

令和3年度厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患政策研究事業
分担研究報告書

寛解期にも血清中自己抗体が検出される天疱瘡症例に関する検討

研究分担者	天谷 雅行	慶應義塾大学医学部皮膚科学教室	教授
研究分担者	高橋 勇人	慶應義塾大学医学部皮膚科学教室	准教授
研究分担者	山上 淳	東京女子医科大学皮膚科	准教授

研究要旨

患者血清中のデスモグレイン (desmoglein; Dsg) に対する自己抗体の測定は、天疱瘡の疾患活動性の評価に有用であるが、病変が見られない寛解になった症例でも、一部において血清から抗 Dsg 抗体が検出されることが報告されてきた。その実態を解明するため、本研究では 2019 年から 2020 年に慶應義塾大学病院皮膚科を受診した、寛解になったことのある天疱瘡患者の臨床的および血清学的な特徴を後方視的に調査した。患者が寛解に入ったと認められた時点で、Dsg に対する血清自己抗体は、調査対象となった 132 例中 72 例 (54.5%、positive group; PG) で検出され、60 例 (45.5%、negative group; NG) では検出されなかった。PG と NG の予後を比較すると、PSL を 5mg/日に減量できる症例の割合 ($p=0.885$) と再発率 ($p=0.279$) は、両群間で有意差は見られなかった。一方で、PG ではステロイド内服を中止できた症例は少なかった ($p=0.004$)。PG で病勢の強い活動期と寛解期が比較できた 33 例では、全例で寛解期の血清抗 Dsg 抗体価が活動期より低下していた。また、Dsg/デスモコリン (Dsc) ビーズ凝集解析を用いた病原性評価で、活動期に比べて寛解期の血清では有意にビーズ凝集阻害効率が低下していた ($p<0.001$)。ただし、寛解期の血清でも 9 例中 7 例で依然として病原性を有しており、抗 Dsg 抗体の抗体価をそろえて病原性を評価すると、活動期と寛解期ではほぼ同等であることがわかった。今回の研究結果は、寛解期の天疱瘡患者においても一定の割合で血清中に抗 Dsg 自己抗体が検出されるという、以前の報告と一致していた。再発に注意しながらステロイドを減量していくことが可能であること、血清抗体価に応じて水疱形成能力も低下していることなどが示唆され、寛解中に血清自己抗体が検出された症例に関する重要な知見が得られた。

A. 研究目的

天疱瘡の診療において、患者血清中の Dsg3 および Dsg1 に対する自己抗体価は、疾患活動性と平行して変動することが知られており、病勢を評価するための指標として用いることが、天疱瘡診療ガイドラインで推奨されている。しかし、以前の研究から、治療によって天疱瘡の活動性病変を持たなくなった症例でも、約 40% で血清中の Dsg に対する自己抗体が検出されることが示されている。

そこで本研究は、寛解中またはステロイド減量中の天疱瘡患者において、血清中の自己抗体が陽性となった場合にどのように考えればよいのか、という指針を検討するために計画された。寛解期に自己抗体価が陽性となった患者の特徴、その対処法、寛解期に検出された抗 Dsg 自己抗体の病原性などに関する情報は、天疱瘡の診療にあたる臨床医にとって有用と考えられる。

B. 研究方法

2019 年 1 月 1 日から 2020 年 6 月 10 日までに慶應義塾大学病院皮膚科を受診した天疱瘡患者を、以下の組み入れ基準に従って登録した。

組み入れ基準: プレドニゾロン (PSL) 換算で 10mg/日以下の内服および最小限の補助療法 (免疫抑制薬など) を併用しながら、2 カ月間以上、皮膚および粘膜に活動性病変がない (pemphigus disease area index; PDAI=0) と定義される「寛解」となったことのある天疱瘡患者。診断は、「天疱瘡診療ガイドライン」に基づいて行われている必要がある。診断が曖昧な場合や、ベースラインおよび寛解後の臨床検査結果が不足している場合は除外した。

上記の組み入れ基準に合致した症例に関して、臨床症状スコア (PDAI)、血清検査結果、治療内容、転帰等のデータを後方視的に抽出した。

また、Dsg3 および Dsc3 組み換え蛋白で表面をコーティングした磁気ビーズを用いて、その凝集を阻害する効率を評価することにより、尋常性天疱瘡患者の活動期と寛解期の血清中に含まれる自己抗体の水疱作成能力 (病原性) の比較を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、慶應義塾大学医学部倫理委員会にて審査され、承認されている。

C. 研究結果

合計 132 名の天疱瘡患者が登録された。その内訳は、91 名 (68.9%) が尋常性天疱瘡 (pemphigus vulgaris; PV) で、そのうち 39 名が粘膜優位型 (mucosal dominant PV; MDPV)、52 名が粘膜皮膚型 (mucocutaneous PV; MCPV) であり、41 名 (31.1%) が落葉状天疱瘡 (pemphigus foliaceus; PF) であった。患者のうち 52 名 (39.4%) は男性で、平均年齢は 50.8 ± 13.9 歳 (最年少 6 歳、最年長 79 歳) であった。患者が寛解になった (PDAI=0、PSL 内服量 10mg/日以下を 2 ヶ月間継続) と認識された時点で検討すると、72/132 名 (54.5%) で血清中から Dsg に対する自己抗体 (PV では Dsg3 または Dsg1、PF では Dsg1) が検出された。これらの患者を陽性群 (positive group; PG) とし、寛解時に Dsg に対する自己抗体が検出されなかった 60 例 (45.5%) を陰性群 (negative group; NG) とした。PG には、MDPV 24 例 (33.3%) と MCPV 28 例 (38.9%) を含む PV 52 例 (72.2%) と PF 20 例 (27.8%) が含まれ、臨床型による有意な差は認められなかった ($p=0.372$)。また、性別と年齢分布でも有意差はなかった。血清自己抗体価は、ELISA 法と CLEIA 法の 2 つの方法で測定されている。寛解期の抗体価は、59 例では ELISA 法で、73 例では CLEIA 法で評価された。陽性率は、ELISA 法で 49.2% (29/59)、CLEIA 法で 58.9% (43/73) であり、両法の間に有意差がないことが示された ($p=0.263$)。

天疱瘡の治療開始前における、PG と NG の PDAI および血清自己抗体価を比較した。PDAI (平均 $\pm$ SD) は、PG で 28.2 ± 22.8 、NG で 31.6 ± 21.5 となっており両群間に有意差はなかった ($p=0.224$)。血清中の抗 Dsg1 抗体価は、PG で 238.9 ± 335.5 (36 例、ELISA 法) と 890.2 ± 1083.7 (8 例、CLEIA 法)、NG では 213.2 ± 246.3 (39 例、ELISA 法) と 894.7 ± 971.6 (9 例、CLEIA 法) であり、やはり両群間の差は有意ではなかった (ELISA では $p=0.652$ 、CLEIA では $p=0.923$)。治療開始前に CLEIA で測定した血清中の抗 Dsg3 自己抗体価は、NG より PG の方が高かったが (それぞれ 219.1 ± 881.1 、 667.3 ± 339.0 、 $p=0.009$)、ELISA では有意な差はなかった (それぞれ 206.9 ± 133.8 、 497.2 ± 856.2 、 $p=0.163$)。治療に関しては、PSL の初期投与量 (mg/kg/日) に両群間で差はなかった (それぞれ 0.8 ± 0.3 、 0.9 ± 0.2 、 $p=0.097$)。免疫抑制薬などの併用療法についても、両群間に有意な差はなかった。

天疱瘡の疾患活動性を推定するために、血清抗体価を定期的に測定することは有用と考えられている。しかし臨床の現場では、天疱瘡の病変が見られないのにステロイド減量中に抗体価が上昇した、陽性のまま低下しない、など判断に迷う状況に直面することも少なくない。そこで本研究では、寛解期に血清から自己抗体が検出された患者が、ステロイドを減量または中止できているかどうかを検討した。全身ステロイド療法は、対象となった 132 例中 127 例 (96.2%) で実施されており、PG では 72 例中 68 例 (94.4%)、NG では 60 例中 59 例 (98.3%) となっていた。患者は、寛解後 70.1 ± 46.4 ヶ月 (平均 $\pm$ SD) (最小 8 ヶ月、最大 239 ヶ月) 追跡できているが、PSL を 5mg/日に減らすことができた患者数において、両群間で有意差はなかった (PG の 82.4% [56/68 例] に対し、NG の 81.4% [48/59 例]、 $p=0.885$)。全体として、PG の 56 例中 46 例 (82.4%) は、PSL を 5mg/日に減量した時点でも血清中抗 Dsg 抗体が陽性であった。一方、ステロイドが中止できているかに注目すると、PG では 11/68 例 (16.2%) と、NG での 23/59 例 (39.0%) に比べて有意に少なかった ($p=0.004$)。再発率は PG より NG の方が高かったが、その差は有意ではなかった (それぞれ 23.5% [16/68 例]、30.5% [18/59 例]、 $p=0.279$)。再発時において、抗 Dsg 抗体は、PG では全例 (16/16 例)、NG では 83.3% (15/18 例) に検出された。再発時の抗 Dsg3 抗体価は、PG が NG よりも有意に高かったが (平均 $\pm$ SD : 395.3 ± 302.6 、 202.1 ± 417.2 、 $p=0.025$)、抗 Dsg1 抗体価は両群間で差がなかった (平均 $\pm$ SD : 418.7 ± 310.8 、 297.2 ± 262.6 、 $p=0.453$)。

以前の研究では、寛解期に天疱瘡患者の血清から抗 Dsg 自己抗体が検出されても、より病勢の強い活動期の抗体価よりも低下していることが示されている。本研究でも同様の傾向が見られるか、活動期と寛解期の血清が比較できた PG 群の 33 例について検討した。寛解期の抗 Dsg1 抗体と抗 Dsg3 抗体の血清自己抗体価は、すべての症例で活動期よりも低下しており、過去の報告と矛盾しない結果となった (抗 Dsg1 抗体は 16 組、抗 Dsg3 抗体は 21 組について検討)。活動期と寛解期の抗体価は、抗 Dsg1 抗体 (平均 $\pm$ SD) で 797.1 ± 889.6 と 82.0 ± 73.6 ($p<0.001$)、抗 Dsg3 抗体で 997.0 ± 1272.0 と 190.3 ± 283.5 ($p=0.019$) であった。

PG 群の症例において検出された抗 Dsg 抗体に病原性があるかどうかを検証するため、Dsg3 および Dsc3 組み換え蛋白でコーティングしたビー

ズ凝集解析を実施した。活動期と寛解期の両方の血清から抗 Dsg3 抗体が検出された症例が 9 例 (MDPV 4 例、MCPV 5 例) あり、いずれも抗 Dsg3 抗体価が高い活動期では、Dsg3/Dsc3 ビーズの凝集を阻害する効率 (病原性) が高かった。一方で、寛解期においても 7/9 例

(77.8%) の血清が Dsg3/Dsc3 ビーズ凝集の阻害能力を示した。ただし同量の血清を比較すると、寛解期における凝集阻害効率 (病原性) は活動期に比べて有意に減少していた (平均±SD: 79.9±12.4, 34.5±28.0, $p<0.001$)。

上記 9 例のすべてで活動期における抗 Dsg3 抗体価は寛解期よりも高いので、抗体の量による差と考えることができる。次に、ほぼ等量の抗 Dsg3 抗体の病原性を比較するために、ELISA 法で抗体価が 15%以内の差になるように活動期の血清を希釈した。ほぼ同等の抗 Dsg3 抗体価に調整された活動期と寛解期の血清を比較すると、9 例すべてでほぼ同水準の Dsg3/Dsc3 ビーズ凝集阻害効率を示した (平均±SD: 26.2±34.4, 34.5±28.0, $p = 0.081$)。この結果は、等量の抗 Dsg3 抗体の病原性は、活動期と寛解期で差が見られないことを示唆している。

D. 考察

本研究から、寛解期に血清自己抗体価が陽性となった天疱瘡患者の特徴と予後など、多くの重要な知見が得られた。

PG と NG では、年齢、性別、臨床型 (PV または PF)、治療開始前の重症度 (臨床症状スコア PDAI) に有意差は認められなかった。つまり、治療開始前に血清抗体価の動きを予測することは、ほぼ不可能であることがわかる。また両群間で治療内容に大きな違いはなかったが、これは調査対象となったすべての天疱瘡患者が、診療ガイドラインに沿った治療を受けていたためと考えられる。その中で、NG 群の方が、アザチオプリンを併用した患者が多かったことは興味深い (50/60 例、83.3%)。この結果から、アザチオプリンの抗体産生抑制効果をさらに強調できるかもしれないが、今回の研究では、わずかに有意差は見られなかった ($p=0.065$)。

予後に関して、PSL を 5mg/日に減量できたかどうかを検討した際に、PG と NG の両群間で有意差がなかったことは注目に値する。この結果は、経過観察中に血清抗体価が陽性になる、あるいは上昇する症例においても、慎重にステロイド減量を続けることができる可能性を示している。一方で、PG では NG に比べて PSL 内服を終了できた症例が有意に少なかった。これは、たとえ病変が良好にコントロールされていて

も、血清抗体価が陰性にならない症例においては、担当医または患者本人がステロイド終了をためらう傾向があるためと考えられた。なお、両群間で再発率に差は見られず、寛解期の血清抗体価から再発のリスクを予測することは非常に困難であることがわかった。

ELISA 法 (29/59 例、49.1%) と CLEIA 法 (43/73 例、58.9%) で、寛解期における陽性率に有意差が認められなかったこと、いずれの方法においても寛解期の血清抗 Dsg 抗体価は、すべての症例で活動期よりも低下していたことは、ELISA 法を用いた先行研究と一致しており、どちらの方法も同程度に疾患活動性の評価に有用である、というこれまでの知見に矛盾しない結果であった。

寛解期に血清抗 Dsg 抗体が検出された際の最も重要な問題の 1 つは、それらに水疱を起こす能力があるか、という点である。今回、血清の病原性を評価するために Dsg/Dsc の相互作用の阻害効果を検出するビーズ凝集アッセイを行った。その結果、寛解期の血清の 77.8% (7/9 例) は、病原性を維持していることが示された。ただし、ビーズ凝集阻害効率 (病原性) は、活動期よりも有意に低下していた。興味深かったのは、ほぼ等量の抗 Dsg 抗体を含むように活動期の血清を調整して、寛解期の血清と比較したところ、ビーズ凝集阻害効率 (病原性) に差が見られなかった点である。寛解期では、血清抗 Dsg 抗体価が活動期に比べて低下している、という結果と総合すると、天疱瘡血清の水疱形成能力において、抗 Dsg 抗体の量 (抗体価) はきわめて重要な要素であると言ってよいだろう。

E. 結論

今回の研究結果は、寛解期の天疱瘡患者においても、一定の割合で血清中に抗 Dsg 自己抗体が検出されるという、以前の報告を裏づけるものであった。症例の予後調査から、再発に注意しながらステロイドを減量していくことが可能と考えられること、寛解期では血清抗体価に応じて水疱形成能力も低下していることなどが示唆され、寛解期に血清自己抗体が検出された症例に関する重要な知見が得られた。本研究は、少数の集団を対象とした単一施設での後方視的な研究であるため、多施設での前向き研究によって今回の結論が検証されることが望ましい。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Zhao WL, Ishii K, Egami S, Xu Z, Funakoshi T, Takahashi H, Tanikawa A, Ishiko A, Amagai M, Yamagami J.
Analysis of clinical characteristics, prognosis and antibody pathogenicity of pemphigus patients positive for anti-desmoglein IgG autoantibodies in remission: a retrospective cohort study.
J Eur Acad Derm Venereol. 36: 271-278, 2022.

2. 学会発表

八代聖, 船越建, 高橋勇人, 富田亮, 齋藤泰子, 山上淳, 天谷雅行.
難治性天疱瘡に対するリツキシマブ治療の長期的な効果に関する検討.
第 43 回水疱症研究会. 令和 4 年 1 月 21 日 高知+Web 開催
(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

