

令和 4 年 5 月 12 日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08762

研究課題名(和文)従来のデスマグレイン抗体と異なるデスマコリン抗体からアプローチする天疱瘡病態解明

研究課題名(英文)Elucidation of the pathomechanism of anti-desmocollin antibodies in pemphigus

研究代表者

古賀 浩嗣 (Koga, Hiroshi)

久留米大学・医学部・講師

研究者番号：40461412

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)：デスマコリン(Dsc)3とデスマグレイン(Dsg)2相同組み換え蛋白を用いることで立体構造下の天疱瘡患者でみられるDsc3抗体の反応部位を検討した。その結果、Dsc3抗体の大部分は細胞外(EC)2ドメインのCaイオン依存性の立体構造を認識していること、そしてその部位を認識する抗体がDsc3蛋白の減少や細胞接着能の低下を生じることが示され、未だ明らかにされなかったDsc3抗体の特徴を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来、天疱瘡の研究は検出頻度の高い、Dsg3抗体について行われてきた。一方で、我々が示すようにDsc3抗体も一部の天疱瘡患者で検出され、病態に関与していることが考えられる。このようにDsc抗体に着目した通常とは異なるアプローチで研究を促進することは天疱瘡の病態解明、さらにはその他の自己免疫性疾患の病態解明にとって有益であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：This study was conducted to analyze the epitopes of anti-desmocollin (Dsc)3 in sera from the patients with pemphigus using Dsc3/desmoglein (Dsg)2 homologous recombinant proteins which are able to analyze antigen-antibody interactions on conformational epitopes. In results, the majority of anti-Dsc3 antibodies recognized extracellular (EC) 2 domain only when it constructed the conformational epitopes in the presence of calcium ions. Further experiments revealed that the Dsc3 antibodies recognized conformational EC2 domain exerted a reduction of Dsc3 expression on the cell surface of keratinocyte and an attenuation of adhesion of keratinocytes. This study revealed the characters of anti-Dsc3 antibodies in pemphigus patients.

研究分野：自己免疫性水疱症

キーワード：天疱瘡 腫瘍随伴性天疱瘡 デスマコリン 自己抗体

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

天疱瘡とは表皮細胞膜表面に対する自己抗体が血中に存在し、それが皮膚及び粘膜に結合することで水疱を主体とした症状を呈する自己免疫性疾患である。デスモグレイン(Dsg)がその自己抗体の代表的な抗原蛋白であり 1 - 4 のアイソフォームがある。Dsg1 および Dsg3 抗体が天疱瘡患者血中で検出されることが知られており、水疱形成におけるその病原性が *in vitro* や *in vivo* で示されている。デスモコリン(Dsc)は Dsg と同じくカドヘリンファミリーに属する膜貫通蛋白であり、1 - 3 のアイソフォームがある。Dsc1-3 抗体も天疱瘡患者血中で検出されることがあることは以前より報告されていた。Dsc3 の皮膚接着における重要性は Dsc3 ノックアウトマウスで表皮内水疱を形成する事で示されており、Dsc3 抗体がケラチノサイトの接着障害を起こすことが示されている。これらの研究結果から、Dsc1-3 の内、少なくとも Dsc3 が表皮の接着において必須の存在であること、そして Dsc3 抗体は表皮の接着を阻害することが示されている。申請者らはこれまでに、Dsc1-3 組み換え蛋白を用いた Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA)法を確立し、天疱瘡群、特に腫瘍随伴性類天疱瘡(PNP)において Dsc 抗体が検出される頻度が高いことを報告した。しかし、Dsc 抗体の特徴についての研究報告はなかった。

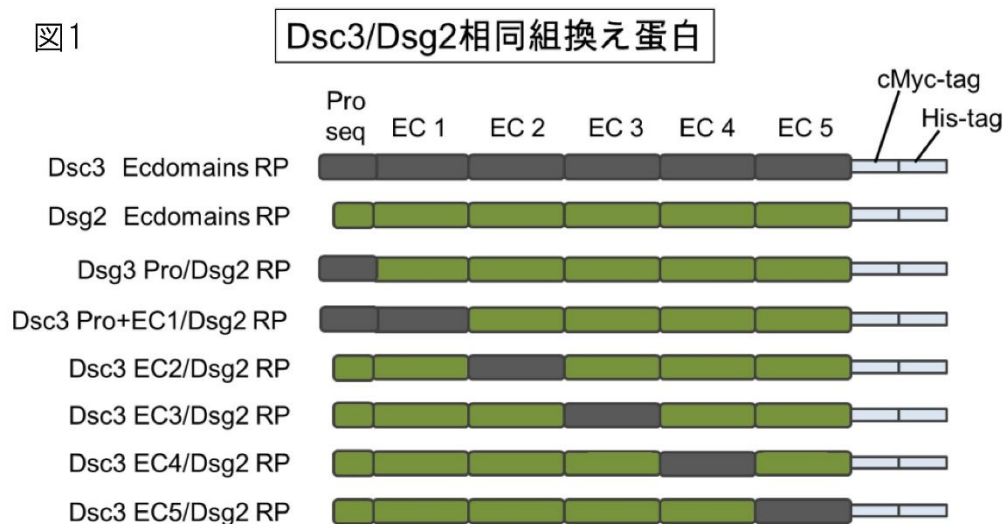
2. 研究の目的

Dsc3 抗体の特徴を調べるために、天疱瘡患者血中の Dsc3 抗体の認識部位を検出する。また部位による水疱形成能の違いについても検討を行う。

3. 研究の方法

抗体のエピトープ解析を行うために Dsc3/Dsg2 相同組み換え蛋白を作製した。天疱瘡患者血清は Dsg2 の細胞外ドメインには反応しないことを利用して、Dsg2 の細胞外ドメインの配列を骨組みとし、各ドメイン毎に Dsc3 の配列へ入れ替えた蛋白を作製し(図 1)、それらを用いて Native な立体構造を保った状態での Dsc3 各種ドメインに対する反応性を ELISA 法で検討した。

図1



次にカドヘリンファミリーは Ca イオン依存性に立体構造を形成するため、EDTA を用いて Ca イオンを除去した状態での反応性について検討した。最後に立体構造を認識する抗体とそうでない抗体に分けて、水疱形成能 (具体的には Dsc3 の発現量の変化、機械的刺激によるケラチノサイト間の裂隙形成)について、培養ケラチノサイトを用いて解析を行った。

4. 研究成果

Dsc3/Dsg2 相同組み換え蛋白を用いることで天疱瘡患者で検出される Dsc3 抗体の大部分は、EC2 ドメインの Ca イオン依存性の立体構造を認識していること、そしてその部位を認識する抗体が Dsc3 蛋白の減少や細胞接着能の低下を生じることを示した。天疱瘡で検出頻度の高い Dsg3 抗体でも EC2 ドメインに対する反応性は高い傾向は共通している一方で、Dsc3 抗体では他のドメインに反応することが稀である点が異なっていた。この研究結果は *J Invest Dermatol.* 2021 Sep; 141(9):2123-2131. に掲載された。

Dsc3 抗体における EC2 ドメインに偏った反応性は、自己蛋白に対する抗体産生という、疾患の根

幹となる病態解明の新たな糸口となる可能性がある。より詳細な検討を行うために Dsc3 抗体陽性の天疱瘡患者末梢血の Dsc3 特異的 B 細胞の不活化細胞の樹立を行う予定であったが、対象患者は希少であることから対象患者の受診がなかった。期間中に患者からの Dsc3 モノクローナル抗体作製は成しえなかったが、今後も対象患者からのサンプル回収を目指す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hiroshi Koga, Kwesi Teye, Yoshihiko Otsuji, Norito Ishii, Takashi Hashimoto, Takekuni Nakama	4. 巻 141
2. 論文標題 Autoantibodies to DSC3 in Pemphigus Exclusively Recognize Calcium-Dependent Epitope in Extracellular Domain 2	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Investigative Dermatology	6. 最初と最後の頁 2123 ~ 2131
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jid.2021.01.032	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Hiroshi Koga, Kwesi Teye, Norito Ishii, Takekuni Nakama
2. 発表標題 Pemphigus autoantibodies to desmocollin 3 exclusively recognize calcium-dependent epitope in extracellular domain 2
3. 学会等名 49th European Society for Dermatological Research Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔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
研究分担者	石井 文人 (ISHII Norito) (80330827)	久留米大学・医学部・准教授 (37104)	
研究分担者	TEYE KWESI (TEYE Kwesi) (30599303)	久留米大学・付置研究所・助教 (37104)	

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
---------	---------