

かったが、統計学的には有意差は得られなかった (OR=1.38, 95%CI=0.77±2.49)。続いて、rs2230926T-rs610604GのSNPハプロタイプ頻度の検討を行ったが、やはり有意ではなかった。(表2)

GPPにおいてもTNFAIP3(rs610604, rs2230926)との相関は認められなかった。

3) IL-12B(rs6887695, rs3212227)と乾癬との相関

IL-12/IL-23p40をコードするIL-12Bに係る2つのSNP(rs6887695, rs3212227)について、尋常性乾癬患者群およびGPP患者群と健常者群との間に統計学的有意差は認められなかった。

4) インフリキシマブ投与の臨床効果と遺伝子多型との関連性についての検討

生物学的製剤に係る診療ガイドラインに適合する関節症性乾癬患者(4名)、尋常性乾癬患者(3名)、GPP患者(2名)に対して、患者の同意を得た上でインフリキシマブ投与を実施し臨床効果(PASIスコア改善度、重症度スコア改善度)を検討した(表3)。

その結果、いずれもIL-12B(rs6887695)G→C塩基置換を示す2名のGPP患者は投与開始後しばらくはうまく寛解を維持していたが、投与開始14週後までにいずれも紅斑、膿疱の再燃をみている。

尋常性乾癬および関節症性乾癬患者群では、TNFAIP3のSNP(rs610604)でT→G塩基置換が生じると、表3に示したPV3およびPA3では最終的にはPASI75を達成できなかった。また、IL-12Bで2つのSNP部位で塩基置換を生じたPV1も同様にPASI75を達成できなかった。

以上の解析から、TNFAIP3(rs610604)およびIL-12B(rs6887695, rs3212227)の遺伝子多型は生物学的製剤(インフリキシマブ)投与の臨床効果に寄与することが推測される。

D. 考察

今回の研究からいえることは、第一にGPP

とそれ以外の乾癬(尋常性乾癬および関節症乾癬)は遺伝学的に異なった疾患であることが明らかになった。そして、GPPの原因遺伝子の一つとされるIL-36RNの変異はGPP全体の約30パーセントを説明できるといえる。この事実は、GPPの診断用DNAチップの開発への手掛かりを得たことを意味する。残りの部分(第二、第三の原因遺伝子の解明)の解析については今後の検討課題である。

第二に、GPP診療ガイドラインに記載されている生物学的製剤であるインフリキシマブの投与効果の予測指標として薬剤抵抗性を示すIL-12BのSNP(rs6887695)G→Cに塩基置換期待がもたれる。

第三に、GPPの原因遺伝子であるIL-36RNの遺伝子変異はインフリキシマブの治療効果との関連性はなさそうである。インフリキシマブのGPPに対する持続的治療効果を生み出すためには、投与量を5mg/kgより増量してみる、もしくは投与期間を8週間隔よりも短縮するなどの工夫を必要とするものと思われる。

E. 結論

①GPPの原因遺伝子IL-36RNの変異率はGPP全体の約30パーセントを占めること、②インフリキシマブ投与の臨床効果の事前予測指標の決定には症例の蓄積と更なるマーカー遺伝子検索を要する。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表(平成25年度)

論文発表

1. Sugiura K, Takemoto A, Yamaguchi M, Takahashi H, Shoda Y, Mitsuma T, Tsuda K, Nishida E, Togawa Y, Nakajima K, Sakakibara A, Kawachi S, Shimizu M, Ito Y, Takeichi T, Kono M, Ogawa Y, Muro Y, Ishida -Yamamoto A, Sano S, Matsue H, Morita A, Mizutani H, Iizuka H, Muto M

and Akiyama M : The majority of generalized pustular psoriasis without psoriasis vulgaris is caused by deficiency of interleukin-36 receptor antagonist. J Invest Dermatol, 133 : 2514-2521, 2013.

2. 武藤正彦：ヒト生体試料を利用した医学研究への実践的対応。山口医学、62：199-204, 2013.

学会発表

1. Muto M, Ichimiya M, M Yamaguchi, Takemoto A and Naniwa K : Genetic factors related to Japanese patients affected with generalized pustular psoriasis. 2013 International Investigative Dermatology Meeting 8-11 May 2013, Edinburgh, Scotland.

H. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）

なし

表1

TNFAIP3			
rs610604			
	T/T	T/G	G/G
PV (n=220)	83.6%(=184/220)	16.4%(=36/220)	0%(=0/220)
Control (n=161)	87.6%(=147/161)	12.4%(=20/161)	0%(=0/161)
OR=1.38 , 95%CI=0.77±2.49			

表2

TNFAIP3			
rs2230926 T - rs610604 G			
	PV (n=220)		Control (n=161)
	16.4%(=36/220)		12.4%(=20/161)
OR=1.38 , 95%CI=0.77±2.49			

表3

Infliximab導入患者のSNP データ

No.		HLA		IL23R		IL12B		IL36RN		TNFAIP3	
		HLA-C-locus		rs12131065	rs11209026	rs6887695	rs3212227	p.Arg10X c.28C>T	c.115+6T>C	rs610604	rs2230926
		allele1	allele2								
PA1	P-199	Cw*01	-	G/A	G/G	G/G	A/A	C/C	T/T	T/T	T/T
PA2	P-38	Cw*04	Cw*08	A/A	G/G	G/C	A/A	C/C	T/T	T/T	T/T
PA3	T-61	Cw*07	-	G/G	G/G	G/G	A/A	C/C	T/T	T/G	T/T
PA4	P-209	Cw*07	Cw*08	G/A	G/G	G/G	A/A	C/C	T/T	T/T	T/T
PV1 (PASI=12)	P-58	Cw*01	Cw*07	G/G	G/G	C/C	C/C	C/C	T/T	T/T	T/T
PV2 (PASI=36)	P-215	Cw*03	-	A/A	G/G	G/C	A/C	C/C	T/T	T/T	T/G
PV3 (PASI=32)	T-40	Cw*01	Cw*08	G/G	G/G	G/C	A/C	C/C	T/T	T/G	T/T
GPP1	P-212	Cw*01	-	G/A	G/G	G/C	A/A	C/C	T/T	T/T	T/T
GPP2	P-178	Cw*03	Cw*04	G/G	G/G	G/C	A/C	T/T	T/T	T/T	T/T

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

膿疱性乾癬に対する顆粒球吸着除去療法
— 市販後使用成績調査の結果を中心に —

研究協力者 金蔵拓郎 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科皮膚科学 教授

研究要旨 我々は壊疽性膿皮症，ベーチェット病，膿疱性乾癬，掌蹠膿疱症，関節症性乾癬，皮膚アレルギー性血管炎など活性化した顆粒球に起因する皮膚疾患に対する顆粒球吸着除去療法（Granulocyte and monocyte adsorption apheresis: GMA）の有用性について臨床研究を重ね良好な結果を報告して来た。我々の研究結果を踏まえGMAの膿疱性乾癬に対する全国多施設共同試験が2010年から2011年にかけて実施された。本試験で有効性と安全性が示され2012年10月に膿疱性乾癬に対する顆粒球吸着除去療法が保険収載された。保険適応を受け直ちに市販後使用成績調査が開始された。この調査の結果を解析し報告する。

共同研究者

（対象症例登録施設責任医師）

高橋 英俊（旭川医科大学）

大熊 慶湖（順天堂医院）

須賀 康（順天堂大学浦安病院）

長谷 哲男（東京医科大学
八王子医療センター）

山口 由衣（横浜市立大学）

蒲原 毅（横浜市立大学
附属総合医療センター）

小澤 明（東海大学病院）

新谷 洋一（名古屋市立大学）

清島真理子（岐阜大学）

山西 清文（兵庫医科大学）

宮地 良樹（京都大学）

液処理量1800mL）の施行とする。有効性は医師の総合評価と、「膿疱性乾癬（汎発型）診療ガイドライン2008年版」に示される“重症度判定スコア”に基づく評価を行う。また安全性についても有害事象および副作用について評価する。

C. 研究結果

1. 登録症例数

2013年6月の時点で12施設から24例が登録された。平均年齢は47.5歳。男性11例、女性13例、うち妊娠例が3例。中等症16例、重症8例。汎発型22例、限局型2例であった。一例は患者の希望で1回の治療で中断された。

2. 有効性

医師の総合評価では有効性評価の対象となった21例中有効と判定されたものが20例、無効と判定されたものが1例であった。

紅斑面積は $54.5 \pm 22.5\%$ が $31.2 \pm 26.0\%$ ($p = 0.0002$)、膿疱を伴う紅斑面積は $20.1 \pm 18.2\%$ が $4.3 \pm 9.2\%$ ($p < 0.0001$)、浮腫の面積は $20.5 \pm 19.2\%$ が $5.1 \pm 8.8\%$ ($p = 0.0004$)、体温は $37.4 \pm 0.7^\circ\text{C}$ が $36.6 \pm 0.3^\circ\text{C}$ ($p = 0.0007$)、白血球数は $12100 \pm 6200/\text{mm}^3$

A. 研究目的

汎発型および限局型膿疱性乾癬に対するGMAの有効性と安全性を検討する。

B. 研究方法

契約22施設における全数調査とする。GMAによる体外循環は、原則として1週間に1回の頻度で5週連続で行う。1回の体外循環は、循環流速 30mL/分で60分間（総血

が $9100 \pm 4000/\text{mm}^3$ ($p = 0.0332$)、CRP は $5.37 \pm 5.48 \text{ mg/dL}$ が $1.46 \pm 1.63 \text{ mg/dL}$ ($p = 0.0047$)、血清アルブミン値は $3.31 \pm 0.81 \text{ g/dL}$ が $3.54 \pm 0.63 \text{ g/dL}$ ($p = 0.0472$) といずれも有意に改善した。「膿疱性乾癬(汎発型)診療ガイドライン2008年版」に示される“重症度判定スコア”は治療前が 9.9 ± 2.7 、治療後が 4.5 ± 0.63 ($p = 0.0001$) で有意に低下した。

3. 安全性

有害事象は3例にみられた。内容は尿路結石、穿刺部位からの持続する出血、白血球減少で、白血球減少のみが治療と因果関係が「多分あり」と判定され、ほかの2例については因果関係なしと判断された。白血球減少は重篤なものではなく短期間で回復した。なお、穿刺部位からの持続する出血は妊娠を契機として発症した後天性血友病によると考えられた。治療操作上のトラブルとして血管確保困難・脱血不良・凝固が各1例ずつみられた。妊婦への使用例が3例登録された。上述の後天性血友病を発症した例は有効性の判定は不能であったが、無事に出産し児に異常はなかった。他の2例は共に判定は有効で有害事象はなく妊娠に及ぼす影響はなかった。

D. 考察

市販後使用実績調査で全国の契約22施設から登録された24例で保険収載前の多施設共同試験の結果とほぼ同等の高い有効性と安全性が得られた。

GMAの適応症の拡大に伴い広く使用されるようになると、小児と妊婦に対する安全性の確立が重要になる。小児と妊婦に対する系統的な臨床試験は未だになされていないが、炎症性腸疾患における市販後調査には18歳未満の症例が27例含まれており、18歳以上の症例と比較して有効性と不具合の発生率には有意差がなく、副作用の発生率は有意に高いが重篤なものはないことが示された。

今回の市販後調査では3例の妊娠例が登録

された。本療法による副作用や胎児への影響はみられなかった。さらに症例を集積する必要があると思われる。

E. 結論

顆粒球吸着除去療法の膿疱性乾癬に対する適応が承認され2012年10月に保険に収載されたことを受けて実施されている市販後使用成績調査によって本療法の有効性と安全性が更に確認されつつある。

F. 健康危険情報

市販後使用実績調査で観察された3例の有害事象以外に特記すべき事項はない。

G. 研究発表(平成25年度)

論文発表

1. Kloepper JE, Kawai K, Bertolini M, Kanekura T, Paus R. Loss of $\gamma \delta$ T-cells results in hair cycle defects. *J Invest Dermatol* 2013;133:1666-9.
2. Do HTT, Koriyama C, Khan NA, Higashi M, Kato T, Le NT, Matsushita S, Kanekura T, Akiba S. The etiologic role of human papillomavirus in penile cancers — A study in Vietnam. *Br J Cancer* 2013; 108:229-33.
3. Shimokawa M, Haraguchi M, Kobayashi W, Higashi Y, Matsushita S, Kawai K, Kanekura T, Ozawa M. The transcription factor Snail expressed in cutaneous squamous cell carcinoma induces epithelial-mesenchymal transition and down-regulates COX-2. *Biochem Biophys Res Commun* 2013;430:1078-82.
4. Ogawa Y, Tanaka M, Tanabe M, Suzuki T, Togawa T, Fukushige T, Kanekura T, Sakuraba H, Oishi K. Impaired neural differentiation of induced pluripotent stem cells generated from a mouse model of Sandhoff disease. *PLoS One* 2013; 8 : e55856.

5. Sakanoue M, Takeda K, Kawai K, Kanekura T. Granulocyte and monocyte adsorption apheresis (GCAP) for refractory skin diseases due to activated neutrophils, psoriasis, and associated arthropathy. *Ther Apher Dial* 2013;17:477-83.
6. Haraguchi M, Indo HP, Iwasaki Y, Fukushige T, Majima HJ, Izumo K, Horiuchi M, Kanekura T, Furukawa T, Ozawa M. Snail modulates cell metabolism in MDCK cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2013;432:618-25.
7. Wang Y, Yang Y, Luo Y, Yin Y, Wang Q, Li Y, Kanekura T, Wang J, Liang G, Zhao M, Lu Q, Xiao R. Aberrant histone modification in peripheral blood B cells from patients with systemic sclerosis. *Clin Immunol* 2013;149:46-54.
8. Baba N, Higashi Y, Kanekura T. Japanese black vinegar "Izumi" inhibits the proliferation of human squamous cell carcinoma cells via necroptosis. *Nutr Cancer* (in press) .
9. Ibusuki A, Kawai K, Yoshida S, Uchida Y, Nitahara-Takeuchi A, Kuroki K, Kajiwara M, Ose T, Maenaka K, Kasahara M, Kanekura T. NKG2D triggers cytotoxicity in murine epidermal $\gamma\delta$ T cells via PI3K-dependent, Syk/ZAP70-independent signaling pathway. *J Invest Dermatol* (in press) .
10. Higashi Y, Shimokawa M, Kawai K, Kanekura T. Granulocyte and monocyte adsorption apheresis for Behçet's disease in a pregnant woman. *J Dermatol* (in press) .
11. 金蔵拓郎. 皮膚疾患に対する顆粒球吸着除去療法. *日本アフェレシス学会雑誌*. 2013;32:124-9.
12. 金蔵拓郎. 膿疱性乾癬に対する顆粒球吸着除去療法. *臨床皮膚科*. 2013;67:113-6.

学会発表

1. Kanekura T. Adacolumn[®] in pustular psoriasis
EU Early Stage Advisory Board: Adacolumn[®] in pustular psoriasis
24 April 2013, Frankfurt
2. 金蔵拓郎
皮膚疾患に対する顆粒球吸着療法
第58回日本透析医学会ランチョンセミナー7
2013年6月21日 福岡市
3. 坂ノ上正直
好中球性皮膚疾患に対する顆粒球吸着療法
第65回日本皮膚科学会西部支部学術大会
ランチョンセミナー
2013年11月9日 鹿児島市

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

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型コラーゲン遺伝子の1エクソン欠損により発症する栄養障害型表皮水疱症

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 北海道大学病院皮膚科 講師

研究要旨 VII型コラーゲン（COL7）遺伝子変異により発症する栄養障害型表皮水疱症（DEB）には、劣性（RDEB）と優性遺伝性（DDEB）の2型が存在する。DDEBでは、1アレル上に生じた変異COL7が正常アレル由来のCOL7とコラーゲンとして3量体を形成する際、ドミナントネガティブ効果により発症する。従ってDDEBでは、コラーゲン領域に生じたグリシン置換変異のような、COL7の3量体形成を阻害する1アミノ酸置換変異の報告が多い。またDDEBでは、COL7遺伝子スプライスサイト近傍の変異により1エクソンが欠損することで発症することもある。今回、COL7のコラーゲン領域内に存在するエクソン74が完全欠損し発症したDDEB患者を経験し、過去の報告例を併せ詳細に検討した。その結果、COL7遺伝子に1エクソン欠損が生じた場合、エクソン欠損が生じる部位と臨床型との相関が予想された。

A. 研究目的

表皮水疱症は、表皮真皮間接合を担う基底膜構成分子の遺伝子異常により発症し、原因タンパクによって単純型（Keratin5, 14等）、接合部型（Laminin332, Collagen17等）、栄養障害型（Collagen 7）、キンドラー症候群（FERMT 1）の4型に分類されている（括弧内は主要なタンパクを示す）。7型コラーゲン（COL7）遺伝子（COL7A1）に遺伝子異常が生じ発症する栄養障害型表皮水疱症（DEB）患者では、両アレルのCOL7A1に遺伝子変異を持つ劣性遺伝性DEB（RDEB）と、1アレルのCOL7A1に遺伝子変異が生じドミナントネガティブ効果として発症する優性遺伝性DEB（DDEB）に大別される。通常DDEBの遺伝子変異はコラーゲン領域に生じ、グリシン置換を主とする1アミノ酸変異が多い。しかしまれにエクソンスキッピングなどスプライシング異常によって正常な生理機能を持たないCOL7を生じた結果、発症する症例もある。DDEB患者では、同一変異を有しているものの臨床症状は異なる症例も多

く、遺伝子型～臨床症状の相関の確立は困難である場合も多い。今回、痒疹型のDDEB患者を経験し、遺伝子変異検索と患者細胞を用いた解析によりエクソン74がスキップした結果、発症していることが判明した。COL7A1遺伝子に1エクソンスキップが生じた際、スキップしたエクソンと臨床表現型の相関は未だ不明である。本研究の目的は、スキップするエクソンの部位と臨床所見との相関を明らかにすることである。

B. 研究方法

DDEB患者について、COL7A1遺伝子の変異検索を施行した。さらに患者皮膚を用いCOL7を含む各種基底膜タンパクの発現パターンを蛍光抗体法で解析した。同時に患者由来培養線維芽細胞を用いてCOL7のmRNA、タンパクレベルでの発現を解析した。

C. 研究結果

症例は38歳女性。18歳頃から両下腿伸側に掻痒の強い紅色丘疹が出現し徐々に拡大して

きた (図 1 A)。幼少期に外的刺激部位に一致して水疱を形成した既往がある。爪甲の変形も認める (図 1 A)。母と長女にも爪甲の変形を認める。

患者凍結皮膚に図 1 B に記した各種基底膜分子に対する抗体を用い蛍光抗体法を施行した。患者皮膚では基底膜タンパクの発現減少など明らかな異常所見は認めなかった (図 1 B)。

患者末梢血細胞から抽出したゲノム DNA から *COL7A1* の変異解析を行ったところ、患者は *de novo* 変異である c.6215delA を 1 アレルに確認した。この変異はエクソン 74 内の 1 塩基欠損であり、133 アミノ酸下流のエクソン 82 まで終始コドンが生じないことが予想され、当初はエクソン 82 までの短い truncated タンパクが作られた結果、発症する可能性を考えた (図 2)。しかし患者線維芽細胞から mRNA を抽出し解析したところ、本変異はスプライス異常を来し、主にエクソン 74 がスキップした COL7 タンパクが生じることが判明した (図 3)。実際患者細胞を用いたウエスタンブロットでは、エクソン 82 まで転写されたと推定される短い COL7 は認めなかった。

D. 考察

過去に報告された DDEB 症例を解析した結果、コラーゲン領域にエクソンスキッピングが生じ DDEB となる症例は、同一家系内の症例を含め全部で 37 例あった (表 1)。興味深いことに、これらの症例の多くは DDEB の中で稀とされる痒疹型あるいは脛骨前型の表現型を呈していた。従って、*COL7A1* にエクソンスキッピングを来す変異が生じると特徴的な臨床所見が生じる可能性が示唆された。

E. 結論

COL7A1 遺伝子に 1 エクソン欠損を来す遺伝子変異が生じると、痒疹型や脛骨前型など特徴的な DDEB の臨床を呈する可能性が

予想された。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表 (平成 25 年度)

論文発表

1. Nomura Y, Nomura T, Sakai K, Sasaki K, Ohguchi Y, Mizuno O, Hata H, Aoyagi S, Abe R, Itaya Y, Akiyama M, Shimizu H : A novel splice site mutation in NCSTN underlies a Japanese family with hidradenitis suppurativa. *Br J Dermatol* 168 : 206-209, 2013.
2. Hoshina D, Arita K, Mizuno O, Fujimoto K, Nishio M, Kondo T, Abe R, Shimizu H : Skin involvement in ALK-negative systemic anaplastic large-cell lymphoma. *J Am Acad Dermatol* 67 : e159-160, 2012.
3. Toyonaga E, Inokuma D, Abe Y, Abe R, Shimizu H : Pagetoid dyskeratosis with parallel ridge pattern under dermoscopy. *JAMA Dermatol* 149 : 109-111, 2013.
4. Koguchi H, Ujiie H, Aoyagi S, Osawa R, Shimizu H : Confluent and reticulated papillomatosis associated with 15q tetrasomy syndrome. *Acta Derm Venereol* 93 : 202-203, 2013.
5. Shimizu S, Inokuma D, Watanabe M, Sakai T, Yamamoto S, Tsuchiya K, Shimizu H : Cutaneous Manifestations of *Helicobacter cinaedi* Infection. *Acta Derm Venereol*, 93 : 165-167, 2013.
6. Toyonaga E, Abe R, Moriuchi R, Ito K, Abe Y, Shimizu H : Indomethacin for Refractory Infantile Eosinophilic Pustular Folliculitis. *JAMA Dermatol* 149 : 367-368, 2013.
7. Hirata Y, Abe R, Kikuchi K, Hamasaka A, Shinkuma S, Ujiie H, Nomura T, Nishie W, Arita K, Shimizu H : Intraepidermal neutrophilic IgA pemphigus successfully

- treated with dapsone. *Eur J Dermatol* 22 : 282-283, 2012.
8. Saito N, Yoshioka N, Abe R, Qiao H, Fujita Y, Hoshina D, Suto A, Kase S, Kitaichi N, Ozaki M, Shimizu H : Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis mouse model generated by using PBMCs and the skin of patients. *J Allergy Clin Immunol* 131 : 434-441 e431-439, 2013.
 9. Nakazato S, Fujita Y, Hamade Y, Nemoto-Hasebe I, Sugita J, Nishie W, Shimizu H : Wells' Syndrome Associated with Chronic Myeloid Leukaemia. *Acta Derm Venereol* 93 : 375-376, 2013.
 10. Ito T, Nishie W, Fujita Y, Abe R, Shimizu H : Infantile eczema caused by formula milk. *Lancet* 381 : 1958, 2013.
 11. Hoshina D, Abe R, Yoshioka N, Saito N, Hata H, Fujita Y, Aoyagi S, Shimizu H : Establishment of a novel experimental model of human angiosarcoma and a VEGF-targeting therapeutic experiment. *J Dermatol Sci* 70 : 116-122, 2013.
 12. Yoshioka N, Suto A, Abe R, Saito N, Murata J, Hayashi-Ujiiie I, Hoshina D, Fujita Y, Shimizu H : Disturbed balance in three subpopulations of CD 4 (+) Foxp 3 (+) regulatory T cells in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis patients. *Clin Immunol* 148 : 89-91, 2013.
 13. Qiao H, Abe R, Saito N, Fujita Y, Hayashi-Ujiiie I, Wang G, Haga S, Wu C, Ohmiya Y, Ozaki M, Shimizu H : A method for intravital monitoring of human cells using a far-red luminescent probe in graft-versus-host disease model mice. *J Invest Dermatol* 133 : 841-843, 2013.
 14. Tanahashi K, Sugiura K, Takeichi T, Takama H, Shinkuma S, Shimizu H, Akiyama M : Prevalent founder mutation c.736T>A of LIPH in autosomal recessive woolly hair of Japanese leads to variable severity of hypotrichosis in adulthood. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 27 : 1182-1184, 2013.
 15. Ito T, Fujita Y, Nomura T, Abe R, Shimizu H : Dermoscopy of pseudoxanthoma elasticum-like papillary dermal elastolysis. *J Am Acad Dermatol* 69 : e202-203, 2013.
 16. Tsujiwaki M, Abe R, Nomura Y, Nishimura M, Hoshina D, Shinkuma S, Natsuga K, Ujiie H, Arita K, Shimizu H : Coexistence case of bullous pemphigoid and pemphigus foliaceus. *Eur J Dermatol* 23 : 552-553, 2013.
 17. Shinkuma S, Nishie W, Jacyk WK, Natsuga K, Ujiie H, Nakamura H, Akiyama M, Shimizu H : A Novel Keratin 5 Mutation in an African Family with Epidermolysis Bullosa Simplex Indicates the Importance of the Amino Acid Located at the Boundary Site Between the H 1 and Coil 1 A Domains. *Acta Derm Venereol* 93 : 585-587, 2013.
 18. Izumi K, Yanagi T, Akiyama M, Moriuchi R, Arita K, Shimizu H : Intractable erythematous plaques on the hands : palmo-plantar eosinophilic pustular folliculitis. *Int J Dermatol* 52 : 1274-1275, 2013.
 19. Ujiie H, Aoyagi S, Hirata Y, Osawa R, Shimizu H : Linear congenital molluscum contagiosum on the coccygeal region. *Pediatr Dermatol* 30 : e83-84, 2013.
 20. Koguchi H, Arita K, Nakazato S, Moriuchi R, Yamane N, Shinkuma S, Matsumura K, Shimizu H : An Erythematous Plaque on the Breast : A Quiz. *Acta Derm Venereol* 93 : 763-765, 2013.

学会発表

1. Suzuki S, Nomura T, Umemoto H, Nakamura H, Akiyama M, Shimizu H : A novel frameshift mutation in the V 2 do-

- main of KRT 1 underlies a family with ichthyosis hystrix Curth-Macklin type and induces aberrant keratin filament localization. International Pre IID 2013. University of Dundee, 2013/05/6-7
2. Izumi K, Nishie W, Ujiiie H, Shimizu H : Establishment of novel ELISA using full-length recombinant human collagen XVII. International Investigative Dermatology 2013. Edinburgh International Conference Centre, 2013/05/8-11
 3. Nishie W, Ujiiie H, Izumi K, Shimizu H : Detection of pathological cleavage sites and neopeptides on collagen XVII, a major autoantigen for bullous pemphigoid. International Investigative Dermatology 2013. Edinburgh International Conference Centre, 2013/05/8-11
 4. Nishimura M, Nishie W, Shinkuma S, Natsuga K, Nakamura H, Sawamura D, Iwatsuki K, Shimizu H : Essential role of collagen XVII in basement membrane formation and keratinocyte migration. International Investigative Dermatology 2013. Edinburgh International Conference Centre, 2013/05/8-11
 5. Sasaoka T, Ujiiie H, Nishie W, Shibaki A, Nakamura H, Shimizu H : Bullous pemphigoid autoantibodies induce skin fragility in neonatal mice in a complement-independent manner. International Investigative Dermatology 2013. Edinburgh International Conference Centre, 2013/05/8-11
 6. Suto A, Abe R, Saito N, Suzuki S, Nomura T, Fujita Y, Nakamura H, Shimizu H : The mitochondrial fusion proteins Mfn 1 and Mfn 2 are involved in keratinization. International Investigative Dermatology 2013. Edinburgh International Conference Centre, 2013/05/8-11
 7. Suzuki S, Nomura T, Sassa T, Ohno Y, Akiyama M, Kihara A, Shimizu H : Loss of ELOVL1 enzyme depletes very long-chain fatty acids and causes lethal skin barrier disruption in mice. International Investigative Dermatology 2013. Edinburgh International Conference Centre, 2013/05/8-11
 8. Toyonaga E, Nishie W, Onda H, Komine M, Murata S, Shinkuma S, Nakamura H, Ohtsuki M, Shimizu H : Exon 74-skipped collagen VII leads to pretibial dominant dystrophic epidermolysis bullosa : a case report and literature review. International Investigative Dermatology 2013. Edinburgh International Conference Centre, 2013/05/8-11

H. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）

該当なし

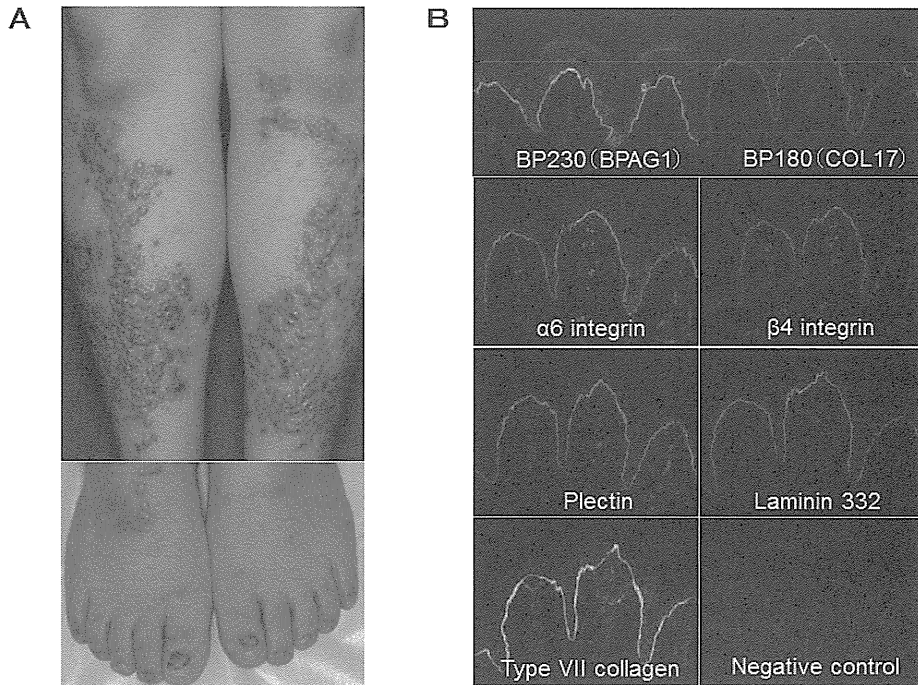


図1. 臨床所見と各種基底膜抗原の発現

(A) 脛骨前に暗赤色の痒疹を多数認め爪甲変形も伴っている。(B) 各種基底膜タンパクの発現減少はない。

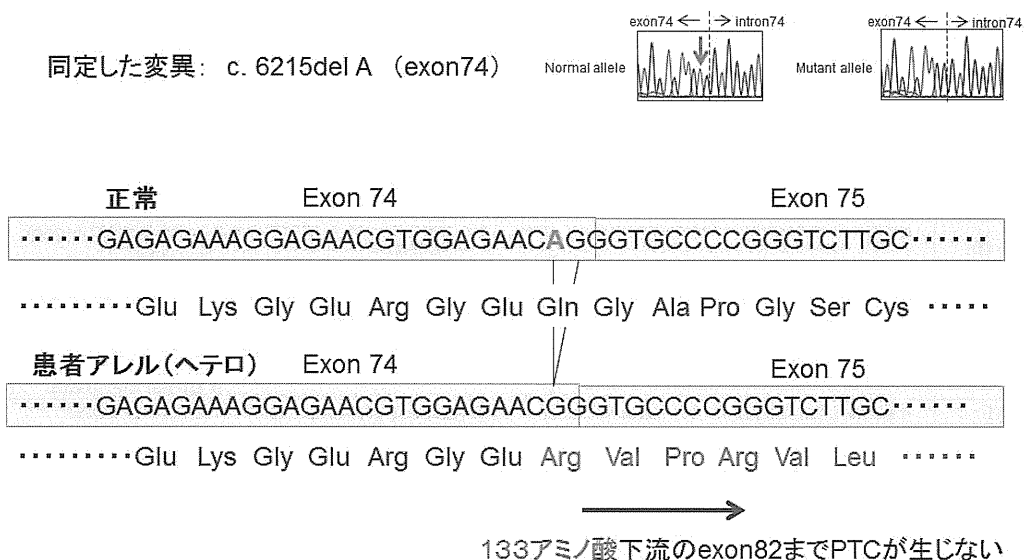
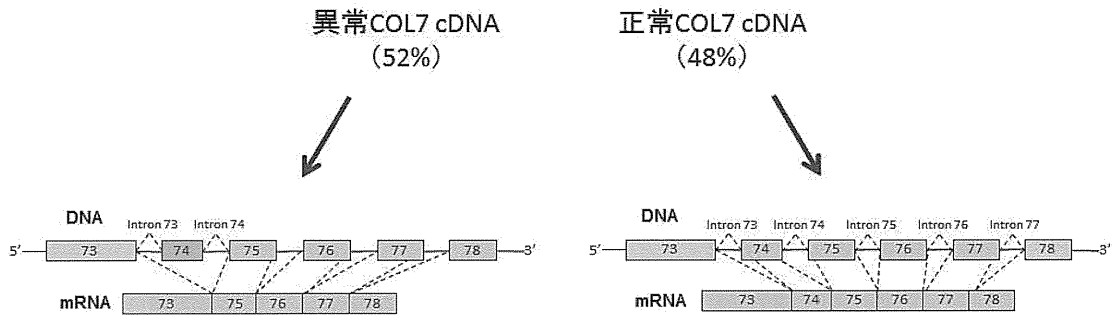


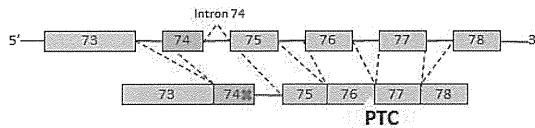
図2. COL7A1の1アレルに同定した遺伝子変異

de novo変異であるc.6215delAを1アレルに確認した。この変異はエクソン74内にあり133アミノ酸下流のエクソン82で終始コドンが生じると予想される。

mRNA → RT-PCR → colony PCR → sequencing



異常COL7 cDNAのうち67%がエクソン74のスキッピング



他は全て下流でPTCを生じるスプライス異常

図3. mRNAレベルでの解析

患者線維芽細胞からmRNAを抽出し解析したところ、約半数のCOL7 cDNAに異常を認め、そのうち67%はエクソン74がスキップしたCOL7 cDNAであった。

表1 エクソンスキッピングを伴う過去のDDEB症例

	Mutations	Skipped exon	Phenotypes	References
1	c.6847del27	exon87	DDEB Pretibial	Sakuntabhai A (1998) Am J Hum Genet.
2	c.8045A>G	exon108	DDEB Pretibial	Kon A (1998) J Invest Dermatol.
3~5	c.6863del16	exon87	DDEB	Cserhalmi-Friedman PB (1998) Lab Invest.
6			DDEB Pruriginosa	Mellerio JE (1999) J Invest Dermatol.
7~10			DDEB	Salsa-Alanis JC (2000) Int J Dermatol.
11~29	c.6899A>G	exon87	DDEB Pruriginosa	Jiang W (2002) Acta Derm Venereol.
30			DDEB	Kern JS (2006) J Invest Dermatol.
31	c.6900+2delTGAT	exon87	DDEB Pruriginosa	Drera B (2006)
32	c.6900+4A>G	exon87	DDEB Pruriginosa	Clin Genetic.
33	c.6900+1G>T	exon87	DDEB Pruriginosa	Ren X (2008) Br J Dermatol.
34	c.6900G>A	exon87	DDEB Pruriginosa	Saito M (2009) Clin Exp Dermatol.
35			DDEB (very mild)	Koga H (2011) J Dermatol.
36	c.4668+1G>A	exon45	DDEB Pruriginosa	Yang CS (2012) Pediatr Dermatol.
37	c.6900+1G>C	exon87	DDEB Pruriginosa	Jiang W (2012) Acta Derm Venereol.
Current case	c.6215delA	exon74	DDEB Pruriginosa	

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

表皮水疱症の診断に有用な抗17型コラーゲンモノクローナル抗体の作製

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 北海道大学病院皮膚科 講師

研究要旨 表皮水疱症は、表皮真皮間接合を担う基底膜構成分子の遺伝子異常により発症する難治性皮膚疾患である。外的刺激にともない水疱やびらんが生じるが、欠損タンパクの種類によって予後や合併症は大きく異なる。そのため早期の正確な診断が重要である。表皮水疱症の診断は臨床所見に加え電子顕微鏡的水疱形成部位と各種基底膜タンパクの発現の確認が重要であり、症例により遺伝子変異検索も行われる。特異的モノクローナル抗体を用いた基底膜構成分子の発現マッピングは、特に有用である。今回、接合部型表皮水疱症患者の診断に有用な17型コラーゲンに対するモノクローナル抗体を作製した。

A. 研究目的

表皮水疱症は、表皮真皮間接合を担う各種基底膜構成分子の遺伝子異常によって発症し、原因タンパクにより単純型（Keratin5, 14等）、接合部型（Laminin332, Collagen17等）、栄養障害型（Collagen 7）、キンドラー症候群（FERMT 1）の4型に分類されている（括弧内は主要なタンパクを示す）。表皮水疱症患者の多くは外的刺激にともない容易に水疱やびらんが生じるが、欠損タンパクの種類により予後や合併症は大きく異なる。従ってより早期に正確な診断を行うことが重要である。

表皮水疱症の診断は、臨床所見に加え、電子顕微鏡的水疱形成部位の確認や基底膜タンパクの発現確認、遺伝子検索など行われるが、なかでも特異的モノクローナル抗体を用いた各種基底膜分子の発現マッピングは診断に非常に有用である。特定の基底膜タンパクの発現が消失するような症例では、基底膜抗原マッピングのみで診断がほぼ確定的となる場合も稀でない。現在、殆どの基底膜タンパクに対するモノクローナル抗体は購入可能であるが、17型コラーゲン（COL17）に対するモノクローナル抗体は市販品で良いものは無い。本研究の目的は、表皮水疱症患者の診断

に有用なCOL17に対するモノクローナル抗体を作製することである。

B. 研究方法

N末端にFLAGタグを付けたヒトCOL17 cDNAをpcDNA 5/FRTベクターへクローニングし、Flp-in 293細胞へpOG44と共にコトランスフェクションし、ヒグロマイシンによって安定発現株細胞を得る。細胞質ライセートから抗FLAG抗体ビーズを用い、全長のヒトCOL17タンパクを精製し、プラスミンで切断後、マウスへ免疫する。免疫したマウスから脾細胞を採取し、不死化したマウスミエローマ細胞とPEGを用い細胞融合し、HATセレクション後に生存した細胞を限界希釈でセレクションする。培養上清中のヒトCOL17に対する抗体の有無は、抗原タンパクを固層化したELISA法（およびMBL社、BP180 ELISAキット）ないし正常ヒト皮膚を基質とした蛍光抗体間接法で確認した。

また、COL17の細胞外領域の異なる部位に対する抗原エピトープを検索するために、ヒトCOL17 cDNAをテンプレートとしPCR法を行い、同様にpcDNA 5/FRTベクターへ導入することで種々の大きさの変異ヒト

COL17タンパクを作製した。

得られたヒトCOL17に対する抗体の有用性は、*COL17A1*に遺伝子変異 (c.2151C>T, p.R718Ter) をホモで有しCOL17の発現が消失した接合部型表皮水疱症患者皮膚で確認した。

C. 研究結果

100倍希釈した培養上清を1次抗体とし、正常ヒト皮膚表皮真皮境界部に線状に強く染色されるハイブリドーマを8クローン採取した(図1)。これら培養上清をNC16A ELISAキットを用い、COL17のNC16A領域に対する抗体の有無を確認したところ、1クローン(クローンNo.1)のみ陽性であった。残りの7クローンの多くはヒトCOL17の細胞外領域へ反応したが、そのうち1クローン(クローンNo.2)は、N末端から3番目のコラーゲン領域まで、および3番目のコラーゲン領域からC末端まで発現させたりコンビナントタンパクに反応した(図2)。従って、クローンNo.2は、3番目のコラーゲン領域に抗原エピトープが存在すると推測された。

得られた抗体をCOL17の発現が消失した接合部型表皮水疱症患者皮膚で確認したところ、いずれの抗体も反応性を認めず、*COL17A1*遺伝子に変異を有する接合部型表皮水疱症患者の診断に有用であることが示唆された(図3)。

D. 考察

表皮水疱症は、表皮真皮間接合を担う分子の一つが遺伝子異常により機能障害を生じた結果発症する。従って診断当初は、どの分子に異常が生じているが不明であるため、各種基底膜タンパクの発現量を簡単な方法で特定可能な、抗基底膜分子に対するモノクローナル抗体は診断に非常に有用である。今回作製したモノクローナル抗体は、ネイティブなヒトCOL17に対し良好に反応し、COL17に遺伝子異常を持つ患者の診断に有用であることが判明した。本抗体は、今後、広く臨床応用

するものと期待される。

E. 結論

ヒトCOL17のNC16A領域とC末端に対する2つのモノクローナル抗体を作製した。これら抗体は、*COL17A1*遺伝子に異常を持つ接合部型表皮水疱症の診断に非常に有用である。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表(平成25年度)

論文発表

1. Nomura Y, Nomura T, Sakai K, Sasaki K, Ohguchi Y, Mizuno O, Hata H, Aoyagi S, Abe R, Itaya Y, Akiyama M, Shimizu H : A novel splice site mutation in NCSTN underlies a Japanese family with hidradenitis suppurativa. *Br J Dermatol* 168 : 206-209, 2013.
2. Hoshina D, Arita K, Mizuno O, Fujimoto K, Nishio M, Kondo T, Abe R, Shimizu H : Skin involvement in ALK-negative systemic anaplastic large-cell lymphoma. *J Am Acad Dermatol* 67 : e159-160, 2012.
3. Toyonaga E, Inokuma D, Abe Y, Abe R, Shimizu H : Pagetoid dyskeratosis with parallel ridge pattern under dermoscopy. *JAMA Dermatol* 149 : 109-111, 2013.
4. Koguchi H, Ujiie H, Aoyagi S, Osawa R, Shimizu H : Confluent and reticulated papillomatosis associated with 15q tetrasomy syndrome. *Acta Derm Venereol* 93 : 202-203, 2013.
5. Shimizu S, Inokuma D, Watanabe M, Sakai T, Yamamoto S, Tsuchiya K, Shimizu H : Cutaneous Manifestations of *Helicobacter cinaedi* Infection. *Acta Derm Venereol*, 93 : 165-167, 2013.
6. Toyonaga E, Abe R, Moriuchi R, Ito K, Abe Y, Shimizu H : Indomethacin for Re-

- fractory Infantile Eosinophilic Pustular Folliculitis. *JAMA Dermatol* 149 : 367–368, 2013.
7. Hirata Y, Abe R, Kikuchi K, Hamasaka A, Shinkuma S, Ujiie H, Nomura T, Nishie W, Arita K, Shimizu H : Intraepidermal neutrophilic IgA pemphigus successfully treated with dapsone. *Eur J Dermatol* 22 : 282–283, 2012.
 8. Saito N, Yoshioka N, Abe R, Qiao H, Fujita Y, Hoshina D, Suto A, Kase S, Kitaichi N, Ozaki M, Shimizu H : Stevens–Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis mouse model generated by using PBMCs and the skin of patients. *J Allergy Clin Immunol* 131 : 434–441 e431–439, 2013.
 9. Nakazato S, Fujita Y, Hamade Y, Nemo-to-Hasebe I, Sugita J, Nishie W, Shimizu H : Wells’ Syndrome Associated with Chronic Myeloid Leukaemia. *Acta Derm Venereol* 93 : 375–376, 2013.
 10. Ito T, Nishie W, Fujita Y, Abe R, Shimizu H : Infantile eczema caused by formula milk. *Lancet* 381 : 1958, 2013.
 11. Hoshina D, Abe R, Yoshioka N, Saito N, Hata H, Fujita Y, Aoyagi S, Shimizu H : Establishment of a novel experimental model of human angiosarcoma and a VEGF-targeting therapeutic experiment. *J Dermatol Sci* 70 : 116–122, 2013.
 12. Yoshioka N, Suto A, Abe R, Saito N, Murata J, Hayashi-Ujiie I, Hoshina D, Fujita Y, Shimizu H : Disturbed balance in three subpopulations of CD 4 (+) Foxp 3 (+) regulatory T cells in Stevens–Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis patients. *Clin Immunol* 148 : 89–91, 2013.
 13. Qiao H, Abe R, Saito N, Fujita Y, Hayashi-Ujiie I, Wang G, Haga S, Wu C, Ohmiya Y, Ozaki M, Shimizu H : A method for intravital monitoring of human cells using a far-red luminescent probe in graft-versus-host disease model mice. *J Invest Dermatol* 133 : 841–843, 2013.
 14. Tanahashi K, Sugiura K, Takeichi T, Takama H, Shinkuma S, Shimizu H, Akiyama M : Prevalent founder mutation c.736T>A of LIPH in autosomal recessive woolly hair of Japanese leads to variable severity of hypotrichosis in adulthood. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 27 : 1182–1184, 2013.
 15. Ito T, Fujita Y, Nomura T, Abe R, Shimizu H : Dermoscopy of pseudoxanthoma elasticum-like papillary dermal elastolysis. *J Am Acad Dermatol* 69 : e202–203, 2013.
 16. Tsujiwaki M, Abe R, Nomura Y, Nishimura M, Hoshina D, Shinkuma S, Natsuga K, Ujiie H, Arita K, Shimizu H : Coexistence case of bullous pemphigoid and pemphigus foliaceus. *Eur J Dermatol* 23 : 552–553, 2013.
 17. Shinkuma S, Nishie W, Jacyk WK, Natsuga K, Ujiie H, Nakamura H, Akiyama M, Shimizu H : A Novel Keratin 5 Mutation in an African Family with Epidermolysis Bullosa Simplex Indicates the Importance of the Amino Acid Located at the Boundary Site Between the H 1 and Coil 1 A Domains. *Acta Derm Venereol* 93 : 585–587, 2013.
 18. Izumi K, Yanagi T, Akiyama M, Moriuchi R, Arita K, Shimizu H : Intractable erythematous plaques on the hands : palmo-plantar eosinophilic pustular folliculitis. *Int J Dermatol* 52 : 1274–1275, 2013.
 19. Ujiie H, Aoyagi S, Hirata Y, Osawa R, Shimizu H : Linear congenital molluscum contagiosum on the coccygeal region. *Pediatr Dermatol* 30 : e83–84, 2013.
 20. Koguchi H, Arita K, Nakazato S, Moriuchi R, Yamane N, Shinkuma S, Matsumura K, Shimizu H : An Erythematous

Plaque on the Breast : A Quiz. Acta Derm Venereol 93 : 763-765, 2013.

学会発表

1. Suzuki S, Nomura T, Umemoto H, Nakamura H, Akiyama M, Shimizu H : A novel frameshift mutation in the V 2 domain of KRT 1 underlies a family with ichthyosis hystrix Curth-Macklin type and induces aberrant keratin filament localization. International Pre IID 2013. University of Dundee, 2013/05/ 6 - 7
2. Izumi K, Nishie W, Ujiie H, Shimizu H : Establishment of novel ELISA using full-length recombinant human collagen XVII. International Investigative Dermatology 2013. Edinburgh International Conference Centre, 2013/05/ 8 -11
3. Nishie W, Ujiie H, Izumi K, Shimizu H : Detection of pathological cleavage sites and neoepitopes on collagen XVII, a major autoantigen for bullous pemphigoid. International Investigative Dermatology 2013. Edinburgh International Conference Centre, 2013/05/ 8 -11
4. Nishimura M, Nishie W, Shinkuma S, Natsuga K, Nakamura H, Sawamura D, Iwatsuki K, Shimizu H : Essential role of collagen XVII in basement membrane formation and keratinocyte migration. International Investigative Dermatology 2013. Edinburgh International Conference Centre, 2013/05/ 8 -11
5. Sasaoka T, Ujiie H, Nishie W, Shibaki A, Nakamura H, Shimizu H : Bullous pemphigoid autoantibodies induce skin fragility in neonatal mice in a complement-independent manner. International Investigative Dermatology 2013. Edinburgh International Conference Centre, 2013/05/ 8 -11
6. Suto A, Abe R, Saito N, Suzuki S, Nomura T, Fujita Y, Nakamura H, Shimizu H : The mitochondrial fusion proteins Mfn 1 and Mfn 2 are involved in keratinization. International Investigative Dermatology 2013. Edinburgh International Conference Centre, 2013/05/ 8 -11
7. Suzuki S, Nomura T, Sassa T, Ohno Y, Akiyama M, Kihara A, Shimizu H : Loss of ELOVL1 enzyme depletes very long-chain fatty acids and causes lethal skin barrier disruption in mice. International Investigative Dermatology 2013. Edinburgh International Conference Centre, 2013/05/ 8 -11
8. Toyonaga E, Nishie W, Onda H, Komine M, Murata S, Shinkuma S, Nakamura H, Ohtsuki M, Shimizu H : Exon 74-skipped collagen VII leads to pretibial dominant dystrophic epidermolysis bullosa : a case report and literature review. International Investigative Dermatology 2013. Edinburgh International Conference Centre, 2013/05/ 8 -11

H. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）
該当なし

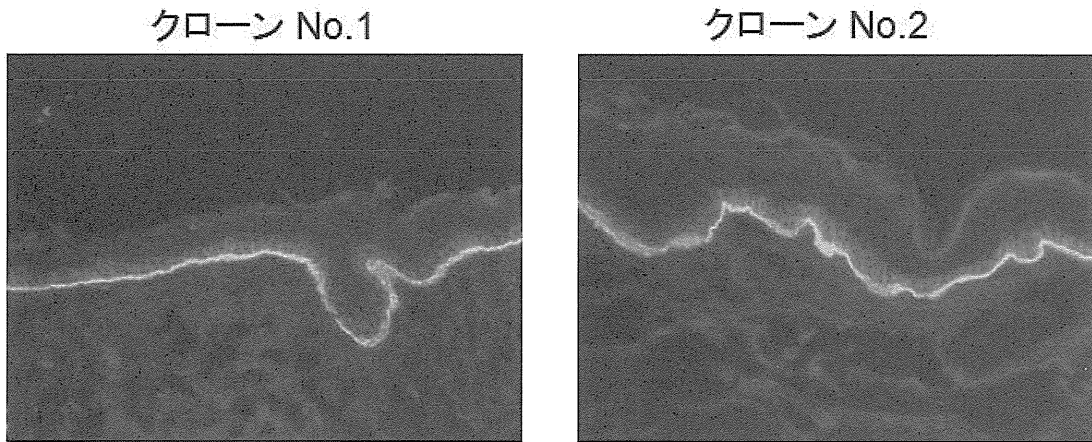


図1. 正常表皮ヒト皮膚に対する蛍光抗体間接法
クローンNo.1, No.2ともに表皮真皮境界部へ線状の沈着を認める（培養上清を100倍希釈）。

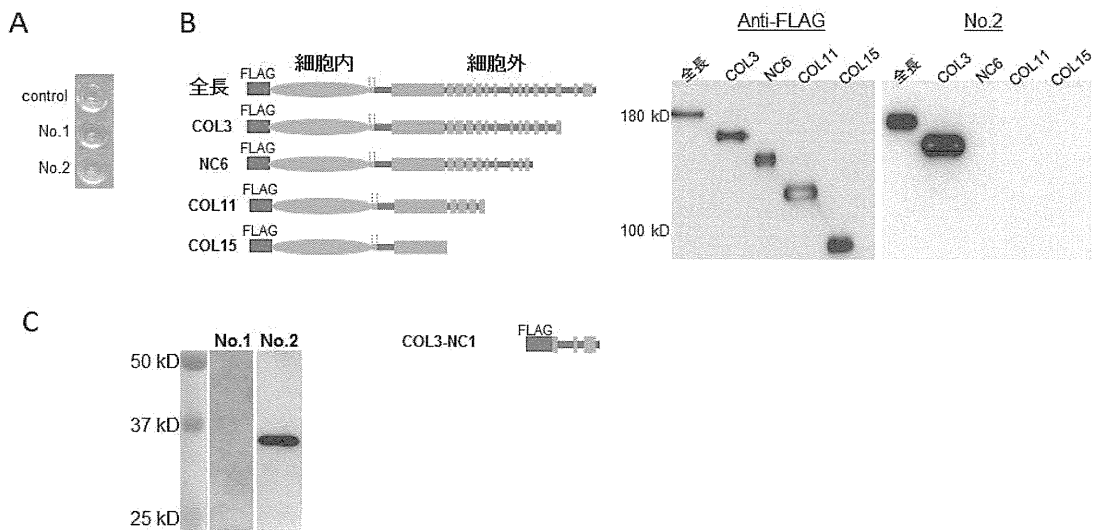


図2. クローンNo.1とNo.2のエピトープマッピング

(A) クローンNo.1は、NC16A領域タンパクを基質とするBP180 ELISAで陽性に反応し、NC16A領域内にエピトープを有していることが解る。(B) No.2は、N末端から3番目のコラーゲン領域まで発現させたりコンビナントタンパク (COL3)、および (C) 3番目のコラーゲン領域からC末端まで発現させたりコンビナントタンパク (COL3-NC1) に反応を認め、抗原エピトープはCOL3内に存在することが解る。

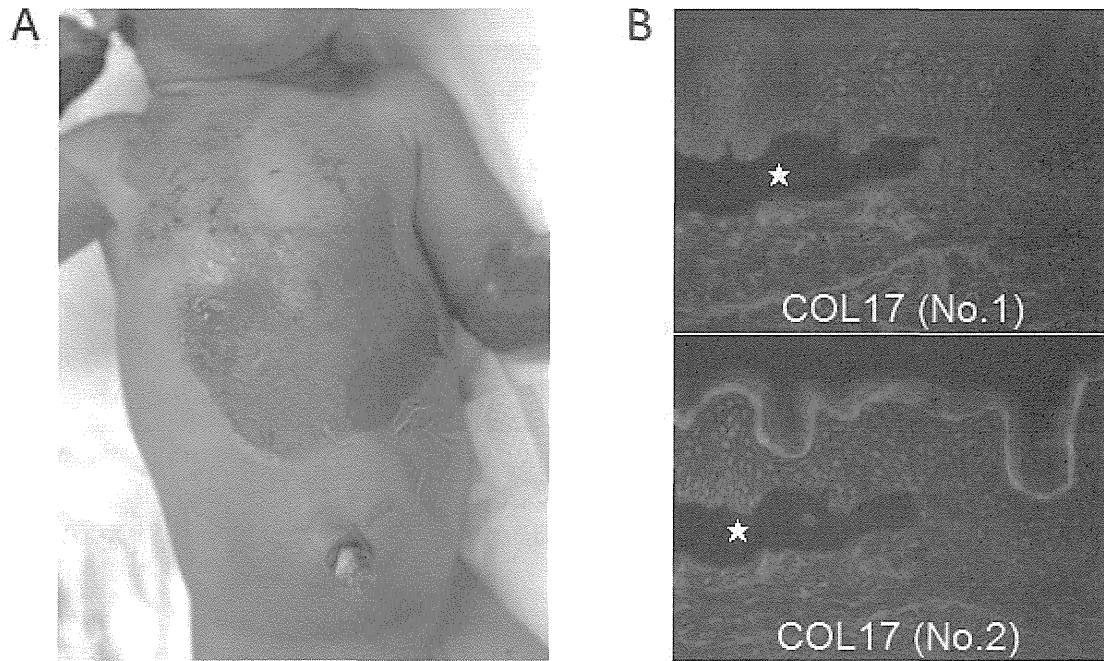


図3. COL17発現欠損接合部型表皮水疱症患者皮膚での蛍光抗体間接法

(A) *COL17A1*遺伝子にc.2151C>T, p.R718X変異をホモで有する接合部型表皮水疱症患者。(B) クローンNo.1, No.2ともに表皮真皮境界部へ線状の沈着を認めない。星印(水疱)。

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

優性栄養障害型表皮水疱症の遺伝子型・表現型解析

研究協力者 澤村大輔 弘前大学大学院医学研究科皮膚科学講座 教授

研究要旨 栄養障害型表皮水疱症は係留線維の形成不全あるいは機能障害により基底層直下に水疱形成をきたす遺伝性皮膚疾患である。栄養障害型表皮水疱症は臨床症状の違いからいくつかのサブタイプに分けられ、常染色体優性、劣性いずれの遺伝形式も取り得るが、原因遺伝子はVII型コラーゲン遺伝子である。我々はこれまで優性型栄養障害型表皮水疱症について日本人50家系のVII型コラーゲン遺伝子変異検索をおこなってきた。遺伝子変異検索の結果、サブタイプは全身型が44%と最多であったが、稀なサブタイプとされる痒疹型も40%と多くみられた。遺伝子型は78%がグリシン置換であったが、痒疹型では他のサブタイプと比較してスプライシング異常が多い傾向にあった。また痒疹型や新生児型では同じ変異を有していても、家族間もしくは家族内で表現型が異なることも少なくない。このように優性栄養障害型表皮水疱症の遺伝子型と表現型との相関関係においては未だ解決されていない問題が多く存在する。

共同研究者

中野 創 弘前大学大学院医学研究科皮膚科学講座准教授

赤坂英二郎 弘前大学大学院医学研究科皮膚科学講座

白血球よりゲノムDNAを抽出し特異的プライマーをもちいてVII型コラーゲン遺伝子の全エクソンおよびエクソン-イントロン境界部をPCR法で増幅し、直接シーケンシング法にて遺伝子変異検索を行った。

A. 研究目的

栄養障害型表皮水疱症はVII型コラーゲン遺伝子の変異により生じる。優性型栄養障害型表皮水疱症の多くはコラーゲン領域のグリシン置換変異により発症することが報告されているが、遺伝子型-表現型の相関についてはいまだ明らかになっていない点が多い。本研究の目的は、優性型栄養障害型表皮水疱症患者および家族のVII型コラーゲン遺伝子変異の検索を行うことで、遺伝子型/表現型相関を検討し、さらにはその病態を解明することである。

B. 研究方法

日本人の優性型栄養障害型表皮水疱症 50家系を対象とした。患者および家族の末梢血

C. 研究結果

優性型栄養障害型表皮水疱症のサブタイプは全身型が22/50家系（44%）と最多であり、痒疹型が20/50家系（40%）でそれに続いた（表1）。遺伝子型はグリシン置換が39/50家系（78%）と最多であり（表2）、グリシン置換はすべてコラーゲン領域にみられた。とくに39アミノ酸ヒンジ領域直後のエクソン73、74に多くのグリシン置換が集中していた。サブタイプごとに遺伝子型を見てみると、痒疹型では他のサブタイプと同様にグリシン置換が最多であったが、スプライシング異常が5/20家系（25%）にみられ、他のサブタイプと比較して多い傾向にあり、変異はエクソン85から87集中していた。（10/20家系, 50%）。また痒疹型や新生児型では家系内で表現型が

異なる場合があった。たとえば2251番目のアミノ酸がグリシンからグルタミン酸に置換する変異の痒疹型の家系では、同変異を有する発端者の父親は無症状であり、2242番目のグリシンがグルタミン酸に置換する変異を有する家系では、発端者が新生児型であるが、母親の表現型は痒疹型であった。

D. 考察

優性型栄養障害型表皮水疱症のサブタイプは全身型が最も多かった。痒疹型は稀なサブタイプとされているが、本研究では40%と多くみられ、過去の報告でも優性型栄養障害型表皮水疱症の2-3割程度を占めている。また結節性痒疹などとして加療されている疾患のなかには痒疹型の栄養障害型表皮水疱症が混じている可能性もあり、それほど稀なサブタイプではないのかもしれない。

また遺伝子型はグリシン置換が最多でありエクソン73-75に多くの変異が集中していた。これはこの領域のグリシン置換が係留線維の安定性が強く阻害されるためと考えられる。

一方、痒疹型はスプライシング異常が多く、変異はエクソン/イントロン85-87に集中している。過去の痒疹型の報告は国内外含めて41例あるが、10/41家系(24.4%)がスプライシング異常、18/41家系(48.9%)がエクソン/イントロン85-87の変異であり、本研究の結果と同様の傾向を示した。

また痒疹型や新生児型では、遺伝子型が同じであっても家族間あるいは家族内で表現型が異なる場合があり、遺伝子検索により変異が確定しても、予後推定を含めた遺伝学的マネジメントが難しい場合があると考えられた。

E. 結論

遺伝子診断によって変異の種類が多数蓄積されたが、遺伝子型-表現型相関は明らかになっていない点が多い。今後も症例を蓄積し、さらなる検討が必要である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表(平成25年度)

学会発表

1. Akasaka E, Nakano H, Takahashi I, Takagi Y, Toyomaki Y, Sawamura D. *COL7A1* mRNA isolated from peripheral blood mononuclear cells may be available for the detection of *COL7A1* mutation in dystrophic epidermolysis bullosa. *International Investigative Dermatology* 2013 (May 8-11, 2013, Edinburgh, Scotland)
2. 赤坂英二郎, 中野 創, 鷹木由里子, 豊巻由香, 澤村大輔, 中野あおい, 玉井克人, 野村和夫, 三橋善比古, 橋本 功. 表皮水疱症の遺伝子診断～優性栄養障害型表皮水疱症について～. 日本皮膚科学会青森地方会第363回例会(2013年8月25日, 八戸市)
3. 赤坂英二郎, 中野 創, 鷹木由里子, 豊巻由香, 澤村大輔. 多発する稗粒腫を主症状とした優性栄養障害型表皮水疱症. 第35回水疱症研究会(10月19-20日, 大分市)
4. 赤坂英二郎, 中野 創, 鷹木由里子, 豊巻由香, 澤村大輔, 中野あおい, 玉井克人, 野村和夫, 三橋善比古, 橋本 功. 劣性栄養障害型表皮水疱症の遺伝子診断. 日本皮膚科学会青森地方会第364回例会(2013年11月24日, 弘前市)

H. 知的所有権の出願・登録状況(予定を含む)

特になし

表1：優性栄養障害型表皮水疱症のサブタイプ

サブタイプ	家系	(%)
全身型	22	(44 %)
末端型	0	(0 %)
脛骨前型	3	(6 %)
痒疹型	20	(40 %)
爪甲限局型	0	(0 %)
新生児型	2	(4 %)
病型不明	3	(6 %)
合計	50	(100 %)

表2：優性栄養障害型表皮水疱症の遺伝子型

表現型	家系	(%)
グリシン置換変異	39	(78 %)
ミスセンス変異	2	(4 %)
欠失変異*	1	(2%)
挿入欠失変異*	2	(4%)
スプライシング異常	6	(12 %)
合計	50	(100 %)

*インフレーム