

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

科学研究費助成事業

研究成果報告書



令和 4 年 6 月 23 日現在

機関番号：24701

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K17324

研究課題名（和文）顆粒状C3皮膚症の疾患概念の確立と病態解明

研究課題名（英文）Establishment of disease concept and pathogenesis of granular C3 dermatosis

研究代表者

濱本 千晶（Hamamoto, Chiaki）

和歌山県立医科大学・医学部・客員研究員

研究者番号：20866545

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000 円

研究成果の概要（和文）：研究計画に沿って、顆粒状C3皮膚症あるいは鑑別を要する他の自己免疫性水疱症患者（水疱性類天疱瘡など）と診断された患者の皮膚組織あるいは水疱内容物を可能な限り収集した。そして病変部皮膚基底膜へのC4、C5-C9、MBL、M-Ficolin、FBの沈着の有無の検索のための蛍光抗体法と表皮におけるC3の発現評価のためのqPCRについて、少数のサンプルを利用して条件設定やプライマー選定など予備実験を行うことができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

皮膚科領域では補体関連疾患として遺伝性血管浮腫があり、C1インヒビター製剤という特効薬があるにも関わらず、非常に稀で診断が難しいこともあってなかなかメジャーになれなかったが、近年ブラジキニン受容体拮抗薬が開発され再び脚光を浴びている。さらに最近、C5に対する抗体製剤が開発され、そのポテンシャルからにわかに補体異常症の研究が活発になっている感がある。本研究は、皮膚科領域におけるこれら補体異常症の研究を牽引することが期待される。

研究成果の概要（英文）：In accordance with our research plan, skin tissues or blister contents were collected from patients diagnosed with granular C3 dermatosis or other autoimmune bullous diseases requiring differentiation (e.g., bullous pemphigoid). Preliminary experiments were conducted using a small number of samples, including condition setting and primer selection, for fluorescent antibody assays to search for deposition of C4, C5-C9, MBL, M-Ficolin, and FB on the skin basement membrane of lesions and for qPCR to evaluate C3 expression in the epidermis.

研究分野：皮膚科学関連

キーワード：水疱症 皮膚

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1．研究開始当初の背景

皮膚に水疱を生じる疾患を一般に水疱症とよび、先天性(遺伝性)水疱症と後天性水疱症に大別される。後天性水疱症の中で鑑別が問題になるのは自己免疫性水疱症であり、表皮内水疱を形成する天疱瘡群と表皮下水疱を形成する類天疱瘡群に分けられる。したがって、皮膚科診療において、臨床的に後天性水疱症が疑われた場合、皮膚生検に合わせ、蛍光抗体直接法により、病変部皮膚への IgG、IgM、IgA、さらに C3 や C1q などの補体成分の沈着の有無を検討することが一般的に行われている。その中で、稀に抗体成分の沈着がなく補体成分の沈着のみが見られる症例のあることが以前から知られていたものの、その意義や病態についてはほとんど顧みられることがなかった。

顆粒状 C3 皮膚症は、2016 年に橋本・鶴田らによって提唱された疾患概念で、(1)ジューリング疱疹状皮膚炎様の臨床的特徴、(2)リンパ球、好酸球、好中球の様々な組み合わせの浸潤をともなう表皮下水疱/浮腫と液状変性という病理組織学的特徴、(3) C3 と C5-C9 の顆粒状沈着(他の補体成分の沈着はない)、(5) 蛍光抗体間接法、免疫プロット法、ELISA 法などの検査法で患者血清中に自己抗体は検出されないこと、を特徴とする。報告された 20 人の患者は、男女同数で発症年齢は 8 歳から 83 歳まで平均 61.2 歳である。ほとんどの症例で強い瘙痒を伴うが、皮膚病変の肉眼所見は多様性に富む。ほぼ半数の症例がジューリング疱疹状皮膚炎様の環状もしくは貨幣状の滲出性紅斑と紅斑周囲の小水疱と湿疹性病変を呈し、水疱性類天疱瘡様の緊満性水疱を認める症例もある一方、7 症例では明らかな水疱形成はなく、水疱を伴わない環状紅斑や痒疹様の丘疹を呈する症例もあった。まだ海外からの報告はない。

病態としては、20 例に共通に、蛍光抗体直接法にて基底膜部に C3 と C5-C9 が陽性であるほかには、病変皮膚に免疫グロブリンや各種レクチンの沈着がなく、古典経路やレクチン経路による補体活性化は否定的である。一方、顆粒状 C3 皮膚症と同様に C3 のみが沈着する C3 腎症(C3 glomerulopathy)において、先天的あるいは自己免疫的な機序で第 2 経路による補体の活性化が想定されていることを考えると、顆粒状 C3 皮膚症においても、何らかの機序で第 2 経路による補体の活性化が起こり増幅経路が働いて C3 が沈着した可能性がある。C3 は表皮ケラチノサイトも産生することから、何らかの刺激により表皮ケラチノサイトが C3 を過剰発現した結果として C3 が基底膜部に沈着する可能性も考えられるが、橋本・鶴田らは、in situ ハイブリダイゼーションや qPCR 法にて、顆粒状 C3 皮膚症の表皮内においては、C3 の mRNA の発現がむしろ減少していることを示している。

申請者らは線状皮膚炎様の皮膚症状を繰り返し、組織学的には典型的な表皮下水疱を呈するものの、水疱性類天疱瘡、後天性表皮水疱症、ジューリング疱疹状皮膚炎、線状 IgA 水疱性皮膚症などの他の表皮下水疱症と臨床的特徴が一致せず、蛍光抗体直接法にて基底膜に C3 の顆粒状・線状沈着を認めた以外には蛍光抗体法間接法、免疫プロット法ともに明らかな陽性所見を得られなかった 71 歳男性症例を経験し、「線状皮膚炎様臨床像を呈し顆粒状 C3 皮膚症と診断した表皮下水疱症の 1 例」として報告した。

申請者らの症例と、橋本・鶴田らの報告した 20 例とは、好発年齢、好発部位、好酸球とリンパ球浸潤を伴う表皮化水疱を示す病理像、蛍光抗体直接法で病変部基底膜部に C3 の顆粒状の沈着を認める点が一致するが、線状に水疱を伴う線状皮膚炎様の特異な臨床像、好中球浸潤を伴わない病理像と、蛍光抗体直接法で基底膜部に C3 の顆粒状沈着とともに一部線状沈着を認めた点が異なる。我々は自験例を顆粒状 C3 皮膚症と診断したが、異なる点も認めるため、「自験例は本当に顆粒状 C3 皮膚症なのか」という問いが残る。ただ、顆粒状 C3 皮膚症といっても病態は不明で疾患概念が確立されたとは言い

難しく、先の問いに答えるために、「そもそもなぜ自験例と橋本・鶴田らの報告した 20 例に共通して C3 のみ基底膜部に顆粒状に沈着を認めるのか」、特にその機序として想定される「補体第 2 経路やその制御因子に異常はないのか」という問いに答える必要がある。

2 . 研究の目的

自験例、橋本・鶴田らの 20 症例と全国調査で見出された患者の病変部皮膚基底膜部における C3 の顆粒状沈着の本態を明らかにし、補体第 2 経路とその制御因子の異常の有無について、遺伝子異常と自己抗体の両面から明らかにする。その結果から、自験例を含め、これらの症例が顆粒状 C3 皮膚症という疾患概念として確立できるか明らかにする。

3 . 研究の方法

(1) まず、自験例、橋本・鶴田らによって顆粒状 C3 皮膚症として報告された 20 症例、また厚労科研難治性疾患政策研究事業「皮膚の遺伝関連性希少難治性疾患群の網羅的研究」(橋本班)において行った全国調査で見出された同症患者について、同意を得て皮膚組織、血液と血清を可能な限り集積する。

(2) 自験例と全国調査で見出された患者について、橋本・鶴田らの報告で検討された病変部皮膚基底膜への C4、C5-C9、MBL、M-Ficolin、FB の沈着の有無を蛍光抗体法にて確認し、表皮における C3 の発現を qPCR で検討する。

(3) 自験例、橋本・鶴田らの 20 症例と全国調査で見出された患者について、病変部皮膚生検組織の基底膜部を電顕と C3 に対する免疫電顕で観察し、C3 が顆粒状に沈着している詳細な部位や構造様式を観察する。

(4) 自験例、橋本・鶴田らの 20 症例と全国調査で見出された患者の血液から抽出した DNA を用い、C3 腎症で報告されている変異遺伝子を含め、第 2 経路を構成する FB、FD、C3、液性制御因子の CFH、CFI、C4bp、MCP、DAF、CRI、CD59 の各遺伝子に変異がないかどうか、次世代シーケンサーを用いたパネルで検討する。

(5) 自験例、橋本・鶴田らの 20 症例と全国調査で見出された患者の血清を用い、C3 腎症で自己抗体が報告されている抗原蛋白を含め、第 2 経路を構成する FB、FD、C3、液性制御因子の CFH、CFI、C4bp、MCP、DAF、CRI、CD59 の各蛋白について免疫プロットを行い、血清中にそれらに反応する IgG 自己抗体がないか検討する。

4 . 研究成果

研究計画に沿って、顆粒状 C3 皮膚症あるいは鑑別を要する他の自己免疫性水疱症患者(水疱性類天疱瘡など)と診断された患者の皮膚組織あるいは水疱内容物を可能な限り収集した。

そして病変部皮膚基底膜への C4、C5-C9、MBL、M-Ficolin、FB の沈着の有無の検索のための蛍光抗体法と表皮における C3 の発現評価のための qPCR について、少数のサンプルを利用して条件設定やプライマー選定など予備実験を行うことができた。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6 . 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------