

抄 録

第10回中国研究皮膚科セミナー

日時：平成26年10月11日（土）15：00～18：40

場所：岡山国際交流センター5階会議室（1）

共催：中国研究皮膚科セミナー
協和発酵キリン株式会社

情報提供

協和発酵キリン株式会社

研究発表1

座長 川崎医科大学 皮膚科学

講師 田中 了先生

1. 足底色素性病変の表皮基底面の形態観察

鳥取大学医学部感覚運動医学講座

皮膚病態学分野

○山田七子, 吉田雄一, 山元 修

足底の色素性母斑と悪性黒色腫について、切除病変の表皮基底面を走査型電子顕微鏡（走査電顕）で観察し、形態の比較を行った。切除後固定された試料を高温の6N NaOHで処理した後、定法に従い試料作成し走査電顕で観察した。ダーモスコピーでlattice-like patternを呈する色素性母斑病変では、transverse ridge, intermediate ridgeに相当する分岐した表皮突起上にnevus cellの胞巣が認められた。悪性黒色腫では、parallel ridge patternを示す部分では、intermediate ridge, transverse ridge, limiting ridgeの表皮突起が色素性母斑に比べて肥厚していたが、胞巣の基底面への露出はほとんど見られなかった。色素性母斑と悪性黒色腫における細胞の増殖パターンの違いを反映した所見である可能性が考えられた。

2. MALDI-TOF MS/MSによる血清プロテオーム解析と新規腫瘍マーカーの探索

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

皮膚科学分野

○梅村啓史

プロテオーム解析は、電気泳動や質量分析によって網羅的にタンパク質を比較解析する技術で、ポストゲノム時代の研究手法として登場した。これを疾患の病態解析やバイオマーカー探索に応用するのが疾患プロテオミクスである。MALDI-TOF MS/MSは堅牢さと汎用性の高さを特徴とする質量分析計で、これを用いて多数の血液・体液を解析することによって疾患バイオマーカーを探索することが可能となる。このMALDI-TOFペプチドプロファイリングによって多数のバイオマーカーが報告されてきたが、サンプル採取・保存条件のバイアスが誤った結果を導いているとする検証結果も報告されている。そこで本研究ではまず他施設間共同研究に適したサンプル採取・保存条件の確立を行った。続いて共同研究施設にそのサンプル採取・保存条件を配布し、同じ条件下でのサンプル採取と保存を行い、胃癌の術前・術後の血清および健常コントロールの血清を収集した。81例の胃癌患者の術前・術後の血清、また年齢と性別をマッチさせた66例の健常コントロールの血清をMALDI-TOF MS/MSで網羅的に解析したところ、2210Daのペプチドが胃癌の血清マーカーの候補として見出された。このペプチドをさらにMALDI-TOF MS/MSで解析したところ、高分子キニノーゲンの19アミノ酸残基からなる断片と同定された。このペプチドはStage Iの胃癌に対しても既存の腫瘍マーカーを上回る高い診断能を示し、有用なバイオマーカーと考えられた。

3. ダリエー病における自然免疫・サイトカイン発現からみた単純ヘルペスウイルス（HSV）易感染性の解析

川崎医科大学 皮膚科学

○山本剛伸, 木村徹子, 林 宏明, 藤本 亘

ダリエー病は常染色体優性遺伝を示す遺伝性角化

症の一つである。責任遺伝子は小胞体に分布するカルシウムポンプ (SERCA2) をコードするATP2A2である。ダリエー病は二次的に細菌やウイルス感染 (特にHSV感染症) をきたしやすい特徴をもつが、皮膚病変のみ認め、臓器障害を示さない理由、HSVに対して易感染性をきたすメカニズムは明らかではない。

ダリエー病の患者に、顔面のカボジ水痘様発疹症から汎発性HSV-1感染症、サイトカインストームによる全身性炎症反応症候群 (SIRS) に進展した症例を経験した。HSV-1は顔面の皮膚、上部消化管から検出され、その他、肝・腎機能障害、急性膵炎、副腎障害、DICを併発した。抗ウイルス剤などの治療によりこれらの症状は改善したが、逆にダリエー病の皮膚症状は増悪した。この症例をもとにダリエー病とHSV感染の関連性について解析した。

患者皮膚から樹立したHSV-1ウイルス株は、他HSV-1ウイルス株と比較して複製能に差はなく、強毒性ウイルスではなかった。汎発性HSV-1感染症発症時の血清サイトカインを測定したところ、Interferon (IFN)- α 、Interleukin (IL)-10、IL-6、IP-10、MCP-1、TNF- α が異常高値を示し、全身症状の改善とともに低下した。患者皮膚病変部のToll-like receptor 9 (TLR9) 発現量は、口唇ヘルペス、カボジ水痘様発疹症、性器ヘルペスよりも低く、特に病初期ほど低値を示した。

ヒトケラチノサイト (HaCaT) を用いた解析では、IL-6添加によりHSV-1複製能は亢進し、ATP2A2発現量は低下した。また、皮膚病変部ではATP2A2発現量が末梢血単核球 (PBMC) より低いことが判明した。

HSV感染の増悪、さらにダリエー病の悪化をきたした機序として、以下のように考察した。①ダリエー病ではHSV-1感染初期に十分なTLR9発現ができないため、自然免疫反応が十分に誘導されず、容易にHSVの増殖をきたす。②HSVの増殖後、病変部におけるTLR9発現が回復し、IL-6を中心としたサイトカインの産生が認められる。しかし、IL-6はさらにHSV-1増殖亢進をきたす。③IL-6誘導によりATP2A2発現量が低下するため、発現の低いケラチノサイトにおいてhaploinsufficiencyによりダリエー病の皮膚症状を増悪させる。

研究発表2

座長 川崎医科大学 皮膚科学

講師 山本剛伸 先生

4. 疱疹状天疱瘡様皮疹を呈しIgG抗デスモコリン3抗体単独陽性の非典型天疱瘡の1例

山口大学大学院医学系研究科 皮膚科学分野¹⁾、

山口赤十字病院 皮膚科²⁾、久留米大学³⁾

○中村好貴¹⁾、中村有希子¹⁾、武藤正彦¹⁾、

高旗博昭²⁾、Kwesi Teye³⁾、石井文人³⁾、

橋本 隆³⁾

デスモゾームの膜蛋白はデスモグレイン (Dsg) とデスモコリン (Dsc) の2種類があり、ともにカドヘリン分子群に属する。抗Dsc抗体は腫瘍随伴性天疱瘡、非典型天疱瘡で検出されているが、いずれも抗Dsc抗体のみではなく、Dsgやエンボプラキン、ペリプラキンなどに対する自己抗体も検出されており、抗Dsc抗体の病原性については明らかとなっていない。最近の研究から、Dsc3に対するIgG自己抗体がケラチノサイトの接着力を喪失させ、天疱瘡における水疱形成に寄与する可能性が示唆されている。

症例は57歳、男。初診1年程前より体幹、四肢に辺縁に小水疱を伴う環状の紅斑が出現。皮膚生検にて好酸球性海綿状態を認め、蛍光抗体直接法では表皮細胞膜にIgGの沈着、蛍光抗体間接法ではIgG抗表皮細胞膜抗体を認めたが、IgG抗Dsg1、Dsg3抗体のELISAは陰性であった。表皮抽出液を用いたIgG抗体の免疫プロット法では、BP230、BP180、Dsg3、Dsg1、エンボプラキン、ペリプラキンは全て陰性であった。哺乳細胞発現Dsc3のELISAが陽性であり、Dsc3リコンビナント蛋白吸着後の蛍光抗体間接法にて陽性反応が消失した。これらの結果より、IgG抗Dsc3抗体単独陽性の非典型天疱瘡と診断した。自験例では、IgG抗Dsc3抗体が病態形成に重要な役割を演じていることが示唆された。

5. ピキア酵母を用いて作製した組換え汗抗原の特徴

広島大学大学院医歯薬保健学研究院

統合健康科学部門 皮膚科学

○菅 崇暢, 石井 香, 平郡隆明, 平郡真記子,
秀 道広

汗はアトピー性皮膚炎 (AD) の悪化因子の1つであり, またAD患者の77%は, 自己汗に対するI型アレルギー反応を呈することが知られている。我々は昨年, ヒト汗中のヒスタミン遊離活性物質 (汗抗原) が *Malassezia globosa* 由来の分泌蛋白である MGL_1304 であることを報告した。大腸菌を用いて作製した汗抗原の組換え蛋白質 (TF-rMGL_1304) は, *Malassezia globosa* の培養上清から精製した native 蛋白 (sup-MGL_1304) より比活性が低く, また, 可溶性の問題から分子量の大きいシャペロン蛋白が必要である。一方, COS7 などの動物細胞を用いて作製した組換え汗抗原は, 比活性は高いがコストや収量の点で問題がある。より native 蛋白に近い組換え汗抗原を得るために, ピキア酵母による蛋白発現系を用いて MGL_1304 の組換え蛋白質 (P-rMGL_1304) を作製し, その特徴を検討した。AD 患者の好塩基球におけるヒスタミン遊離活性の検討では, P-rMGL_1304 は TF-rMGL_1304 よりも比活性が約100倍高く, sup-MGL_1304 と同等の比活性であった。ヒトの高親和性 IgE 受容体を細胞表面に発現するラット肥満細胞株である RBL-48 細胞を AD 患者血清で感作し, TF-rMGL_1304 で刺激したときの β ヘキソサミニダーゼ遊離率は sup-MGL_1304 より低く, P-rMGL_1304 刺激では sup-MGL_1304 刺激と同等の β ヘキソサミニダーゼ遊離を認めた。P-rMGL_1304 は native 抗原に匹敵する抗原性を有しており, なおかつ大量に作製することができるため, TF-rMGL_1304 より有用性が高いと考えられた。

6. セツキシマブによるアナフィラキシーショック：予知予防の取り組み

島根大学医学部 皮膚科¹⁾,

松江赤十字病院 耳鼻咽喉・頭頸部外科²⁾,

東京慈恵会医科大学 熱帯医学講座³⁾

○千貫祐子¹⁾, 伊藤和行²⁾, 石渡賢治³⁾,

高橋 仁¹⁾, 森田栄伸¹⁾

我々はこれまでに, 本邦における牛肉アレルギー患者の主要原因エピトープが米国における報告と同様に糖鎖 galactose- α -1, 3-galactose (α -gal) であること, これらの患者は豚などの哺乳類肉, カレイ魚卵, 抗悪性腫瘍薬のセツキシマブに交差反応を示すこと, さらに感作の要因がマダニ咬傷である可能性を報告してきた。特にセツキシマブは直接静脈内投与するために, これらの患者では重篤なアナフィラキシーを誘発する可能性があり, 啓発の必要性を訴えてきた。2013年, 松江赤十字病院にてセツキシマブを初回投与された13例中4例がアナフィラキシーショックを発症し, インフュージョンリアクションとして対処されていたことが判明した。患者血清を用いたウェスタンブロット法にて全例でセツキシマブ特異的IgEが検出され, CAP-FEIA法にて4例中3例で牛肉特異的IgEが, さらに全例でウシサイログロブリン特異的IgEが検出された。アナフィラキシーを生じていない9例も加えて各種検査法の感度と特異度を比較検討した結果, セツキシマブ特異的IgE検出 (ウェスタンブロット法), 牛肉特異的IgE検査 (CAP-FEIA法), ウシサイログロブリン特異的IgE検査 (CAP-FEIA法) の感度と特異度は, 各々100%と100%, 75%と88.9%, 100%と100%であり, セツキシマブによるアナフィラキシーの予知予防のための検査法としてはセツキシマブ特異的IgE検出 (ウェスタンブロット法) とウシサイログロブリン特異的IgE検査 (CAP-FEIA法) が優れていることが分かった。この結果を踏まえて, 現在我々はセツキシマブによるアナフィラキシーの予知予防に関する取り組みを進めており, その内容について報告する。

特別講演

座長 川崎医科大学 皮膚科学

教授 藤本 亘 先生

「インターロイキン-17産生炎症性Tヘルパー細胞の
機能と制御機構」

大阪大学 免疫学フロンティア研究センター

実験免疫学

特任准教授 廣田圭司 先生