

る。また幼小児期からのステロイド全身投与は、成長障害や緑内障などの重篤な副作用を来すことがあり、慎重な投与が必要である。橋本はカリクレインの注射が、村松らは DDS (ダプソン) の内服が著効したと報告しているが、その後は試みられていない<sup>5,7)</sup>。他の自己炎症疾患と同様、抗 TNF $\alpha$  製剤、抗 IL-1 $\beta$  製剤などの生物学的製剤が有効である可能性があるが、使用された症例はまだない。

### VIII. 責任遺伝子の同定

和歌山県立医科大学皮膚科でフォロー中の 1 患者家系を中心とした患者 5 名 (症例 12, 17, 20, 21, 27) と非罹患兄弟 3 名の末梢血から抽出したゲノム DNA について、Affimetrix GeneChip Human Mapping 500 k array set を用いて全ゲノム SNP (一塩基多型) タイピングを行い、さらに Partek Genomics Suite v6.4 を用いてホモ接合マッピングを行った結果、患者 5 名に共通にホモ接合が連続し、かつ非罹患兄弟にホモ接合が連続しない領域として染色体 6p21.31-32 上の 1.1 Mb 領域を同定した (図 3a)<sup>24)</sup>。含まれる 53 遺伝子すべてについてエキソ-イントロン境界を含む全エキソンをシーケンスし、一般集団 272 名には存在せず患者にのみホモ接合で存在する変異を 1 つ、免疫プロテアソームの  $\beta 5i$  サブユニットをコードする *PSMB8* 遺伝子のエキソン 5 に、201 番目のグリシンをバリンに置換させる (G201V)、602 番目のグアニンのチミンへの変異 (c.602G>T) を見出した (図 3b)。検索した患者 10 名 (症例 12, 13, 14, 17, 20, 21, 24, 25, 27, 28) 全てに同じ変異のホモ接合を認め、さらに変異の前後それぞれ約 15 kb のゲノム領域にある SNP すべてで患者全員がホモ接合であり、強い創始者効果を認めた。すなわち、新潟と関西の症例ともに共通の 1 人の創始者から変異遺伝子を受け継いだと考えられる。

### IX. 病態生理

プロテアソームは、ポリユビキチン化された蛋白質を分解することに特化した細胞質内プロテアーゼ複合体であり、20S と呼ばれるコアユニットと 19S と呼ばれる制御ユニットが合わさることで 26S と呼ばれる複合体を形成する<sup>41)</sup>。20S プロテアソームは、 $\alpha 1$  から  $\alpha 7$  まで 7 個の  $\alpha$  サブユニットが環状に並んだリングと  $\beta 1$  から  $\beta 7$  まで 7 個の  $\beta$  サブユニットが環状に並んだリングが 2 個ずつ縦にかみ合って形成されるが、このうち  $\beta 1$ ,  $\beta 2$ ,  $\beta 5$  サブユニ

ットが蛋白質分解活性をもち、それぞれカスパーゼ様、トリプシン様、キモトリプシン様活性を示す。ユビキチン-プロテアソーム系は、不要な蛋白質の処理や蛋白質の品質管理だけでなく、細胞周期や遺伝子修復、さらに NF- $\kappa$ B 活性化に代表されるシグナル伝達など、様々な細胞機能に関与する。

一方、 $\beta 1$ ,  $\beta 2$ ,  $\beta 5$  の代わりに誘導型の  $\beta 1i$ ,  $\beta 2i$ ,  $\beta 5i$  サブユニットが組み込まれた免疫プロテアソームは、免疫細胞において恒常的に発現し、また IFN- $\gamma$  などの刺激によってそのほかの体細胞にも誘導され、MHC クラス I 提示に適したペプチドを効率よく作成するとされる<sup>42)</sup>。*PSMB8* 遺伝子はこの  $\beta 5i$  サブユニットをコードし、変異のある 201 番目のグリシンは蛋白質成熟過程で N 末端側 72 アミノ酸の切断によって 129 番目となる。コンピューターシミュレーションによる立体構造解析により、このグリシンがバリンに置換することによって、近接する活性中心である 73 番目 (切断後 1 番目) のスレオニン (Thr73)、さらに 105 番目のリジン (Lys105) の位置が変化し、活性中心が機能的に影響を受けるとともに、隣接する  $\beta 4$  サブユニットとの境界面の立体構造が変化することにより、サブユニット重合による免疫プロテアソーム複合体の形成も影響を受けることが予想された (図 3c-e)。患者由来不死化 B 細胞から抽出した蛋白質をグリセロール密度勾配超遠心法によって分画し、蛍光基質を用いてプロテアソームの酵素活性を検討したところ、予想通り、 $\beta 5i$  に由来するキモトリプシン様活性が著明に低下し、さらに  $\beta 1i$  と  $\beta 2i$  に由来するカスパーゼ様とトリプシン様活性も有意に低下していた (図 4a)。興味深いことに、G201V 変異のヘテロ接合をもつ患者の親においては、無症候ながら、各酵素活性はきれいに患者と健常者の中間値であった。また、同じ蛋白質分画をウェスタンブロット法で検討したところ、 $\beta 1i$  と  $\beta 2i$  を含むが  $\beta 5i$  を含まない未成熟な 20S が残存し、 $\beta 5i$  を含む成熟した 26S が減少しているのに加え、未成熟 20S 形成時に一時的に組み込まれるシャペロン hUmp1 と N 末端側に未切断のアミノ酸を含む未成熟な  $\beta 5i$  の残存が認められ、免疫プロテアソーム複合体の形成不全が確認された (図 4b)。その結果として、患者由来不死化 B 細胞、初代培養線維芽細胞ともに、健常者由来細胞に比べてユビキチンが多く蓄積し、さらに患者皮疹部生検組織においても、浸潤する CD68 陽性細胞にユビキチンが貯留することが蛍光二重染

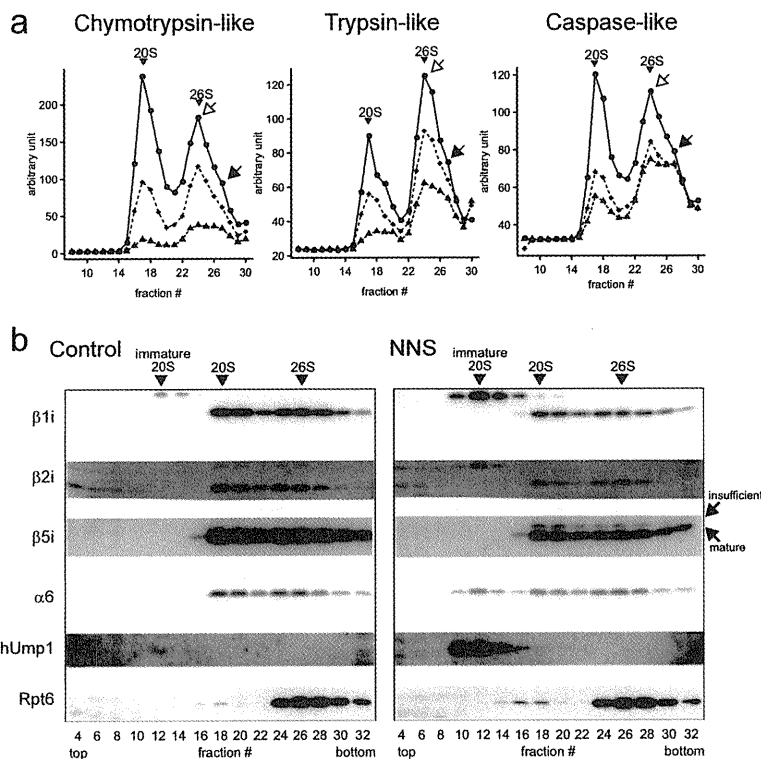


図4 中條—西村症候群におけるプロテアソーム機能不全と形成不全

a) 不死化 B 細胞から抽出しグリセロール密度勾配超遠心法にて得た各蛋白質分画のプロテアソーム酵素活性. ●: 健常者, ◆: 患者の親, ▲: 患者. b) 同じ蛋白質分画のウェスタンブロット法による解析.

色によって確認された (図 5a, b). NF-κB 活性化については, 自己炎症疾患としての表現型からは過剰活性化が, プロテアソーム機能不全による IκB (inhibitor of NF-κB) 分解不全からは活性化不全が予想されたが, 患者由来初代培養線維芽細胞を用いた EMSA 法では, p50/p65 の挙動は健常者由来細胞と差がなかった. ウェスタンブロット法でも同様の結果が得られ, リン酸化 IκBα はむしろ健常者由来細胞に多く認めた (図 5d). MAPK 経路の検討により, リン酸化 p38 の核での蓄積を患者由来線維芽細胞と末梢血リンパ球に認めたことから, むしろこの経路が炎症発現にかかわることが示唆された (図 5d, e). サスペンションアレイを用いて複数の患者血清中サイトカイン濃度を網羅的に検討した結果, IL-6, IP-10, MCP-1, G-CSF が健常者に比べて有意に高値であったため, 患者由来線維芽細胞の培養液中の IL-6 を検討したところ, 健常者由来細胞に比べ, 無刺激にて有意に高く, その差は TNFα 刺激によってより顕著になった (図 5c). したがって p38 活性化による IL-6 産生が, 発熱や高 γ グロブリン血症などの中條—西村症候群における炎症症状の発現につながることを示唆された. 最近 TRAPS において提唱されている, 細胞内での異常

蛋白質の蓄積による炎症惹起メカニズムを参考にすると, 中條—西村症候群においては, さまざまなストレス刺激, 特にサイトカインや感染などの刺激によってユビキチン化あるいは酸化蛋白質が産生されると, 免疫プロテアソームによる処理がうまくできずこれらの蛋白質が蓄積することによって, 脱リン酸化が抑制されて p38 が過剰に活性化し, IL-6 の産生が亢進するというスキームが想定される (図 6)<sup>43</sup>.

### X. まとめと今後の展望

本研究によって, プロテアソーム不全症という新たな疾患概念が生まれつつある. 近年, β5i プロテアソーム阻害剤であるボルテゾミブが多発性骨髄腫の治療に用いられるようになったが, 関節リウマチに対しても有効性が認められ, 自己免疫疾患の治療への応用が見込まれている<sup>44</sup>. 中條—西村症候群において, 先天的なプロテアソーム機能不全によって周期性の炎症と進行性の萎縮をきたすことは, プロテアソーム阻害効果の一面を表している可能性があり, そのメカニズムを明らかにすることは急務である. さらに, そもそもプロテアソーム機能不全にも関わらず明らかな免疫不全を示さないのは何故か,

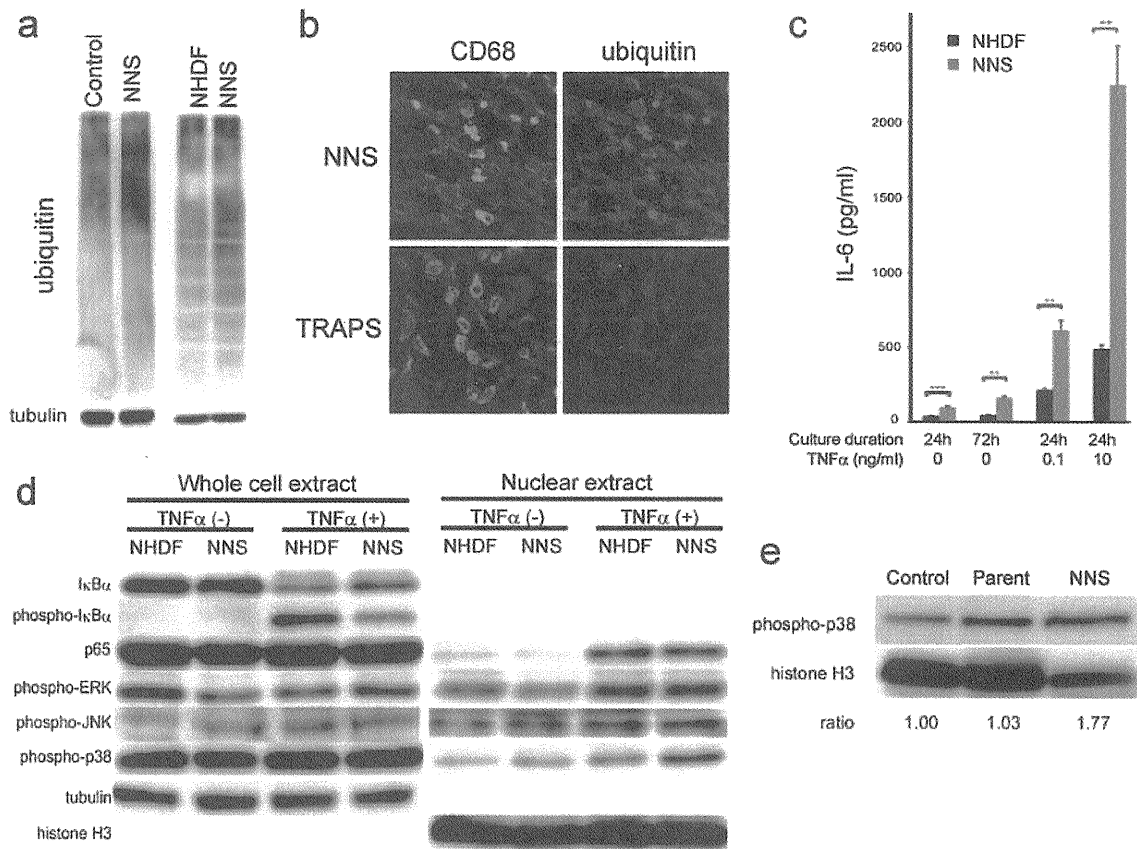


図5 中條—西村症候群におけるユビキチンの蓄積と p38 MAPK 経路, IL-6 産生の亢進

a) 不死化 B 細胞と初代培養線維芽細胞から抽出した蛋白質のウェスタンブロッティング法による解析. NHDF: 正常ヒト真皮線維芽細胞. b) 患者皮膚部生検組織切片を用いた CD68 とユビキチンの蛍光二重染色による解析. TRAPS: TRAPS 症例に認められた単球性筋膜炎. c) 初代培養線維芽細胞が産生する IL-6. d) 初代培養線維芽細胞から抽出した全蛋白質と核蛋白質のウェスタンブロット法による解析. e) 末梢血リンパ球から抽出した核蛋白質のウェスタンブロット法による解析.

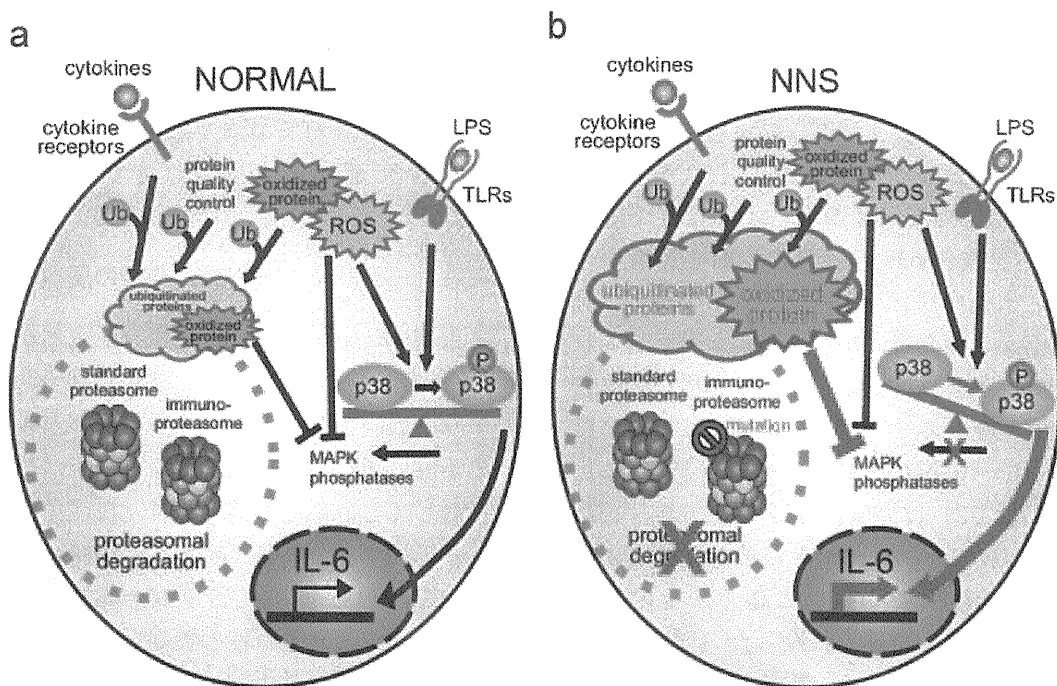


図6 中條—西村症候群における *PSMB8* 変異による炎症惹起メカニズム.

免疫寛容状態も含め、抗原提示機能がどうなっているのか明らかにする必要がある。iPS細胞やノックインマウスなどを用いた更なる研究の進展によって本疾患の病態の全体像を明らかにすることにより、自己炎症から自己免疫にいたる一つの道筋が明らかになるかもしれない。本邦で生まれ、これまで多くの臨床家によって観察、記載されてきた本疾患をモデルに、本邦から新しい炎症免疫の研究が世界に発信されることが期待される。

謝辞：遺伝子解析にご協力いただいた中條—西村症候群の患者とご家族の皆様、また症例の蓄積にご協力いただいた先生方皆様に感謝したい。本研究は平成21-23年度厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業の補助を得て行われた。

## 文 献

- 1) 中條 敦：凍瘡ヲ合併セル続発性肥大性骨骨膜症。皮泌誌。45：77-86, 1939.
- 2) 西村長應，ほか：2家族に発生した凍瘡様皮膚病変を併発した続発性肥大性骨骨膜症。皮性誌。60：136-141, 1950.
- 3) 黒田和夫：皮膚症状を伴う Osteoarthropatie hypertrophiant pneumonique (Piere-Marie) の1例。皮性誌。63：332, 1953.
- 4) 坂本邦樹，ほか：紅斑性皮疹と肥大性骨骨膜症を合併せる症候群について。皮膚と泌尿。20：137-141, 1958.
- 5) 橋本誠一：特異な皮疹を伴った Marie-Bamberger 氏病様一症例。皮膚。1：105-111, 1959.
- 6) 喜多野征夫：凍瘡を合併せる続発性肥大性骨骨膜症（仮称）。臨皮。29：867-873, 1975.
- 7) 村松 勉，ほか：凍瘡を合併せる続発性肥大性骨骨膜症（中條）。皮膚。29：727-731, 1987.
- 8) 喜多野征夫：凍瘡様皮疹を伴う骨骨膜症。現代皮膚科学体系'88-B。東京，中山書店，pp. 163-165, 1988.
- 9) Kitano, Y., et al. : A syndrome with nodular erythema, elongated and thickened fingers and emaciation. *Arch Dermatol.* 121 : 1053-1056, 1985.
- 10) 加藤 積，ほか：進行性リポジストロフィーの一例。医学。8：310-312, 1950.
- 11) 堀内 篤，ほか：皮膚紅斑，筋萎縮，脾腫， $\gamma$ -グロブリンの上昇，IgAの減少がみられた31才の女性。臨床免疫。3：362-369, 1971.
- 12) 堀越 昶，ほか：Partial lipodystrophy に指趾の変形，皮膚筋炎様皮疹を認め，広汎な基底核石灰化と免疫異常，知能指数の低下を伴った症例。臨床神経。20：173-178, 1980.
- 13) 遠藤安行，ほか：Progressive (partial) lipodystrophy の1例。日内会誌。69：554-560, 1980.
- 14) 山田 茂，ほか：筋萎縮，皮疹，関節拘縮変形を伴う Lipodystrophy 症に類似する姉弟例。臨床神経。24：703-710, 1984.
- 15) 佐久間かおり，ほか：著名なNK活性の減少が認められたリポジストロフィーの姉弟例。神経内科。24：415-416, 1986.
- 16) 田中正美，ほか：リポジストロフィーの新しい病型の提唱—関節拘縮，結節性紅斑，高 $\gamma$ -グロブリン血症を伴う常染色体劣性遺伝形式を示す脂肪筋萎縮症—。日本医事新報。3495：32-34, 1991.
- 17) Tanaka, M., et al. : Hereditary lipo-muscular atrophy with joint contracture, skin eruptions and hyper- $\gamma$ -globulinemia : a new syndrome. *Intern Med.* 32 : 42-45, 1993.
- 18) 脇口 宏，ほか：各種の免疫異常を呈した lupus erythematosus profundus の1例。小児科臨床。37：1831-1836, 1984.
- 19) 林 優子，ほか：基底核石灰化を伴いリポジストロフィーに酷似した遺伝性炎症性疾患の1例。小児科診療。52：561-565, 1989.
- 20) 杉野禮俊，ほか：Partial lipodystrophy に酷似した外観を呈し，凍瘡様皮疹，長く節くれ立った指，基底核石灰化を伴い，炎症反応陽性を示す遺伝性疾患の4小児例。疾患単位と考えたい。日児誌。90：727, 1986.
- 21) Kasagi, S., et al. : A case of periodic-fever-syndrome-like disorder with lipodystrophy, myositis, and autoimmune abnormalities. *Mod Rheumatol.* 18 : 203-207, 2008.
- 22) 杉野禮俊，ほか：Familial Japanese fever : partial lipodystrophy に酷似した外観を呈し，凍瘡様皮疹，長く節くれ立った指，関節拘縮，基底核石灰化などを伴う遺伝性発熱症候群。日小医会報。2：106, 2006.
- 23) 金澤伸雄，ほか：凍瘡様皮疹と限局性脂肪萎縮を伴う自己炎症疾患である家族性日本熱（中條—西村症候群）。日小皮会誌。29：7-12, 2010.
- 24) Arima, K., et al. : Assembly defect due to a PSMB8 mutation reduces proteasome activity and causes the autoinflammatory disorder, Nakajo-Nishimura syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA.* 108 : 14914-9, 2011.

- 25) Kitamura, A., et al.: A mutation in the immunoproteasome subunit PSMB8 causes autoinflammation and lipodystrophy in humans. *J Clin Invest.* **121**: 4150–60, 2011.
- 26) Torreló, A., et al.: Chronic atypical neutrophilic dermatosis with lipodystrophy and elevated temperature (CANDLE) syndrome. *J Am Acad Dermatol.* **62**: 489–495, 2010.
- 27) Ramot, Y., et al.: Chronic atypical neutrophilic dermatosis with lipodystrophy and elevated temperature syndrome: a case report. *Pediatr Dermatol.* *in press.*
- 28) Garg, A., et al.: An autosomal recessive syndrome of joint contractures, muscular atrophy, microcytic anemia, and panniculitis-associated lipodystrophy. *J Clin Endocrinol Metab.* **95**: E58–63, 2010.
- 29) Agarwal, A. K., et al.: PSMB8 encoding the  $\beta 5i$  proteasome subunit is mutated in joint contractures, muscular atrophy, microcytic anemia, and panniculitis-induced lipodystrophy syndrome. *Am J Hum Genet.* **87**: 866–872, 2010.
- 30) 井田弘明, ほか: 中條—西村症候群. 医学のあゆみ. **235**: 1191–1195, 2010.
- 31) 井田弘明, ほか: 中條—西村症候群の臨床と病態. 炎症と免疫. **19**: 153–157, 2011.
- 32) Crow, Y. J., et al.: Aicardi-Goutieres syndrome and related phenotypes: linking nucleic acid metabolism with autoimmunity. *Hum Mol Genet.* **18**: R130–R136, 2009.
- 33) Fiorenza, C. G., et al.: Lipodystrophy: pathophysiology and advances in treatment *Nat Rev Endocrinol.* **7**: 137–150, 2011.
- 34) 宮川 文, ほか: 日本における自己炎症性症候群 (中條—西村症候群) の一例. 日本皮膚病理組織学会抄録集. **24**: 13, 2008.
- 35) Oyanagi, K., et al.: An autopsy case of a syndrome with muscular atrophy, decreased subcutaneous fat, skin eruption and hyper  $\gamma$ -globulinemia: peculiar vascular changes and muscle fiber degeneration. *Acta Neuropathol.* **73**: 313–319, 1987.
- 36) 豊島 至, ほか: 筋萎縮, 皮疹, 関節拘縮変形を伴う lipodystrophy 症に類似する症例 (山田ら) の筋病変の検討. 厚生省「精神・神経疾患研究委託費」筋ジストロフィー症及び関連疾患の病態とその病因に関する研究 (杉田班) 昭和 62 年度研究報告書. pp. 40–44, 1988.
- 37) 豊島 至, ほか: 筋萎縮, 皮疹, 関節拘縮変形を伴う lipodystrophy 症に類似する症例 (山田ら) の筋病変の検討 (2). 厚生省「精神・神経疾患研究委託費」筋ジストロフィー症及び関連疾患の病態とその病因に関する研究 (杉田班) 昭和 63 年度研究報告書. pp. 37–41, 1989.
- 38) Misra, A., et al.: Clinical features and metabolic and autoimmune derangements in acquired partial lipodystrophy: report of 35 cases and review of the literature. *Medicine.* **83**: 18–34, 2004.
- 39) Lamprecht, P., et al.: Small vessel vasculitis and relapsing panniculitis in tumour necrosis factor receptor associated periodic syndrome (TRAPS). *Ann Rheum Dis.* **63**: 1518–1520, 2004.
- 40) Liu, Y., et al.: Mutations in PSMB8 cause CANDLE syndrome with evidence of genetic and phenotypic heterogeneity. *Arthritis Rheum.* *in press.*
- 41) Tanaka, K.: The proteasome: Overview of structure and functions. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* **85**: 12–36, 2009.
- 42) Fehling, H. J., et al.: MHC class I expression in mice lacking the proteasome subunit LMP-7. *Science.* **265**: 1234–1237, 1994.
- 43) Bulua, A. C., et al.: Mitochondrial reactive oxygen species promote production of proinflammatory cytokines and are elevated in TNFR1-associated periodic syndrome (TRAPS). *J Exp Med.* **208**: 519–533, 2011.
- 44) Muchamuel, T., et al.: A selective inhibitor of the immunoproteasome subunit LMP7 blocks cytokine production and attenuates progression of experimental arthritis. *Nat Med.* **15**: 781–787, 2009.

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業

中條一西村症候群の疾患概念の確立と病態解明に基づく特異的治療法の開発

平成 22～23 年度 総合研究報告書

発 行

平成 24 年 3 月 31 日

発行所

〒641-0012

和歌山県和歌山市紀三井寺 811-1

和歌山県立医科大学皮膚科学教室内

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業

中條一西村症候群の疾患概念の確立と病態解明に基づく特異的治療法の開発

研究班事務局

