

平成 28 年 6 月 20 日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461678

研究課題名(和文) 本邦ジューリング疱疹状皮膚炎の血清学的・遺伝学的研究

研究課題名(英文) Serological and genetical study in Japanese dermatitis herpetiformis

研究代表者

大畑 千佳 (OHATA, Chika)

久留米大学・医学部・准教授

研究者番号：70362712

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：疱疹状皮膚炎は痒みの強い水疱が生じる疾患で、欧米では頻度が高くグルテン過敏症が原因とされている。しかし、本邦では患者数も少なくグルテン過敏症の合併もほとんどない。本研究で、欧米患者が有するHLA-DQ2 もしくはHLA-DQ8について検討したところ、HLA-DQ2を有する本邦患者はおらず、HLA-DQ8は本邦患者の1/3にしかみられなかった。また、原因とされている抗表皮トランスグルタミナーゼ抗体は2/3にしか認められなかった。これより本邦の患者においては、グルテン過敏以外の発症機序があることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Dermatitis herpetiformis (DH) is an extremely pruritic bullous disease, and it preferentially affects Caucasians rather than Japanese. Although gluten sensitivity is considered to develop DH in Caucasian patients, Japanese patients with DH rarely have gluten sensitivity. In this study we found that no Japanese DH patients had HLA-DQ2, and only one-third of Japanese DH patients had HLA-DQ8, despite the fact that almost all Caucasian DH patients bear HLA-DQ2 or -DQ8. Pathogenic autoantibodies, anti-epidermal transglutaminase antibodies, were detected in only two-thirds of Japanese DH patients. This study suggested the possible existence of different cause other than gluten sensitivity in Japanese DH patients.

研究分野：皮膚科学

キーワード：ジューリング疱疹状皮膚炎 自己免疫性水疱症 IgA 表皮トランスグルタミナーゼ 組織トランスグルタミナーゼ グルテン 直接蛍光抗体法 HLA-DQ2, DQ8

## 1. 研究開始当初の背景

### (1) ジューリング疱疹状皮膚炎の病因についてのこれまでの知見

ジューリング疱疹状皮膚炎は痒みの強い水疱が、肘頭、膝蓋、臀部などに好発する自己免疫性水疱症で、蛍光抗体直接法で IgA が真皮乳頭に顆粒状に沈着することを免疫学的特徴としている。この IgA は他の自己免疫性水疱症のように、皮膚組織にもともと存在する自己抗原に結合すると考えられていたが、正常ヒト皮膚を用いた蛍光抗体間接法で患者血清を反応させても、真皮乳頭への IgA の顆粒状沈着が再現されないため、IgA は皮膚組織にもともと存在する自己抗原に結合しているのではないと考えられるようになった。Sardy ら (J Exp Med, 2002) は病変部皮膚で表皮トランスグルタミナーゼ抗原と IgA が colocalize しているが、組織トランスグルタミナーゼ抗原と IgA は colocalize していないことを証明し、さらにジューリング疱疹状皮膚炎患者血清中に IgA 抗 eTG 抗体が存在することも見出した。そして、Zone ら (J Immunol, 2011) は正常ヒト皮膚を移植した SCID マウスにヤギ抗 eTG 抗体の IgG 分画を受動移入し、ヒト皮膚の乳頭部のみヤギ抗 eTG 抗体が沈着し、ヒト eTG が colocalize すること、さらには同部にジューリング疱疹状皮膚炎患者の血清 IgA を反応させると沈着が起こることを証明し、ヤギ抗 eTG 抗体を溶出してもヒト eTG とジューリング疱疹状皮膚炎患者の血清 IgA が colocalize したままであることを見出した。マウスの皮膚ではこのような反応は全く見られなかったことより、真皮乳頭の eTG はヒト表皮から拡散して真皮乳頭に入り、そこに IgA が colocalize したと考えられた。この機序は正常ヒト皮膚を用いた蛍光抗体間接法が陰性になることを上手く説明できる。欧米のジューリング疱疹状皮膚炎患者に必ず合併するグルテン過敏性腸症 (セリアック病) では抗 tTG 抗体が産生されるが、epitope spreading によって抗 eTG 抗体が産生され、ジューリング疱疹状皮膚炎が引き起こされる説が提唱されている。欧米では HLA-DQ2 と DQ8 に強く連鎖することが知られている。

### (2) 欧米と本邦のジューリング疱疹状皮膚炎の違い

欧米と本邦のジューリング疱疹状皮膚炎の臨床症状はほとんど同じであり、組織学的に真皮乳頭に好中球の微小膿瘍が形成されること、治療薬としてジアフェニルスルホン (DDS) が著効することも共通している。し

かし相違点も多い。欧米のジューリング疱疹状皮膚炎患者ではグルテン過敏性腸症 (セリアック病) の合併が必発であり、ジューリング疱疹状皮膚炎の治療としてグルテン除去食が必ず行われているのに対し、1976 年から 2011 年の過去 35 年間に報告された本邦のジューリング疱疹状皮膚炎 91 例について我々がまとめた結果 (Ohata et al. Clin Dev Immunol, 2012) では、グルテン過敏性腸症の合併は極めて稀であり、試験的に行われたグルテン除去食が奏功した例はほとんどなかった。また、欧米では約 80% の患者が HLA-DQ2 を持ち、HLA-DQ2 を持たない患者のほとんどが HLA-DQ8 を持つことが報告されており、この 2 つのアレルとの相関が強いのにに対し、本邦報告例で HLA が調べられた 31 症例のなかで、この 2 つのアレルを持つものは皆無であった。

ジューリング疱疹状皮膚炎では蛍光抗体直接法で真皮乳頭に IgA が沈着することが免疫学的特徴として知られているが、欧米ではこの沈着パターンがほぼ顆粒状のみであるのに対し、本邦報告例で顆粒状沈着を示したのは全体の約 2/3 であり、残りの 1/3 の症例では細線維状の沈着を示した。本邦報告例全体としては HLA の特定のアレルとの相関は認められなかったが、顆粒状沈着を示すグループで正常日本人と比べ有意に HLA-DR9 との相関が高いことも判明した。

## 2. 研究の目的

本研究では本邦ジューリング疱疹状皮膚炎の病態を明らかにするために欧米症例とは異なる特徴の有無について検討することを目的とする。主な目的は以下の 3 つである。

### (1) ジューリング疱疹状皮膚炎の病因に関する抗 eTG 抗体と抗 tTG 抗体の関与の検討

本邦では表皮トランスグルタミナーゼ、組織トランスグルタミナーゼについてほとんど検索がなされていないが、2 症例について血中抗 tTG 抗体が陰性で抗 eTG 抗体が陽性であったことが報告されている (Asano et al. Br J Dermatol 2011)。本邦例についてこの両者の抗体価を調べ、同時に病変部皮膚での抗 eTG 抗体、抗 tTG 抗体と IgA の局在、colocalization の有無について蛍光抗体直接法を用いて検討する。

### (2) 本邦のジューリング疱疹状皮膚炎患者に特異的な HLA アレルの同定

本邦のジューリング疱疹状皮膚炎患者のゲノム DNA を用いて、本疾患に強く連鎖する HLA

アレルの同定を目指す。また、本症の発症に関与していることが示唆される疾患感受性遺伝子および染色体上の疾患感受性領域を同定する。さらに疾患感受性遺伝子がコードするタンパク質の発現について、免疫組織化学染色・蛍光抗体法による検討を行う。

### 3. 研究の方法

本研究は、本邦ジューリング疱疹状皮膚炎患者 21 名分のサンプルを用いて行った。

(1) ジューリング疱疹状皮膚炎の病因に関する抗 eTG 抗体と抗 tTG 抗体の関与の検討

市販の Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) キットを用いて抗 eTG 抗体と抗 tTG 抗体の抗体価を調べ、同時に病変部皮膚での抗 eTG 抗体、抗 tTG 抗体と IgA の局在、colocalization の有無について蛍光抗体直接法を用いて検討した。

(2) 本邦のジューリング疱疹状皮膚炎患者に特異的な HLA アレルの同定

患者のゲノム DNA を用いて、HLA 領域 (6p21) について、ルミネックス法にて、HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQB1, HLA-DPB1, HLA-DQA1 の allele を同定し、本症患者に特異的な (強く連鎖する) HLA allele の同定を試みた。

### 4. 研究成果

(1) ジューリング疱疹状皮膚炎の病因に関する抗 eTG 抗体と抗 tTG 抗体の関与の検討

凍結皮膚が使用可能だった 14 例について、病変部皮膚での eTG と IgA の局在、colocalization の有無について蛍光抗体直接法を用いて検討したところ、9 例 (64.3%) で IgA と eTG が真皮乳頭で colocalize していた。

欧米のジューリング疱疹状皮膚炎では血中に抗 eTG 抗体と抗組織トランスグルタミナーゼ (tTG) 抗体が高率に存在するが、本邦のジューリング疱疹状皮膚炎患者ではこれらの自己抗体についてほとんど検討されていない。

本邦ジューリング疱疹状皮膚炎患者 21 例について、IgA 抗 eTG 抗体と IgA 抗 tTG 抗体について検討したところ、IgA 抗 eTG 抗体は 9 例 (42.9%) で、IgA 抗 tTG 抗体は 2 例 (9.5%) で陽性であった。さらに蛍光抗体直接法で真皮乳頭での IgA と eTG の colocalization が認められるか IgA 抗 eTG 抗体が陽性であった

かのいずれかであったものは、21 例中 15 例 (71.4%) であった。

(2) 本邦のジューリング疱疹状皮膚炎患者に特異的な HLA アレルの同定

欧米のジューリング疱疹状皮膚炎患者で強く連鎖する HLA アレルは、約 80% が HLA-DQ2 で残りが HLA-DQ8 であることが知られている。ところが、我々が 1976 年から 2011 年の 35 年間に報告された本邦疱疹状皮膚炎 91 例を検討したところ (Ohata C, et al, Clin Dev Immunol 2012) HLA-DQ2, DQ8 を有する症例は皆無であった。過去の報告では HLA-DQB1 が調べられたケースが少ないことが、過去の報告の中にこれらの HLA アレルを有する症例が見られなかった理由である可能性が考えられた。

H26 年度は本邦のジューリング疱疹状皮膚炎患者 16 例について HLA アレル検討した。その結果、HLA-DQ2 を有する例はなかったが、6 例 (37.5%) が HLA-DQ8 を有していることが明らかとなった。日本人コントロールにおいても HLA-DQ2 の陽性率はほぼ 0% であるため、本邦のジューリング疱疹状皮膚炎患者においては、今後検討症例数が増えても HLA-DQ2 を有する症例は存在しない可能性が高いことが考えられた。

(3) 今後の展望

ELISA もしくは蛍光抗体直接法のいずれかで、IgA 抗表皮トランスグルタミナーゼ抗体を証明できたのは 21 例中 14 例 (67%) であった。欧米では ELISA による IgA 抗表皮トランスグルタミナーゼ抗体はほぼ全例で陽性になるのに対し、本邦での陽性率は著しく低く、蛍光抗体直接法の結果を加味しても陽性率は低かった。グルテン過敏症を併発した患者は本研究でも稀であったため、欧米患者とは異なる機序で本邦患者の疱疹状皮膚炎が生じている可能性が示唆された。今後、新たな機序の解明が期待される。

### 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 56 件)

1. Ohata C, Ishii N, Niizeki H, Shimomura Y, Furumura M, Inoko H, Mitsunaga S, Saiki M, Shigeta M, Fujiwara S, Yamakawa K, Kobayashi S, Kamata M, Inaba M, Ito T, Uhara H, Watanabe R, Ohtoshi S, Ohashi T, Tanaka T, Suzuki

M, Sitaru C, Karpati S, Zone JJ, Hashimoto T: Unique characteristics in Japanese dermatitis herpetiformis. Br J Dermatol 174(1):180-183, 2016. ( 査読有 )

doi: 10.1111/bjd.13965.

2. Ohata C, Ishii N, Koga H, Fukuda S, Tateishi C, Tsuruta D, Furumura M, Hashimoto T: Coexistence of autoimmune bullous diseases (AIBDs) and psoriasis: A series of 145 cases. J Am Acad Dermatol 73(1):50-55, 2015. ( 査読有 )

doi: 10.1016/j.jaad.2015.03.016.

3. Ohata C, Ishii N, Furumura M, Nakama T: Adnexal involvement in bullous pemphigoid. J Cutan Pathol 42(8):587-590, 2015. ( 査読有 )

doi: 10.1111/cup.12520.

4. Ohata C, Ishii N, Furumura M: Locations of acantholysis in pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus. J Cutan Pathol 41(11):880-889, 2014. ( 査読有 )

doi: 10.1111/cup.12384.

[ 学会発表 ] ( 計 14 件 )

1. Chika Ohata, Norito Ishii, Hiroshi Koga, Takekuni Nakama. A clinical and serological study of linear IgA bullous dermatosis. 74th Annual Meeting of American Academy of Dermatology. March 4-8, 2016. Washington, VA. USA

2. Chika Ohata, Norito Ishii, Minao Furumura, Takekuni Nakama. Reappraisal of the histopathological features of bullous pemphigoid. 18th Joint Meeting of The International Society of Dermatopathology. March 18-19, 2015. San Francisco, CA. USA

3. Chika Ohata, Norito Ishii, Minao Furumura, Takashi Hashimoto. Locations of acantholysis in pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus. 17th Joint Meeting of The International Society of Dermatopathology. March 19-20, 2014. Denver, CO. USA

4. Chika Ohata. Clinical, immunological and genetical analysis of Japanese dermatitis herpetiformis. The 3rd

International Mini Symposium on Dermatology in Kurume. November 15-16, 2013, Kurume, Japan.

## 6 . 研究組織

### (1) 研究代表者

大畑 千佳 (OHATA Chika)

久留米大学・医学部皮膚科・准教授

研究者番号 : 70362712

### (2) 研究分担者

橋本 隆 (HASHIMOTO Takashi)

久留米大学・皮膚細胞生物学研究所・教授

研究者番号 : 20129597