

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 23 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：25461680

研究課題名(和文)3種の病態実験モデルを用いた水疱性類天疱瘡における抗BP230抗体の病原性の検討

研究課題名(英文)Clinical and immunological profiles of anti-BP230-type bullous pemphigoid

研究代表者

石井 文人 (ISHII, Norito)

久留米大学・医学部・准教授

研究者番号：80330827

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：近年の高齢化に伴い増加している高齢者に好発する水疱性類天疱瘡(bullous pemphigoid 以下BP)の細胞内接着板蛋白であるBP230に対する自己抗体に対するBP病変発症の研究を行った。抗BP230抗体単独陽性のBPの存在と、その病因エピトープが特異的にBP230のC末端領域に反応することが示唆された。抗BP230抗体の意義はエピトープスプレディングにより検出する機序を推察するが、抗BP180抗体を検出しない抗BP230抗体単独陽性のBPでは、それとは異なった機序を推察した。

研究成果の概要(英文)：Autoantibodies to BP180, but not BP230, are considered to be pathogenic in bullous pemphigoid (BP). To confirm the presence of BP patients reactive exclusively with BP230 and to study clinical and immunological characteristics in this condition, BP patients were divided into three groups; i.e., BP reactive only with BP230 (BP230-BP), BP reactive with both BP180 and BP230 (BP180-BP230-BP) and BP reactive only with BP180 (BP180-BP), by the results of standard ELISAs of BP180 and BP230. We propose a new disease entity, named anti-BP230-type BP, in which anti-BP230 antibodies might be pathogenic and react specifically with the BP230 C-terminal domain. While anti-BP230 antibodies in BP180-BP230-BP seem to be produced via intermolecular epitope spreading, anti-BP230 antibodies in BP230-BP are considered to be produced by different mechanisms.

研究分野：皮膚科学

キーワード：皮膚診断学 自己免疫性水疱症 水疱性類天疱瘡

## 1. 研究開始当初の背景

水疱性類天疱瘡 (bullous pemphigoid 以下 BP) は、高齢者に好発する最も頻度の高い自己免疫性水疱症であり、自己抗体の関与により、皮膚あるいは粘膜上皮の基底膜の接着に重要な分子 (ヘミデスモゾーム) の機能を阻害し接着障害をおこし水疱を生ずる疾患である。臨床的に痒みの強い緊満性水疱、組織学的に多数の好酸球を含む表皮下水疱を特徴とし、近年の高齢化に伴い急速に増加している。IgG 抗表皮基底膜部抗体を有し、BP の主要な自己抗原として 230kDa 水疱性類天疱瘡抗原 (BP230) と 180kDa 水疱性類天疱瘡抗原 (BP180) の 2 種の蛋白が知られており、いずれも表皮基底膜部の表皮と真皮の結合に重要な役割を担っているヘミデスモゾームに存在する。BP 患者血清の大半は BP180 の細胞外領域の最も細胞膜に近い領域である non-collagen (NC)16a に反応し、現在 BP180 が病態形成に重要な関わりをもつこととされている (Liu et al: J Clin Invest 1993, Nisie et al: Nature Med 2007)。一方、もうひとつの自己抗原である BP230 の関連は未だ不明である。また BP 病変発症における BP230 に対する自己抗体の役割と位置づけはいまだよくわかっていない。

## 2. 研究の目的

代表的自己免疫性水疱症である BP において、BP180 の NC16a 部位に対する抗体の病原性の研究は進んでいるが、もうひとつの標的抗原である BP230 蛋白に対する抗体の病原性は不明である。本研究では、患者 IgG 自己抗体および BP230 リコンビナント蛋白に対する抗体の検討により、抗 BP230 抗体の水疱性類天疱瘡に病態への関与を解明することを目的とする。さらに、抗 BP230 抗体と臨床症状との関連性を検討し、臨床的意義を検討し新たな治療へのアプローチの足がかりとする。

## 3. 研究の方法

当教室で経験した BP 患者症例と他施設から送付された BP 患者血清に対し、自己抗原抗体解析として蛍光抗体法 (抗体価測定)、ELISA 法 (BP180, BP230)、免疫プロット法 (表皮抽出液を用いた免疫プロット法、BP180NC16a リコンビナント蛋白を用いた免疫プロット法、BP180C 末部位リコンビナント蛋白を用いた免疫プロット法、BP230 C,N 末および中間側リコンビナント蛋白を用いた免疫プロット法など)、免疫電顕法を施行し、各症例で検出される自己抗体 (BP230 のみ、BP180 のみ、またはその両方の抗原を検出す

るかどうか) を特徴づけ、抗 BP180 抗体と抗 BP230 抗体の検出の有無により、3 つのグループに分類した (抗 BP230 抗体単独陽性群、抗 BP180 抗体と抗 BP230 抗体両方陽性群、抗 BP180 抗体単独陽性群)。これらグループ間で臨床学的特徴と抗原抗体反応の統計学的解析を行った。また新たに BP230-N, M, C 領域リコンビナント蛋白を用いた免疫プロット法と ELISA 法を作製した。

## 4. 研究成果

臨床学的特徴を解析し、《抗 BP230 抗体単独陽性群》では、他の 2 群と比較し有意に重症度は低く、治療の反応性もよかったことがわかり、《抗 BP230 抗体単独陽性群》は軽症の臨床傾向を示した。

さらに BP230 の N, M, C 領域に細分したりリコンビナント蛋白を用いた免疫プロット法ならびに ELISA 法を施行し、免疫学的解析を行った。その結果、《抗 BP180 抗体と抗 BP230 抗体両方陽性群》は BP230-N, M, C 領域すべてに反応するのに対し、《抗 BP230 抗体単独陽性群》は BP230-C 端側の領域に高率に反応する傾向を示した。

このことよりいわゆる抗 BP230 抗体単独陽性の BP は、BP230-C 領域に特異的に病因エピトープを有していることが示唆された。抗 BP180 抗体を検出する BP の抗 BP230 抗体の意義はエピトープスプレディングにより検出する機序を推察するが、抗 BP180 抗体を検出しな抗 BP230 抗体単独陽性の BP では、それとは異なった機序を推察する。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 14 件)

1. Hayakawa T, Teye K, Hachiya T, Uehara R, Hashiguchi M, Kawakami T, Li X, Tsuchisaka A, Ohara K, Sogame R, Koga H, Hamada T, Ohata C, Furumura M, Ishii N, Fukano H, Shimozato K, Hashimoto T: Clinical and immunological profiles of anti-BP230-type bullous pemphigoid: Restriction of epitopes to C-terminal domain of BP230 shown by novel ELISAs of BP230-domain specific recombinant proteins. Eur J Dermatol 26(2):155-63, 2016. (査読有) doi: 10.1684/ejd.2015.2719.
2. 新谷 貴子, 濱田 尚宏, 坂口 麻莉子, 猿田 寛, 井上 義彦, 上田 明弘, 石井 文人, 橋本 隆, 名嘉真 武国: 水疱性

- 類天疱瘡を合併したX連鎖性劣性魚鱗癬の1例.  
皮膚の科学.14: 12-16,2015. (査読有)
3. Tani N, Kimura Y, Koga H, Kawakami T, Ohata C, Ishii N, Hashimoto T: Clinical and immunological profiles of 25 patients with pemphigoid gestationis. *Br J Dermatol* 172(1):120-129, 2015. (査読有)  
doi: 10.1111/bjd.13374.
  4. Hirakawa Y, Oiso N, Ishii N, Koga H, Tatebayashi M, Uchida S, Matsuda H, Hashimoto T, Kawada A: Mucous Membrane Pemphigoid with Immunoglobulin G Autoantibodies to the 120-kDa Ectodomain of Type XVII Collagen (BP180/Linear IgA Dermatitis Antigen) in a Patient with Idiopathic Thrombocytopenic Purpura. *Acta Derm Venereol* 95(4):493-494, 2015. (査読有)  
doi: 10.2340/00015555-1964.
  5. Matsuda H, Oiso N, Ishii N, Sato M, Tatebayashi M, Hashimoto T, Kawada A: Bullous pemphigoid in infancy showing epitope-spreading phenomenon: recovery with topical therapy. *Acta Derm Venereol* 95(5):610-611, 2015. (査読有)  
doi: 10.2340/00015555-2026.
  6. Takayama N, Nakazono S, Kumagai J, Chiorean R, Sitaru C, Ishii N, Hashimoto T, Namiki T: Pemphigoid gestationis with IgG autoantibodies to both the 120 kDa LAD-1 and the BP180 NC16a domain. *Eur J Dermatol* 25(2):190-192, 2015. (査読有)  
doi: 10.1684/ejd.2014.2488.
  7. Morita R, Oiso N, Ishii N, Tatebayashi M, Matsuda H, Hashimoto T, Kawada A: A case of burn-associated bullous pemphigoid caused by anti-BP230 IgG autoantibodies. *J Dermatol* 42(6):657-658, 2015. (査読有)  
doi: 10.1111/1346-8138.12848.
  8. 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.
  9. Yamashita H, Ansai S, Ueno T, Kawana S, Koga H, Ishii N, Hashimoto T: Bullous pemphigoid with IgG autoantibodies to BP180 C-terminal domain and desmocollin 3 associated with transverse colon cancer. *Eur J Dermatol* 25(5):515-516, 2015. (査読有)  
doi: 10.1684/ejd.2015.2599.
  10. Tani N, Kimura Y, Koga H, Kawakami T, Ohata C, Ishii N, Hashimoto T. Clinical and immunological profiles of 25 patients with pemphigoid gestationis. *Br J Dermatol* 172:120-129, 2015. (査読有)  
doi: 10.1111/bjd.13374.
  11. Matsui K, Makino T, Takegami Y, Murayama S, Seki Y, Ishii N, Hashimoto T, Shimizu T: Bullous pemphigoid with IgG anti-LAD-1 antibodies. *Eur J Dermatol* 24(2):275-276, 2014. (査読有)  
doi: 10.1684/ejd.2014.2322.
  12. Sasai S, Nishikawa R, Ohzono A, Hayakawa T, Tsuruta D, Kudoh K, Kikuchi T, Hashiguchi M, Ohata C, Furumura M, Koga H, Ishii N, Hashimoto T: Characterization of two cases of bullous pemphigoid reactive only with BP230 on Japanese enzyme-linked immunosorbent assays. *Acta Derm Venereol* 94(6):734-736, 2014. (査読有)  
doi: 10.2340/00015555-1848.
  13. Uchida S, Oiso N, Koga H, Ishii N, Okahashi K, Matsuda H, Hashimoto T, Kawada A: Refractory bullous pemphigoid leaving numerous milia during recovery. *J Dermatol* 41(11):1003-1005, 2014. (査読有)  
doi: 10.1111/1346-8138.12650.

14. Qian H, Kusuhara M, Li X, Tsuruta D, Tsuchisaka A, Ishii N, Koga H, Hayakawa T, Ohara K, Karashima T, Ohyama B, Ohata C, Furumura M, Hashimoto T. B-cell activating factor detected on both naïve and memory B cells in bullous pemphigoid. Exp Dermatol 23:596-605, 2014. (査読有)  
doi: 10.1111/exd.12421.

〔学会発表〕(計1件)

1. 石井文人、古賀浩嗣、名嘉眞武国(久留米大) 橋本 隆(久留米大学皮膚細胞生物学研究所)。(ワークショップ)自己免疫性水疱症における抗原抗体解析の研究:検査の意義は?. 第67回日本皮膚科学会西部支部学会. 2015年10月17日. 長崎ブリックホール(長崎県・長崎市)

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

石井 文人(ISHII Norito)  
久留米大学・医学部皮膚科・准教授  
研究者番号: 80330827

### (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

濱田 尚宏(HAMADA Takahiro)  
久留米大学・医学部皮膚科・講師  
研究者番号: 40320204  
平成26年7月8日 削除

大山 文悟(OHYAMA Bungo)  
久留米大学・医学部皮膚科・講師  
研究者番号: 90461441  
平成26年7月8日 追加