

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 4 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23791301

研究課題名(和文) 疱疹状天疱瘡・増殖性天疱瘡における抗デスモコリン自己抗体の関与の研究

研究課題名(英文) A study of anti-Dsc autoantibodies for pemphigus herpetiformis and pemphigus vegetans

研究代表者

石井 文人 (Ishii, Norito)

久留米大学・医学部・講師

研究者番号：80330827

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円、(間接経費) 840,000円

研究成果の概要(和文)：疱疹状天疱瘡・増殖性天疱瘡患者血中の自己抗体がデスモコリン蛋白に自己抗原を持つ症例を各種の免疫学的、分子生物学的手法を駆使して検出し、デスモコリンのELISAやcDNA-トランスフェクション法の有用性を評価した。Eukaryotic cells発現系を用いて組み換えデスモコリン蛋白質を基質としたELISAにて、腫瘍随伴性天疱瘡および一部の疱疹状天疱瘡、増殖性天疱瘡に高値で陽性であった。正常人および古典型天疱瘡に比べ高率に亜型天疱瘡に抗デスモコリン抗体を検出し、その特異的な臨床にこれらの抗体の関与を示唆した。

研究成果の概要(英文)：No consistent immunoassay for IgG autoantibodies to Dscs has been developed. The aim of this study was to develop reliable assays to detect anti-Dsc autoantibodies. We expressed soluble recombinant proteins of human Dsc1-Dsc3 in mammalian cells and examined sera of various types of pemphigus by novel enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) using the recombinant proteins. We also performed ELISAs of Dsc baculoproteins, cDNA transfection method, and compared the results with those of mammalian ELISAs.

We have successfully established new sensitive and specific mammalian Dsc IgG enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs). Our data show that IgG anti-Dsc autoantibodies are frequently detected and potentially pathogenic in particular types of non-classical pemphigus.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学 皮膚科学

キーワード：皮膚診断学 疱疹状天疱瘡 増殖性天疱瘡 腫瘍随伴性天疱瘡 デスモコリン ELISA法

1. 研究開始当初の背景

天疱瘡は、皮膚・粘膜に病変が認められる自己免疫性水疱性疾患であり、表皮細胞間接着が障害される結果、病理組織学的に棘融解による表皮水疱形成を認め、免疫病理学的に表皮細胞膜表面に対する自己抗体が皮膚組織に沈着するか循環血中にみとめられることを特徴とする疾患、と定義される。天疱瘡抗原蛋白は、表皮細胞間接着に重要な役割をしているデスモゾームに存在するカドヘリン型細胞間接着因子、デスモグレインである。臨床的に天疱瘡は尋常性天疱瘡、落葉状天疱瘡の2型に大別され、これら古典的天疱瘡のうち尋常性天疱瘡抗原は130kDa Dsg3、落葉状天疱瘡抗原は160kDa Dsg1である。尋常性天疱瘡は、さらに粘膜優位型と粘膜皮膚型に分類される。近年開発され保険収載になっているDsg1とDsg3のリコンビナント蛋白を用いたELISA法では、一般的に粘膜優位型尋常性天疱瘡では抗Dsg3 IgG抗体のみを認めるのに対し、粘膜皮膚型尋常性天疱瘡では、抗Dsg3 IgG抗体および抗Dsg1 IgG抗体の両抗体を認める。落葉状天疱瘡では、抗Dsg1 IgG抗体のみを認める(デスモグレイン代償説)。

またデスモグレインとともにデスモゾームに存在する膜通過タンパクのひとつにデスモコリン(Dsc)があり、Dscには3種のアイソタイプ(Dsc1, Dsc2, Dsc3)が存在する。現在このDscに対する自己抗体を検出する天疱瘡として、Dsc1がIgA天疱瘡(subcorneal pustular dermatosis, SPD型)のみに自己抗原であることが示唆されている。天疱瘡において抗Dsc IgG抗体の関連は不明であり特徴づけられていない。

近年の目覚ましい免疫学・分子生物学の進歩に伴い、自己免疫性水疱症の標的抗原が同定され、詳細で明確な自己免疫性水疱症の分類がなされている現在、「デスモグレイン代償説」に当てはまらない抗Dsg抗体と臨床像を呈す天疱瘡の存在や、古典型と臨床像を画す

その他の垂型の天疱瘡に抗Dsc IgG抗体を検出する症例が報告されはじめた。しかしその存在がpathogenicなものか、またはepitope-spreadingに伴う二次的産物かは未だ示されていない。

またそれらの多くは増殖性天疱瘡(尋常性天疱瘡の垂型)または疱疹状天疱瘡(落葉状天疱瘡の垂型)様皮疹を呈すると報告されているが、臨床像と自己抗原の相関性も詳細にはわかっていない。疱疹状天疱瘡・増殖性天疱瘡は古典型天疱瘡の垂型として分類される。古典型天疱瘡と同様にIgGクラスの表皮細胞膜表面に対する自己抗体が検出されるが、その臨床像は特異的である。

疱疹状天疱瘡は臨床的にジューリング疱疹状皮膚炎に似て、掻痒性紅斑と環状に配列する小水疱を特徴とするが、蛍光抗体法所見にて天疱瘡と同様にIgGクラスの表皮細胞膜表面に対する自己抗体が検出される疾患である。病理学的には古典的天疱瘡でみられる棘融解が明らかでなく、好酸球形海綿状態が主な所見である。

増殖性天疱瘡は尋常性天疱瘡の垂型で、水疱、びらんの病変や間擦部などの膿疱性病変から増殖性変化を生じ、自己抗体は尋常性天疱瘡と同じ抗Dsg3 IgG抗体であり、一部の症例では抗Dsg1 IgG抗体も有する。病理学的に、基底層直上での裂隙形成に加え、表皮の著明な乳頭状増殖、好酸球形膿疱を特徴とする。

2. 研究の目的

本研究では、疱疹状・増殖性天疱瘡におけるデスモコリン蛋白に対するIgG自己抗体の検出とその病原性を検討することにより、疱疹状天疱瘡・増殖性天疱瘡における病変発症機序を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

本施設で保存している疱疹状・増殖性天疱瘡の患者血清と随時他施設から追加収集される疱疹状・増殖性天疱瘡症例に対し、蛍光抗体法、ELISA 法、表皮抽出液を基質とした免疫ブロット法および cDNA-トランスフェクション法(Dsc の cDNA を用いた有核細胞トランスフェクション法)を用いて、各症例のデスマグレインを含めたデスマコリンに対する検出される自己抗原を特徴づけた。従来から多数の自己免疫水疱症について、これらの自己抗体について免疫学的検査を行っており、手法については確立されている。得られた結果と患者背景および臨床学的特徴の検討を行う。

またその他の天疱瘡患者血中の自己抗体がデスマコリン蛋白に自己抗原を持つ症例を各種の免疫学的、分子生物学的手法を駆使して検出し、デスマコリンの ELISA 法の開発を行い、その有用性を評価した。

4. 研究成果

デスマコリンの ELISA や cDNA-トランスフェクション法の有用性を評価した。さらに抗デスマコリン抗体の検出法の確立のために、腫瘍随伴性天疱瘡などの亜型の天疱瘡を含めて対象を増やし、同手技の有用性を評価した。Eukaryotic cells 発現系を用いて組み換えデスマコリン蛋白を基質とした ELISA にて、腫瘍随伴性天疱瘡および一部の疱疹状天疱瘡、増殖性天疱瘡に高値で陽性であった。正常人および古典型天疱瘡に比べ高率に亜型天疱瘡に抗デスマコリン抗体を検出し、その特異的な臨床にこれらの抗体が関与しているのではないかと推察した。cDNA-トランスフェクション法はバックグラウンドが高く偽陽性となることがあり、ELISA 法の手技が有用であった。

Eukaryotic cells 発現系を用いて組み換え

デスマコリン蛋白を基質とした ELISA 法による抗デスマコリン抗体検出法を確立した。総合的に抗原抗体解析の結果と臨床学的特徴の検討を行い、正常人および古典型天疱瘡に比べ高率に亜型天疱瘡(腫瘍随伴性天疱瘡)に抗デスマコリン抗体を検出したことを示した。

本邦および世界的にも疱疹状・増殖性天疱瘡の臨床・免疫学的大規模研究はなく、古典型と異なる特異的な臨床症状と免疫学的背景の相関は未だ不明であった。今まで国内外における抗デスマコリン IgG 抗体の自己抗原が検出される天疱瘡の症例報告は数例程度散見されるのみであり、その病原性には注目されておらず関連する検討まで及んだ報告は皆無であった。病原性についての研究では今まで古典型天疱瘡の抗 Dsg 抗体に対する検討が主であり、疱疹状・増殖性天疱瘡での検討は未だない。本結果では、抗 Dsg 抗体ではなく抗 Dsc 抗体にのみ反応する天疱瘡の症例もみられ、その病原性になりうる可能性は十分に高いと考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 4 件)

1. 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 desmocollins 1-3. Br J Dermatol 168(4):879-881, 2013. (査読有)

doi: 10.1111/bjd.12019

2. 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. (査読有)
doi: 10.1111/ced.12050

3. 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. Br J Dermatol 169(3):719-721, 2013. (査読有)
doi: 10.1111/bjd.12398

4. 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-desmocollin 3 antibodies. JAMA Dermatol 149: 1209-13, 2013. (査読有)
doi: 10.1001/jamadermatol.2013.5244.

[学会発表](計 0 件)

[図書](計 0 件)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

石井 文人 (ISII, Norito)

久留米大学・医学部・講師

研究者番号 : 80330827