

## 7) 天疱瘡・類天疱瘡の病因抗体価と理論的治療法：

### 2. 類天疱瘡においても BP180ELISA 値の消失無くして水疱は消失する

分担研究者：北 島 康 雄（岐阜大学医学部・皮膚科学教室）

共同研究者：和 泉 智 子（岐阜大学医学部・皮膚科学教室）

#### 要 約

落葉状天疱瘡、尋常性天疱瘡、類天疱瘡の病因自己抗体の抗原であるリコンビナントデスマグレイン (Dsg) 1,3 および BP180-NC16a 領域を用いた ELISA 法によって患者血清の病因抗体価を測定できるようになった。前報で内服ステロイド治療中の天疱瘡では、病因抗体価が消失する以前に水疱形成が無くなり、水疱再発時には抗体価が低くても水疱形成が著しいことを報告した。今回、類天疱瘡においても同様に比較検討したところ、紅斑が強い小水疱性類天疱瘡では病因抗体価が高くても DDS によって水疱形成が消失した。この反応は内服ステロイドより優れていた。通常の水疱性類天疱瘡においても内服ステロイドによる治療によって病因抗体値の消失無くして水疱は消失した。以上から、自己免疫性水疱症の治療は即効的対症療法と抗体消失を目標にした根本的治療に分類されそれぞれに対応した治療計画が必要であることが明示された。

#### は じ め に

天疱瘡および類天疱瘡は口腔粘膜および全身の皮膚に水疱とびらんを生ずる自己免疫性水疱症である。病理組織学的に前者は表皮顆粒細胞層付近の細胞間接着が障害される落葉状天疱瘡、基底細胞直上から中層の有棘細胞間接着が障害される尋常性天疱瘡があり、それぞれの自己抗体の標的抗原としてデスマゾーム構成分子のデスマグレイン (Dsg1: 分子量 160kDa)、Dsg3 (分子量 130kDa) が同定されている (総説)<sup>1~3)</sup>。一方後者は、基底細胞と基底膜の間で細胞基質間接着が阻害され表皮下水疱を形成し、自己抗体の標的抗原はヘミデスマゾーム構成分子の類天疱瘡抗原 2 (BP180 または BPAG2: 分子量 180kDa) である<sup>2)</sup>。最近 BP180-NC16a ドメインのエピトープを含む部分のリコンビナント蛋白を用いた ELISA が開発されたので<sup>4~6)</sup>、これを用いて病勢の経過を詳細に観察し治療法の改良、開発を試みた。ここでは、前報では天疱瘡について研究した<sup>7)</sup>ので類天疱瘡の症例解析を同様に行った。

今回は類天疱瘡患者 5 例において治療法と抗体価の減少、および臨床症状の軽減 (新生水疱の消失、びらんの消失) の関連性を検討したところ、治療薬によっては抗体価減少前に水疱が消失する例と抗体価と比例する例が見られた。

#### 方 法 と 材 料

##### 症例

類天疱瘡患者 5 例 (水疱性類天疱瘡 3 例、小水疱性類天疱瘡 2 例) について、経過を ELISA 法で抗 BP180 抗体を測定しながら経過を観察した (表 1)。

##### ELISA に関する方法

BP180-ELISA kit (MBL, Nagoya, Japan) を用いた。

組み換え BP180-NC16a ドメインを固相化したマイクロカップに目的に応じて反応用緩衝液で

希釈した血清を添加し、室温で一時間静置反応させた。洗浄液（0.13%Tween20 を含むリン酸緩衝液 pH7.3）で洗浄後、二次抗体（Peroxidase conjugated anti-human IgG monoclonal antibody）を添加し、室温で一時間静置反応させた。再び洗浄後、酵素基質液（A液（Tetramethylbenzidine）とB液（Hydrogen Peroxide）を等量ずつ混合）を添加し、室温で30分静置反応させた。反応停止液（2N Sulfuric Acid）を添加後、直ちに自動分光光度計（Multisca MS）を用い、波長 450nm（副波長 620nm）で吸光度を測定した。測定値を基に、次式よりインデックス値を算出した。

$$\text{Index Value} = (\text{A}_{450} \text{ Sample} - \text{A}_{450} \text{ Negative Control}) / (\text{A}_{450} \text{ Positive Control} - \text{A}_{450} \text{ Negative Control}) \times 100$$

## 結果と考察

### 1. 典型的水疱性類天疱瘡の例

経過観察した3例共に基本的には同様な経過であったので、1例のみ詳細に記載する。症例1は79才女性で、初診の2週間前から水疱びらんが生じてきたので来科した典型的な水疱性類天疱瘡の患者である。臨床所見（図1）、病理所見、蛍光抗体直説法、免疫ブロット所見から水疱性類天疱瘡と診断した。

入院後直ちにプレドニン<sup>®</sup> 40mg/日内服療法を開始したところ、水疱の新生は数日で見られなくなったので、1週間後にプレドニン<sup>®</sup>は30mg/日内服に減量した。さらに、びらんも2週間以内に消失したので、その2週間後に25mg/日に減量した。この間、注目すべき点は治療開始前のBP180-ELISA値は89.8であったが、水疱新生もびらんも消失した2週間後でもその値は63.3であり、正常値より遙に高値であった。

従来一般的に水疱新生が数日で見られなくなることから自己抗体の存在下でも臨床症状はステロイドの効果によって治癒状態になることが推察されていたが、このことがBP180-ELISA値の測定による経過観察から明示されたと言える。

類天疱瘡の水疱形成機序は二つの可能性が推察されている。ひとつは、自己抗体が真皮表皮境界ヘミデスモソームのBP180に結合し、そこで補体の活性化、炎症細胞の遊走、炎症性蛋白分解酵素による表皮真皮境界接着構造の消化による水疱形成であり、もう一つはヘミデスモソームに組み込まれる前に基底細胞表面全体に遊離状態でプールされているBP180分子に自己抗体が結合して細胞内に取り込まれ（エンドサイトーシス）、結果として生じたヘミデスモソームの形成不全による水疱形成である。ステロイドの作用点は炎症が強ければ、この炎症反応を抑制することにあると推察されるが、炎症が少ない例では基底細胞のBP180抗体に対する基底細胞の水疱形成に至る感受性（たとえばエンドサイトーシスなど）の抑制にあるかも知れない。

また、プレドニン<sup>®</sup> 30mg/日以上では免疫グロブリン、BP180-ELISA値の減少が見られたが、20mg/日以下ではほとんど見られていない。

他の2例でも同様な結果が得られた。

### 2. 炎症の強い小水疱性類天疱瘡の例

二例共に典型的な症例で同様な経過を追ったので1例を詳細に記載する。症例は78才男性で、臨床所見、病理所見、蛍光抗体直説法、免疫ブロットの結果から小水疱性類天疱瘡と診断した患者である。慢性関節リュウマチのため数年来プレドニン<sup>®</sup> 2.5mg/日内服中であった。初診の1

～2カ月前から体幹に痒みの強い紅斑局面とその上に小水疱が環状あるいは集簇して生じることに気づいていたが、多発してきたため来科した。

炎症も強く、水疱形成も著しかったのでプレドニン® 50mg/日の内服を開始し2週間経過を見たが水疱の新生は続いた。そこでレクチゾール® (DDS) 50mg/日を追加したところ数日後に新生水疱が見られなくなった。2週間後にはびらんも消失したためにプレドニン® 45mg/日に減量した。その後は新生水疱も見られなかったので1～2週間ごとに5mg/日～2.5mg/日を減少し、数ヶ月後に17.5mg/日の維持量にした。

この症例で注目すべき点はプレドニン® 50mg/日の投与量で2週間の治療でも炎症も水疱形成も抑えられなかったが、DSS (50mg/日) 数日の投与で抑制されたことである。さらに、病因抗体価がBP180-ELISA 値でこの間 134.1、140.9、134.2 と全く変化が無いにも関わらず、臨床症状が消失したことである。このことは、水疱形成の抑制には炎症の抑制、特に抗体価が高いときはステロイドより DDS がより効果的であることを示している。抗体価の減少はステロイドの内服によって2か月後にはBP180-ELISA 値で42.7まで減少した。このことは、類天疱瘡の治療は急性期対症的治療と長期的展望の抗体価減少治療との違った二つの観点に分けられることを、データとして示している。このことから、急性期はDDSで抑制し、抗体価の減少は免疫抑制剤（イムラン®、プレディニン®など）あるいは血漿交換療法によって、ステロイド使用しなくても良いかも知れない。

## ま と め

今回の臨床研究結果によって、一般的に水疱新生が数日で見られなくなることから自己抗体の存在下でも臨床症状はステロイドの効果によって治癒状態になることが推察されていたが、このことがBP180-ELISA 値の測定によってデータとして明示された。従って、類天疱瘡の治療には、急性期に自己抗体結合後水疱形成に至る過程を遮断し、臨床症状をいかに抑制するかという初期の治療と、病因抗体価を抑制するという長期的治療に分けられると結論づけられた。ステロイド内服療法の抗体産生抑制作用がプレドニゾン換算で30mg/日以上では上記両者の作用はあるが、それ以下の投与量に減量した時点でも抗体価が高いときは免疫抑制剤の追加が効果的治療法であると推察される。

## 参考文献

- 1) Kitajima, Y., Aoyama, Y., Seishima, M.: Transmembrane signaling for adhesive regulation of desmosomes and hemidesmosomes, and for cell-cell detachment induced by pemphigus IgG in cultured keratinocytes: Involvement of protein kinase C. JID Symposium Proceedings, 4: 137-144, 1999
- 2) Kitajima, Y.: Adhesion molecules in the pathophysiology of bullous disease. Eur. J. Dermatol., 6: 399-405, 1996.
- 3) 北島康雄:細胞骨格と細胞接着の構造・機能とその異常としての皮膚疾患。分子医科学シリーズ2、細胞:構造と機能、月田承一郎編、メディカルビュー社、東京、1995、p.89-116。
- 4) Zillikens D, Mascaro JM, Rose PA et al. A highly sensitive enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of circulating anti-BP180 autoantibodies in patients with bullous pemphigoid. J Invest Dermatol 109: 679-683. 1997.
- 5) Nakatani C, Muramatsu T, Shirai T. Immunoreactivity of bullous pemphigoid autoantibodies against

the NC16a and C-terminal domains of the 180kDa BP antigen (BP180): immunoblot analysis and enzyme-linked immunosorbent assay using BP180 recombinant proteins. *Br J Dermatol* 139: 365-370. 1998,

- 6) Enno Schmidt, Obe K, Brocker E-B, Zillikens D. Serum levels autoantibodies to BP180 correlated with disease activity in patients with bullous pemphigoid. *Arch Dermatol* 136: 174-179. 2000.
- 7) 北島康雄、江崎智香子。天疱瘡・類天疱瘡の病因抗体価と理論的治療法：1. 天疱瘡において Dsg1, 3-ELISA 値の消失無くして水疱は消失する。厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）稀少難治性皮膚疾患に関する研究分担研究報告書（本号）。

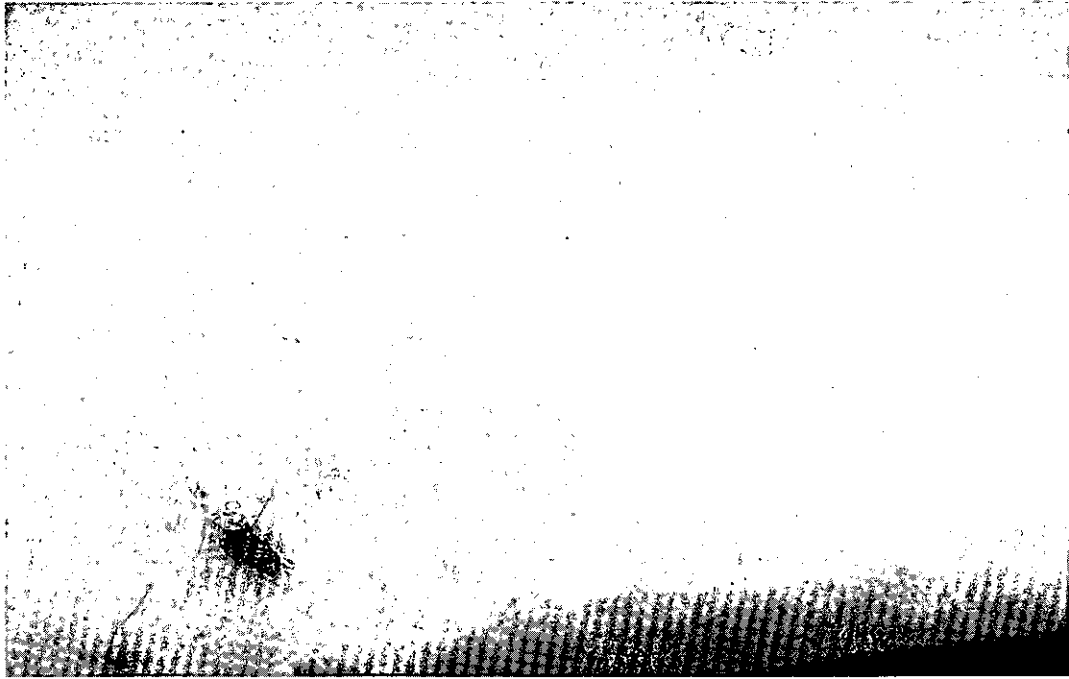


図 1

症例 1 の典型的な水疱性類天疱瘡の臨床。この症例では水疱部皮膚に紅斑はほとんど見られない。

BP180 ELISAと臨床経過

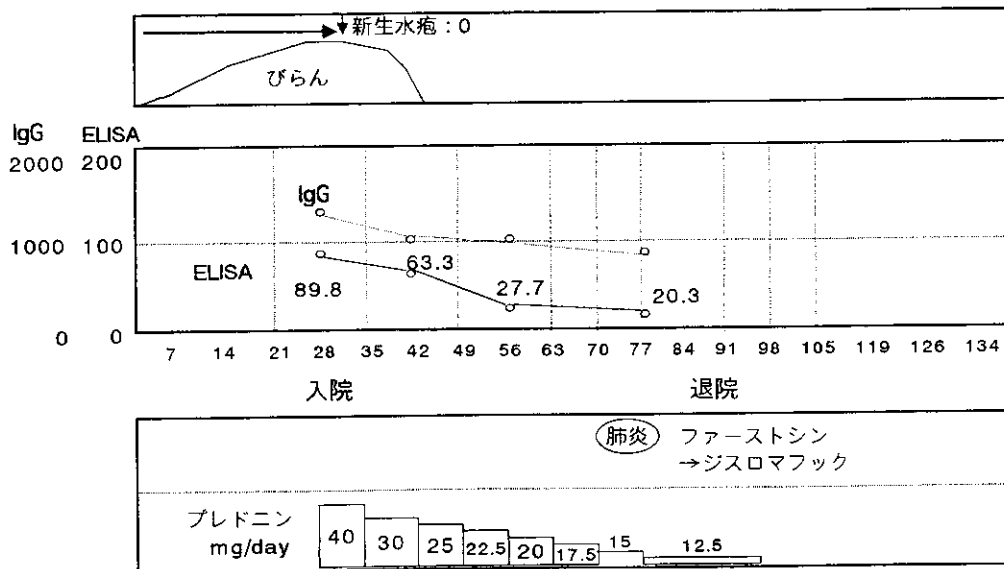


図 2

症例 1 (図 1) の BP180-ELISA 値と臨床経過図。

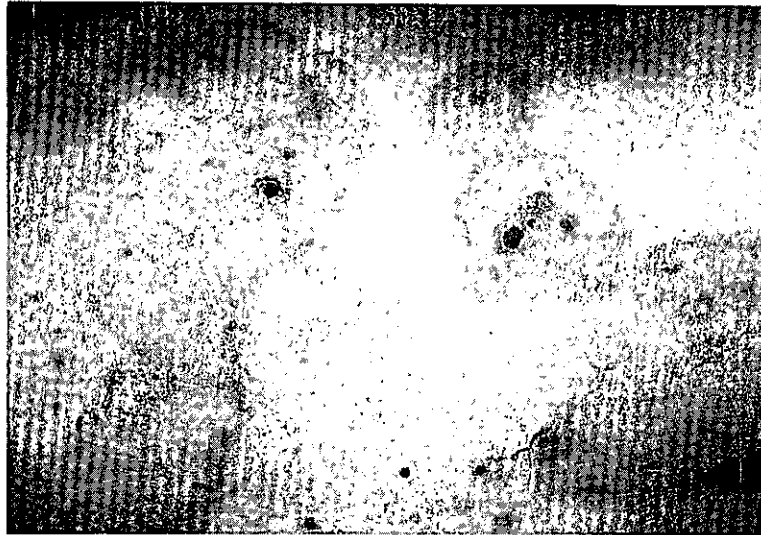


図 3

症例 4 の典型的な小水疱性類天疱瘡の臨床。この症例では紅斑の周辺に小水疱が環状に並ぶ。紅斑の中央部にも時に小水疱の集簇が見られる。

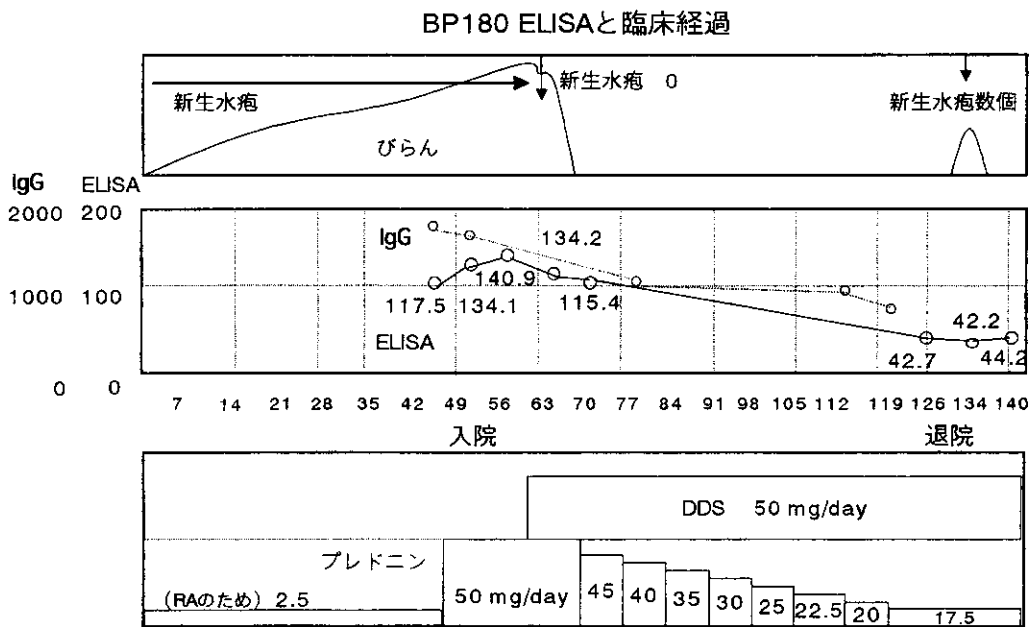


図 4

症例 4 (図 3) の BP180-ELISA 値と臨床経過図。

## 8) 天疱瘡・類天疱瘡患者 PBMC における glucocorticoid receptor $\beta$ の発現

協力研究者：藤 本 亘（岡山大学医学部皮膚科）  
共同研究者：岩 月 啓 氏、秋 山 尚 範、藤 井 一 恭  
（岡山大学医学部皮膚科）

### 要 約

グルココルチコイド受容体  $\beta$  はグルココルチコイド受容体  $\alpha$  の働きを dominant-negative に抑制するとされ、その発現はステロイド抵抗性に関わることが報告されている。今回、細菌感染がグルココルチコイド受容体  $\beta$  の発現やステロイド抵抗性と関連性があるかを明らかにするため、広範なびらんを呈し MRSA 感染症を併発した重症の天疱瘡・類天疱瘡患者の末梢血液単核球 PBMC におけるグルココルチコイド受容体  $\beta$  の発現陽性細胞を測定した。その結果、天疱瘡・類天疱瘡患者では enterotoxin などの細菌性スーパー抗原が PBMC に GR  $\beta$  を発現させ、それがステロイド抵抗性を誘導している可能性は示唆されなかった。

### はじめに

グルココルチコイド受容体 (glucocorticoid receptor: GR) はステロイド受容体スーパーファミリーのひとつであり、ヒトにおいてすべての有核細胞に発現しているリガンド依存性転写因子である。その代表的リガンドであるステロイド薬 (グルココルチコイド) は各種自己免疫疾患、アレルギー疾患など多くの難治性疾患の治療薬として広く使用されている。GR 遺伝子は 10 個のエクソンからなり、エクソン 9 のスプライシングの違いにより  $\alpha$  と  $\beta$  の 2 種類の GR が生ずる。通常 GR という場合には GR  $\alpha$  をさしており、それに対し GR  $\beta$  はリガンド結合能を欠き、グルココルチコイド不応答性 (GC insensitivity) は疾患の致命的進行に関連するため治療上重要な問題である。近年、GC 不応答性喘息や GC 抵抗性潰瘍性大腸炎などの患者では末梢血液単核球 (PBMC) の GR  $\beta$  の発現が亢進していることが報告され、GR  $\beta$  の過剰発現が GC 抵抗性に関連する可能性が示唆されている<sup>2) 3)</sup>。天疱瘡・類天疱瘡は皮膚をターゲットとする自己免疫性疾患であり、天疱瘡については重症度に応じたステロイド薬による治療のガイドラインが作成されている<sup>4)</sup>。また、近年、血漿交換による治療法も検討され、重症例の予後は著しく改善したといえる。しかし、ステロイド薬が治療の基本であることには変わりがなく、実地診療においてはステロイド薬による治療に抵抗する例にしばしば遭遇する。治療を難治化させる要因の第一は病勢、すなわち抗体価が高値であることと考えられるが、そのほかに、感染症など合併症の存在が挙げられよう。今回、私どもはステロイド治療に抵抗して広範なびらんを呈し、皮膚 MRSA 感染を伴った重症の天疱瘡・類天疱瘡患者において PBMC の GR  $\beta$  陽性細胞を調べ、ステロイド治療抵抗性との関連について検討した。

### 方法・症例・結果

#### 方 法

1) PBMC における glucocorticoid receptor  $\beta$  (GR  $\beta$ ) 陽性細胞の算定

患者末梢血液を EDTA 加試験管に 4 cc 採血し、Ficoll-Paque™ PLUS を用いて末梢血単核球 (PBMC) を分離したのち、PBS にて細胞数を  $5 \times 10^6 / \text{ml}$  に希釈し、Cytospin にてスライドグラスに細胞を塗床。4 % paraformaldehyde / 0.1M PB にて 10 分間固定、PBS にて洗浄し、風乾後、4 °C で保存。酵素抗体法：細胞塗抹スライドグラスを PBS で洗浄後、10% milk / 10% goat serum / PBS にて 4 °C, overnight blocking したのち 500~1000 倍希釈ポリクロナール抗 GR $\beta$  抗体にて 4 °C, overnight incubation。そののち PBS 洗浄し、ヒストファインシンプルスステイン PO (multi) で incubate し、AEC で発色させ、ヘマトキシンで核染色した。細胞を 1000 個カウントし、全細胞に対する GR $\beta$  発現陽性細胞の比率を算出した。対照として、外来で経過観察中の細菌感染を伴わない天疱瘡・類天疱瘡患者、乾癬患者の PBMC を用い、同様に GR $\beta$  発現細胞を算定した。

## 2) 細菌学的検討

半定量的菌量測定はスタンプ法を用いておこない、菌数が 1000cfu / 10cm<sup>2</sup> 以上のものは「菌密生」とした。分離した菌株の enterotoxin (SE)、toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) の毒素産生性は既報の方法で測定した<sup>5)</sup>。

## 症 例

症例 1：51 歳、男性。診断：尋常性天疱瘡

現病歴：1996 年 3 月、前胸部に紅斑・びらんが出現し、次第に背部、頭部、顔面、陰部に拡大し、口腔粘膜にもびらんが出現。7 月、生検組織像で基底細胞上の棘融解による表皮内水疱、DIF で表皮細胞間に IgG, C3 が沈着。IIF にて抗 IC 抗体が 80 倍陽性。入院時検査：血小板 10.5 万 /  $\mu\text{l}$  のほか末梢血液、肝機能に異常なし。経過：プレドニン 45mg / 日内服により治療を開始したところ、びらん部の上皮化がすすみ、プレドニンを漸減し、16 週後、プレドニン 17.5mg / 日として退院。1998 年にはプレドニンを 12.5mg / 日まで減量できたが 1999 年 10 月から口腔内にびらんが出現。プレドニンの増量、リンデロンへの変更、メチルプレドニソロンのパルス療法 (250mg  $\times$  2、500mg  $\times$  2) にて軽快するも後頭部、腋窩、下腹部の難治性びらんが続き、1999 年 10 月、2 回目の入院をおこないメチルプレドニソロンのパルス療法 (1g  $\times$  3 日、2 クール) を行ったがびらん部の乾燥は進まず、小水疱もみられた。退院後、リンデロン 1.5mg / 日で維持していたが 10 月頃から、背部、肩、上肢に弛緩性水疱が目立つようになり、11 月より下肢の筋力低下により外傷をおこし、その部が難治性びらんを形成するようになったため 12 月 8 日、入院 (3 回目)。入院時、腰臀部、前胸部、腋窩周囲、膝、大腿、鼠径部、後頭部と広範に半手掌大までの弛緩性水疱が散在融合し、破れてびらんとなり、黄褐色の痂皮が付着し、悪臭を伴っており、口腔内にもびらんを認めた。またレ線にて腰椎の圧迫骨折を認めた。リンデロン 1.5mg / 日の増量はおこなわず、二重膜ろ過血漿交換療法を 6 回施行したがびらんはさらに拡大し、入院第 11 病日、びらん部の細菌培養にて MRSA が検出されたため、血漿交換は中止した。入院 20 日目よりシクロフォスファミド 800mg のパルス療法、プレドニン 30mg / 日内服、FOM, AMK, SBT / ABPC による治療を開始し、さらに熱傷ベッドに移動したところ、びらん面の拡大傾向はやみ、びらん面の乾燥・上皮化が徐々に進み始めた。しかし、びらん部の MRSA は常に検出されるため 3 % 酢酸ワセリンの外用を開始した。その後、シクロフォスファミド 800mg のパルス療法とメチルプレドニソロンのパルス療法 (1g  $\times$  3 日、2 クール) を追加したところ、びらんの乾燥・上皮化が進み、約 5 カ月後退院した。1999 年 8 月から 2000 年 4 月までの血清中



抗デスモグレイン抗体価は Dsg3 index が最高 404.1 (16 倍=1370)、Dsg1 index が最高 195.4 であった。

症例 2 : 53 歳、男性。診断：水疱性類天疱瘡

現病歴：1998 年 2 月、四肢に母指頭大までの水疱が出現するとともに浮腫を認めるようになった。水疱は次第に増大し、掻痒、紅斑を伴うようになり、3 月末、当科外来を受診。水疱性類天疱瘡の診断のもとにミノマイシン 200mg/日内服による治療を行ったが軽快せず、4 月、当科へ入院した。入院時検査：白血球 15700/ml、T.P.5.09 g/dl、生検組織像は表皮下水疱で、DIF にて IgG、C3 が基底膜部に線状に沈着。1 M NaCl 剥離正常皮膚を基質とした IIF で表皮側に結合する抗基底膜抗体 2560 倍陽性。ケラチノサイト抽出タンパクを用いたイノムブロット：血清中の自己抗体は 180kDa (BPAG2) と反応したが 230kDa (BPAG1) とは反応せず。

入院時、頭部、顔面、躯幹、四肢とほぼ全身に紅色から紫紅色のびまん性紅斑がみられ、径 1 ~ 1.5cm 大の緊満性水疱を伴っていた。びらんや痂皮を付す病変も混在していた。口腔粘膜にもびらんを認めた。治療と経過：入院後、プレドニン 30mg/日の内服を開始したが全身に紅斑・水疱、浮腫がみられるためメチルプレドニソロン 1 g × 3 日、のパルス療法を開始。入院 2 週目にびらん部の細菌培養で MRSA を検出。メチルプレドニソロン・パルス療法を 2 クール追加したが、水疱の新生が続き、びらん面乾燥化が進まず、プレドニン 30mg/日の内服に、5 月、6 月とシクロフォスファミド 750mg のパルス療法 2 クールとメチルプレドニソロン・パルス療法 1 クールを追加した。6 月末にも新生水疱の数が減少しないためプレドニンをリンデロン 3 mg/日に変更。しかし、7 月になって全身に紅斑を伴い水疱新生が増強したため、再びメチルプレドニソロン・パルス療法を 1 クールおよびエンドキサン P 100mg/日連日内服を追加。8 月末にもなお水疱新生が続き、びらん部の細菌培養では MRSA 陽性が続くため、9 月 16 日、それまで行っていたびらん部へのワセリンガーゼの貼付をやめ、熱傷ベッドに移動し、3%酢酸ワセリンの外用を開始した。9 月 16 日に施行した右および左前腕びらん部のスタンプ培養では菌が厚く堆積・密生していたが、12 日後の 10 月 1 日に施行したスタンプ培養の結果、コロニー数は右前腕で 10 コ/cm<sup>2</sup>、左前腕で 5 コ/cm<sup>2</sup>と著しく減少していた。9 月 19 日に培養した MRSA はコアグラゼ V 型であり、staphylococcal enterotoxin (SE) B 産生株であった。その後も小水疱の新生は続いたが、掻痒が減少すると共に搔破による水疱・びらんは減少し、徐々にびらんの乾燥・上皮化が認められるようになった。以後、リンデロンの内服量を漸減し、入院 9 カ月後、リンデロン 1.25mg/日の維持量で退院した。経過中、38℃以上の発熱をみることもあり、FOM+SBT/ABPC の点滴を行った。

症例 3 : 60 歳、女性。診断：落葉状天疱瘡

現病歴：1999 年 9 月、鼻背に紅斑、びらんが出現し、次第に体幹、上肢へも出現してきた。2000 年 1 月、某内科へ入院し、プレドニン 60mg/日内服による治療を開始し、一時軽快したが腰痛、十二指腸潰瘍が出現し内服を中止。以後、ステロイド剤の内服を拒否し民間療法を行っていたが 2001 年 7 月、びらんが全身に拡大。某皮膚科にてミノマイシン内服を続けるも軽快せず、10 月 15 日、当科を紹介され受診し入院した。入院時、全身に小葉状の鱗屑を付着する浅いびらん面を多数認め、全身を覆っていたガーゼは滲出液で重く湿潤していた。T.P.5.98 g/dl、RBC365 万/ $\mu$ l。生検組織像は顆粒層における棘融解による表皮内水疱で、DIF にて表皮細胞間に IgG、

C3が沈着。IIFでは抗IC抗体が160倍まで陽性。10月15日に施行した顔面、背部、胸部からのスタンプ培養ではいずれも菌が密生しておりMRSAが同定された。この菌はコアグラゼⅢ型で、SE(-)、TSS(-)であった。

治療と経過：ステロイド剤による治療が必要であることを説明し、インフォームドコンセントを得たのち、プレドニン40mg/日内服により治療を開始した。処置はシャワー浴後、3%酢酸ワセリン外用とした。全身のびらんは次第に乾燥・上皮化し、11月15日にはプレドニンを30mg/日に減量。前胸部の小びらんが難治であったがプレドニンをリンデロン3mg/日に変更したのち、上皮化がみられ12月29日、リンデロン2mg/日として退院した。Dsg1 index値は219.2(10/15)、208.3(11/20)であった。

症例4：49歳、女性。診断：落葉状天疱瘡

現病歴：1998年7月頃、左外眼角部にびらん、10月には胸部に弛緩性水疱が出現。1999年4月30日、当科を紹介され入院。第一回目入院('99.4/30~7/30)：ステロイド内服、外用、血漿交換(4回)にて軽快、退院。退院後、リンデロン1.25mg~3.0mg/日、イムラン2T/日で維持していたが再燃し、9月14日に再入院。第二回目入院('99.9/14~9/28)：血漿交換を2回施行するも敗血症を発症して中止。第三回目入院('00.5/25~7/28)：3日連続で血漿交換を2クール行うも軽快せず、6月27日にシクロフォスファミド500mgのパルス療法を施行し、その後びらんは乾燥上皮化し、リンデロンを1.75mg/日として退院。その後、外来で増悪することがあり、短期入院のうえシクロフォスファミド750mgのパルス療法を3回行った。2001年5月30日退院後、リンデロン1mg/日で維持していたが悪化し、同2mg/日に増量するも軽快しないため、8月27日よりDDS75mg/日の内服を開始した。皮膚症状は改善したが10月17日、38.6℃の発熱が出現。10月18日肝酵素の上昇を認め、DDSによるhypersensitivity syndromeが疑われたためDDSを中止し、ただちに入院した。入院時、CRP 8.1mg/dl、T.Bil 2.82mg/dl、D.Bil 1.60mg/dl、AST 115IU/l、ALT 478IU/l、LAP 194IU/l、g-GTP 467IU/l、LDH 1182IU/l。リンデロン4mg/日内服により治療を始めたが顔面の浮腫は増強し、頸部・体幹のびらん部に膿疱を混ざるようになった。膿疱の細菌培養は陰性。入院10日目までにAST正常化、ALT 115IU/lまで改善したがその後再び肝機能の悪化、好酸球増多(~20%)、膿疱・びらんの新生が続いた。入院4週後、11月12日、前胸部、背部からのスタンプ培養にて菌が厚く密生、分離菌をMSSAと同定。11月14日からメチルプレドニロン1gによるパルス療法を3日間施行。しかし胸部・上腕などの表皮剥離が増強し、瘙痒を伴う紅斑が持続。11月18日、びらん部細菌培養にてMRSAを検出したため11月20日よりABK 200mg、FOM 2g、SBT/ABPC 3gを投与し、シャワー浴後、3%酢酸ワセリン外用処置とした。11月19日の分離したMRSAはSEC、TSST-1産生株であり、11月26日に分離したMRSAはSEC産生株であった。体幹、四肢の紅斑・びらんは出没を繰り返すため、11月30日からリンデロン6mg/日に増量。その後、びらん部は徐々に乾燥・上皮化し、紅斑も消褪してきたため、リンデロンを漸減することができリンデロン2.5mg/日で2月4日、退院した。入院中の精査では、胸腺腫を含め悪性腫瘍は発見されなかった。Dsg1 index値は85.1(10/22)、128.6(10/24)、184.1(11/26)、205.3(12/6)と推移した。

## 結 果

### 1) 重症例の GRβ陽性細胞 (表1)

重症の天疱瘡・類天疱瘡患者4例のうち2例においてPBMCにおけるGRβの発現が18~20%と亢進していたが、他の2例ではGRβ発現細胞は正常人と比較して特に増加してはなかった(表1)。GRβの発現が亢進していた2例はステロイドパルス療法のみでは寛解に至らずシクロフォスファミドパルス療法を加えて寛解に至った「難治例」といえるが、GRβの発現が亢進していなかった2例はステロイド全身療法・プレドニン換算40~60mg/日にて寛解をうることができ重症であったが臨床的に「ステロイド抵抗性」とは考えられなかった。全例でMRSA感染を併発しており、そのうち3例で毒素産生能を調べた。症例2ではSEB産生株、症例4ではSEC産生株であったが症例3の株は毒素産生性ではなかった。

表1

Patient No./Sex/Age	Diag-nosis	Isolated Bacteria	Toxin	PBMC GRβ <sup>+</sup> Cell
1/M/51	PV	MRSA(12//99)	n.d.	20.6%(5/23/01)
2/M/53	BP	MRSA(1/14/99)	SEB(+)	18.0%(10/18/01)
3/F/60	PF	MRSA(10/15/01)	SE(-),TSST-1(-)	3.0%(10/15/01)
		MRSA(12/5/01)	n.d.	6.3%(12/4/01)
4/F/49	PF	MRSA(11/7/01)	SE(-),TSST-1(-)	7.1%(11/9/01)
		MRSA(11/19/01)	SEC(+),TSST-1(-)	1.9%(12/4/01)

### 2) 軽症例 (外来通院患者) の GRβ陽性細胞 (図2)

少量のステロイド剤内服(プレドニン換算1mgから20mg/日)により寛解を得ている外来通院中の尋常性天疱瘡(PV)、落葉状天疱瘡(PF)患者、ならびに尋常性乾癬(PSO)患者のGRβ発現細胞の比率はTable2にみられるように0.6~58%と著しいばらつきを示した。

図2

Disease	GRβ <sup>+</sup> cells	Disease	GRβ <sup>+</sup> cells
PV-1	2.1%	PF-1	3.0%
PV-2	0.6%	PF-1	3.0%
PV-3	58.0%	BP-1	24%
PV-4	35.0%	BP-2	6%
PV-5	2.2%	PSO-1	25%
PV-6	9.7%	PSO-2	6.1%
PV-7	2.4%	PSO-3	4.4%

## 考 察

ステロイド療法をおこなう皮膚疾患は多数存在するが、これまで皮膚科領域において glucocorticoid receptor  $\beta$  (GR $\beta$ ) に関する検討は全くおこなわれていない。天疱瘡・類天疱瘡は皮膚科領域における代表的な自己免疫性疾患であり治療の第一選択はステロイド剤の全身投与である。しかしながら、大量のステロイド全身療法にとっても寛解導入が困難な例が存在し、そのような例に対しては血漿交換や免疫グロブリン大量投与などの治療法が併用されている。これら「難治例」の多くは自己抗体産生能が高い個体であろう、ということが天疱瘡・類天疱瘡の発症機序から容易に推測される。一方、ステロイド剤に対する反応性の側からみれば、ステロイド全身療法・プレドニン換算 30mg/day 程度の初回投与量で寛解に至らず何らかの併用療法を必要とするステロイド抵抗性の症例が「難治例」といえる。今回、ステロイド抵抗性の一端をになうといわれている GR $\beta$  の PBMC における発現を調べたところ、重症でかつ臨床的にステロイド大量投与のみでは寛解に至らなかった天疱瘡・類天疱瘡患者では 2 例において PBMC の 18~20% に GR $\beta$  の発現を認めたが、ステロイド剤・プレドニン換算 40~60mg/日のみで寛解を得た 2 例では GR $\beta$  発現細胞は正常人と比較して特に増加してはいなかった。以上の結果はステロイド抵抗性と GR $\beta$  の発現とに関連があることを示唆するかとも考えられた。ところが、軽症例での GR $\beta$  の発現率を算出してみたところ、天疱瘡患者で 0.6~58% と非常にばらつきがあることがわかり、このことは類天疱瘡や尋常性乾癬の患者でも認められた。健康人での GR $\beta$ <sup>+</sup> 細胞陽性率はせいぜい 5~6% までであるため、陽性率が 50% を超える例は明らかに異常である。軽症例で GR $\beta$  の発現の亢進した PV 2 例、BP 1 例は臨床像に特異な点はないが、長期間にわたってステロイド剤による治療をつづけている患者であり、ステロイド剤・プレドニン換算で 15~40 mg/日からの減量が困難な例である。多数例での検討はできていないため推測の域をでないが、これらの結果から、ステロイド剤治療を長期間続けた場合、PBMC における GR $\beta$  の発現が誘導される可能性が考えられる。しかし、in vitro ではステロイドによる GR $\beta$  の発現の誘導は証明されていない。

次に MRSA 感染症は院内感染の主要病原菌であり、広範なびらん面を呈する重症の天疱瘡・類天疱瘡患者では入院治療が長期にわたるため、その感染を免れることは困難である。広範なびらん面に MRSA 感染を生ずるとその除菌は容易ではなく、血漿交換などの針刺入部から敗血症をきたすリスクも懸念される。一方、天疱瘡・類天疱瘡の治療に用いる比較的大量のステロイド剤や免疫抑制剤も感染症の悪化因子となりうるため、その使用に慎重にならざるを得なくなる。今回、検討し得た 4 例はいずれも全身に広範なびらんを呈し、皮膚 MRSA 感染症を併発した症例である。症例 1、2 では MRSA のほかに緑膿菌感染も伴っていたため、FOM+SBT/ABPC 療法を施行したがびらん部の乾燥・上皮化が進んだという印象を得た。そのため症例 3、4 ではびらん部に MRSA を検出するとともに直ちにシャワー浴と 3% の酢酸ワセリンの外用<sup>6), 7)</sup>を開始し、比較的速やかに菌を消失させることができた。二次感染がステロイド抵抗性にどのように関与しているか不明であるが、細菌性スーパー抗原により PBMC に GR $\beta$  が発現しステロイド抵抗性が誘導されるとの報告がある<sup>8)</sup>。自験例で分離菌株の SE, TSST-1 産生性を測定したところ、症例 2 で SEB、症例 4 で SEC 産生性であることが確認できた。しかしながら、症例 4 では GR $\beta$  の発現亢進は認められず、臨床的経過からもステロイド抵抗性とは考えられなかった。症例 2 では退院後にも PBMC の GR $\beta$ <sup>+</sup> 細胞の比率を測定したが、MRSA 感染をきたしていない

にもかかわらず GR $\beta$ <sup>+</sup>細胞の比率は低下していなかった。これらのことから、今回検討した症例においては enterotoxin などの細菌性スーパー抗原が PBMC に GR $\beta$  を発現させ、ステロイド抵抗性を誘導している可能性は示唆されなかった。

ステロイド抵抗性獲得機序として、①吸収障害、②代謝異常、③細胞内輸送・核内移行の障害、④レセプターの異常、⑤細胞外排出機構の異常、などが挙げられる。今回、レセプターに着目し、GR $\beta$  の発現をステロイド抵抗性との関連において調べたが、スーパー抗原の産生を伴う細菌感染との関連は示唆されなかった。天疱瘡・類天疱瘡の難治化に患者の自己抗体産生能のほかにステロイド抵抗性が加わった場合、上記のごとく多岐にわたる機序を考慮する必要があるため、今後、さまざまな面から検討してゆく必要があると考えられた。

#### 参考文献

- 1) Oakley RH, Sar Madhabananda, Cidlowski JA. The human glucocorticoid receptor  $\beta$  isoform. J Biol Chem 271: 9550-9559, 1996.
- 2) Leung DYM, Hamid Q, Vottero A et al. Association of glucocorticoid insensitivity with increased expression of glucocorticoid receptor  $\beta$ . J Exp Med 186: 1567-1574, 1997.
- 3) Honda M, Orii F, Ayabe t, et al. Expression of glucocorticoid receptor  $\beta$  in lymphocytes of patients with glucocorticoid-resistant ulcerative colitis. Gastroenterology 118: 859-866, 2000.
- 4) 佐久間正寛、小川秀興。天疱瘡の重症度と治療効果についての検討。日皮会誌 108: 225-233, 1998.
- 5) 秋山尚範、多田譲治、鳥越利加子、ほか。アトピー性皮膚炎の皮膚病変部より検出された *Staphylococcus aureus* の毒素・酵素産生性の検討。日皮会誌 104: 1347-1352, 1994.
- 6) 難治性 MRSA 感染に対して 3%酢酸ワセリン外用が有効と思われた vesicular pemphigoid の 1 例。日皮会誌 103: 27-32, 1993.
- 7) Akiyama H, Yamasaki O, Tada J, Arata J. Effects of acetic acid on biofilms formed by *Staphylococcus aureus*. Arch Dermatol Res 291: 570-573, 1999.
- 8) Hauk PJ, Hamid QA, Chrousos GP et al. Induction of corticosteroid insensitivity in human PBMCs by microbial superantigens. J Allergy Clin Immunol 105: 782-787, 2000.

### Expression of glucocorticoid receptor $\beta$ in PBMCs from patients with pemphigus and pemphigoid

Wataru Fujimoto (Okayama University Graduate School of Medicine and Dentistry)

The glucocorticoid receptor  $\beta$  (GR $\beta$ ) potentially functions as a dominant negative inhibitor of GR $\alpha$  and increased expression of GR $\beta$  has been associated with glucocorticoid insensitivity. In order to clarify whether bacterial infection has association with increase of GR $\beta$ <sup>+</sup> cells in PBMCs and glucocorticoid insensitivity, number of GR $\beta$ <sup>+</sup> cells were counted in PBMCs from patients with pemphigus or pemphigoid, who had extensive erosive lesion and skin infection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. The results do not suggest the possibility that the superantigen such as enterotoxins induce the expression of GR $\beta$  in PBMCs and then lead to glucocorticoid insensitivity in patients with pemphigus and pemphigoid.

## 9) D-ペニシラミン、ブシラミン内服中の慢性関節リウマチ患者 血清におけるデスマogleイン抗体価

協力研究者：藤 本 亘（岡山大学皮膚科）

共同研究者：岩 月 啓 氏（岡山大学皮膚科）、種 市 幸 二（北見赤十字内科）

高 田 幹 子（岡山大学医学部3年生）

薬剤誘発性天疱瘡はD-ペニシラミン、ブシラミンなどSH基を有する薬剤によって治療されている関節リウマチ患者に発症しやすいことが知られているが、比較的稀であり、その自己抗原の解析は充分に行われていない。今回、天疱瘡を発症していない慢性関節リウマチ患者血清207例（D-ペニシラミンを投与されていた例は30例、ブシラミンを投与されていたのは130例）のデスマogleイン抗体価をdesmoglein ELISA法により測定した。Dsg1のindex値は8例で陽性、Dsg3のindex値は5例で陽性、3例においてDsg1、Dsg3のindex値が共に陽性であった。陽性例10例のうち9例はブシラミン内服中の患者であった。Dsg1 indexの最高値は153.5で、Dsg3 indexの最高値は123.8であった。これらDsg ELISA陽性血清のうちサル食道を基質とした蛍光抗体間接法で抗上皮細胞間抗体を検出したのは1例のみであり、抗体価の高い血清であっても蛍光抗体法は陰性であった。デスマソーム抽出蛋白を用いたイムノブロット法ではELISA陽性血清の多くはDsg1、Dsg3のほかに190,210,250kDa蛋白を反応した。ELISA陽性血清を有する患者で天疱瘡が発症する可能性は不明であり、抗体価の推移を追跡すると共に慎重な経過観察が必要である。

### はじめに

薬剤誘発性天疱瘡は海外で約200例、本邦で約100例の報告がある比較的稀な疾患である。原因薬剤は様々であるがD-ペニシラミン、ブシラミンなどSH基を有する薬剤によるものが多く、慢性関節リウマチの治療のために投与した結果発症している例が目立つ。患者血清を用いた免疫沈降により薬剤誘発性天疱瘡の抗原がデスマogleインであるとする報告はみられるが症例が少なく、抗体価も低いものが多いため、まだ十分に検討されてはいない。そこで、今回、D-ペニシラミン、ブシラミンを内服中で天疱瘡を発症していない慢性関節リウマチ患者血清中のデスマogleイン抗体価をdesmoglein ELISAにより測定した。さらに抗体陽性例については蛍光抗体間接法、イムノブロット法を施行し、結果を比較した。

### 患者背景・方法・結果

#### I. 患者背景

北見赤十字病院で治療中の慢性関節リウマチ患者で水疱症を発症していない207例の血清を検討した。患者は16歳～85歳まで（平均年齢60.4歳）、男女比は男：女＝1：4、薬剤投与期間は1カ月から約15年と患者間で差があった。投与薬剤は207例のうち、D-ペニシラミンを投与されていた例は30例、ブシラミンを投与されていたのは130例であり、その他、サラゾスルファピリジン、アクタリット、オーラノフィン、プレドニン、メソトレキサートなどが投与されていた。

## II. 方法

- ① MBL社のデスモグレイン ELISA キットを使用し、検体を 101 倍希釈し、プロトコールに従って酵素反応まで操作し、450nm の吸光度を測定したのち、Dsg1、Dsg3 の index 値を算出した。陽性コントロールには PV 血清 5 検体、PF 血清 5 検体、陰性コントロールには正常人血清 5 検体を用いた。
- ② ELISA 陽性血清については、1 %BSA/PBS にて 10 倍に希釈し、サル食道、正常人皮膚凍結切片を基質とし、二次抗体に FITC 標識ウサギ抗ヒト IgG (F0202, DAKO) を用いて蛍光抗体間接法を施行した。
- ③ ELISA 陽性血清については、さらに人皮膚デスモソーム抽出蛋白を用いてイムノプロット法を施行した。二次抗体にはパーオキシダーゼ標識抗ヒト IgG (P0214, DAKO) を用い、DAB で発色させた。

## III. 結果

### 1) 全検体の ELISA 結果ドット分布 (図 1)

全ての検体について行った Dsg1、Dsg3 ELISA の index 値をドットで表したものを図 1 に示す。index 値 20 以上を陽性と判定した。Dsg1 の index 値は 8 例で陽性、Dsg3 の index 値は 5 例で陽性、3 例において Dsg1、Dsg3 の index 値が共に陽性であった。

### 2) ELISA 陽性血清の index 値 (表 1)

ELISA が陽性であった血清、10 検体の index 値を表 1 に示す。陽性血清のうち 1 例を除いて 9 例はブシラミンを内服していた症例であった。Dsg1 index の最高値は 153.5 で、Dsg3 index の最高値は 123.8 であった。

### 3) ELISA 陽性血清の蛍光抗体間接法 (図 2)

陽性血清のうち血清番号 RA #50 の血清はサル食道を基質とした蛍光抗体間接法で上皮細胞間に結合する抗体を検出したが、陽性コントロールである尋常性天疱瘡の患者血清で得られるパターンとは異なり、細胞間の蛍光はやや厚く観察された。また、Dsg3 ELISA index が 123.8 と抗体価が比較的高い RA #80 の血清を含めて他の 9 検体ではいずれも抗上皮細胞間抗体を検出できなかった。さらに上皮細胞の核に反応する抗核抗体を検出した血清 (RA #177) や、基底膜部に比較的強い蛍光を示す血清 (RA #58、RA #177) もみられた。なお、ヒト皮膚を基質とした蛍光抗体間接法では表皮細胞間抗体を検出した例はなかった。

### 4) ELISA 陽性血清のイムノプロット (図 3)

イムノプロットでは Dsg1 に結合するものは No. 1、2、4、5、7、8、9 の 7 検体で Dsg1 ELISA 高値を示す血清 No. 3 (RA #58) はイムノプロットでは Dsg1 との反応を示さなかった。Dsg3 に結合するものは No. 3、4 の 2 検体にとどまり、その他 190kDa 蛋白と反応する血清が No. 1、2、4、5、7、9 と 6 検体、210kDa 蛋白と反応する血清は No. 1、2、4、5、6、8、10 と 7 検体 250kDa 蛋白と反応する血清が No. 9 を除く 9 検体であった。これら 210/250kDa 蛋白に対する反応は陽性コントロールに用いた PV、PF 血清でも検出した。

表 1

	血清番号	ブシラミン	Dsg1	Dsg3	IIF	IB-Dsg1	IB-Dsg3	IB-その他 (kDa)
# 1	RA#44		50.5	5.4		○		190/210/250
# 2	RA#50	○	38.5	11.1	◎	○		190/210/250
# 3	RA#58	○	153.5	84.7			○	210/250
# 4	RA#80	○	10.9	123.8		○	○	190/210/250
# 5	RA#147	○	27.2	21.4		○		190/210/250
# 6	RA#164	○	20.6	7.3				210/250
# 7	RA#169	○	9.9	33.6	(抗核)	○		190/210/250
# 8	RA#177	○	46.2	32.4		○		210/250
# 9	RA#192	○	27.0	11.5		○		190
#10	RA#207	○	44.0	14.6				190/210/250

## 考 察

慢性関節リウマチ (RA) 患者 207 名のうち 10 名に ELISA 法によって Dsg1 または Dsg3、もしくは両者に対する抗体が認められ、全 RA 患者における抗体陽性率は 4.8%、ブシラミン内服 RA 患者における陽性率は 7.7%であった。Lenz らは尋常性天疱瘡の患者と他の皮膚疾患患者の血清中 Dsg3 に対する抗体を ELISA で測定し、抗核抗体が陽性の自己免疫性結合識病患者 9 名のうち 2 名に Dsg3 に対する抗体を検出している。彼らはこの結果について、自己検体の交差反応や、nonpathogenic な Dsg3 抗体の存在は否定できないがおそらく流血中の自己抗体の非特異的結合であろうと推測している<sup>1)</sup>。今回の測定では抗体陽性率は全 RA 患者の 4.8%と高くなく、Lenz らの報告のように自己免疫疾患患者にみられる“非特異的”現象をみているにすぎない可能性も否定できない。ただ、抗体陽性者がブシラミン内服患者にしかみられず、ほかの薬剤で治療中の RA 患者 77 名には抗体が検出できなかったことは抗体産生にブシラミン内服が関与していることを示唆するものかもしれない。また、D-ペニシラミン内服患者とブシラミン内服患者とで抗体陽性率に差がないとすれば D-ペニシラミン内服患者 30 名のうち 2 名に抗体陽性が期待できるが、今回 D-ペニシラミン内服中の患者では抗体陽性者がいなかったため、少なくとも D-ペニシラミン内服患者のほうがブシラミン内服患者よりも高率に抗体産生をきたしやすいとはいえないであろう。いずれにしても、上記の問題を解決するには他の膠原病患者血清などを加え、検体の母数をさらに増やして検討するほかないであろう。

Dsg ELISA 陽性血清の多くが蛍光抗体法で陰性であった理由は Dsg ELISA の検出感度が蛍光抗体法 (IIF) よりも高いためと考えられるが、ELISA index 値が高い血清 No. 3、4 などでも IIF で陰性を示した原因ははっきりしない。抗原エピトープが凍結切片上で露出していないか、もしくは血清中に抗体の結合を阻害するような因子、たとえば抗核抗体など他の自己抗体が存在することを示しているかもしれない。いずれにしても今回検討した例は IIF で唯一陽性であった # 2 の例を含め、全例で天疱瘡は発症していないため、Dsg ELISA 陽性例における Dsg 抗体は現在の時点では pathogenic とはいえない。ブラジル天疱瘡 fogo selvagem が多発する地域にすむ住民を調査した結果、天疱瘡を発症していない住民でも Dsg1 抗体が高率に陽性であったこ



とが報告されている<sup>3)</sup>。この場合には天疱瘡発症前に Dsg1 と共通のエピトープをもつと考えられる環境中の抗原に感作され抗体産生がおり、抗体値が上昇するにつれて天疱瘡を発症すると考えられる。今回検討し得た RA 患者の Dsg ELISA 陽性例から天疱瘡の発症がおりうるのかについては不明であり、抗体価の推移を追ってゆくとともに、慎重に経過観察をしてゆくほかないであろう。

Ueki らは水疱瘡を発症していない珪肺患者 54 名の desmoglein に対する抗体を測定し、Dsg ELISA 法で 6 名に Dsg1 に対する抗体が陽性、2 名に Dsg3 に対する抗体が陽性、2 名に Dsg1 に対する抗体、Dsg3 に対する抗体の両者が陽性であったことを報告している<sup>3)</sup>。彼らは抗体陽性であった珪肺患者に今後天疱瘡が発症する可能性については不明としながらも、珪肺患者に desmoglein に対する抗体産生がおりやすい条件として、珪酸が T 細胞をポリクローナルに活性化したり、珪肺患者で T 細胞のアポトーシスが低下していることを挙げている。また、Yoshimura はカルバマゼピンを投与された患者 25 名、バルプロ酸を投与された患者 8 名、健康人 9 名のデスマグレインに対する抗体を測定し、カルバマゼピンを投与された患者のうち 3 名に Dsg1、Dsg3 に対する抗体を検出したと報告している<sup>4)</sup>。うち 1 例では Dsg1 と Dsg3 の index 値が 79.3、86.4 と比較的高く、IIF でも抗 IC 抗体が 64 倍であるにもかかわらず水疱瘡を発症していない理由は不明で、発症に至るには何らかの外因性、内因性因子の関与も否定できないとしている。カルバマゼピンはその構造式中に SH 基を含まない非 SH 薬剤であるが、活性アミド基が含まれている。ペニシリン、セファロsporin、エナラプリルなどは天疱瘡の“素因”を有する患者に投与されると天疱瘡を発症することがあり、その場合には構造式中に含まれている活性アミド基が発症に関与すると推測されているが、その発症機序の詳細は不明である<sup>5)</sup>。薬剤誘発性天疱瘡においては、薬剤の表皮角化細胞に対する直接作用と、薬剤の免疫系に対する間接作用、さらに自己抗体を生じやすい免疫遺伝子学的“素因”の三者があいまって抗表皮細胞間抗体の産生をうながし、棘融解が惹起されると考えられる<sup>6)</sup>。今回、天疱瘡を発症していないブシラミン内服中の RA 患者に Dsg 抗体を有する患者が含まれていることが明らかになった。抗体産生機序や天疱瘡発症の可能性については不明であり、今後このような抗体陽性患者の抗体価の推移を追跡するとともに、あわせて HLA DNA typing を検討し、薬剤誘発性天疱瘡発症の機序の一端を明らかにできないかと考えている。

#### 参考文献

- 1) Lenz P, Amagai M, Volc-Platzter B, et al. Desmoglein 3-ELISA, a pemphigus vulgaris-specific diagnostic tool. *Arch Dermatol* 135: 143-148, 1999.
- 2) Warren SJP, Lin MS, Giudice GJ et al. The prevalence of antibodies against desmoglein 1 in endemic pemphigus foliaceus in Brazil. *N Engl J Med* 343: 23-30, 2000.
- 3) Ueki H, Kohada M, Nobutoh T, et al. Antidesmoglein autoantibodies in silicosis patients with no bullous diseases. *Dermatology* 202: 16-21, 2001.
- 4) Yoshimura T, Seishima M, Nakashima K, et al. Increased antibody levels to desmogleins 1 and 3 after administration of carbamazepine. *Clin Exp Dermatol* 26: 441-445, 2001.
- 5) Wolf R, Brenner S. An active amide amide group in the molecule of drugs that induce pemphigus: a casual or causal relationship? *Dermatology* 189: 1-4, 1994.
- 6) Mutasim DF, Pele NJ, Anhalt GJ. Drug-induced pemphigus. *Dermatol Clin* 11: 463-471, 1993.

## **Antidesmoglein autoantibodies in patients with rheumatoid arthritis under treatment with D-penicillamine or bucillamine**

Wataru Fujimoto

(Department of Dermatology, Okayama University Graduate School of Medicine and Dentistry)

Antibody titers against desmoglein (Dsg) 1 and 3 were measured in 207 sera from patients with rheumatoid arthritis (30 patients were under treatment with D-penicillamine, 130 patients were under treatment with bucillamine) with no bullous diseases by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Ten out of 207 serum samples were found to be positive against the Dsg ELISA; eight sera were positive against Dsg1, five sera were positive against Dsg3 and three sera were positive against both Dsg1 and 3. Nine sera out of these ten serum samples were from patients treated with bucillamine. The highest index values of Dsg1 and 3 were 153.5 and 123.8, respectively. Indirect immunofluorescence microscopy using monkey esophagus as a substrate showed that only one out of these Dsg ELISA-positive sera had anti-intercellular antibodies and even the serum with a high Dsg ELISA index showed negative immunofluorescence. Immunoblot analysis using epidermal desmosomal protein showed most of the Dsg ELISA-positive sera had antibodies to 190, 210 and 250 kDa proteins in addition to antibodies against Dsg 1 and 3. It remains unclear whether such antibody positive patients will develop pemphigus in the future. Accordingly, long-term follow-up these patients is required.

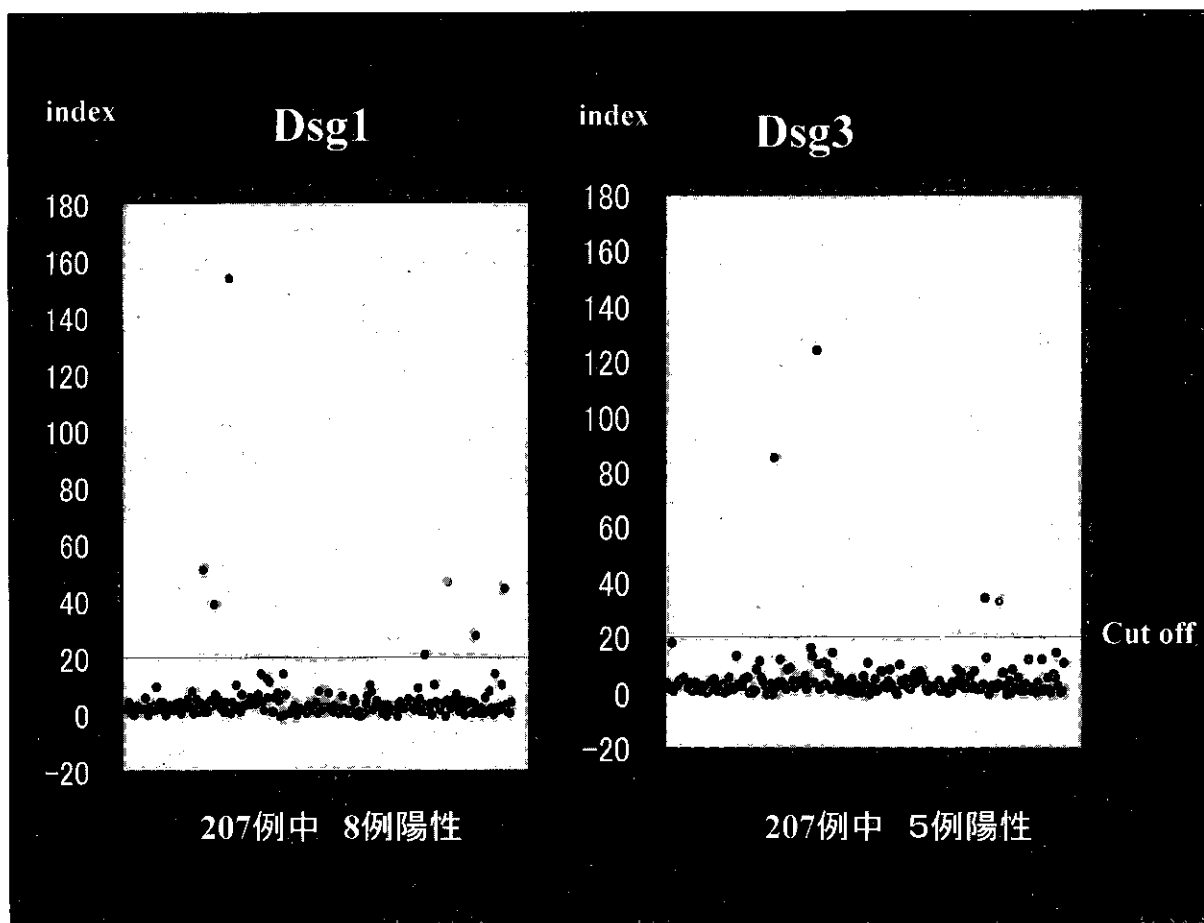


Fig 1

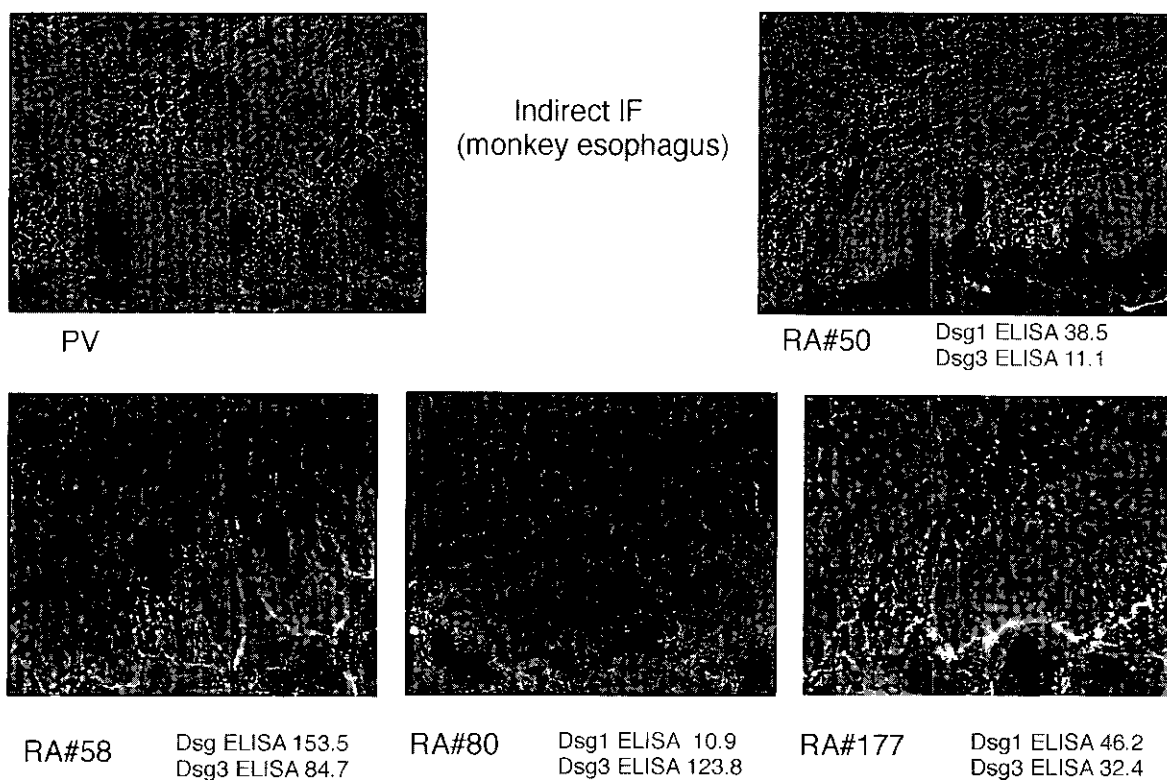


Fig 2

## Immunoblot

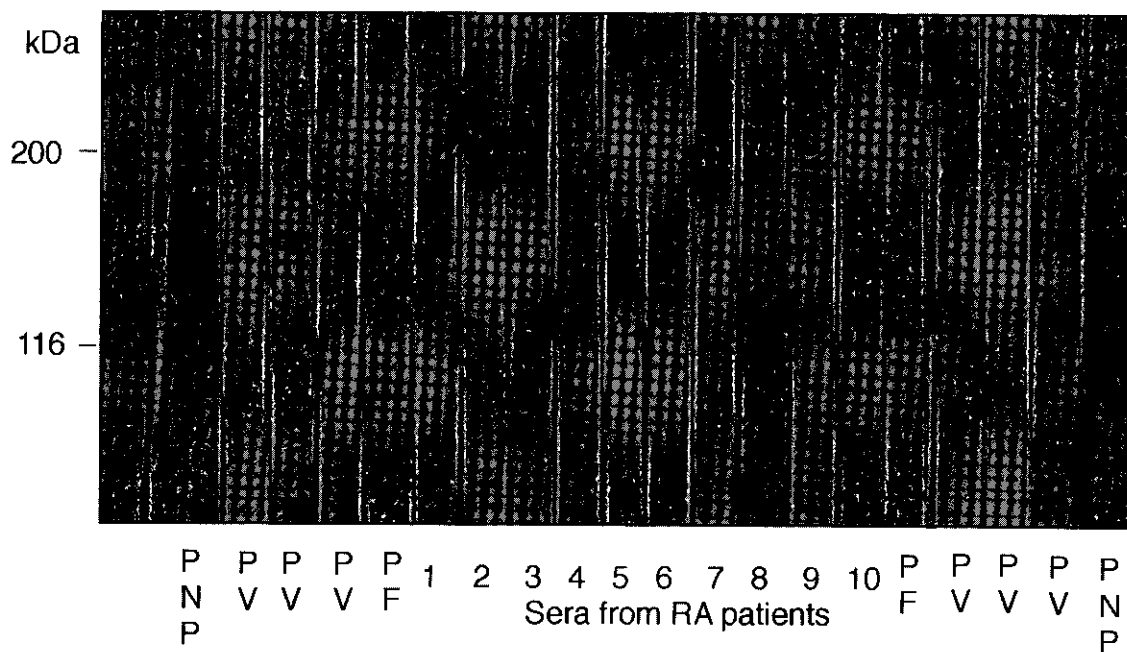


Fig 3