

條-西村症候群の疾患概念の確立と病態解明に基づく特異的治療法の開発」(平成 22, 23 年度)により、疫学的には、現在生存が明らかな患者は 1 幼児例を含む関西の 12 例のみであり、その多くを和歌山県立医科大学皮膚科でフォローしていることが判明した。また病因として、昭和 14 年の中條、昭和 25 年の西村らによって「凍瘡を合併せる続発性骨骨膜炎」として報告されて以来 70 年ぶりに、検索した全ての患者に、免疫プロテアソーム $\beta 5i$ サブユニットをコードする *PSMB8* 遺伝子の c.602G>T (G201V) ホモ変異が同定された。さらに患者由来細胞・組織の解析により、プロテアソーム機能不全によってユビキチン化蛋白質が蓄積することによってストレス応答が高まり、核内にリン酸化 p38 が蓄積することによって IL-6 が過剰産生されることが本態であることが示された (Arima K, et al. Proc Natl Acad Sci USA 2011)。本分担研究においては、前年度に引き続き、これらの研究事業を発展的に継続し、NNS をはじめとする皮膚症状を主体とする遺伝性自己炎症疾患のさらなる病態解明と特異的治療法の開発を進めるとともに、慢性皮膚炎症性疾患の病態解明と治療法開発を目指し、以下の研究が推進された。

B. 研究方法

1) 臨床診断基準を満たさないものの診断がつかず、臨床症状や検査所見から NNS が疑われた和歌山、大阪、東京、愛知、沖縄、浜松の症例と、診断基準を満たす横浜の女兒と奈良の男児に対し、インフォームドコンセントを得て末梢血から単離したゲノム DNA についてダイレクトシーケンス法にて *PSMB8* 遺伝子の全エクソンの変異検索を行った。

2) 和歌山県立高等看護学院の生徒 99 名のインフォームドコンセントを得て、卒前実習で採取した血液の分与を受け、単離したゲノム DNA についてダイレクトシーケンス法にて *PSMB8* c.602G>T 変異を検索した。

3) 国際自己炎症疾患研究会が運営する自己炎症疾患関連遺伝子変異データベースである INFEVERS の *PSMB8* 変異の管理を金澤と井田で行い、新規登録に対応した。

4) 患者と家族由来不死化 B 細胞と末梢血単核球について、各種抗 HLA-ABC、抗 HLA-DR 抗体 (DAKO、BD、eBioscience) を用いた細胞表面・細胞内染色を行い、フローサイトメーターにて解析した。末梢血については抗 CD14, CD19 抗体との二重染色を行ってから FACS で解析した。また

細胞の一部はサイトスピンにかけて固定してから抗 HLA-ABC、抗 HLA-DR 抗体 (DAKO) で染色し、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。患者由来不死化 B 細胞の一部は mRNA を抽出し、HLA-DR について RT-PCR を行った。さらに一部の細胞は抗 HLA-DR 抗体 (DAKO) と抗 EEA1、 γ -adaptin、LAMP1 抗体との細胞内二重染色を行った上でサイトスピンにかけ、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。

5) 臨床研究「NNS に対するトシリズマブの有用性に対する前向きコホート研究」(和歌山県立医科大学倫理委員会承認番号 959) に基づき、上半身の脂肪筋肉萎縮、関節拘縮とともに腹部肥満が著明な成人男性例に 8mg/kg のアクテムラ®を 4 週間おきに 10 ヶ月間投与した。続いて、発熱・皮疹など炎症症状が持続する成人女性例に投与を行い、3 週間おきに半年間継続した。

6) 和歌山県立医科大学倫理委員会の追加承認を得て、汎発性膿疱性乾癬 (GPP) 2 症例と急性汎発性発疹性膿疱症 (AGEP) 1 症例について、インフォームドコンセントを得て末梢血から単離したゲノム DNA についてダイレクトシーケンス法にて *IL36RN* 遺伝子の全エクソンの変異検索を行った。また、診断のつかない若年発症性炎症性角化症の症例について、*IL36RN* と *CARD14* 遺伝子の全エクソンの変異検索を行った。さらに、有棘細胞癌 (SCC) を発症し死亡した GPP の生検皮膚組織からゲノム DNA を単離し *IL36RN* の変異検索を行った。

7) 幼小児期から IgA 欠損を指摘されていたがその後難治性疣贅と汎血球減少を呈し和歌山県立医科大学を紹介受診した症例について、当初 WHIM 症候群を疑って末梢血単核球を SDF-1 で刺激した後の *CXCR4* 発現の変化をフローサイトメーターで解析し、末梢血から単離したゲノム DNA を用いて *CXCR4* 遺伝子変異の検索を行ったが診断がつかなかったため、新規原発性免疫不全症・遺伝性自己炎症疾患を疑い、次世代シーケンサー SOLID5500 を用いてエクソーム解析を行った。

8) *PSMB8* など既知の自己炎症疾患関連遺伝子に変異が見られないが NNS の臨床診断基準を満たす横浜の女兒と、臨床症状がよく似た沖縄の男児、さらに CAPS が疑われる大阪の女兒について、次世代シーケンサー SOLID5500 と HiSeq2500 を用いてゲノム DNA のエクソーム解析を進めている。

(倫理面への配慮)

本研究で用いた患者由来試料は、和歌山県立医

科大学の臨床研究・遺伝子解析研究に関する倫理委員会および長崎大学大学院医歯薬学総合研究科倫理委員会の承認を得た計画に基づき、書面にてインフォームドコンセントを得て収集されたものである。

C. 研究結果

1) NNS が疑われるが臨床診断基準を満たさない和歌山、大阪、東京、愛知、沖縄、浜松の症例については、SNP である c.129T>C (A43A)、c.145C>A (Q49K) とイントロンの c.407+6C>T 以外に *PSMB8* に有意な変異は見出されなかった。横浜の女兒については、弛張熱、結節性紅斑、上半身の脂肪筋肉萎縮、肝脾腫、大脳基底核石灰化を認め臨床診断基準を満たすものの、指節関節間は浮腫性で NNS に特徴的な長く節くれだつた指ではなく、*PSMB8* には SNP の c.145C>A (Q49K) ヘテロ変異しか見出されなかった。一方、原因不明の炎症性疾患としてトシリズマブにて加療されていた奈良の 15 歳男児に大脳基底核石灰化が見つかり臨床診断基準を満たし、*PSMB8* c.602G>T (G201V) ホモ変異を認め NNS と判明した。これにより、和歌山の 6 歳男児と合わせ、現存する小児例は 2 例となった。この和歌山の 6 歳男児については、皮疹の免疫組織学的検討を加えて論文報告した。

2) インフォームドコンセントを得て和歌山県内各地とその近郊出身の 50 名の 20-40 歳代男女の血液から単離したゲノム DNA について *PSMB8* c.602G>T 変異を検索したが見出されず、これまでの解析分と合わせて当地での変異アリル頻度は 1/190 と算出された。

3) アメリカより c.224C>T (T75M) と新規 c.274G>A (A92T) 複合ヘテロ変異を示す症例が NNS と JMP、CANDLE 症候群を合わせたプロテアソーム関連自己炎症症候群 (PRAAS) との疾患名で、またバングラデシュより新規 c.349A>G (M117V) ホモ変異を示す症例が CANDLE 症候群として、論文報告された。新規変異についてはいずれも機能解析がなされておらず、自己炎症疾患関連遺伝子変異データベースの INFEVERS の中で金澤と井田が管理する *PSMB8* 欄には c.349A>G (M117V) のみ登録され、c.274G>A (A92T) については登録依頼中である。またイタリアより CANDLE 症候群に関連する新規 c.220A>T (T74S) ホモ変異が登録され、T75M 変異と同様、β5i の活性中心が変化することでキモトリプシン活性のみが障害されると予想されるが、学会報告のみで論文にはなっておらず、機能

解析など詳細は不明である。

4) NNS 患者由来不死化 B 細胞における HLA の細胞表面発現を FACS で検討したところ、HLA-ABC の発現は問題なく認めたのに対し、HLA-DR の発現は患者特異的に認められなかったことから、次に患者末梢血単核球に含まれる CD14 陽性単球と CD19 陽性 B 細胞の解析を行い、FACS では同様に細胞外に HLA-DR の発現を認めないのに対し、サイトスピン標本を固定して染色すると HLA-DR も HLA-ABC と同様に発現が認められた。患者由来不死化 B 細胞からの RT-PCR にて HLA-DR mRNA の十分な発現も確認され、細胞内輸送の障害によりいずれかの小器官に蓄積していることが予想されたことから、患者由来不死化 B 細胞を固定して HLA-DR と各種小器官のマーカーである EEA1、γ-adaptin、LAMP1 と二重染色してからサイトスピン標本を作製し、共焦点レーザー顕微鏡で観察したが、いずれのマーカーとも共局在せず、むしろ HLA-DR は細胞表面の形質膜にきちんと局在していることが確認された。さらに、当初用いた BD の抗体 (L243) を用いて細胞内染色して FACS で検討すると HLA-DR の発現は認められず、一方、eBioscience の抗体 (LN3) を用いて染色し FACS で検討したところ、細胞表面の HLA-DR 発現を認めたことから、NNS 患者の HLA-DR は細胞表面に発現しているものの、L243 抗体特異的に認識されない、あるいは認識が不安定と考えられた。

5) 平成 23 年に和歌山県立医科大学倫理委員会の承認を得た「NNS に対するトシリズマブの有用性に対する前向きコホート研究」のプロトコルに従い、初年度 7 月に脂肪筋肉萎縮と関節拘縮、腹部肥満が著明な成人男性例へのアクテムラ® (8mg/kg) 投与を開始し、10 ヶ月間行った。冬期の手足の凍瘡様紫紅色斑はやや軽度と思われたが、5 月の 11 回目投与予定日に細菌性肺炎による高熱と呼吸困難が出現し、以後投与中止となった。投与中食欲や生活意欲も出て表情は明るく、HAQ-DI スコアによる身体機能評価にて投与前の 2.875 が 2.75 と軽度改善したが、自覚的に明らかな改善はなかった。一方、発熱・皮疹など炎症症状が持続する成人女性例に対して次年度 7 月からアクテムラ® (8mg/kg) 投与を開始したが、4 週間おきでは CRP が再上昇するため、3 週間おきに投与した。熱型や皮疹は依然出没を繰り返し明らかな改善を認めないが、筋肉痛が軽減し自覚的にはやや改善を認める。半年間投与し今後も継続投与予定である。

6) 最近 *IL36RN* 遺伝子変異が見出され、IL-36 受容体アンタゴニスト欠損症 (DITRA) という新し

い劣性遺伝性自己炎症疾患として定義された GPP の 2 症例と薬剤誘発性の AGEP の 1 症例について *IL36RN* 変異を検索し、2 歳半で発症し数年おきに汎発化を繰り返す GPP 症例に c.28C>T (A10X) と c.368C>T (T123M) の複合ヘテロ変異を見出した。さらに、長期間 GPP を放置した末に SCC を発症して死亡した症例の皮膚組織に c.368C>T と新規ミスセンス変異の複合ヘテロ接合を認めたことから、同様の症例から検体を集め *IL36RN* 変異の検索を開始している。また、診断のつかない若年発症性炎症性角化症の症例について、*IL36RN* に変異が見出されなかったため、最近 GPP と毛孔性紅色皰糠疹 (PRP) でヘテロ変異が見出された *CARD14* の変異検索を行い、複数の変異を見出している。

7) 難治性多発疣贅と肉芽腫性結節性皮疹に加えて汎血球減少を呈し、和歌山県立医科大学の皮膚科と血液内科を紹介受診した 16 歳症例について、特徴的な臨床症状と検査所見から何らかの原発性免疫不全症・遺伝性自己炎症疾患、特に当初、骨髄低形成ながら WHIM (Warts, hypo- γ -globulinemia, infections and myelokathexis) 症候群を疑った。末梢血単核球を SDF-1 で刺激した後の CXCR4 の細胞内取込みを FACS で解析したところ、患児で発現が 60%しか下がらず母親の 30%に比べて取込みの低下を認めたが、*CXCR4* 遺伝子には有意な変異を認めなかった。B 細胞だけでなく T 細胞も著しく低下し、増殖能も低下していることから重症複合型免疫不全症 (SCID) を疑い、母親と患児について次世代シーケンサーを用いたエクソーム解析を行った。劣性遺伝と de novo 変異双方の可能性をふまえ、既知の SNP などを除いて 200 を越える変異が抽出されたが、これまでに SCID の原因として報告されている変異遺伝子を検索したところ *LIG4* 遺伝子に患児特異的な新規ミスセンス変異が見つかった。複合ヘテロ接合の可能性を考えて再検討したところ、母子ともに新規ナンセンス変異を持つことが判明し、かつこれが唯一の複合ヘテロ変異であることが明らかとなった。*LIG4* は DNA の再構成や修復にかかわる DNA ligase 4 をコードし、変異により小頭症、重症複合型免疫不全、放射線感受性の易発癌性を特徴とする *LIG4* 症候群を発症することが知られているが、本症例のような遅発性の免疫不全をきたすような症例の報告はない。

8) *PSMB8* など既知の自己炎症疾患関連遺伝子に変異が見られないが NNS の臨床診断基準を満たす横浜の女児と、臨床症状がよく似た沖縄の男児、さらに CAPS が疑われる大阪の女児についてもエ

クソーム解析を進めている。横浜の女児については SOLID5500 では有力な候補変異が得られず、解析精度が低い可能性が考えられたため、HiSeq2500 を用いて再度解析を進めている。

D. 考察

本研究における最大のインパクトは、原因不明の炎症性疾患としてトシリズマブにて加療されていた奈良の 15 歳男児が、現存する 2 例目の NNS 小児例であることが判明したことである。本症例は生後 1 ヶ月時に弛張熱、蕁麻疹様浸潤性紅斑、肝機能障害にて発症し、大量ステロイド治療に反応するも減量により再燃を繰り返した。クリオピリン関連周期熱症候群 (CAPS) や TNF 受容体関連周期熱症候群 (TRAPS) が疑われるも *NLRP3* や *TNFRSF1* 遺伝子に変異なく、炎症が持続し血中 IL-6 が高値であったために 9 歳時にアクテムラ[®]の投与が開始されたところ、速やかに炎症所見が改善するとともに活動性が上昇した。途中一時中断されたが再開され、現在も 3 週間おきに投与が継続されている。ただ CAPS における抗 IL-1 β 療法のように成長曲線が健常レベルに回復することはなく、成長ホルモンの投与も追加された。また 9 歳時には抗核抗体 80 倍で抗 dsDNA 抗体も陽性であった。上半身のやせや指の変化は軽度であったが、たまたま大脳基底核石灰化が見つかったことから臨床診断基準を満たし、*PSMB8* 変異が見出されたことで確定診断に至った。

一方、横浜の 16 歳の女児は生後 2 ヶ月時に弛張熱、環状紅斑、肝機能障害にて発症し、顔面・上肢の脂肪萎縮と大脳基底核石灰化を認め NNS の診断基準を満たすも指は浮腫性で、有意な *PSMB8* 変異は見出されなかった。大量ステロイド治療に反応するも減量できず、サリドマイドが一時的有効であったものの血小板減少のため中止し、アクテムラ[®]ではかえって症状が増悪した。CANDLE 症候群として学会報告されたがその本態は不明であり、現在エクソーム解析を進めている。前年度に *PSMB8* の変異解析を行い、やはり SNP しか見出されなかった沖縄の 2 歳男児においても、横浜の症例とよく似た浮腫性の指を認めることから、この症例についても同時にエクソーム解析を行っている。NNS が疑われながら *PSMB8* 変異が見られなかった症例においても、最終的に診断が未確定のものについては臨床的特徴などから再分類してまとめて解析することで、解析の精度を上げることができると期待される。ただ、横浜の症例の結果によっては、臨床診断基準案を見直す必要が出てくる可能性も考えられる。

奈良の新規小児例において有効であったアクテムラ[®]であるが、明らかな炎症が残存する成人例への投与では著効とは言い難く、筋肉痛の軽減などごく一部の改善にとどまった。今後、投与前後の血清中サイトカイン濃度の推移を詳細に検討することで、IL-6 とその作用の遮断が他のサイトカインやケモカイン、アディポサイトカインの産生に及ぼす影響やそれらのヒエラルキーが明らかになることが期待される。

和歌山県高等看護学院の健常者学生の *PSMB8* c.602G>T 変異解析では、2年合わせて 1/190 のアリル頻度となった。看護学院からは今後も継続的に協力していただける予定であり、さらに解析対象が増えることで実態が明らかになることが期待される。

さて、免疫プロテアソームは通常（スタンダード）プロテアソームに比べて MHC クラス I に提示されやすいペプチドを生成することでクラス I 提示を促進することが知られており、 $\beta 5i$ ノックアウトマウスや $\beta 1i$, $\beta 2i$, $\beta 5i$ トリプルノックアウトマウスでは MHC クラス I の発現が低下し、CD8 T 細胞の発生分化も影響を受けることが報告されている。NNS においては免疫プロテアソーム複合体の形成が障害され $\beta 5i$ だけでなく $\beta 1i$, $\beta 2i$ の機能も低下することから、MHC クラス I の発現が影響を受けることが予想されたが、HLA-ABC の発現は問題ない代わりに、HLA-DR の発現の異常が認められた。これまでの解析をまとめると、NNS 患者細胞においても HLA-DR はきちんと細胞表面に発現しているが、L243 という特定の抗体クローンでは認識されないか認識が不安定になるような構造変化が存在すると考えられる。L243 は混合リンパ球反応 (MLR) を阻害できる抗体であることが報告されており、その構造変化によってクラス II 提示による CD4 細胞の分化、発生に影響がある可能性がある。NNS においては成長に伴って抗核抗体などの自己抗体が見られる症例があるが、あるいはこの現象と関連があるのかもしれない。またこれまで知られていない何らかの免疫不全と関連がある可能性もある。

HLA-DR は小胞体で合成される際にシャペロンとしてのインバリアント鎖と結合するが、ファゴリソソームに移動して CLIP のみを抗原提示部に残してインバリアント鎖を切断し、HLA-DM の助けを借りて CLIP と外来抗原由来ペプチドを入れ替え、細胞表面に移動して T 細胞受容体に提示する。NNS 患者血球においては、分解されないユビキチン化蛋白質がファゴリソソームに蓄積していることが確認されており、このために HLA-DR

と CLIP など関連分子との会合や分解に何らかの修飾が起こっている可能性が考えられる。一方、HLA-DR そのものに構造異常があるとすれば、その遺伝子そのものに変異がある可能性がある。*PSMB8* 遺伝子は *TAP* 遺伝子などとともに MHC クラス II 領域にあることから、NNS 患者特異的な *HLA-DR* 遺伝子にヒッチハイク変異が存在する可能性は否定できない。今後の更なる解析によってそのメカニズムと意義が明らかになることが期待される。

一方、皮膚症状を主体とする NNS 以外の遺伝性自己炎症疾患の解析においても進展があった。チュニジアの家族性 GPP 症例の解析に端を発した *IL36RN* 変異の解析と DITRA の提唱は、皮膚科難病とされてきた GPP と類縁疾患の病態理解に革命的展開をもたらした。本邦を含む各民族から特有の変異が報告され、GPP のみならず薬疹と考えられてきた AGEP や掌蹠膿疱症 (PPP) にも変異が見つかっている。本邦においては、最初の症例を報告した名古屋大学皮膚科を中心とした研究グループによって症例の集積と解析がなされ、尋常性乾癬を伴わない "pure" GPP の大部分は DITRA であると報告されている。我々が今回報告した若年発症の GPP の症例は、数年おきに汎発化を繰り返すという特徴的な臨床経過を呈するが、その間尋常性乾癬と区別がつかない時期もあり、"pure" GPP かどうか疑問が残る。ただ DITRA においては抗 IL-1 β 療法が有効との報告もあり、今後 IL-36 シグナルを制御する新しい治療薬が開発、応用されることが期待される。一方、長い GPP の経過の後、無治療で放置したために壊疽性膿皮症様の潰瘍病変に SCC を発症した症例においても同様の *IL36RN* 複合ヘテロ変異を見出したことから、非常に稀ながら報告のある SCC に進展あるいは合併した GPP の背景に、遺伝子変異に基づく恒常的な炎症シグナル異常が存在する可能性が疑われる。そこで、本邦で報告されている GPP に続発した SCC 症例の検体を収集し *IL36RN* の変異解析を進めている。また、*IL36RN* に変異が見出されなかった診断未確定の若年発症性炎症性角化症の症例について、*PSORS2* ローカスの本態として見出された *CARD14* の変異検索を行った結果、SNP を含め複数の変異を見出し、その病態的意義について更なる検討を進めている。*CARD14* 変異による炎症性角化症の症例は本邦からまだ報告されておらず、解析結果が待たれる。

次世代シーケンサーの登場と改良によって、エクソーム解析や全ゲノム解析がルーチン検査となりつつある。遺伝性自己炎症疾患の解析におい

ても、*IL36RN* や *CARD14* のほか、家族性寒冷自己炎症症候群 (FCAS) 3 における *PLCG2*、播種状表在性光線性汗孔角化症 (DSAP) における *MVK* 遺伝子の変異など、新規遺伝子変異がエクソーム解析によって次々と見出されている。従って、*PSMB8* をはじめ既知の自己炎症疾患関連遺伝子に変異のない症例検体は、今後新しい変異を見出すための貴重なサンプルとも位置づけられる。本研究ではまず、何らかの原発性免疫不全症・遺伝性自己炎症疾患が疑われながら診断がつかなかった 1 症例について、診断目的でエクソーム解析を行った。患児とその母親のみのゲノムの解析で、遺伝様式も不明であったが、*SCID* 関連の既知の遺伝子にしぼることで、既知の遺伝子ながらこれまで報告のない新規の変異を同定することができた。この研究をモデルケースとして、関連が疑われる NNS 様症例 2 例と CAPS 様症例 1 例のエクソーム解析が開始され、特に、前者においては免疫プロテアソーム関連、後者においてはインフラマソーム関連の新たな制御機構の同定に繋がるような変異が同定されることが期待される。

E. 結論

本分担研究により、まず奈良で既に 15 歳となる小児例の存在が確認され、今後も患者が出現しうるだけでなく、正しく診断されていない症例がまだ埋もれている可能性が示唆された。学会や研究会、書籍などでの地道な疾患紹介の重要性が再認識された。一方、アクテムラ®の投与に関しては、投与間隔を調整すれば CRP を陰性化させることが可能であるが、抗炎症効果も限局的であり、*CANDLE* 症候群での報告と合致するものとなった。欧米で進められている JAK 阻害剤投与の有効性判定の結果も見ううえで、病態を見極める必要がある。続々と報告される新しい遺伝子変異について常に情報をアップデートし、NNS 以外の皮膚症状を主体とする遺伝性自己炎症疾患での新たな候補遺伝子の解析、さらには既知の遺伝子に変異のない症例でのエクソーム解析を進めることによって、各症例の病態の本態に迫り、有効な薬を届けたい。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. 金澤伸雄：壊疽性膿皮症は自己炎症疾患か？宮地良樹編、WHAT'S NEW in 皮膚科学 2012-2013、メディカルレビュー社、pp.34-35, 2012
2. 金澤伸雄：中條—西村症候群。原寿郎編、小児の発熱 A to Z、診断と治療社、pp.226-228, 2012

3. 金澤伸雄：Blau症候群。最新医学別冊 新しい診断と治療のABC 3「サルコイドーシス (改訂第2版)」、長井苑子編、最新医学社、pp.210-218, 2012
4. 金澤伸雄：中條—西村症候群。自己炎症性疾患・自然免疫不全症とその近縁疾患、近藤直実・平家俊男編、診断と治療社、pp.100-102, 2012
5. 金澤伸雄：Case 6 中條—西村症候群。自己炎症性疾患・自然免疫不全症とその近縁疾患、近藤直実・平家俊男編、診断と治療社、pp.210-213, 2012
6. 金澤伸雄：誤診：アトピー性皮膚炎 3. 本当は「Early-onset sarcoidosis」。皮膚科フォトクリニックシリーズ「誤診されている皮膚疾患」、メディカルレビュー社、東京、pp.48-51, 2013
7. 金澤伸雄：Blau 症候群と若年発症サルコイドーシス。皮膚科臨床アセット 14「肉芽腫性皮膚疾患 サルコイドーシス・他の肉芽腫」、中山書店、東京、pp.132-138, 2013
8. 金澤伸雄：自己炎症疾患に対する抗 IL-1 療法、皮膚科サブスペシャリティシリーズ第 7 巻「1 冊でわかる最新皮膚科治療」、文光堂、東京、pp.176-177, 2013
9. 金澤伸雄：中條-西村症候群の概念・病態。皮膚科臨床アセット 18「紅斑症と痒疹群 フロントガイド」、中山書店、東京、pp.136-141, 2013
10. 金澤伸雄：中條-西村症候群の診断・鑑別診断・治療。皮膚科臨床アセット 18「紅斑症と痒疹群 フロントガイド」、中山書店、東京、pp.142-148, 2013
11. 金澤伸雄：中條-西村症候群。『日本臨床』別冊「神経症候群 II-その他の神経疾患を含めて」、日本臨床社、東京、印刷中
12. 金澤伸雄：中條-西村症候群。自己炎症症候群の臨床。新興医学出版社、印刷中
13. 金澤伸雄：皮膚-紅斑など皮膚症状から診断へ。小児内科、44: 85-89, 2012
14. 有馬和彦、井田弘明、金澤伸雄、吉浦孝一郎：プロテアソームの機能阻害型遺伝子変異が新規自己炎症疾患である中條-西村症候群を引き起こす。細胞工学、31: 68-69, 2012
15. 井田弘明、有馬和彦、金澤伸雄、吉浦孝一郎：中條-西村症候群の原因遺伝子とプロテアソーム機

- 能異常. リウマチ科, 47: 654-660, 2012
16. 金澤伸雄: NOD2 関連疾患. 炎症と免疫, 20: 517-522, 2012
17. 井田弘明、有馬和彦、金澤伸雄、吉浦孝一郎: プロテアソーム病. 炎症と免疫, 20: 609-614, 2012
18. 金澤伸雄: サルコイドーシス. Monthly Book Derma 「肉芽腫のすべて」, 204: 15-23, 2013
19. 金澤伸雄、有馬和彦、井田弘明、吉浦孝一郎、古川福実: 日本で見出された自己炎症疾患—中條—西村症候群—. 皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会雑誌, 7: 158-168, 2013
20. 金澤伸雄: 中條 - 西村症候群. アレルギー・免疫, 20: 1456-1462, 2013
21. 有馬和彦、井田弘明、金澤伸雄、吉浦孝一郎: 中條—西村症候群の原因遺伝子. 感染・免疫・炎症, 42: 322-325, 2013
22. 古川福実、金澤伸雄、国本佳代: 中條—西村症候群. 臨床免疫・アレルギー科, 60: 542-547, 2013
23. 荻野篤彦、金澤伸雄、古江増隆: 皮膚を編む—小児掌蹠丘疹性皮膚炎(砂かぶれ様皮膚炎)や自己炎症性症候群の臨床と病態. ラジオNIKKEI マルホ皮膚科セミナー特別番組「明日の治療指針」, 印刷中
24. 金澤伸雄: 中條—西村症候群: 和歌山発・プロテアソーム不全による新しい自己炎症疾患. 日本臨床皮膚科医会近畿ブロック会誌, 印刷中
25. Kanazawa N.: Rare hereditary autoinflammatory disorders. *Dermatology Research Advances*, NOVA Science Publishers, Inc., in press
26. Kanazawa N: Rare hereditary autoinflammatory disorders: towards an understanding of critical in vivo inflammatory pathways, *J Dermatol Sci* 66: 183-189, 2012
27. Kanazawa N: Nakajo-Nishimura syndrome: an autoinflammatory disorder showing pernio-like rashes and progressive partial lipodystrophy, *Allergol Int* 61: 197-206, 2012
28. Tchernev G, Ananiev J, Cardoso JC, Wollina U, Verma SB, Patterson JW, Dourmishev LA, Tronnier M, Okamoto H, Mizuno K, Kanazawa N, Gulubova M, Manolova I, Salaro C: Sarcoidosis and molecular mimicry - important etiopathogenetic aspects: current state and future directions, *Wien Klin Wochenschr* 124:227-238, 2012
29. Kanazawa N, Nakamura T, Mikita N, Furukawa F: A novel *IL36RN* mutation in a Japanese case of early-onset generalized pustular psoriasis. *J Dermatol*, 40: 749-751, 2013
30. Kunimoto K, Kimura A, Uede K, Okuda M, Aoyagi N, Furukawa F, Kanazawa N: A new infant case of Nakajo-Nishimura syndrome with a genetic mutation in the immunoproteasome subunit: an overlapping entity with JMP and CANDLE syndrome related to *PSMB8* mutations. *Dermatology* 227: 26-30, 2013
31. Kanazawa N, Tchernev G, Kambe N: Monogenic early-onset sarcoidosis is no longer a variant of “idiopathic” sarcoidosis. *J Am Acad Dermatol*, 69: 164-165, 2013
32. Kanazawa N: Comprehensive review of rare hereditary autoinflammatory disorders. *J Genet Disor Genet Rep* 2: 2, 2013
33. Kanazawa N: Hereditary disorders presenting with urticaria. *Immunol Allergy Clin N Am*, 34:169-179, 2014
- ## 2. 学会発表
- 第 56 回日本リウマチ学会総会・学術大会 2012.4.26-28, 東京**
金澤伸雄、井田弘明: 世界に分布する *PSMB8* 遺伝子変異によるプロテアソーム機能不全症候群: 脂肪萎縮を伴う新しい自己炎症疾患.
- 有馬和彦、井田弘明、金澤伸雄、江口勝美: 自己炎症症候群 中條—におけるプロテアソーム機能不全と炎症性ケモカインの解析.
- 第37回和歌山県皮膚科医会学術講演会 2012.6.23, 和歌山**
金澤伸雄: 中條—西村症候群: 新しい自己炎症疾患であるプロテアソーム機能不全症の提唱. (和歌山県皮膚科医会医学奨励賞受賞記念講演)
- 第80回和歌山医学会総会 2012.7.8, 和歌山**
国本佳代、金澤伸雄、古川福実: 中條—西村症候群: 和歌山発・プロテアソーム機能不全による新しい遺伝性自己炎症疾患.
- 第362回日本皮膚科学会福岡地方会 2012.9.17, 福岡**
金澤伸雄、古川福実、井上千津子、田村志宣: 難治性疣贅と類上皮細胞肉芽腫からなる多発性皮膚結節を伴った原発性免疫不全症の1例.
- 第40回日本臨床免疫学会総会 2012.9.27-29, 東京**

井田弘明、有馬和彦、金澤伸雄、吉浦孝一郎：中條－西村症候群の分子機序．シンポジウム1「免疫疾患のBench-To-Bedside」

有馬和彦、井田弘明、金澤伸雄、吉浦孝一郎：中條－西村症候群、新規本邦特有の自己炎症症候群におけるサイトカイン産生機序の解析．

第63回日本皮膚科学会中部支部学術大会 2012.10.13-14, 大阪

金澤伸雄：日本で見出された自己炎症疾患：中條－西村症候群．シンポジウム1「自己炎症疾患研究の目指すもの」

第6回日本免疫不全症研究会 2013.1.26, 東京

金澤伸雄、古川福実、井上千津子、田村志宣：難治性疣贅と類上皮細胞肉芽腫からなる多発性皮膚結節を伴った原発性免疫不全症の1例．

第81回日本皮膚科学会茨城地方会 2013.3.9-10, 茨城

金澤伸雄、国本佳代、古川福実：抗 IL-6 受容体抗体を投与した中條－西村症候群の1例．

第436回日本皮膚科学会大阪地方会 2013.3.23, 大阪

中村智之、金澤伸雄、三木田直哉、古川福実：*IL36RN* 遺伝子に新しい変異を認めた若年発症汎発性膿疱性乾癬の1例．

第20回分子皮膚科学フォーラム、2013.4.12-13, 東京

金澤伸雄、古川福実、井上千津子、田村志宣、栗澤遼子、高橋健造、森尾友宏、三嶋博之、吉浦孝一郎：WHIM症候群様臨床像を呈する原発性免疫不全症症例におけるエクソーム解析．

第116回日本小児科学会学術集会、2013.4.19-21, 広島

金澤伸雄：日本で見出された自己炎症疾患：分野別シンポジウム「自己炎症性疾患の基礎と臨床」中條－西村症候群．

第23回日本樹状細胞研究会、2013.5.17, 京都

金澤伸雄、国本佳代、古川福実、井田弘明：*PSMB8* 変異に伴う遺伝性自己炎症疾患である中條－西村症候群におけるHLA-DRの発現異常．

第99回近畿血液学会地方会、2013.6.22, 大阪

玉置雅治、田村志宣、金澤伸雄、古川福実、三嶋博之、吉浦孝一郎、今井耕輔、森尾友宏：*LIG4* 遺伝子に複合ヘテロ変異を認めた原発性免疫不全症の1例．

第28回日本乾癬学会学術大会、2013.9.6-7, 東京

三木田直哉、国本佳代、上中智香子、金澤伸雄、古川福実、中村智之：*IL36RN* 遺伝子に新しい変異を認めた若年発症汎発性膿疱性乾癬の1例．

第29回日本臨床皮膚科医会近畿ブロック総会学術大会、2013.10.6, 和歌山

金澤伸雄：中條－西村症候群：和歌山発・プロテアソーム不全による新しい自己炎症疾患．

第23回日本小児リウマチ学会、2013.10.11-13, さいたま

石川智朗、鈴木博、櫻井嘉彦、竹田知広、古川福実、金澤伸雄、平康二：大脳基底核の石灰化を契機に診断された中條－西村症候群の1例．

第64回日本皮膚科学会中部支部学術大会、2013.11.2-3, 名古屋

金澤伸雄、古川福実、石川智朗、平康二：トシリズマブが奏効した中條－西村症候群の新規小児例．

第65回日本皮膚科学会西部支部学術大会、2013.11.9-10, 鹿児島

神戸直智、佐藤貴史、中野倫代、松江弘之、池田啓、西小森隆太、金澤伸雄、武井修治：若年発症サルコイドーシスへの治療介入時の評価項目としての関節エコーの有用性．

第116回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎総会学術大会、2013.11.29-12.1, 金沢

金澤伸雄：シンポジウム「蕁麻疹・食物アレルギーの臨床所見を読み解く」自己炎症疾患を見逃さないために．

稲葉豊、国本佳代、金澤伸雄、古川福実：*PSMB8* 遺伝子変異による中條－西村症候群における自己抗体の出現．

国際学会

The European League against Rheumatism (EULAR) 2012, 2012.6.6-9, Berlin, Germany

Arima K, Kanazawa N, Furukawa F, Ida H, Yoshiura K: Increased expression of inflammatory cytokines and chemokines in an autoinflammatory disorder, Nakajo-Nishimura syndrome.

2nd Eastern Asia Dermatology Congress (EADC), 2012.6.13-15, Beijing, China

Kanazawa N, Kunimoto K, Arima K, Ida H, Yoshiura K-I, Furukawa F: Nakajo-Nishimura syndrome, an autoinflammatory disorder with partial lipodystrophy, is caused by a mutation of the *PSMB8* gene encoding an immunoproteasome subunit.

The 37th Annual Meeting of the Japanese Society for

Investigative Dermatology, 2012.12.7-9, Naha, Japan
Kunimoto K, Furukawa F, Ida H, Kanazawa N:
Modified HLA-DR expression on antigen-presenting
cells harboring the PSMB8 mutation responsible for
Nakajo-Nishimura syndrome.

**International Investigative Dermatology 2013
Satellite Meeting “Genetic Skin Disease – Discovery
and Recovery”, 2013.5.6-7, Dundee, Scotland**
Kanazawa N, Arima K, Ida H, Yoshiura K-I, Furukawa
F: Nakajo-Nishimura syndrome: an autoinflammatory
syndrome identified in Japan.

**International Investigative Dermatology 2013,
2013.5.8-11, Edinburgh, Scotland**

Kunimoto K, Furukawa F, Ida H, Kanazawa N: Genetic
modification of HLA-DR linked with the PSMB8
mutation in Nakajo-Nishimura syndrome.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

平成 24 年度～25 年度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

皮膚の遺伝関連性希少難治性疾患群の網羅的研究

研究項目：早老症（コケイン症候群）

研究報告：コケイン症候群患者に生じる早老症・発育障害・精神運動発達遅延の病態解明と
治療法の探索

分担研究者 森脇 真一 大阪医科大学皮膚科 教授

研究要旨

平成 10 年から維持している本邦唯一、コケイン症候群 (CS) の総合診断センターを継続した。昨年度、本年度で全国から紹介された 17 症例を解析し、CS と確定した 15 例のうち 11 例で 7 種類の新規を含む遺伝子変異を既知の CS 関連遺伝子で同定した。最近紹介のあった 2 例は現在まだ解析中である。また 2 例は臨床的に明らかに CS であるにもかかわらず遺伝子変異が確認できなかったことは CS に関連する新たな遺伝子の存在を示唆する。また従来報告通り、CS において遺伝型・表現型にパラドックス相関がみられた。

CS 患者への放射線の使用には是非がある。今回、患者細胞を用いて放射線照射後の γ -H2AX 検出という鋭敏なシステムにより放射線照射後の二本鎖切断の修復応答を検討したところ、XP、XP/CS 細胞では正常細胞との間にその動態に差はみられなかったが、CS 細胞では多くの細胞で γ H2AX 形成の経時的変化に異常がみられた。この結果は CS 患者に対する放射線を用いた検査の安全性に関する再検討の必要性を示唆する。

CS の病態解明と治療法探索を目的として、CS モデルマウス (XPG-null) を使用して MBP、CC1、Olig2 の発現を免疫組織学的に検討したところ、大脳皮質でのみオリゴデンドロサイトの分化、ミエリン形成が障害されていた。この結果は CS 患者から臨床的に得られる CT や MRI 検査の結果と矛盾しないものであった。新たな CS 治療戦略を立てるためには、分子レベルでの解明が重要課題である。

A. 研究目的

研究分担者は平成 10 年から現在まで 15 年にわたり遺伝性早老症、かつ遺伝性光線過敏症のひとつであるコケイン症候群 (Cockayne syndrome ; CS)、CS の類縁疾患である色素性乾皮症 (xeroderma pigmentosum ; XP) など紫外線性 DNA 損傷修復の遺伝的異常で発症する疾患の総合診断センターを本邦で唯一で維持してきた。これまで 400 例以上の症例を分子細胞生物学的に解析し 136 例の XP、26 例の CS を新たに確定した。重要な DNA 修復システムのひとつであるヌクレオチド除去修復、特にその中で転写共益修復に欠損のある CS では、日光過敏に加え、早老症、著明な発育障害、精神運動障害、難聴、視力障害等多彩な症状を伴うきわめて予後不良の疾患である。しかしこれらの諸症状の病態は未解明で、CS は未だ有効な治療法がない難病である。CS は遺伝学的には CSA、CSB、XPB/CS、XPD/CS、XPG/CS の 5 型に分類される。本研究の目的はこれまでに診断しえた症例、今後も依頼される新規診断症例に対して分子遺伝学的手技を駆使して

詳細に解析し、各症例の臨床所見（老化を含む多彩な CS の症状）の有無や重症度との関連を検討し、表現型・遺伝型関連の解析を通じて CS の症状把握、病態解明、内因性老化、発育障害、神経障害の解明にせまることである。今回、CS 総合診断センターを維持して多くの臨床情報を蓄積し、分子レベルで解析し、近年 CS において指摘されている酸化的 DNA 損傷の修復異常や放射線照射の安全性の是非を評価する。さらに、CS モデルマウスを入手して、様々な CS の症状の病態の解明、CS 治療法の探索を行った。

B. 研究方法

今回、以下の研究ストラテジーを考えた。

- ① CS 総合診断センターを維持して CS 患者を詳細に検討し、CS における表現型・遺伝型関連の評価を行い、最終的には重症度、患者ケアを含めた総合 CS 診療ガイドラインを策定する。
- ② CS 関連各種遺伝子ノックダウンの酸化ストレス感受性への影響を調べる。
- ③ 電離放射線照射により生じる細胞内に

DNA 二重本切断(DSBs)の修復応答を γ -H2AX を指標として、XP あるいは CS 細胞を用いて検討する。

④ CS マウスモデルを用いた中枢神経細胞の構造的・機能的解析を実施する。

具体的には

① 患者皮膚由来線維芽細胞を用いて相補性試験を含む各種 DNA 修復試験により細胞学的確定診断を行い、各々の責任遺伝子の変異を同定する。必要があればウェスタン法によるタンパク分析も実施する。

② CSA、CSB 各々の遺伝子をノックダウンし、酸化ストレス後の表現型を正常細胞と比較する。

③ 電離放射線照射により細胞内に DNA 二重鎖切断(DSBs)が生じた場合、その周辺の DNA 領域では活性化 ATM を介してヒストン H2AX の 139 番目のセリンがリン酸化 (γ -H2AX) されることはよく知られている。そこで今回、放射線照射で形成される 2 本鎖切断後の修復応答を γ -H2AX を指標として、XP あるいは CS 細胞を用いて検討する。

⑤ CS モデルマウスとして XPG-null マウスを使用する。免疫組織学的な解析を詳細に行い、同時に神経組織を構成する各種細胞の初代培養を試み、また髄鞘化に関わる種々の因子を分子レベルで解析する。

(倫理面への配慮)

本研究の一部(CS 疑い患者の各種 DNA 修復解析、新規 CS 患者の遺伝子解析など)は臨床の場での検査(色素性乾皮症との鑑別として)のひとつとして保険収載され、また大阪医科大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査会においてすでに承認されている。ヒトのサンプルを用いる場合はその審査会の基準を遵守し、患者あるいは家族の文書による同意を得た後に施行し、その場合検体はコード化して連結可能匿名化して取り扱う。個人情報には十分配慮し、検体の保管も厳重に行った。またコントロール細胞など一部の細胞はすでに論文などで発表されており本研究者が長年連結不可能化して保持しているものである。マウス実験においては、大阪医科大学実験動物委員会での審査を受け、承認を得た後に実施した。

C. 研究結果

①今回、全国の施設(皮膚科、小児科、神経内科)から CS が疑われて紹介された 17 例を解析したところ、1 例は CS や XP ではなく、残り 16 例中の内訳は CSA6 例、CSB5 例、XPD/CS1 例、

XPG/CS1 例、cutaneous XPG1 例であった。臨床分類では CS I 型が 8 例、CS II 型が 1 例、CS III 型が 4 例、XP/CS が 2 例であり、検討がすべて終了した 14 例中 11 例で遺伝子変異が同定されたが 3 例は臨床的に明らかに CS であるにもかかわらず遺伝子変異が発見できなかった。また CS I 型 8 例中、現在解析中のものを除いた 6 例はすべて CSA6 例であった。CSA、CSB ともに新規変異を同定したが、CSA では exon 4 の deletion が比較的高頻度にみられた。

XPD/CS では CS の表現型を呈するとされている XPD 遺伝子変異 G47R が確認できた。XPG については、XPG/CS では N 末側の重要なドメインに変異が確認でき、非重要部位での変異をもつ cutaneous XPG 症例とは対照的であった。今回新たに解析した症例においても、ミスセンス変異あるいは C 末に変異があるほど重症化しやすい傾向(遺伝型・表現型のパラドックス現象)が確認できた。

② 正常細胞を用いて CS 遺伝子(CSA、CSB)のノックダウンを行ったところ、酸化ストレス処理後の紫外線感受性が亢進した。しかしこの変化が抗酸化剤で抑制できるかどうかの結果はまだ得られておらず、その検討は現在実施中である。

③ XP 細胞では放射線照射後 0~4 時間後のタイムコースにおいて、細胞内 γ -H2AX 形成能は正常細胞と差がなく、放射線曝露後の修復応答能力は初期段階では正常レベルだと考えられた。一方、CS では多くの細胞で、 γ -H2AX 形成能に異常(正常細胞に比べて低下傾向)が見られた。XP/CS complex 細胞では XP 細胞類似の正常な動態を示した。この所見は CS 細胞での修復応答は責任遺伝子が CSA であっても CSB であっても差異はなく、表現型・遺伝型のパラドックス相関に一致して、ミスセンス変異をもち臨床的に重症患者由来細胞ほど異常が強くなる傾向がみられた。

④ CS モデルマウス(XPG-null)を使用して MBP、CC1、Olig2 の発現を免疫組織学的に検討したところ、大脳皮質でのみオリゴデンドロサイトの分化、ミエリン形成が障害されていた。一方、オリゴデンドロサイトの脳への遊走能には異常はみられなかった。末期には大脳皮質のみならず内包にもミエリン形成障害生じるが脳梁、海馬は異常がないことが確認された。

D. 考察

2 年間で追加解析した CS 症例において新規変異が同定でき、またこれまでの報告通り、CSA、CSB での表現型・遺伝型パラドキシカル関連が確認で

きた。CS 患者の分子遺伝学的解析の蓄積は、CS 患者の多彩な臨床症状を予測する上で重要である。臨床像は明らかに CS であるにもかかわらず CSA、CSB、XPB、XPD、XPG いずれにも変異が確認できなかった 3 症例の存在は、未知の CS 関連遺伝子の存在を示唆する。

CS 細胞における放射線照射後の γ -H2AX の特異な動態は、CS 患者に対する放射線など活性酸素を体内に生じさせるような検査の安全性に関する再検討の必要性を示唆する。また CS 細胞はヌクレオチド除去修復のみならず酸化ストレスで生じる DNA 損傷の修復機能が低下している可能性も否定できない。

CS の病態を検討する上で、マウスモデルは有用である。今回、臨床像が CS に酷似する XPG-null マウスでみられたオリゴデンドロサイトの分化障害、ミエリン形成障害に関して、詳細な分子レベルでの探索は今後の課題である。

E. 結論

本邦唯一である CS 総合診断センターの維持は CS 患者の臨床情報収集、CS 早期診断が可能となり患者家族、全国の臨床医に有益である。重症度、診断基準、患者ケアを含めた包括的な診療ガイドラインが完成すれば、CS 患者に対する均一、機能的、合理的な対応が可能となるため、早急の策定が望まれる。CS の放射線照射の安全性是非は引き続き検討すべき課題であるが、CS 細胞では放射線照射後の修復応答に異常を認めた今回の結果は、今後の CS 診療に一石を投じるものである。CS モデルマウスでみられたオリゴデンドロサイトの分化障害、ミエリン形成障害は、CS 患者から臨床的に得られる CT や MRI 検査の結果と矛盾しないものであった。新たな CS 治療戦略を提唱するためにはさらなる解析が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

(英文)

1. Moriwaki S Hereditary disorders with deficient repair of UV-induced DNA damage *Jpn Clin Med*, 4 : 29-35, 2013
2. Kokunai Y, Tsuji M, Yuko Ito Y, Kurokawa T, Otsuki K, Moriwaki S Immunohistochemical analysis of O6-methylguanine-DNA methyltransferase in human skin tumor, *Medical Molecular Morphology*, in press
3. Brooks BP, Thompson AH, Bishop RJ, Clayton JA, Chan CC, Tsilou ET, Zein WM, Tamura D, Khan SG, Ueda T, Boyle J, Oh KS, Imoto K, Inui H, Moriwaki SI, Emmert S, Iliff NT, Bradford P, Digiovanna JJ,

Kraemer KH. Ocular Manifestations of Xeroderma Pigmentosum: Long-Term Follow-up Highlights the Role of DNA Repair in Protection from Sun Damage. *Ophthalmology*. 120:1324-1336, 2013

4. Imoto K, Nadem C, Moriwaki S, Nishigori C, Oh KS, Sikandar G, Khan SG, Goldstein AM, Kraemer KH Ancient origin of a Japanese xeroderma pigmentosum founder mutation *J Derm Sci* 69:175-176, 2013
5. Moriwaki S, Yamashita Y, Nakamura S, Fujita D, Kohyama J, Takigawa M, Ohmichi H Prenatal diagnosis of xeroderma pigmentosum group A in Japan *J Dermatol* 39:516-9, 2012
6. Moriwaki S, Takigawa M, Igarashi N, Nagai Y, Amano H, Ishikawa O, Khan SG, Kraemer KH Xeroderma pigmentosum complementation group G patient with a novel homozygous mutation and no neurological abnormalities, *Exp Dermatol* 21:304-7, 2012
7. Moriwaki S, Takahashi Y, Shimizu H, Inoue M, Sugiyama Y, Inoue S Decreased repair of singlet oxygen-induced DNA damage in xeroderma pigmentosum group A cells determined by plasmid host cell reactivation *J Derm Sci* 66:516-9, 2012

(邦文)

1. 森脇真一 総説 光線過敏症～確定診断へのアプローチ～ 皮膚科の臨床 印刷中
2. 森脇真一 総説 光線過敏を疑う皮膚症状 *Visual Dermatology* 12:424-427, 2013
3. 森脇真一 皮膚老化～「DNA 修復」からみた考察 *日本美容皮膚科学会雑誌* 23 : 117-123, 2013
4. 吉森千夏、落合豊子、松浦大輔、桑原京介、森脇真一 レーザー治療を希望して来院した色素性乾皮症バリエーション *皮膚臨床* 55 : 777-781, 2013
5. 森脇真一 宿主因子(遺伝性疾患、移植患者)皮膚悪性腫瘍—基礎と臨床の最新研究動向— p441-445, 2013 (日本臨床)
6. 森脇真一 サンスクリーンと子供の肌 *小児皮膚科学会雑誌* 32 : 181-182, 2013
7. 森脇真一 光線過敏症～分類と確定診断へのアプローチ～ *日本皮膚科学会雑誌* 123 : 2938-2939, 2013
8. 森脇真一 色素性乾皮症～確定診断へのプロセス～「色素異常症の診断と治療」 *日本皮膚科学会雑誌* 122:3131-3133, 2012
9. 森脇真一 色素性乾皮症～最近の知見～「母斑症・遺伝性疾患最前線；診断、治療と対応」 *日本皮膚科学会雑誌* 122:3196-3198, 2012
10. 森脇真一 光環境とライフスタイル「太陽紫外

- 線環境と皮膚」 日本皮膚科学会雑誌 122:3248-3251, 2012
11. (森脇真一 紫外線を用いた皮膚病治療 皮膚科セミナリウム 日本皮膚科学会雑誌 122:3733-3738, 2012
 12. 森脇真一 遺伝性早老症の病態、診断と治療 難病と在宅ケア 17:25-28, 2012
 13. 森脇真一 DNA 修復機構と色素性乾皮症 Monthly Book Derma 191:15-24, 2012
 14. 森脇真一 光線過敏症の診断と患者ケア 第22回太陽紫外線防御研究委員会シンポジウム報告書 22:39-41, 2012 (邦文著書)
1. 森脇真一 光線力学療法 光と生命の事典(朝倉書店) 印刷中
 2. 森脇真一 こどもの異常な日焼け診断の決め手:色素性乾皮症を疑うべきかの解決法は? 苦手な外来皮膚疾患 100 の解決法~そのとき達人はどのように苦手皮膚疾患を克服したか?~ (メディカルレビュー社) 印刷中
 3. 森脇真一 コケイン症候群 忘れてはならない皮膚科症候群 p102-105 皮膚科臨床アセット20 (中山書店)、2013
 4. 森脇真一 誤診:しみ、本当は色素性乾皮症 誤診されている皮膚疾患 p304-307, 2013 (メディカルレビュー社)
 5. 森脇真一 光線力学治療 (PDT) の皮膚科への応用 一冊でわかる最新皮膚科治療 皮膚科サブスペシャリティシリーズ第7巻(文光堂) pp211-pp214, 2013
 6. 森脇真一 色素性乾皮症 今日の皮膚疾患治療指針 p585-587, 2012 (医学書院)
 7. 森脇真一 色素性乾皮症 新領域別症候群シリーズ 別冊日本臨床 19:637-640, 2012 (日本臨床社)
 8. 森脇真一 思春期に見つかる光線過敏症への対処法は? 思春期皮膚トラブル pp126-130 (診断と治療社)
- ## 2. 学会発表
1. Moriwaki S, Makinodan E, Nakazawa Y, Ogi T Adult onset Cockayne syndrome appears in two cases of UV sensitive syndrome with C229T CSB mutation IID2013 May 2013 (Edinburgh, Scotland)
 2. 森脇真一 皮膚科領域の遺伝医療 Part 1 平成25年第4回京大遺伝合同カンファレンス、ミニレクチャー 平成25年5月23日 (京都)
 3. 森脇真一 分子からみた色素性乾皮症、コケイン症候群の病態 シンポジウム「DNA修復障害と神経変性」 第55回日本小児神経学会学術集会 平成25年5月30日 (大分)
 4. 兪 明寿、穀内康人、黒川晃夫、森脇真一 日光角化症患者における臨床・病理組織学的特徴とイミキモド外用治療効果の関連性に関する検討」第112回日本皮膚科学会総会 平成25年6月15日 (横浜)
 5. 森脇真一 教育講演「光線過敏症UPDATE」光線過敏症~分類と確定診断へのアプローチ~ 第112回日本皮膚科学会総会 平成25年6月16日 (横浜)
 6. 森脇真一 太陽紫外線と皮膚がん;最近の話題 スイーツセミナー 第35回日本光医学・光生物学会 平成25年7月12日 (浜松)
 7. 牧之段恵里、森脇真一、近藤大喜、中沢由華、荻 朋男 色素性乾皮症の極めて稀な病型;XP / CS complex の本邦3症例 第35回日本光医学・光生物学会 平成25年7月12日 (浜松)
 8. 森脇真一 ヒトは太陽紫外線でどうして老化するのか?~分子、細胞からの考察~ モーニングセミナー 第14回光老化研究会 平成25年8月30日 (前橋)
 9. 桑原晶子、津川 尚子、田中 清、岡野登志夫、森脇 真一 日照機会の乏しい対象者におけるビタミンD必要量の検討ー色素性乾皮症 (XP) 患者を対象とした検討ー 第15回骨粗鬆症学会 平成25年10月11日 (大阪)
 10. 森脇真一 教育講演 小児光線過敏症のQuality Indicator 第64回日本皮膚科学会中部支部学術大会 平成25年11月3日 (名古屋)
 11. 横田日高、吉田善紀、森脇真一、宮地良樹、山中伸弥 iPS 細胞を用いた色素性乾皮症の神経変性の病態モデル作成 分子皮膚科フォーラム 平成24年4月13日 (弘前)
 12. 森脇真一 色素性乾皮症~確定診断へのプロセス 教育講演 「色素異常症の診断と治療」 第111回日本皮膚科学会総会 平成24年6月1日
 13. 森脇真一 色素性乾皮症~最近の知見 教育講演 母斑・遺伝性疾患最前線;診断、治療と対応 第111回日本皮膚科学会総会 平成24年6月1日 (京都)
 14. Kokunai Y, Tsuji M, Ito Y, Kurokawa T, Otsuki Y, Moriwaki S Immunohistochemical analysis of O6-methylguanine-DNA methyltransferase in human melanoma in comparison with skin squamous cell carcinoma. The 37th annual meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology 2012.12.9 (Naha)
 15. 森脇真一 光環境とライフスタイル 教育講演 「太陽紫外線環境と皮膚」 第111回日本皮膚科学会総会 平成24年6月2日

16. 森脇真一 光環境と皮膚～色素性乾皮症と向き合って 特別講演 第434回日本皮膚科学会北陸地方会 平成24年6月24日(金沢)
17. 森脇真一、清水博子、黒川晃夫、寺木祐一色素性乾皮症G群～本邦第4例目の報告例(XPG/CS complex?) 第34回日本光医学・光生物学会平成24年7月28日(神戸)
18. 森脇真一 その他の光治療(LEDなど) 教育講演2 第30回日本美容皮膚科学会 平成24年8月19日(名古屋)
19. 森脇真一 太陽紫外線環境に生きる～色素性乾皮症から学んだこと～ 特別講演 山形地方会 平成24年9月9日(山形)
20. 大谷稔男、高尾真理子、藤井弓子、二宮伸介、多田廣司、森脇真一 ECC症候群と考えられた1例 第63回日本皮膚科学会中部支部学術大会 平成24年10月14日(大阪)
21. 森脇真一 色素性乾皮症の臨床経過と紫外線対策の基本 シンポジウム 第2回XP全国大会 平成24年11月24日(愛知)

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

平成 24 年度～25 年度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

皮膚の遺伝関連性希少難治性疾患群の網羅的研究

研究項目：角化症（掌蹠角化症）

研究報告：掌蹠角化症の病態に関する研究

Study on the Pathophysiology of Palmoplantar Keratoderma

研究分担者	米田 耕造	香川大学医学部	准教授
共同研究者	窪田 泰夫	香川大学医学部	教授
	森上 徹也	香川大学医学部	助教
	中井 浩三	香川大学医学部	助教
	成清 富貴子	香川大学医学部	

研究要旨

掌蹠角化症の治療薬を見つけるために、掌蹠角化症のモデル細胞を作製した。この目的のため二種類のモデル細胞を作製した。一つ目は、変異コネキシン 26 遺伝子が原因となり生じる掌蹠角化症のモデル細胞である。二つ目は、変異ロリクリン遺伝子が原因となっている掌蹠角化症の、リファインされたモデル細胞を作製した。両者の掌蹠角化症モデル細胞において共通点が見られた。一番目は、両モデル細胞において Akt が強くリン酸化されており、Akt の活性亢進が見られたことである。二番目は両モデル細胞では、VEGF と TGF- β の産生亢進が観察されたことである。変異ロリクリン遺伝子が原因となっている掌蹠悪化症モデル細胞においては CBO-P11 あるいは JE-11 を PD153035 と組み合わせることにより細胞の増殖が顕著に抑制された。これらの薬剤は掌蹠角化症の治療薬として使用できる可能性がある。

A. 研究目的

皮膚の遺伝関連性希少難治性疾患群の一つである掌蹠角化症は現在なお有効な治療薬がない。掌蹠角化症の抜本的な治療薬を見出すために、われわれは掌蹠角化症のモデル細胞の作製を試みることにした。変異コネキシン 26 遺伝子が原因となり生じる掌蹠角化症のモデル細胞と変異ロリクリン遺伝子が原因となっている掌蹠角化症のモデル細胞を作製した。この掌蹠角化症モ

デル細胞に共通するシグナル伝達異常や形質の異常に着目して治療薬を見出すのがこの研究の目的である。

B. 研究方法

a) プラスミド作製

野生型コネキシン 26 [GJB2 (WT)] および変異コネキシン 26 [GJB2, pAsp66His] の cDNA をほ乳類発現ベクターである pIND/V5-His ベクタ

一にサブクローニングした。

野生型ロリクリン [Lor (WT)] および変異ロリクリン [Lor (730 ins G)] の gDNA をほ乳類発現ベクターである pIND/V5-His ベクターに挿入した。

b) 細胞培養とトランスフェクション

ヒト表皮細胞由来である HaCaT 細胞を DMEM (Dulbecco' s modified Eagle' s medium)、100 units/ml ペニシリン、100mg/ml ストレプトマイシン、10%FBS を含む培地中で培養した。HaCaT 細胞はトランスフェクションの前日に継代した。DNA トランスフェクションには、LipofectAMINE plus 試薬 (Invitrogen) を用いた。PI3 kinase の阻害剤である wortmannin、LY294002 は、Cell Signaling Technology 社より購入した。

c) セレクション

安定トランスフォーマントのセレクションには、DMEM (Dulbecco' s modified Eagle' s medium)、400 mg/ml ゼオシン、2mg/ml ジェネテイシン、10%FBS を含む培地を用いた。

d) 一次抗体

抗 V5 抗体は Invitrogen 社より購入した。抗マウスロリクリン抗体は Babco 社より購入した。抗ヒト変異ロリクリン抗体は、山本らの方法に準じて、ウサギ抗体を作成した²⁾。抗リン酸化 ERK1/2 抗体、抗 ERK1/2 抗体、抗リン酸化 p38MAP kinase 抗体、抗 p38MAP kinase 抗体、抗リン酸化 SAPK/JNK 抗体、抗 SAPK/JNK 抗体、抗リン酸化 EGF 受容体 (Tyr992) 抗体、抗リン酸化 EGF 受容体 (Tyr1068) 抗体、抗リン酸化 VEGF 受容体 2 (Tyr1175) 抗体、抗 EGF 受容体、抗 VEGF

受容体 2、抗リン酸化 Akt (Thr308) 抗体、抗リン酸化 Akt (Ser473) 抗体、抗 Akt 抗体は Cell Signaling Technology 社より購入した。

e) 免疫プロット法

安定トランスフォーマント細胞を Laemmli buffer に溶解し、氷上で 30 分静置した。15000 回転で 1 分間遠心後、上清を回収した。蛋白濃度は Bradford 法を用いて測定した。30mg の量の蛋白質を SDS-PAGE に展開し、その後、蛋白質をニトロセルロース膜に転写した。このニトロセルロース膜を、上記の一次抗体で、室温で 2 時間反応させた。その後 HRP ラベル二次抗体を反応させ、ECL システム (Amersham Biosciences) を使用して目的とする蛋白質を検出した。

e) Akt kinase アッセイ

Cell Signaling Technology 社の Akt kinase アッセイキットを使用した。Mock、WL-1、VL-5 細胞を RIPA buffer で可溶化した。抗 Akt (1G1) モノクローナル抗体ビーズで免疫沈降を行った。GSK-3 融合蛋白質と ATP を加え、kinase 反応を行った。3X SDS Sample Buffer を添加して、kinase 反応を終息させ、SDS-PAGE に展開し、その後、(リン酸化された) 蛋白質をニトロセルロース膜に転写した。このニトロセルロース膜は、抗リン酸化 GSK-3 \cdot / \cdot (Ser21/9) 抗体を一次抗体に使用して、4°Cで一晩反応させた。その後 HRP ラベル二次抗体を反応させ、ECL システム (Amersham Biosciences) を使用してリン酸化 GSK-3a/b (Ser21/9) を検出した。フィルム上に得られたバンド (シグナル) の濃度をデンシトメトリーを用いて定量化した。

f) ELISA

R&D Systems の Human VEGF Quantikine ELISA Kit と Human TGF- α Quantikine ELISA Kit を使用して掌蹠角化症モデル細胞培養上清中の VEGF ならびに TGF- α の量を測定した。

C. 研究結果

変異コネキシン 26 遺伝子が原因となり生じる掌蹠角化症のモデル細胞と変異ロリクリン遺伝子が原因となっている掌蹠角化症のモデル細胞の両者において Akt のリン酸化と活性の亢進が観察された。変異コネキシン 26 遺伝子が原因となり生じる掌蹠角化症のモデル細胞における Akt 活性は Mock の約 7 倍、コントロール細胞の約 9 倍の活性があった。変異ロリクリン遺伝子が原因となり生じる掌蹠角化症モデル細胞における Akt 活性は Mock の約 9 倍、コントロール細胞の約 11 倍の活性があった。VEGF ならびに TGF- α も、両モデル細胞において産生亢進がみられた。掌蹠角化症の治療薬を見つけるため VEGF の作用を抑制する CBO-P11、JE-11、上皮成長因子受容体阻害剤である PD153035 を種々に組み合わせ、変異ロリクリン遺伝子が原因となっている掌蹠角化症のモデル細胞の増殖が抑制されるかどうかを調べた。CBO-P11 あるいは JE-11 を PD153035 と組み合わせることにより変異ロリクリン遺伝子が原因となっている掌蹠角化症モデル細胞の増殖が顕著に抑制されることを発見した。

D. 考察

今回われわれは、エクジソン誘導発現系を用いて、二種類の掌蹠角化症モデル細胞の樹立に成功した。これらには共通点が存在した。すな

わち両モデル細胞において Akt が強くリン酸化されており、Akt の活性亢進が見られたことである。そして両モデル細胞では、VEGF と TGF- α の産生亢進が観察されたことである。

CBO-P11 あるいは JE-11 を PD153035 と組み合わせることにより変異ロリクリン遺伝子が原因となっている掌蹠角化症のモデル細胞の増殖が顕著に抑制されるので、今後は実際の患者皮膚においてこれらの阻害剤が治療薬として使用できるかどうか調べる予定である。

E. 結論

今回われわれはエクジソン誘導発現の系を用いて、変異コネキシン 26 遺伝子が原因となり生じる掌蹠角化症のモデル細胞と変異ロリクリンが原因となっているよりリファインされた掌蹠角化症モデル細胞を樹立することに成功した。このモデル細胞において、種々のシグナル伝達の変化が観察され、この変化は掌蹠角化症の病態に深く関与しているものと考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

英語論文

1. Munehiro A, Murakami Y, Shirahige Y, Nakai K, Moriue T, Matsunaka H, Yoneda K and Kubota Y: Combination effects of cosmetic moisturisers in the topical treatment of acne vulgaris. *J Dermatol Treat* 23: 172-176, 2012
2. Kameda T, Dobashi H, Yoneda K, Susaki K, Kuno T, Murao K and Ishida T: A case of Degos disease successfully treated with corticosteroid combined with cyclophosphamide. *Rheumatol Int* 32: 2169-2173, 2012

3. Yoneda K, Nakai K, Moriue T, Ishikawa E, Demitsu T, Ohkusu K and Kubota Y: Scedosporium apiospermum skin infection mimicking tuberous xanthoma. *J Dermatol* 39: 316-318, 2012
4. Yoneda K, Moriue J, Nakai K, Demitsu T, Moriue T, Yokoi I, Munehiro A, Dobashi H and Kubota Y: Numerous mucin nodules in a patient with seropositive wide spread discoid lupus erythematosus. *Ann Dermatol* 24: 112-114, 2012
5. Yoneda K, Presland RB, Demitsu T, Shimizu T and Kubota Y: The profilaggrin N-terminal domain is absent in pityriasis rotunda. *Br J Dermatol* 166: 227-229, 2012
6. Yoneda K, Demitsu T and Kubota Y: Juvenile xanthogranuloma with lichenoid appearance. *J Dermatol* 39: 462-465, 2012
7. Yoneda K, Nakagawa T, Lawrence OT, Huard J, Demitsu T, Kubota Y and Presland RB: Interaction of the profilaggrin N-terminal domain with loricrin in human cultured keratinocytes and epidermis. *J Invest Dermatol* 132: 1206-1214, 2012
8. Kubota Y, Munehiro A, Shirahige Y, Nakai K, Katsuura J, Moriue T, Murakami Y, Matsunaka H and Yoneda K: Effect of sequential application of topical adapalene and clindamycin phosphate in the treatment of Japanese patients with acne vulgaris. *J Dermatol Treat* 23: 37-45, 2012
9. Wakatabi K, Kakurai M, Yamada T, Umemoto N, Demitsu T and Yoneda K: Inflammatory disseminated superficial porokeratosis with an unusual clinical feature of the pruritic, erythematous papules preceding annular brownish pigmentation. *J Dermatol* 39: 946-948, 2012
10. Demitsu T, Yamada T, Umemoto N, Narita T, Kakurai M and Yoneda K: Cutaneous Mycobacterium marinum infection mimicking felon in a patient with psoriatic arthritis treated with infliximab. *J Dermatol* 39: 970-971, 2012
11. Ishikawa E, Yoneda K, Nakai K, Moriue J, Yokoi I, Munehiro A and Kubota Y: Primary cutaneous cryptococcosis in a patient with CREST syndrome. *Eur J Dermatol* 22: 421-422, 2012
12. Munehiro A, Yoneda K, Koura A, Nakai K and Kubota Y: Macular lymphocytic arteritis in a patient with rheumatoid arthritis. *Eur J Dermatol* 22: 427-428, 2012
13. Moriue T, Yoneda K, Moriue J, Nakai K, Yokoi I, Fujita N, Munehiro A, Maeda R and Kubota Y: Pinch and ligation method: a new non-surgical approach to viral warts. *J Dermatol* 39: 1108-1109, 2012
14. Moriue J, Yoneda K, Nakai K, Hosokawa Y, Moriue T, and Kubota Y: A survey of the factors associated with concerns about oral antihistamine use in Japanese pruritic skin disease patients. *J Dermatol Treat* 2012 Jul 25. [Epub ahead of print]
15. Yoneda K, Matsuoka-Shirahige Y, Demitsu T and Kubota Y: Pustular psoriasis precipitated by cytomegalovirus infection. *Br J Dermatol* 167: 1186-1189, 2012
16. Nakai K, Yoneda K, Hosokawa Y, Moriue T, Presland RB, Fallon PG, Kabashima K, Kosaka H and Kubota Y: Reduced expression of epidermal growth factor receptor, E-cadherin, and occludin in the skin of flaky tail mice is due to filaggrin

- and lorixin deficiencies. *Am J Pathol* 181: 969-977, 2012
17. Hosokawa Y, Yoneda K, Nakai K, Moriue J and Kubota Y: Completely thrombosed venous aneurysm in great saphenous vein. *Ann Dermatol* 25: 268-270, 2013
 18. Yamada T, Nakamura S, Demitsu T, Nakamura T, Iida E, Yoneda K, Fukuda S and Hashimoto T: Paraneoplastic pemphigus mimicking toxic epidermal necrolysis associated with B-cell lymphoma. *J Dermatol* 40: 286-288, 2013
 19. Igarashi J, Hashimoto T, Shoji K, Yoneda K, Tsukamoto I, Moriue T, Kubota Y and Kosaka H: Dexamethasone induces caveolin-1 in vascular endothelial cells: implications for attenuated responses to VEGF. *Am J Physiol Cell Physiol* 304: C790-800, 2013
 20. Moriue T, Igarashi J, Yoneda K, Hashimoto T, Nakai K, Kosaka H and Kubota Y: Sphingosine 1-phosphate attenuates peroxide-induced apoptosis in HaCaT cells cultured in vitro. *Clin Exp Dermatol* 38: 638-645, 2013
 21. Moriue J, Yoneda K, Moriue T, Nakai K, Katsuki N, Haba R, Ikeda M and Kubota Y: Primary dermal melanoma latent for more than 10 years. *Ann Dermatol* 25: 385-386, 2013
 22. Kubota Y, Nakai K, Munehiro A, Moriue J and Yoneda K: Zosteriform cutaneous metastasis of lung adenocarcinoma. *J Clin Exp Dermatol Res* in press
 23. Yoneda K, Demitsu T, Kakurai M, Narita T, Nakai K, Kubota Y, Ishii N and 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]
 24. Moriue T, Yoneda K, Moriue J, Nakai K and Kubota Y: Multi-branched acquired periungual fibrokeratoma. *JAMA Dermatol* in press
 25. Yokoi I, Ishikawa E, Koura A, Hosokawa Y, Tamai A, Nakai K, Moriue J, Moriue T, Yoneda K and Kubota Y: Successful treatment of primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma with intralesional methotrexate therapy. *Acta Derm Venereol* 2013 Sep 3. doi: 10.2340/00015555-1692. [Epub ahead of print]
 26. Inaba Y, Kanazawa N, Furukawa F, Sakurane Y, Nakano H, Sawamura D, Yoneda K, Hamada T and Hashimoto T: Pachyonychia congenita in Japan: report of familial cases with a recurrent KRT16 mutation and review of the literature. *Eur J Dermatol* in press
 27. Nakai K, Yoneda K, Haba R, Kushida Y, Katsuki N, Moriue T, Kosaka H, Kubota Y and Inoue S: Deranged epidermal differentiation in *kl/kl* mouse and the effects of β Klotho siRNA on the differentiation of HaCaT cells. *Exp Dermatol* 2013 Oct 7. doi: 10.1111/exd.12258. [Epub ahead of print]
 28. Nakai K, Yoneda K, Haba R, Kushida Y, Katsuki N, Moriue J, Moriue T, Ishikawa E, Inoue S and Kubota Y: Two cases of nevus sebaceous accompanying secondary tumors with β Klotho expression. *J Dermatol* in press
 29. Nakai K, Yoneda K, Murakami Y, Koura A, Maeda R, Tamai A, Ishikawa E, Yokoi I, Moriue J, Moriue T and Kubota Y: Effects of topical N-acetylcysteine on skin

hydration/transepidermal water loss in healthy volunteers and atopic dermatitis patients. Ann Dermatol in press

英語総説

1. Nakai K, Yoneda K and Kubota Y: Oxidative stress in allergic and irritant dermatitis; from basic research to clinical management. Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov 6: 202-209, 2012
2. Nakai K, Yoneda K, Moriue T and Kubota Y: A possible link between the vascular dysfunction and skin manifestation in Fabry disease. Open Access Scientific Reports 1 doi: 10.4172/scientificreports.221

和文著書

1. 米田耕造：思春期に顕在化しやすい角化異常症への対処法は？、思春期の皮膚トラブルFAQ、宮地良樹編、診断と治療社、東京、pp131-136, 2012
2. 米田耕造：Case11 皮脂欠乏性皮膚炎、内科で役立つ一発診断から迫る皮膚疾患の鑑別診断、出光俊郎編、羊土社、東京、pp102-106, 2013

和文論文

1. 細川洋一郎、石川絵美子、森上純子、森上徹也、中井浩三、横井郁美、宗廣明日香、前田麗子、藤田名都子、小浦綾子、米田耕造、芳地 一、窪田泰夫：香川県内皮膚科医を対象としたステロイド含有抗ヒスタミン薬の使用状況調査—院外処方薬局における調査も含めて—、日本臨床皮膚科医会雑誌、29: 75-78, 2012
2. 窪田泰夫、森上徹也、森上純子、中井浩三、横井郁美、藤田名都子、宗廣明日香、前田麗子、石川絵美子、細川洋一郎、小浦綾子、米田耕造：アトピー性皮膚炎患者のスキンケア

における各種ヘパリン類似物質含有ローション製剤の使用感および患者満足度の比較検討、西日本皮膚科、74: 432-438, 2012

3. 窪田泰夫、中井浩三、森上純子、森上徹也、横井郁美、前田麗子、宗廣明日香、石川絵美子、細川洋一郎、小浦綾子、藤田名都子、米田耕造：成人アトピー性皮膚炎に対するステロイド軟膏とタクロリムス軟膏による外用連続療法の有用性と患者 QOL に及ぼす影響、西日本皮膚科、74: 541-547, 2012
4. 小浦綾子、宗廣明日香、森上純子、森上徹也、中井浩三、米田耕造、窪田泰夫：帯状疱疹に伴った運動神経麻痺の2例、皮膚科の臨床、54: 1901-1905, 2012
5. 窪田泰夫、宗廣明日香、小浦綾子、白髭由恵、横井郁美、前田麗子、石川絵美子、細川洋一郎、森上純子、森上徹也、中井浩三、米田耕造：ざ瘡患者を対象としたダラシンTローション1%を用いた直接塗布法とコットンパフ使用法との臨床的有用性ならびに患者使用感に関する比較検討、西日本皮膚科、74: 630-635, 2012

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

平成 24 年度～25 年度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

皮膚の遺伝関連性希少難治性疾患群の網羅的研究

研究項目：角化症（掌蹠角化症）

研究報告：本邦における先天性爪甲肥厚症の実態解明

分担研究者：米田 耕造 香川大学医学部皮膚科 准教授
研究協力者：金澤 伸雄 和歌山県立医科大学医学部皮膚科 講師
稲葉 豊 和歌山県立医科大学医学部皮膚科 大学院生
中谷 友美 和歌山県立医科大学医学部皮膚科 研究補助員
濱田 尚宏 久留米大学医学部皮膚科 講師
橋本 隆 久留米大学医学部皮膚科 教授

研究要旨

本研究は、和歌山県立医科大学皮膚科で先天性爪甲肥厚症の母子例を経験したのを契機に、香川大学皮膚科が分担する掌蹠角化症の解明の一環として、先天性爪甲肥厚症を対象を絞り、和歌山県立医科大学皮膚科が中心となって本邦における同疾患の実態解明を目指すものである。1) 両足底の痛性胼胝様過角化を主訴に和歌山県立医科大学皮膚科を紹介受診となった 32 歳女性と、最近手足に角化病変が見られるようになった 1 歳になる長男について、母親の足の著明な爪の硬化・肥厚から PC-1 を疑い、*KRT6A* と *KRT16* 遺伝子の変異検索を行った結果、母子ともに *KRT16* に c.374A>G (N125S) のヘテロ変異が同定され、PC-1 と確定診断された。この変異の報告は欧米では多数報告されているものであるが、本邦では 2 例目である。2) 文献的検討によると、本邦から 1985 年以来 21 例の PC 症例が報告されているが、そのうち遺伝子解析がなされたものは自験例を含め 9 例にとどまった。興味深いことに、ほぼ半数が国際的には少数派とされる PC-2 型 (Jackson-Lawler) であり、嚢腫様病変による診断、報告の容易さだけでなく、民族による違いが背景にある可能性も考えられた。3) 最近 5 年間に経験された患者の全国調査では未報告例を含め、PC-1 型 (Jadassohn-Rewandowski) 8 例、PC-2 型 8 例、疑い例 6 例が見出され、やはり PC-2 型が多く認められた。4) 一次調査で PC あるいは疑い患者ありとの回答を得た 12 施設に対し、二次調査として国際研究登録 (IPCR) に準じた説明同意書と質問票、回答用紙を送付し、臨床情報と遺伝子情報の収集を開始した。遺伝子解析未実施の患者の同意が得られれば、その変異検索も行い、本邦症例における遺伝子型と表現型の相関を検討し、その独自性の有無を明らかにするとともに、IPCR に登録し、海外で進行しているラパマイシンや siRNA を用いた治験への参加、あるいはその成果の導入に備える。

A. 研究目的

先天性爪甲肥厚症（厚硬爪甲症ともいう）
(Pachyonychia congenita: PC) は、爪甲の肥厚と
種々の外胚葉系の異常を認める常染色体優性遺

伝疾患で、爪甲の硬化・肥厚、掌蹠の角化、口腔
粘膜の白板症、多汗、四肢の角化性丘疹を伴う
PC-1 型 (Jadassohn-Lewandowski: OMIM#167200)
と、爪甲の硬化・肥厚、出生齒、多汗を伴うが白