瞼部に46%、鼻粘膜、咽頭・喉頭に14%、外陰部に32%の割合で認めた（重複あり）。皮疹の性状は多型紅斑様、尋常性天疱瘡様、扁平苔癬様と多彩であった。

随伴腫瘍は、悪性リンパ腫が43例であり、次にキャスルマン病が14例、さらに固形癌は12例の順で占めていた。未検出の症例が12例存在した（図1）。

病理組織学的所見は、表皮内水疱、表皮下

水疱、棘融解、表皮細胞壊死と多彩な組織像を呈した。蛍光抗体直接法では、52例中38例(73%)が表皮細胞膜にIgGが沈着し、52例中29例(55%)が基底膜にC3が沈着した。蛍光抗体間接法(IIF)では、血中抗表皮細胞間IgG抗体の陽性率は104例中69例(66%)であった。また、ラット膀胱切片を基質としたIIFの陽性率は104例中83例(80%)であった。

正常皮膚表皮抽出液を用いた免疫ブロット法は、確定診断を190 k Da (エンボプラキン)と、210 k Da (ペリプラキン)陽性としているため、ともに全例が陽性であった。その他の抗原検出として230kDa、130Daが陽性であった症例がそれぞれ10例ずつみられた(図2)。

Dsg 1 /Dsg 3 -ELISA法では、抗Dsg 1抗体の陽性率は104例中35例(34%)、抗Dsg 3抗体の陽性率は104例中82例(79%)であった。抗Dsg 1 /Dsg 3抗体が共に陽性の症例が104例中28例(27%)、抗Dsg 1 /Dsg 3抗体が共に陰性の症例が104例中15例(14%)であった(図3)。さらに、哺乳細胞発現デスモコリン(Dsc) IgG抗体のELISA法では、Dsc 1の陽性率が102例中19例(18%)、Dsc 2の陽性率が102例中42例(41%)、Dsc 3の陽性率が102例中62例(61%)であった。

治療法は、随伴する腫瘍への治療以外に、104例中70例(67%)がステロイド内服治療及びステロイドパルス療法を行っていた。さらにステロイド治療を行った70例のうち、36例が免疫抑制剤、IVIg、血漿交換、リツキシマブなどの治療を併用していた。

予後の検討では生存36例、死亡40例(不明28例)であり、死亡例の内訳では、閉塞性細気管支炎が原因での死亡が40例中20例(50%)であり、その他は腫瘍自体に関連したもの、肺炎、敗血症等であった。

D. 考察

PNPの臨床所見、病理組織所見は多彩であった。粘膜所見のみの症例が83例中24例

(29%)存在し、粘膜優位型の尋常性天疱瘡との鑑別を要する。随伴腫瘍は、固形腫瘍の割合が既存の報告より多く、全身の各臓器癌であった。ELISA法で抗Dsg 1抗体、抗Dsg 3抗体が共に陰性の症例が104例中15例(14%)存在し、また抗Dsc抗体の陽性例も認め、抗Dsc抗体の病原性の関与が示唆された。PNPは閉塞性細気管支炎の合併が高頻度であり、致死的要因となりうることが示唆された。

E. 結論

臨床所見、病理組織学的及び免疫組織学的所見、血清学免疫学的所見についてPNP 104例を検討し、多くの統計的知見を得ることができた。これらの結果は本疾患の調査・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

特記すべき事項なし。

G. 研究発表(平成25年度)

論文発表

1. Aoi J, Makino K, Sakai K, Masuguchi S, Fukushima S, Jinnin M, Inoue Y, Koga H, Hashimoto T, Ihn H: Case of paraneoplastic pemphigus with follicular lymphoma treated with rituximab. *J Dermatol* 40 (4): 285-286, 2013.
2. Arai R, Okuda H, Tsuruta D, Koga H, Teye K, Ishii N, Ohata C, Hashimoto T: IgA pemphigus with non-pustular erythematous lesions and IgA antibodies to desmocollins 1 and 2. *Eur J Dermatol*, 2013. Jun 24. [Epub ahead of print]
3. Asahina A, Koga H, Suzuki Y, Hashimoto T: IgA pemphigus associated with diffuse large B-cell lymphoma showing unique reactivity with desmocollins: unusual clinical and histopathological features. *Br J Dermatol* 168 (1): 224-226, 2013.

4. Fukuchi O, Suko A, Matsuzaki H, Baba H, Yoshida H, Takeuchi T, Odawara S, Fukuda S, Hashimoto T : Anti-laminin-332 mucous membrane pemphigoid with autoantibodies to alpha3, beta 3 and gamma2 subunits of laminin-332 as well as to BP230 and periplakin associated with adenocarcinoma from an unknown primary site. *J Dermatol* 40 (1) : 61-62, 2013.
5. T, Akin MA, Sarici D, Hallac K, Kurtoglu S, Hashimoto T : Guaiiazulene : a new treatment option for recalcitrant diaper dermatitis in NICU patients. *J Matern Fetal Neonatal Med* 26 (2) : 197-200, 2013.
6. Hamada T, Tsuruta D, Fukuda S, Ishii N, Teye K, Numata S, Dainichi T, Karashima T, Ohata C, Furumura M, Hashimoto T : How do keratinizing disorders and blistering disorders overlap? *Exp Dermatol* 22 (2) : 83-87, 2013.
7. Haneda T, Imai Y, Koga H, Hashimoto T, Yamanishi K : Case of subepidermal bullous dermatosis with immunoglobulin G autoantibodies against various basement membrane zone proteins. *J Dermatol* 40 (4) : 283-285, 2013.
8. Hiroyasu S, Ozawa T, Kobayashi H, Ishii M, Aoyama Y, Kitajima Y, Hashimoto T, Jones JC, Tsuruta D : Bullous pemphigoid IgG induces BP180 internalization via a macropinocytic pathway. *Am J Pathol* 182 (3) : 828-840, 2013.
9. Imamura K, Tsuruta D, Tsuchisaka A, Mori T, Ohata C, Furumura M, Hashimoto T : Anaphylaxis caused by ingestion of jellyfish. *Eur J Dermatol*, 2013. Jun 24. [Epub ahead of print]
10. 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* 27 (1) : e17-23, 2013.
11. Kim J, Teye K, Koga H, Yeoh SC, Wakefield D, Hashimoto T, Murrell DF : Successful single-cycle rituximab treatment in a patient with pemphigus vulgaris and squamous cell carcinoma of the tongue and IgG antibodies to desmocollins. *J Am Acad Dermatol* 69 (1) : e26-27, 2013.
12. Koga H, Ishii N, Dainichi T, Tsuruta D, Hamada T, Ohata C, Karashima T, Furumura M, Hashimoto T : An attempt to develop mouse model for anti-laminin gamma 1 pemphigoid. *J Dermatol Sci* 70 (2) : 108-115, 2013.
13. Koga H, Tsuruta D, Ohyama B, Ishii N, Hamada T, Ohata C, Furumura M, Hashimoto T : Desmoglein 3, its pathogenicity and a possibility for therapeutic target in pemphigus vulgaris. *Expert Opin Ther Targets* 17 (3) : 293-306, 2013.
14. Miyashima S, Honda M, Hashimoto K, Tatematsu K, Hashimoto T, Sato-Nara K, Okada K, Nakajima K. A comprehensive expression analysis of the Arabidopsis MICRORNA165/ 6 gene family during embryogenesis reveals a conserved role in meristem specification and a non-cell-autonomous function. *Plant Cell Physiol*. 54 (3) : 375-84. 2013
15. 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 68 (3) : e89-95, 2013.
16. Kurashige Y, Minemura T, Nagatani T, Koga H, Hashimoto T : Acute blistering disease presenting IgG autoantibodies against NC16A and COOH-terminal domains of BP180 and laminin-332, with characteristic distribution of eruptions. *Eur J Dermatol* 23 (1) : 109-110, 2013.
 17. Majima Y, Yagi H, Tateishi C, Groth S, Schmidt E, Zillikens D, Koga H, Hashimoto T, Tokura Y : A successful treatment with ustekinumab in a case of antilaminin-gamma 1 pemphigoid associated with psoriasis. *Br J Dermatol* 168 (6) : 1367-1369, 2013.
 18. Maruta Y, Ohata C, Ishii N, Koga H, Ohyama B, Dainichi T, Hamada T, Furumura M, Tsuruta D, Nakama T, Hashimoto T : Linear IgA bullous dermatosis with a prurigo nodularis-like appearance. *Eur J Dermatol* 23 (1) : 107-109, 2013.
 19. Matsukura S, Takahashi K, Hirokado M, Ikezawa Y, Nakamura K, Fukuda S, Hashimoto T, Ikezawa Z, Aihara M, Kambara T : Recalcitrant pemphigus herpetiformis with high titer of immunoglobulin G antibody to desmoglein 1 and positive IgG antibody to desmoglein 3, elevating thymus and activation-regulated chemokine. *Int J Dermatol*, 2013. Feb 22. doi : 10.1111/j.1365-4632.2012.05725.x. [Epub ahead of print]
 20. Mitate E, Kawano S, Nakao Y, Goto Y, Kobayashi I, Onozawa K, Hashimoto T, Nakamura S : Concurrence of autoantibodies to both laminin gamma 1 and gamma 2 subunits in a patient with kidney rejection response. *Acta Derm Venereol* 93 (1) : 114-115, 2013.
 21. Nin M, Tokunaga D, Ishii N, Komai A, Hashimoto T, Katoh N : Case of coexisting psoriatic arthritis and bullous pemphigoid improved by etanercept. *J Dermatol* 40 (1) : 55-56, 2013.
 22. Numata S, Teye K, Tsuruta D, Sogame R, Ishii N, Koga H, Natsuaki Y, Tsuchisaka A, Hamada T, Karashima T, Nakama T, Furumura M, Ohata C, Kawakami T, Schepens I, Borradori L, Hashimoto T : Anti-alpha-2-macroglobulin-like-1 autoantibodies are detected frequently and may be pathogenic in paraneoplastic pemphigus. *J Invest Dermatol* 133 (7) : 1785-1793, 2013.
 23. Ohata C, Higashi Y, Yamagami J, Koga H, Ishii N, Kanekura T, Furumura M, Hashimoto T : Coexistence of Pemphigus Herpetiformis With IgG Antibodies to Desmoglein 1 and Pemphigoid With IgG Antibodies to BP180 C-Terminal Domain and Laminin gamma2. *JAMA Dermatol* 149 (4) : 502-504, 2013.
 24. Ohata C, Koga H, Teye K, Ishii N, Hamada T, Dainichi T, Furumura M, Sato M, Sueki H, Hashimoto T : Concurrence of bullous pemphigoid and herpetiform pemphigus with IgG antibodies to desmogleins 1 / 3 and desmogleins 1-3. *Br J Dermatol* 168 (4) : 879-881, 2013.
 25. Ohata C, Saiki M, Koga H, Ono F, Ohyama B, Ishii N, Hamada T, Tsuruta D, Furumura M, Hashimoto T : Discoid lupus erythematosus with the presence of a lupus band in the hair follicle basement membrane zone and IgA anti-BP230 autoantibodies. *Eur J Dermatol*, 2013. Jun 19. [Epub ahead of print]
 26. Ohata C, Yasunaga M, Tsuruta D, Ishii N, Hamada T, Dainichi T, Karashima T,

- Nakama T, Hashimoto T : Nodular morphea (NM) : report of a case of concurrent NM and morphea profunda associated with limited type systemic sclerosis, and overview and definition for NM. *Eur J Dermatol* 23 (1) : 87-93, 2013.
27. Ono S, Tanioka M, Tanizaki H, Fujisawa A, Koga H, Hashimoto T, Kamiya K, Aoyama Y, Iwatsuki K, Miyachi Y : Concurrence of autoantibodies to bullous pemphigoid antigens and desmoglein 3 : analysis of pathogenic and nonpathogenic antibodies. *Br J Dermatol* 168 (6) : 1357-1360, 2013.
 28. Parmar NV, Kanwar AJ, Minz RW, Parsad D, Vinay K, Tsuruta D, Ishii N, Hashimoto T : Assessment of the therapeutic benefit of dexamethasone cyclophosphamide pulse versus only oral cyclophosphamide in phase II of the dexamethasone cyclophosphamide pulse therapy : a preliminary prospective randomized controlled study. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 79 (1) : 70-76, 2013.
 29. Poot AM, Diercks GF, Kramer D, Schepens I, Klunder G, Hashimoto T, Borradori L, Jonkman MF, Pas HH : Laboratory diagnosis of paraneoplastic pemphigus. *Br J Dermatol* 169 (5) : 1016-1024, 2013.
 30. Sato H, Toriyama K, Yagi S, Takanari K, Takama H, Sawada M, Hashimoto T, Kamei Y : Surgical Correction of Microstomia in a Patient With Antilaminin 332 Mucous Membrane Pemphigoid. *Annals of plastic surgery*, 2013. Mar 12. [Epub ahead of print]
 31. Shimizu A, Funakoshi T, Ishibashi M, Yoshida T, Koga H, Hashimoto T, Amagai M, Ishiko A : Immunoglobulin G deposition to nonhemidesmosomal lamina lucida and early neutrophil involvement are characteristic features in a case of anti-p200 pemphigoid. *Br J Dermatol* 168 (3) : 647-655, 2013.
 32. Sugiura K, Koga H, Ishikawa R, Matsumoto T, Matsubara M, Hagiwara R, Muro Y, Hashimoto T, Akiyama M : Paraneoplastic pemphigus with anti-laminin-332 autoantibodies in a patient with follicular dendritic cell sarcoma. *JAMA Dermatol* 149 (1) : 111-113, 2013.
 33. Suzuki K, Nishiwaki K, Yamada H, Baba H, Hori K, Takeuchi T, Fukuda S, Hashimoto T : Case of paraneoplastic pemphigus associated with retroperitoneal diffuse large B-cell lymphoma and fatal bronchiolitis obliterans-like lung disease. *J Dermatol* 40 (2) : 142-144, 2013.
 34. Waki T, Miyashima S, Nakanishi M, Ikeda Y, Hashimoto T, Nakajima K. A GAL 4 -based targeted activation tagging system in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 73 (3) : 357-67. 2013
 35. Takegami Y, Makino T, Matsui K, Ueda C, Fukuda S, Hashimoto T, Shimizu T : Coexistence of antilaminin-332-type mucous membrane pemphigoid, lamina lucida-type linear IgA bullous dermatosis and Sjogren syndrome. *Clin Exp Dermatol* 38 (2) : 194-196, 2013.
 36. Tashima S, Konishi K, Koga H, Hashimoto T : A case of vancomycin-induced linear IgA bullous dermatosis with circulating IgA antibodies to the NC16a domain of BP180. *Int J Dermatol*, 2013. Jul 8. doi : 10.1111/ijd.12047. [Epub ahead of print]
 37. Tsuruta D, Brzezinski P, Koga H, Ohata C, Furumura M, Hashimoto T : Bullous pemphigoid with prominent milium

- formation. *Acta Dermatovenerol Croat* 21 (1) : 35-38, 2013.
38. Tsuruta D, Dainichi T, Hamada T, Ishii N, Hashimoto T : Molecular diagnosis of autoimmune blistering diseases. *Methods Mol Biol* 961 : 17-32, 2013.
 39. Tsuruta D, Ohzono A, Ishii N, Ono F, Hamada T, Dainichi T, Ohata C, Furumura M, Noda K, Hashimoto T : Overlap syndrome comprised of systemic sclerosis and systemic lupus erythematosus associated with spinocerebellar ataxia type 6 and MALT lymphoma. *Eur J Dermatol* 23 (1) : 117, 2013.
 40. Ueda A, Ishii N, Temporin K, Yamazaki R, Murakami F, Fukuda S, Hamada T, Dainichi T, Kyoya M, Saito C, Matsunaga R, Kimura S, Kawakami T, Soma Y, Hashimoto T : IgA pemphigus with paraneoplastic pemphigus-like clinical features showing IgA antibodies to desmoglein 1 / 3 and desmocollin 3, and IgG and IgA antibodies to the basement membrane zone. *Clin Exp Dermatol* 38 (4) : 370-373, 2013.
 41. Ueda A, Ishii N, Teye K, Dainichi T, Ohyama B, Hamada T, Tsuruta D, Kamioka N, Mitsui K, Hosaka H, Soh I, Nakada T, Hashimoto T : Unique herpetiform bullous dermatosis with IgG antibodies to desmocollins 1 / 3 and LAD-1. *British Journal of Dermatology* 169 (3) : 719-721, 2013.
 42. Ueo D, Hamada T, Hashimoto T, Hatano Y, Okamoto O, Fujiwara S : Late-onset Darier's disease due to a novel missense mutation in the ATP2A 2 gene : a different missense mutation affecting the same codon has been previously reported in acrokeratosis verruciformis. *J Dermatol* 40 (4) : 280-281, 2013.
 43. Wakumoto-Nakashima K, Yoshida Y, Adachi K, Yamamoto O, Hashimoto T : Rare appearance of toxic epidermal necrolysis-like histopathological features in a case of atypical pemphigus with serological pemphigus vulgaris character. *J Dermatol* 40 (1) : 63-64, 2013.
 44. Washio K, Nakamura A, Fukuda S, Hashimoto T, Horikawa T : A case of lichen planus pemphigoides successfully treated with a combination of cyclosporine a and prednisolone. *Case reports in dermatology* 5 (1) : 84-87, 2013.
 45. Wozniak K, Hashimoto T, Ishii N, Koga H, Huczek M, Kowalewski C : Fluorescence overlay antigen mapping using laser scanning confocal microscopy differentiates linear IgA bullous dermatosis from epidermolysis bullosa acquisita mediated by IgA. *Br J Dermatol* 168 (3) : 634-638, 2013.
 46. Yamada T, Nakamura S, Demitsu T, Nakamura T, Iida E, Yoneda K, Fukuda S, Hashimoto T : Paraneoplastic pemphigus mimicking toxic epidermal necrolysis associated with B-cell lymphoma. *J Dermatol* 40 (4) : 286-288, 2013.
 47. Yashiro M, Nakano T, Taniguchi T, Katsuoka K, Tadera N, Miyazaki K, Teye K, Koga H, Hashimoto T : IgA Paraneoplastic Pemphigus in Angioimmunoblastic T-cell Lymphoma with Antibodies to Desmocollin 1, Type VII Collagen and Laminin 332. *Acta Derm Venereol*, 2013. Jul 4. doi : 10.2340/00015555-1660. [Epub ahead of print]
 48. Yoshimura K, Nakano S, Tsuruta D, Ohata C, Hashimoto T : Successful treatment with 308-nm monochromatic

- excimer light and subsequent tacrolimus 0.03% ointment in refractory plasma cell cheilitis. *J Dermatol* 40 (6) : 471-474, 2013.
49. Tani N, Ogoshi M, Kawakubo C, Tajima S, Hamada T, Ishii N, Furumura M, Tsuruta D, Ohata C, Hashimoto T : Case of relapsing polychondritis showing elevation of anti-type II collagen antibody titer. *J Dermatol* 40 (9) : 767-768, 2013.
 50. Yoshida Y, Tsuruta D, Nagata H, Ishii N, Nakama T, Yomoda M, Furumura M, Ohata C, Hashimoto T : Second reported case of unilateral angiokeratoma of the vulva. *J Dermatol* 40 (9) : 763-764, 2013.
 51. Li X, Hamada T, Ohata C, Furumura M, Hashimoto T : Potential mesenchymal stem cell therapy for skin diseases. *Exp Dermatol* 22 (8) : 515-516, 2013.
 52. Saruta H, Ishii N, Teye K, Ono F, Ohyama B, Koga H, Ohata C, Furumura M, Tsuruta D, Hashimoto T : Two cases of pemphigus vegetans with IgG anti-desmoglein 3 antibodies. *JAMA Dermatol* 149 (10) : 1209-1213, 2013.
 53. Kawano H, Ohata C, Ono F, Ishii N, Hamada T, Nakama T, Furumura M, Tsuruta D, Hashimoto T : Edema and ulcers on the legs and dilated abdominal veins caused by thromboembolism of inferior vena cava in a patient with protein C deficiency. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 79 (5) : 725, 2013.
 54. Yoneda K, Demitsu T, Kakurai M, Narita T, Nakai K, Kubota Y, Ishii N, Hashimoto T : Detection of Apoptotic Keratinocytes in a Case of Bullous Pemphigoid Developed after Graft-versus-host Disease. *Acta Derm Venereol*, 2013. Aug 8. doi : 10.2340/00015555-1676. [Epub ahead of print]
 55. Kato K, Moriyama Y, Saito H, Koga H, Hashimoto T : A Case of Mucous Membrane Pemphigoid Involving the Trachea and Bronchus with Autoantibodies to beta 3 Subunit of Laminin-332. *Acta Derm Venereol*, 2013. Aug 27. doi : 10.2340/00015555-1659. [Epub ahead of print]
 56. Nishimura R, Fujimoto N, Kito K, Uchiyama K, Koga H, Hodohara K, Hashimoto T, Fujiyama Y, Tanaka T : Refractory mucous membrane pemphigoid which developed after allogeneic stem cell transplantation and was successfully treated with rituximab. *Eur J Dermatol* 23 (4) : 562-564, 2013.
 57. Fukuda S, Li X, Momosaki N, Hamada T, Nakama T, Yasumoto S, Awazawa R, Uezato H, Hashimoto T : Detection of human papilloma virus type 60 in a case of ridged wart. *Eur J Dermatol* 23 (4) : 558-559, 2013.
 58. Sakaguchi M, Bito T, Oda Y, Kikusawa A, Nishigori C, Munetsugu T, Yokozeki H, Itotani Y, Niguma T, Tsuruta D, Tateishi C, Ishii N, Koga H, Hashimoto T : Three Cases of Linear IgA/IgG Bullous Dermatitis Showing IgA and IgG Reactivity With Multiple Antigens, Particularly Laminin-332. *JAMA Dermatol*, 2013. Sep 4. doi : 10.1001/jamadermatol.2013.5691. [Epub ahead of print]
 59. Numata S, Hamada T, Teye K, Matsuda M, Ishii N, Karashima T, Kabashima K, Furumura M, Ohata C, Hashimoto T : Complete Maternal Isodisomy of Chromosome 5 in a Japanese Patient with Netherton Syndrome. *J Invest Dermatol*, 2013. Sep 16. doi : 10.1038/jid.2013.398. [Epub ahead of print]
 60. Tsuruta D, Kanwar AJ, Vinay K,

- Fukuda S, Koga H, Dainichi T, Ohata C, Ishii N, Hashimoto T : Clinical and immunologic characterization in 26 Indian pemphigus patients. *J Cutan Med Surg* 17 (5) : 321-331, 2013.
61. Garcia-Martin P, Fraga J, Hashimoto T, Garcia-Diez A : Brunsting-perry type cicatricial pemphigoid with IgG autoantibodies to LAD-1. *Br J Dermatol*, 2013. Oct 11. doi : 10.1111/bjd.12677. [Epub ahead of print]
62. Gohara M, Yagami A, Suzuki K, Morita Y, Sano A, Iwata Y, Hashimoto T, Matsunaga K : Allergic contact dermatitis caused by phenylethyl resorcinol [4 -(1-phenylethyl) -1, 3 -benzenediol], a skin-lightening agent in cosmetics. *Contact dermatitis* 69 (5) : 319-320, 2013.
63. Sakaguchi M, Tsuruta D, Ishii N, Hamada T, Ohata C, Furumura M, Hashimoto T : Development of acquired idiopathic generalized anhidrosis in a case of Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Eur J Dermatol*, 2013. Oct 14. [Epub ahead of print]
64. Shintani T, Ohata C, Koga H, Ohyama B, Hamada T, Nakama T, Furumura M, Tsuruta D, Ishii N, Hashimoto T : Combination therapy of fexofenadine and montelukast is effective in prurigo nodularis and pemphigoid nodularis. *Dermatol Ther*, 2013. Sep 17. doi : 10.1111/dth.12094. [Epub ahead of print]
65. Ohata C, Fukuda S, Ishii N, Koga H, Hamada T, Furumura M, Hashimoto T : Refractory anti-laminin gamma 1 pemphigoid with psoriasis vulgaris successfully treated by double-filtration plasmapheresis. *Eur J Dermatol*, 2013. Sep 17. doi : 10.1111/dth.12094. [Epub ahead of print]
66. Kawakami T, Koga H, Saruta H, Ueda A, Inoue Y, Soma Y, Ishii N, Hashimoto T : Four mild but refractory cases of pemphigus foliaceus successfully treated with intravenous immunoglobulin. *J Dermatol*, 2013. Oct 16. doi : 10.1111/1346-8138.12280. [Epub ahead of print]
67. Saruta H, Tsuruta D, Hashikawa K, Ohyama B, Ishii N, Furumura M, Ohata C, Yasumoto S, Ohshima K, Hashimoto T : Old-aged case of indolent grade III lymphomatoid granulomatosis successfully treated only with oral prednisolone. *J Dermatol*, 2013. Oct 16. doi : 10.1111/1346-8138.12261. [Epub ahead of print]
68. Tanaka N, Ohata C, Ishii N, Imamura K, Ueda A, Furumura M, Yasumoto S, Kawakami T, Tsuruta D, Hashimoto T : Comparative study for the effect of photodynamic therapy, imiquimod immunotherapy and combination of both therapies on 40 lesions of actinic keratosis in Japanese patients. *J Dermatol*, 2013. Oct 22. doi : 10.1111/1346-8138.12310. [Epub ahead of print]
69. Kamata M, Fujita H, Hamanaka T, Takahashi K, Koga H, Hashimoto T, Sato S : Anti-Laminin gamma 1 Pemphigoid Accompanied by Autoantibodies to Laminin alpha 3 and gamma 2 Subunits of Laminin-332. *JAMA Dermatol*, 2013. Oct 23. doi : 10.1001/jamadermatol.2013.5358. [Epub ahead of print]
70. Kitagawa C, Nakajima K, Aoyama Y, Fujioka A, Nakajima H, Tarutani M, Tsuruta D, Hashimoto T, Sano S : A Typical Case of Paraneoplastic Pemphigus Without Detection of

- Malignancy : Effectiveness of Plasma Exchange. *Acta Derm Venereol*, 2013. Oct 25. doi : 10.2340/00015555-1742. [Epub ahead of print]
71. Ohzono A, Tsuruta D, Hashikawa K, Yoshida Y, Arakawa M, Maeyama Y, Nakama T, Furumura M, Ohata C, Hashimoto T : Three cases of pseudolymphoma successfully treated with amoxicillin. *Eur J Dermatol*, 2013. Oct 10. [Epub ahead of print]
 72. Krol RP, Yasukochi A, Hashimoto T : Towards understanding mechanisms of autoimmune bullous skin diseases. *N Am J Med Sci* 5 (10) : 609-610, 2013.
 73. Otten JV, Hashimoto T, Hertl M, Payne AS, Sitaru C : Molecular Diagnosis in Autoimmune Skin Blistering Conditions. *Current molecular medicine*, 2013. Oct 27. [Epub ahead of print]
 74. Kanwar AJ, Vinay K, Parmar NV, Koga H, Ishii N, Hashimoto T. Anti-desmoglein antibody-negative paraneoplastic pemphigus with coexisting bullous pemphigoid, successfully treated with rituximab. *Int J Dermatol* 2013, in press.
 75. Iijima S, Hamada T, Kanzaki M, Ohata C, Hashimoto T : Sibling cases of Hailey-Hailey disease showing atypical clinical features and unique disease course. *JAMA Dermatol* 2013, in press
 76. Kanwar AJ, Vinay K, Saikia UN, Koga H, Teye K, Tsuruta D, Hashimoto T : The first reported Indian case of IgG/IgA pemphigus reactive with desmoglein 1 with additional undetermined reactivity with epidermal basement membrane zone. *Indian J of Dermatol Venereol Leprol* 2013, in press
 77. Fumimori T, Tsuruta D, Kawakami T, Ohata C, Furumura M, Hashimoto T : The effect of monochromatic excimer light on palmoplantar pustulosis : A clinical study performed in a private clinic by a dermatological specialist. *J Dermatol* 2013, in press
 78. Saruta H, Ono F, Hamada T, Ishii N, Matsuda M, Ohata C, Furumura M, Tsuruta D, Hashimoto T : Multiple unilocular epidermal cysts presented as a single lesion on the toe web. *J Dermatol* 2013, in press
 79. Dermitsu T, Yamada T, Nakamura S, Kakurai M, Dohmoto T, Kamiya K Aoyama Y, Iwatsuki K, Yamagami J, Ohyama B, Ohata C, Koga H, Hashimoto T : Detection of autoantibodies to precursor proteins of desmogleins in sera of a patient with Bowen carcinoma. *Acta Derm Venereol* 2013, in press
 80. Inaba Y, Kanazawa N, Furukawa F, Sakurane Y, Nakano H, Sawamura D, Yoneda K, Hamada T, Hashimoto T : Pachyonychia congenita in Japan : report of familial cases with a recurrent KRT16 mutation and review of the literature. *Eur J Dermatol* 2013, in press
 81. Jinbu Y, Kashiwazaki A, Munemasa N, Ozawa M, Kusama M, Ishii N, Ohyama B, Ohata C, Hashimoto T : Oral lesions of a patient with antidesmoglein 1 antibody-positive and antidesmoglein 3 antibody-negative pemphigus. *J Oral Maxillofac Surg Med Pathol* 2013, in press
 82. Karashima T, Tsuruta D, Hamada T, Ishii N, Ono F, Ueda A, Abe T, Nakama T, Dainichi T, Hashimoto T : Morphological changes of the hair roots in alopecia areata : a scanning electron microscopic study. *J Dermatol* 2013, in press
 83. Florea F, Bernards C, Caproni M,

- Kleindienst J, Hashimoto T, Koch M, Sitaru C : Ex vivo pathogenicity of anti-laminin γ 1 autoantibodies. Am J Pathol 2013, in press
84. Zenke Y, Nakano T, Eto H, Koga H, Hashimoto T : A case of vancomycin-associated linear IgA bullous dermatosis and IgA antibodies to the α 3 subunit of laminin-332. Br J Dermatol 2013, in press
85. España A, Koga H, Suárez-Fernández R, Ohata C, Ishii N, Irrarrazaval I, Teye K, Ohyama B, Hashimoto T : Antibodies to amino-terminal domain of desmoglein 1 are retained during transition from pemphigus vulgaris to pemphigus foliaceus. Eur J Dermatol 2013, in press
86. Muro Y, Sugiura K, Shiraki A, Ishii N, Hashimoto T, Akiyama M : Detection of autoantibodies to periplakin and envoplakin in paraneoplastic pemphigus but not idiopathic pulmonary fibrosis using full-length recombinant proteins. Clin Chim Acta 2013, in press
87. 澤城晴名、白田阿美子、金岡美和、中村和子、橋本隆、高橋一夫、相原道子 : 抗VII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. 西日本皮膚科 75 (5) : 409-414, 2013.
88. 合原みち、石井文人、大畑千佳、橋本隆 : 5年間の観察中、腫瘍随伴性天疱瘡から尋常性天疱瘡に移行した例. Visual Dermatology 12 (10) : 1072-1073, 2013.
89. 大塚明奈、石井文人、小野文武、濱田尚宏、大畑千佳、古村南夫、橋本隆 : 14年間の観察中、落葉状天疱瘡に水疱性類天疱瘡を合併した例. Visual Dermatology 12 (10) : 1069-1071, 2013.
90. 大泉亜美、春名邦隆、根木治、木村有太子、濱田尚宏、橋本隆、須賀康 : 二次感染により紅皮症化したDarier病の1例. 皮膚科の臨床 55 (9) : 1091-1095, 2013.
91. 六戸大樹、赤坂英二郎、北村英夫、原田研、古賀浩嗣、橋本隆 : 後腹膜腔原発B細胞リンパ腫を伴った腫瘍随伴性天疱瘡. 皮膚病診療 35 (9) : 889-892, 2013.
92. 三宅美帆、竹内明子、前田進太郎、西島千博、稲沖真、古賀浩嗣、橋本隆 : コルヒチンが奏効した表皮下水疱症の1例. 皮膚科の臨床 55 (7) : 849-853, 2013.
93. 山本真由美、加納宏行、清島真理子、濱田尚宏、橋本隆 : エトレチナートが有効であったHailey-Hailey病. 皮膚科の臨床 55 (7) : 845-847, 2013.
94. 武藤真悠子、松岡摩耶、松浦哲彦、中野敦子、土井里沙子、竹内そら、堤祐子、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例. 皮膚科の臨床 55 (7) : 829-832, 2013.
95. 五木田麻里、高橋阿起子、仲田かおり、堀川達弥、田中康博、高蓋寿朗、井上友介、古賀浩嗣、橋本隆 : BP180のNC16a部位とC末端部位に対するIgG抗体も検出された腫瘍随伴性天疱瘡の1例. 皮膚科の臨床 55 (7) : 823-828, 2013.
96. 山下紘子、栃木美寿紀、松浦大輔、福田恭子、鈴木寛丈、橋本隆、落合豊子 : ジアフェニルスルホンが奏効した線状IgA水疱性皮膚症 (Lamina Lucida型). 皮膚科の臨床 55 (7) : 819-822, 2013.
97. 扇谷咲子、込山悦子、福田理永、池田志孝、大山文悟、橋本隆 : 線状IgA水疱性皮膚症の1例. 皮膚科の臨床 55 (5) : 666-667, 2013.
98. 武藤真悠子、松岡摩耶、松浦哲彦、中野敦子、土井里沙子、竹内そら、堤祐子、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例. 皮膚科の臨床 55 (7) : 807-808, 2013.
99. 飯川まどか、室井栄治、石井千寸、持

- 田耕介、瀬戸山充、黒川基樹、Schmidt Enno, Zillikens Detlef、福田俊平、橋本隆：皮膚型結節性多発動脈炎に合併した抗ラミニン γ 1類天疱瘡の1例. 西日本皮膚科 75 (1) : 7-10, 2013.
100. 十亀良介、石井文人、古賀浩嗣、平子善章、橋本隆：眼型粘膜類天疱瘡. Visual Dermatology 12 (2) : 168-169, 2013.
101. 石田修一、日野頼真、廣田理映、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. 臨床皮膚科 67 (3) : 209-213, 2013.
6. Takashi Hashimoto, Norito Ishii, Atsunari Tsuchisaka, Yohei Natsuaki, Teye Kwesi, Sanae Numata. New classification of autoimmune bullous diseases. *Takashi Hashimoto (Japan)* International preIID 2013 Satellite Meeting on Autoimmune Bullous Diseases (AIBD) (May 5 -13, 2013. Lubeck)
7. Takashi Hashimoto. Identification of autoantigens and development of modern serological diagnostics for various autoimmune blistering skin diseases (poster) . 78th Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology Immunity & Tolerance (May 29-June 3, 2013.NY)
8. 合原みち、矢上晶子、森田雄介、佐々木良輔、鈴木加余子、中村節子、稲垣とよみ、赤松眞木、橋本隆、松永佳世子. 連鎖販売による会員制化粧品シリーズによる接触皮膚炎の検討. 第112回 日本皮膚科学会総会 (2013年6月14-16日、横浜市)
9. 松田光弘、濱田尚宏、坂口幸子、石井文人、辛島正志、大畑千佳、古村南夫、橋本隆. 久留米大学皮膚科における水疱型先天性魚鱗癬様紅皮症の遺伝子解析のまとめ. 第112回 日本皮膚科学会総会 (2013年6月14-16日、横浜市)
10. 小猿恒志、五木田麻里、田中康博、古賀浩嗣、橋本隆、堀川達弥. 西神戸医療センター多彩な皮膚粘膜症状を契機にリンパ腫が発見され、腫瘍随伴性天疱瘡が疑われた1例. 第112回 日本皮膚科学会総会 (2013年6月14-16日、横浜市)
11. 安水真規子、鶴田大輔、石井正光、森田章介、福田あおい、古賀浩嗣、橋本隆. 抗BP180抗体と抗ラミニン332抗体を併せもつ粘膜類天疱瘡の1例. 第112回 日本皮膚科学会総会 (2013年6月14-16日、横浜市)

学会発表

1. 李小光、石井文人、古賀浩嗣、濱田尚宏、辛島正志、大畑千佳、古村南夫、橋本隆. Hemidesmosome-rich fractionを基質とする免疫ブロット法を用いた自己免疫性水疱症の抗原検索の検討. 第20回分子皮膚科学フォーラム. (2013年4月12-13日、東京都)
2. 土坂享成、石井文人、古賀浩嗣、濱田尚宏、大畑千佳、古村南夫、橋本隆. IgA自己免疫性水疱症の新規自己抗原同定. 第20回分子皮膚科学フォーラム. (2013年4月12-13日、東京都)
3. 井上義彦、丸田康夫、猿田寛、大畑千佳、古村南夫、橋本隆. 下眼瞼の悪性黒色腫切除の全層欠損再建後に内反と下垂を生じた1例. 第28回日本皮膚外科学会総会・学術集会 (2013年7月13-14日、大津市)
4. 武藤一考、石井文人、小野文武、大畑千佳、古村南夫、西江温子、橋本隆. 乳児に発症した水疱性類天疱瘡の1例. 第37回日本小児皮膚科学会学術大会 (2013年7月14-15日、東京都)
5. 金澤伸雄、古川福実、島友子、古賀浩嗣、橋本隆. 新生児に発症した線状IgA水疱症. 第37回日本小児皮膚科学会学術大会 (2013年7月14-15日、東京都)

12. 布施恵理、松浦哲彦、村上富美子、栗村理恵、鶴田大輔、古賀浩嗣、橋本隆. 当院で経験したLichen Planus Pemphigoides症例の臨床的特徴と疾患関連因子の検討. 第112回 日本皮膚科学会総会 (2013年6月14-16日、横浜市)
13. 赤木有沙、加畑大輔、大西里佳、中島利栄子、太田深雪、立花隆夫、藤本徳毅、古賀浩嗣、石井文人、橋本隆. 第112回 日本皮膚科学会総会 (2013年6月14-16日、横浜市)
14. 原葉子、小林美和、中村元信、橋本隆. ステロイドハーフパルス後DDS とメチルプレドニゾロン内服が著効した線状IgA_IgG水疱症. 第112回 日本皮膚科学会総会 (2013年6月14-16日、横浜市)
15. 谷直実、濱田尚宏、永田寛、大畑千佳、古村南夫、名嘉真武国、橋本隆. Self-healing Langerhans cell histiocytosis の2例. 第112回 日本皮膚科学会総会 (2013年6月14-16日、横浜市)
16. 金子玲子、橋本学、中村晃一郎、倉持朗、土田哲也、古賀浩嗣、橋本隆. 3線状IgA_IgG水疱性皮膚症の2例 第112回 日本皮膚科学会総会 (2013年6月14-16日、横浜市)
17. 布施恵理、松浦哲彦、村上富美子、栗村理恵、鶴田大輔、古賀浩嗣、橋本隆. C3 dermatitis herpetiformis (仮称) の1例. 第112回 日本皮膚科学会総会 (2013年6月14-16日、横浜市)
18. 赤木有沙、加畑大輔、大西里佳、中島利栄子、太田深雪、立花隆夫、藤本徳毅、古賀浩嗣、石井文人、橋本隆. 治療に難渋した後天性表皮水疱症の1例. 第112回 日本皮膚科学会総会 (2013年6月14-16日、横浜市)
19. 江口弘伸、田中亮多、大芦孝平、小俣渡、並川健二郎、堤田新、蔦幸治、橋本隆、山崎直也. 当科メラノーマにおけるBRAF変異の検討. 第112回 日本皮膚科学会総会 (2013年6月14-16日、横浜市)
20. 橋本隆、濱田尚宏. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業 (難治性疾患克服研究事業) 稀少難治性皮膚疾患に関する調査研究班. 平成25年度第1回総会 (2013年7月19日、東京都)
21. Krol Rafal、橋本隆. 久留米大学皮膚科において施行したVorner型掌蹠角化症の遺伝子判断. 第28回角化症研究会 (2013年7月27日、東京都)
22. Teye Kwesi、橋本隆. 久留米大学皮膚科において施行した尋常性魚鱗癬とアトピー性皮膚炎のフィラグリン遺伝子解析. 第28回角化症研究会 (2013年7月27日、東京都)
23. 橋本隆、沼田早苗. 久留米大学皮膚科において施行した常染色体劣性先天性魚鱗癬の遺伝子診断 - 7つの原因遺伝子の検索について - 第28回角化症研究会 (2013年7月27日、東京都)
24. 武藤一考、猿田寛、永田寛、井上義彦、大畑千佳、森崎隆、日浦梓、大原國章、橋本隆. セツキシマブが有効であった治療抵抗性有棘細胞癌の1例. 第29回日本皮膚悪性腫瘍学会学術大会 (2013年8月9-10日、甲府市)
25. 丸田康夫、猿田寛、井上義彦、大畑千佳、名嘉真武国、橋本隆. 脈管肉腫13例の免疫組織化学的検討. 第29回日本皮膚悪性腫瘍学会学術大会 (2013年8月9-10日、甲府市)
26. Takashi Hashimoto. Identification of novel autoantigens and new classification in autoimmune bullous diseases. The 30-year Anniversary Symposium of Department of Dermatology, Gangnam Severance Hospital (Aug.30-Sep.1, 2013.Korea)
27. 深井達夫、工藤裕佳子、本間由希子、石井智子、神谷由紀、平澤祐輔、池田志孝、松本健史、海老原伸行、古賀浩嗣、石井文人、橋本隆. 血清学的に腫瘍随伴性天

- 疱瘡と考えられた眼粘膜びらん病変のみ呈する1例. 第77回日本皮膚科学会東部支部学術大会 (2013年9月21-22日、埼玉市)
28. 橋本隆. 自己免疫性水疱症: 基礎研究から診断へ、そして治療へ. 大阪水疱症カンファレンス (2013年10月3日、大阪)
29. 大園綾花、十亀良介、古賀浩嗣、石井文人、古村南夫、大畑千佳、橋本隆. 当科で検討した腫瘍随伴性天疱瘡のまとめ. 第35回水疱症研究会 (2013年10月19-20日、大分市)
30. 谷直実、古賀浩嗣、石井文人、古村南夫、大畑千佳、橋本隆. 当科で検討した妊娠性疱疹のまとめ. 第35回水疱症研究会 (2013年10月19-20日、大分市)
31. 大畑千佳、古賀浩嗣、古村南夫、橋本隆. 過去18年間に経験した乾癬と自己免疫性水疱症の合併例のまとめ. 第35回水疱症研究会 (2013年10月19-20日、大分市)
32. 土坂享成、夏秋洋平、石井文人、古賀浩嗣、濱田尚宏、大畑千佳、古村南夫、川上民裕、鶴田大輔、Wenqing Wang、後藤瑞生、藤原作平、橋本隆. 腫瘍随伴性天疱瘡患者における抗エピプラキン特異自己抗体の検索. 第35回水疱症研究会 (2013年10月19-20日、大分市)
33. Teye Kwesi、石井文人、古賀浩嗣、濱田尚宏、辛島正志、沼田早苗、古村南夫、大畑千佳、橋本隆. Usefulness of newly developed enzyme-linked immunosorbent assays using mammalian recombinant proteins of human desmocollin 1-3 for diagnosis of subcorneal pustular dermatosis-type IgA pemphigus. 第35回水疱症研究会 (2013年10月19-20日、大分市)
34. 安河内篤、Teye Kwesi、土坂享成、石井文人、古賀浩嗣、濱田尚宏、辛島正志、大畑千佳、古村南夫、橋本隆. BP180 C 末端部ELISA法の開発と有用性の検討. 第35回水疱症研究会 (2013年10月19-20日、大分市)
35. 若松美智子、松倉節子、佐野遥、守田亜希子、中村和子、蒲原毅、高橋一夫、石井文人、橋本隆. 抗Dsg1抗体価が高値であり、抗Dsc1・2 IgG抗体陽性を示した重要落葉状天疱瘡の1例. 第35回水疱症研究会 (2013年10月19-20日、大分市)
36. 長田真一、東直行、小橋啓一、細根勝、朝山敏夫、近藤麻加、中村弘之、田中徹、古賀浩嗣、橋本隆、川名誠司. 多発性肺塞栓症、高カテコラミン血症を合併した腫瘍随伴性天疱瘡の1例. 第35回水疱症研究会 (2013年10月19-20日、大分市)
37. 深井達夫、工藤裕佳子、本間由希子、石井智子、神谷由紀、平澤祐輔、池田志孝、松本健史、海老原伸行、古賀浩嗣、石井文人、橋本隆. 血清学的に腫瘍随伴性天疱瘡と考えられた眼粘膜びらん病変のみ呈する1例. 第35回水疱症研究会 (2013年10月19-20日、大分市)
38. 上尾大輔、市川弘城、濱田尚宏、石井文人、橋本隆、藤原作平. デスモコリン天疱瘡を合併したヘイリーヘイリー病の1例. 第35回水疱症研究会 (2013年10月19-20日、大分市)
39. 市村知佳、陳怡如、高田裕子、石井健、峯村佐和子、石井文人、橋本隆、石河晃. 粘膜病変を主症状とした抗ラミニン332型粘膜類天疱瘡の1例. 第35回水疱症研究会 (2013年10月19-20日、大分市)
40. 大歳晋平、松澤有希、末木博彦、古賀浩嗣、石井文人、Li Xiaoguang、Qian Hua、平子善章、橋本隆. 腎基底膜へのIgG沈着を伴う膜性腎症を伴発し、各種ラミニンサブユニットに対する自己抗体を認めた表皮下水疱症の1例. 第35回水疱症研究会 (2013年10月19-20日、大分市)
41. 石井文人、安河内篤、Teye Kwesi、土坂享成、古賀浩嗣、濱田尚宏、辛島正志、大畑千佳、古村南夫、橋本隆. BP180 C 末端部ELISA法の開発と有用性の検

- 討.厚生労働科学研究費補助金.難治性疾患等克服研究事業(難治性疾患克服研究事業)皮膚の遺伝関連性希少難治性疾患群の網羅的研究班.平成25年度第1回班会議.(2013年11月8日、鹿児島市)
42. 濱田尚宏、松田光弘、石井文人、橋本隆.ヘイリーヘイリー病におけるATP2C1遺伝子解析と病態解明に関する研究.厚生労働科学研究費補助金.難治性疾患等克服研究事業(難治性疾患克服研究事業)皮膚の遺伝関連性希少難治性疾患群の網羅的研究班.平成25年度第1回班会議.(2013年11月8日、鹿児島市)
43. 稲葉豊、中谷友美、金澤伸雄、古川福実、米田耕造、濱田尚宏、橋本隆.本邦における先天性爪甲肥厚症:文献的考察と全国疫学調査のまとめ.厚生労働科学研究費補助金.難治性疾患等克服研究事業(難治性疾患克服研究事業)皮膚の遺伝関連性希少難治性疾患群の網羅的研究班.平成25年度第1回班会議(2013年11月8日、鹿児島市)
44. 丸田康夫、福田俊平、阿部俊文、大畑千佳、橋本隆.炎症性腸疾患に合併したgranulomatous vasculitisの1例.第65回日本皮膚科学会西部支部学術大会(2013年11月9-10日、鹿児島市)
45. 高田紗奈美、若林正一郎、中野倫代、外川八英、神戸直智、松江弘之、古賀浩嗣、橋本隆.ミゾリビンパルス療法を施行した、TEN様の臨床像を呈した線状IgA/IgG水疱性皮膚症の1例.第65回日本皮膚科学会西部支部学術大会(2013年11月9-10日、鹿児島市)
46. 新居沙央里、猿田寛、今村太一、井上義彦、古村南夫、大畑千佳、森崎隆、橋本隆.ベムラフェニブが奏功した陰茎原発の悪性黒色腫の1例.第65回日本皮膚科学会西部支部学術大会(2013年11月9-10日、鹿児島市)
47. 谷直実、猿田寛、合原みち、丸田康夫、松田光弘、井上義彦、石井文人、古村南夫、大畑千佳、橋本隆.皮下型Merkel細胞癌の2例.第65回日本皮膚科学会西部支部学術大会(2013年11月9-10日、鹿児島市)
48. 武藤一考、小野文武、石井文人、濱田尚宏、大畑千佳、安元慎一郎、橋本隆.急性期帯状疱疹における抗ヘルペス薬の開始時期とQOLスコアの評価.第65回日本皮膚科学会西部支部学術大会(2013年11月9-10日、鹿児島市)
49. 松田光弘、小野文武、新居沙央里、棚橋佳世、大畑千佳、古村南夫、安元慎一郎、橋本隆.STI重複感染を示した梅毒の6例.第26回日本性感染症学会学術大会.(2013年11月16-17日、岐阜市)
- H. 知的所有権の出願・登録状況(予定を含む)
なし

疾患	患者数(人:延べ人数)
悪性リンパ腫	43
Castleman disease	14
固形癌	12 肺癌:2例、胃癌:1例、消化管間質腫瘍、食道癌、咽頭癌、甲状腺癌、悪性胸腺腫、胆嚢癌、腎臓癌、結腸癌、乳癌、子宮頸癌、子宮体癌、卵巣癌、基底細胞癌
胸腺腫	8 (良性:7、悪性:1)
血液系悪性腫瘍	7 (慢性リンパ性白血病:4、原発性マクログロブリン血症:1、分類不明:3)
Sarcoma	6
良性腫瘍	2 (筋線維芽細胞腫瘍、線維性組織球腫)
悪性リンパ腫疑い	4
未検出	12

図1 随伴腫瘍の内訳（重複腫瘍が5症例）

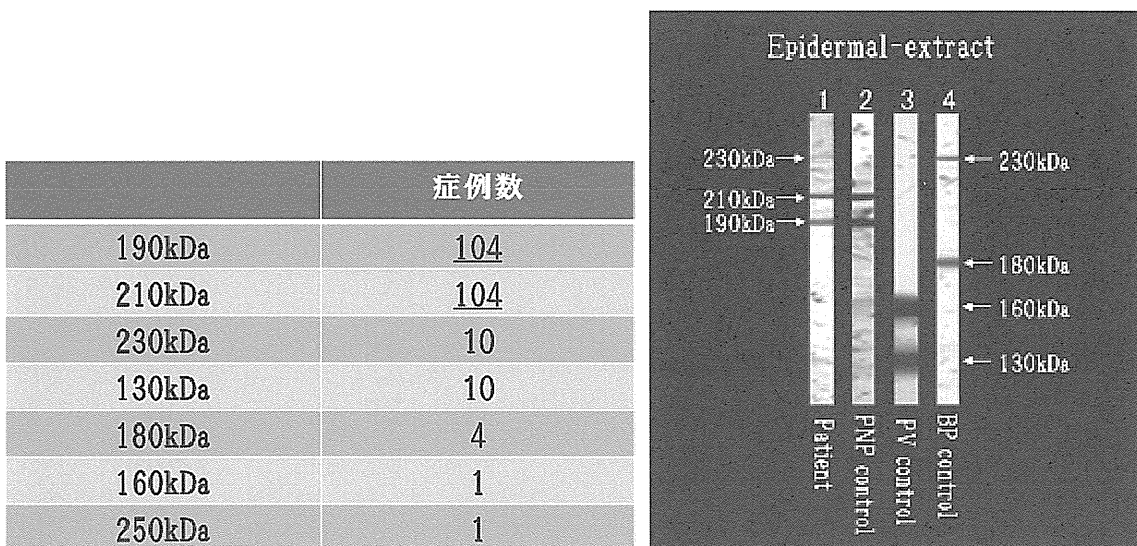


図2 ヒト表皮抽出液を用いた免疫ブロット法

	症例数 104例
抗Dsg1抗体 陽性	35例 (34%)
抗Dsg3抗体 陽性	82例 (79%)
抗Dsg1抗体、抗Dsg3抗体ともに陽性	28例 (27%)
抗Dsg1抗体、抗Dsg3抗体ともに陰性	15例 (14%)

表3 ELISA法 (Dsg1とDsg3)

厚生科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

膿疱性乾癬の病態解明とその対策に向けて
－ S100A8およびS100A9タンパク質の新規受容体の探索とその機能解析－

研究分担者 阪口政清 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 細胞生物学 准教授

研究要旨 我々は、RAGEの共役受容体としてDAP10を同定し、ヒト表皮角化細胞におけるRAGE/DAP10結合の意義について検討を行って来た。昨年度、DAP10はRAGEの下流Aktシグナルを増強するための重要な膜アダプター分子であることを報告した。本年度では、昨年度での成果を強化するための更なる追加検討とRAGE/DAP10-Aktのシグナルが細胞のサバイバル能上昇につながるかどうかの検討、そして、乾癬病変部位でのDAP10の発現状態の検討を行ったので報告する。S100A8/A9刺激によるAkt活性化へのRAGE ノックダウンの影響の検討を新たに加えた。ヒト表皮角化細胞でRAGE siRNAの効果を検討すると、DAP10 siRNAと同様なAktの持続的活性化の消失が観察されたが、これはさらに早い段階での消失の結果となった。このことよりRAGE/DAP10結合はS100A8/A9刺激によるAktの持続的活性化に重要であることが判明した。またこの時、早期Akt活性化が減弱傾向にあるものの消失していないことから、早期Akt活性化は、RAGE以外の受容体の関与にもよるものと考えられた。更に、ヒト表皮角化細胞の低濃度S100A8/A9刺激による増殖促進が、Akt阻害剤により抑制されることが確認できた。逆に、正常細胞にDAP10を強制発現すると、Akt活性化が増強され、高濃度S100A8/A9によるアポトーシスに抵抗性となることが判明した。免疫組織染色の結果、乾癬病変部位ではDAP10の顕著な発現上昇が認められ、同部位には活性型Aktが検出された。一方、RAGEの発現状態は、正常組織との比較において大きな変化が認められなかった。

A. 研究目的

表皮角化細胞におけるRAGE-DAP10受容体複合体情報伝達ユニットの機能を解明することで、乾癬病態におけるS100A8/A9の細胞の増殖、死の分子制御メカニズムを理解する。

B. 研究方法

細胞：本研究には、ヒト正常表皮角化細胞NHK（KURABO社）、ヒト不死化表皮角化細胞HaCaT（ドイツ連邦共和国ガン研究センターより分与）、ヒト表皮上皮様細胞癌由来細胞株A431（ATCC社）を使用した。NHKは、増殖添加剤HKGS（KURABO社）

を添加したMedium 154S（KURABO社）にて、HaCaTとA431細胞は、10% FBSを含有するDMEM/F12培地（Gibco社）にて培養した。

抗体：Western blot 解析には以下の抗体を使用した。rabbit anti-RAGE（Santa Cruz Biotechnology社）、mouse phospho-Tyrosine（P-Tyr-100）（Cell Signaling社）、rabbit anti-PKC・（Cell Signaling社）、phospho-PKC・（T560）（Abcam社）、rabbit anti-Akt（Cell Signaling社）、rabbit anti-phospho-AKT（S473）（Cell Signaling社）、rabbit anti-TIRAP（Abcam社）、rabbit anti-PI3K

(p85) (Cell Signaling 社), mouse anti-cleaved-Caspase 8 (D384) (Cell Signaling 社), mouse anti-Tubulin (Sigma-Ardrich 社). また, rabbit anti-phospho RAGE (S391) の作成は, MBL 社に委託した。

リコンビナントタンパク質の調製: ヒト S100A 8、S100A 9 を GST 融合タンパク質として大腸菌で産生させ、グルタチオン共有結合担体によるアフィニティークロマトグラフィーで精製の後、GST を切断・除去した。

免疫沈降: 内因性 RAGE の免疫沈降に関しては、Rabbit anti-human RAGE antibody (Santa Cruz Biotechnolog 社) を ビオチン標識 (Biotin Labeling Kit-SH; Dojindo Molecular Technologies 社) したものを使用した |streptavidin-agarose (Invitrogen 社) によりプルダウン|。沈降してきた担体結合タンパク質は、いずれも酸性 buffer により溶出した。

siRNA: ネガティブコントロール siRNA (siCont: siGENOME non-targeting siRNA pool #1, D-001210-01)、Human HCST (DAP10) siRNA (siGENOME SMART pool M-005100-02-0005)、は、Thermo Scientific Dharmacon 社より購入した。siRNA (最終濃度 100 nM) のトランスフェクションには、Lipofectamin RNAiMAX reagent (Invitrogen 社) を使用した。

C. 研究結果

1. S100A 8/A 9 による Akt 活性化への RAGE-DAP10 結合の役割: RAGE-DAP10 結合の下流 Akt 活性における存在意義を見出すため、DAP10、RAGE の特異的 siRNA を用いて NHK, HaCaT, A431 細胞の S100A 8/A 9 による Akt 活性化の変動を検討した。結果、いずれの細胞でも、DAP10 の siRNA による発現抑制は、持続的 Akt の活性化を消失させ

る結果となった。この現象は、RAGE siRNA でも同様であった (図 1)。このことから、RAGE-DAP10 複合体が RAGE 下流 Akt の持続的活性化に重要な役割をもつことを明らかにするに至った。

2. S100A 8/A 9 の濃度に依存したシグナルの違い、と NHK, HaCaT, A431 細胞間における S100A 8/A 9 レスポンスの違い: RAGE、Akt の発現量が NHK と比較的同レベルである表皮細胞株を用いて、これら細胞種間における S100A 8/A 9 レスポンスの違いについて検討した (図 2)。S100A 8/A 9 は、NHK の増殖を誘導できる最適濃度 100 ng/ml を low conc. とし (Nukui T et al., J Cell Biochem. 2008)、膿胞性乾癬患者血清中に存在する濃度を参考に 10⁶ g/ml を high conc. として使用した (Aochi S et al., J Am Acad Dermatol. 2011)。まず、low conc. の S100A 8/A 9 で細胞を刺激したところ、NHK, HaCaT, A431 のいずれにおいても増殖が亢進した。この濃度では、アポトーシス現象は、検討したいずれの細胞においても認められなかった (図 2)。一方、high conc. の S100A 8/A 9 で細胞を刺激すると、NHK では、増殖が顕著に抑制され、アポトーシスの上昇が認められた。興味深いことに、HaCaT, A431 細胞では、high conc. の S100A 8/A 9 刺激にもかかわらず高い増殖率が検出され、NHK でみられるようなアポトーシスもかすかにしか起こらなかった (図 2)。当現象が Akt に依存するかどうかの検討を加えた。HaCaT, A431 細胞を Akt 阻害剤処理し、同様に高濃度 S100A 8/A 9 を添加したところ、アポトーシスの上昇が誘導された (図 2)。
3. HaCaT, A431 における DAP10 の機能抑制: 上記現象が何に起因するのか、DAP10 の発現状態に着目し、検討を行っ