

特集II

疾患病態にかかわる自然免疫

自己炎症と獲得免疫不全を呈する
プロテアソーム機能異常症*

改正恒康¹
金澤伸雄^{2,3}
邊見弘明^{1,4}

Key Words: autoinflammatory disease, proteasome, immunodeficiency

はじめに

高等動物の生体防御は、マクロファージや樹状細胞などにより担われる自然免疫と、T細胞、B細胞、すなわちリンパ球により担われる獲得免疫の連携により成立する。自然免疫は、病原体の感染により活性化され、さまざまな炎症応答、炎症病態を誘導するが、非感染性の炎症病態にも自然免疫が関与することが明らかになりつつある。特に、遺伝子バリエーションにより、自然免疫の異常な活性化をきたす疾患群は、自己炎症性疾患と総称されている。代表的な自己炎症性疾患としては、家族性地中海熱やクリオヒリン関連周期熱症候群が知られており、これらの疾患では、遺伝子バリエーションによりインフラマソームと呼ばれる蛋白質複合体が恒常的に活性化され、IL-1 β を中心とした炎症性サイトカインの過剰産生が病態をひき起こしている。

蛋白質の分解処理を担うプロテアソームの機能不全をきたす遺伝子バリエーションは、プロテアソーム関連自己炎症症候群(proteasome-associated auto-inflammatory syndrome; PRAAS)と呼ばれる自

己炎症性疾患の原因であることが明らかになっている。PRAASは、乳幼児期から周期性発熱、凍瘡様皮膚炎、いわゆる「しもやけ」と進行性の脂肪萎縮、いわゆる「痩せ」を主徴とするが、通常、獲得免疫系の異常はほとんど認められない。われわれは、獲得免疫不全を併発したPRAAS様の炎症症状を呈する独立した2症例に共通する、プロテアソームサブユニットの新規の遺伝子バリエーションを見出した。そして、これらの症例、およびこの遺伝子バリエーションを導入した遺伝子改変マウスの解析により、免疫不全を伴うPRAAS(PRAAS with immunodeficiency; PRAAS-ID)という疾患概念を提唱するに至った¹⁾。ここでは、プロテアソーム機能異常による病態について概説する。

中條・西村症候群からPRAASへ

東北帝国大学皮膚科泌尿器科の中條は、1939年に、血族婚家系に生じた「凍瘡ヲ合併セル続発性肥大型骨骨膜症」の兄妹例を報告した²⁾。1950年には和歌山県立医科大学皮膚科泌尿器科の西村が、血族婚の2家系に生じた和歌山の3症例も同じ疾患であり、原発性の遺伝性疾患である可能性を指摘している³⁾。さらに大阪大学皮膚科の喜多野らが、本邦の8家系12症例をまとめ、A syndrome with nodular erythema, clon-

* Proteasome disorders manifesting autoinflammation and adaptive immunodeficiency.

¹ Tsuneyasu KAISHO, M.D., Ph.D. & Hiroaki HEMMI, Ph.D.: 和歌山県立医科大学先端医学研究所生体調節機構研究部(〒641-8509 和歌山県和歌山市紀三井寺811-1); Department of Immunology, Institute of Advanced Medicine, Wakayama Medical University, Wakayama 641-8509, JAPAN

² Nobuo KANAZAWA, M.D., Ph.D.: 和歌山県立医科大学皮膚科学

³ 兵庫医科大学皮膚科学

⁴ 岡山理科大学獣医学部獣医免疫学

表1 PRAASの主な原因遺伝子変異

遺伝子	蛋白質とその遺伝子バリエーション	変異パターン	
<i>PSMB8</i>	$\beta 5i$	p.G201V	ホモ
		p.T75M	ホモ
		p.T75M, p.A92T	複合ヘテロ
		p.A92T	ホモ
		p.A94P	ホモ
		p.M117V	ホモ
		p.D123N, p.R129C	複合ヘテロ
		p.Q125P	ホモ
	p.C135*	ホモ	
<i>PSMB8</i>	$\beta 5i$	p.T75M	2遺伝子ヘテロ
<i>PSMA3</i>	$\alpha 7$	p.R233del	
<i>PSMB8</i>	$\beta 5i$	p.T75M	2遺伝子ヘテロ
<i>PSMA3</i>	$\alpha 7$	p.H111Ffs*10	
<i>PSMB8</i>	$\beta 5i$	p.K105Q	2遺伝子ヘテロ
<i>PSMB4</i>	$\beta 7$	p.Y222*	
<i>PSMB4</i>	$\beta 7$	c.-9G>A, p.D212_V214del	複合ヘテロ
<i>PSMB4</i>	$\beta 7$	p.P16Sfs*45	2遺伝子ヘテロ
<i>PSMB9</i>	$\beta 1i$	p.G165D	
<i>PSMB10</i>	$\beta 2i$	p.F14S	ホモ
※ <i>PSMB9</i>	$\beta 1i$	p.G156D	ヘテロ
		p.I112Wfs*3	ヘテロ
<i>POMP</i>	POMP	p.F114Lfs*18	ヘテロ
		p.E115Dfs*20	ヘテロ
<i>PSMG2</i>	PAC2	p.Y223Sfs*2, p.N225K	複合ヘテロ

バリエーションの詳細については <https://infervers.umai-montpellier.fr/web/index.php> を参照されたい。

※は今回著者らが見出した遺伝子バリエーション。

gated and thickened fingers, and emaciation として報告した⁴⁾。そして、この、凍瘡と脂肪萎縮、つまり「しもやけ」と「やせ」を主徴とする遺伝性炎症性疾患は、2009年中條・西村症候群と命名された。そして2011年に、和歌山医大皮膚科の金澤・長崎大学人類遺伝学の吉浦ら、および徳島大学免疫寄生虫学の安友らにより、原因遺伝子バリエーションとして、プロテアソームの中で蛋白質分解活性を有するサブユニット $\beta 5i$ をコードする *PSMB8* 遺伝子のホモ接合性のアミノ酸置換バリエーション(201番目のアミノ酸グリシンがバリンに置換されるバリエーション, p.G201V)が同定され、中條・西村症候群はプロテアソームの機能不全をきたす自己炎症性疾患であることが明らかになった⁵⁾⁶⁾。*PSMB8* 遺伝子バリエーションによる

自己炎症性疾患は、joint contractures, muscular atrophy, microcytic anemia, and panniculitis-induced lipodystrophy (JMP) 症候群, chronic atypical neutrophilic dermatosis with lipodystrophy and elevated temperature (CANDLE) 症候群とも呼ばれた⁷⁾⁸⁾が、その後、 $\beta 5i$ 以外のサブユニットの遺伝子バリエーションを持つ症例も報告され、今では、PRAASという総称が定着しつつある⁹⁾。PRAASは、多くの場合、プロテアソームサブユニットの単一遺伝子のホモあるいは複合ヘテロ接合性バリエーションであるが、2つの遺伝子のヘテロ接合性バリエーションによる症例も報告されている(表1)^{9)~10)}。また、プロテアソームサブユニットに加えて、プロテアソームの構成にかかわるシャペロン分子のヘテロ接合性バリエーションを持つ

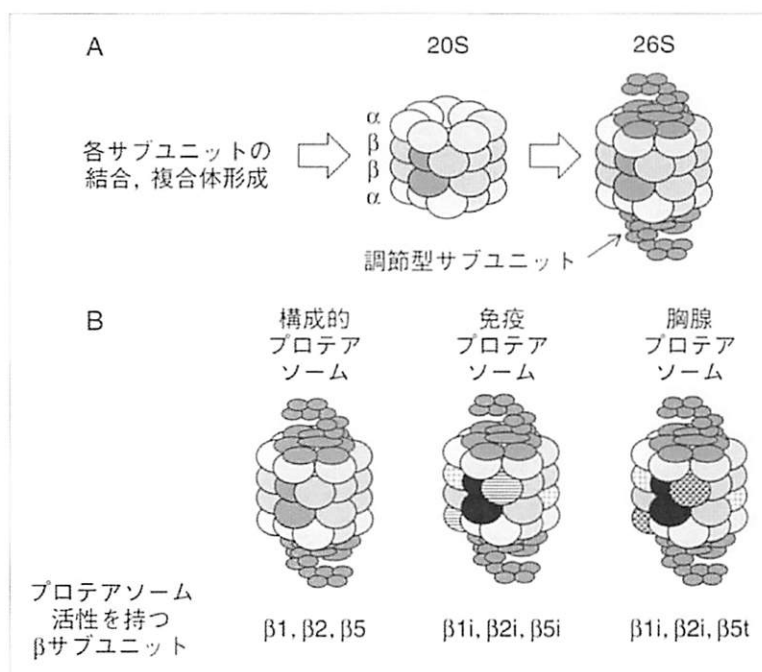


図1 プロテアソームの基本構造

A: プロテアソームの形成過程. α, βそれぞれのサブユニットがリング状に結合し20Sプロテアソームが形成された後, 調節型サブユニットが加わり, 26Sプロテアソームが生成される. B: プロテアソーム活性を有するサブユニットはβ1, β2, β5, β1i, β2i, β5i, β5tである. 26Sプロテアソームは, これらのβサブユニットの違いにより, 構成的プロテアソーム, 免疫プロテアソーム, あるいは胸腺プロテアソームと呼ばれている.

症例も報告されている^{9,15,16)}.

プロテアソーム機能とその異常

蛋白質は合成と分解のバランスにより, 細胞内で一定量に維持されている. 合成後正しい高次構造をとれなかった蛋白質や劣化した蛋白質は分解処理されなければならないが, この分解処理は, プロテアソームと呼ばれる蛋白質複合体に担われている^{17,18)}. プロテアソームは, 7個のαと7個のβサブユニット(α1~7, β1~7)が一定の順序で結合し, 2つのαリング, 2つのβリングがαββαの形で会合した20Sプロテアソームがまず形成される. さらにいくつかの調節型サブユニットが加わり, 26Sプロテアソームが形成される(図1-A). 蛋白質分解活性は, 3種類のβサブユニット(β1, β2, β5)に担われており, プロテアソームは, ほとんどの細胞で, この形(構成的プロテアソーム)で存在する(図1-B). 一方, サイトカイン刺激を受けた細胞, および多くの造血系細胞においては, 蛋白質分解活性を持つ

サブユニットとして, β1, β2, β5がそれぞれβ1i (PSMB9), β2i (PSMB10), β5i (PSMB8)に置換された, 免疫プロテアソームという形で主に存在する(図1-B). これらの構成比率の割合は, 組織, 細胞により若干異なる. 特に, 胸腺皮質上皮細胞では, β1i, β2iに加えて, この細胞に選択的に発現する, 蛋白質分解活性を担うサブユニットβ5tを含む胸腺プロテアソームという形で存在する(図1-B)¹⁹⁾. いずれのプロテアソームも蛋白質の分解処理に関与するが, 免疫プロテアソーム, 胸腺プロテアソームは, MHCクラスIで提示される抗原ペプチドの生成にも関与し, その機能を介して, CD8T細胞, すなわちキラーT細胞の生成, 反応にも重要な役割を果たしている.

PRAASでは, 遺伝子バリエーションによりプロテアソームの形成障害, 機能不全が生じている. プロテアソームで分解される蛋白質はユビキチン化されているため, PRAAS患者の組織, 細胞ではユビキチン化蛋白質の蓄積が認められる. 病態に関与する分子機構としては, シグナル伝達分子p38

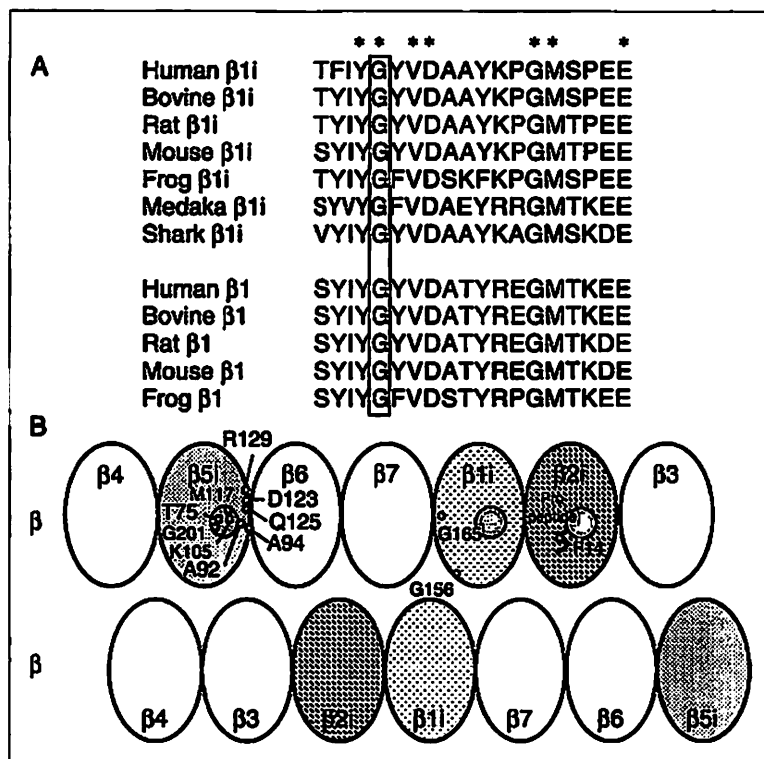


図2 $\beta 1i$ サブユニットの新規アミノ酸置換バリエーション
 A: さまざまな種における $\beta 1$, $\beta 1i$ のアミノ酸比較。ヒト $\beta 1i$ の156番目のアミノ酸グリシン(枠で囲んでいる)周辺を比較している。*種の間で保存されているアミノ酸。B: これまでに報告されているプロテアソームサブユニットのアミノ酸置換バリエーションの位置の模式図。 $\beta 1i$, $\beta 2i$, $\beta 5i$ におけるプロテアソーム活性中心はそれぞれ丸印で示されている。 $\beta 1i$ の156番目のアミノ酸グリシンは活性中心から離れ、 β リングの接合面に位置すると推定される。

の蓄積により炎症性サイトカインの産生が亢進すること、IL-24の細胞内蓄積によりプロテインキナーゼRの活性化、I型インターフェロンの産生が亢進(I型インターフェロン症)すること、中條・西村症候群由来の遺伝子バリエーションを持つマウスにおけるイミキモド誘導型皮膚炎の増悪にケモカインCXCL10が関与することなどが指摘されている⁵⁾²⁰⁾²¹⁾。しかし、プロテアソームの機能不全による病態の分子基盤についてはまだわかっていないことが多い。

プロテアソーム関連遺伝子の遺伝子改変マウスの解析

これまで、さまざまなプロテアソームサブユニット欠損マウスが作製、解析されている。免疫プロテアソームにおいて蛋白質分解活性を担う3つの β サブユニット $\beta 1i$, $\beta 2i$, $\beta 5i$ すべてを欠損す

るマウス(triple KOマウス)では、MHCクラスIで提示される抗原ペプチドのパターンが変化し、その結果、MHCクラスIの膜表面の発現が低下し、CD8T細胞応答が障害されている²²⁾。また、 $\beta 1i$, $\beta 2i$, $\beta 5i$ に加えて、 $\beta 5t$ も欠損するマウス(quadruple KOマウス)においては、CD8T細胞の数、応答がより顕著に障害されている²³⁾。しかし、triple KOマウス、quadruple KOマウスのいずれにおいても、CD8T細胞以外の免疫担当細胞はほとんど障害されず、炎症症状を呈することも報告されていない。一方、PRAAS患者の獲得免疫については、抗核抗体が検出されるなどときに異常に活性化されていることが報告されているが、CD8T細胞の減少はほとんど認められない。このように、PRAAS患者の所見とプロテアソームサブユニット欠損マウスの表現型との間には乖離が認められる。

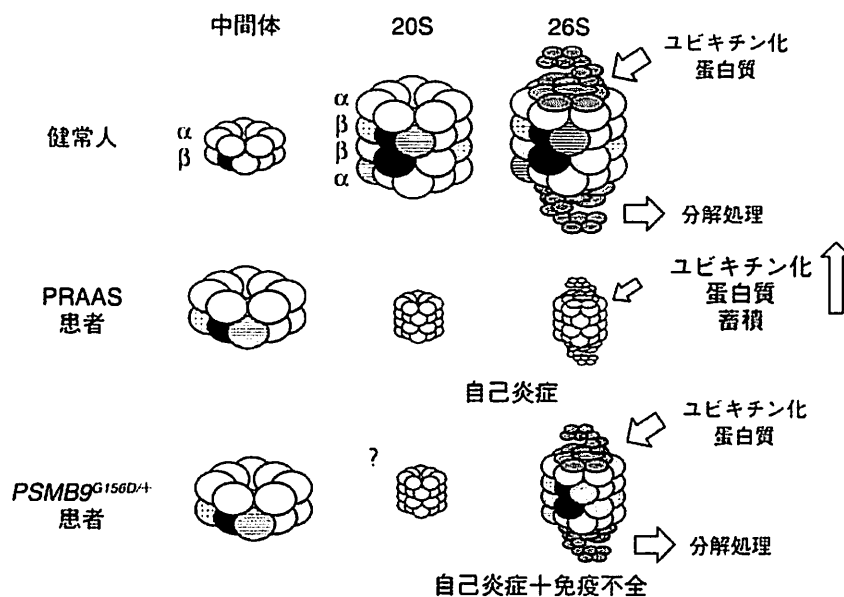


図3 プロテアソーム形成の比較

健常人では、20S、26Sプロテアソームが形成され、中間体はほとんど検出されない。PRAAS患者では、20S、26Sプロテアソームの形成はともに低下し、ユビキチン化された蛋白質が蓄積し、自己炎症が発症する。PSMB9 p.G156Dをヘテロ接合性に有する患者では、20Sプロテアソーム活性が低下し、中間体が増加するが、26Sプロテアソーム活性はほぼ正常に保たれ、ユビキチン化された蛋白質はほとんど蓄積しない。しかしながら、自己炎症に加えて、免疫不全が発症する。

一方、「やせ」に関しては、β5i欠損マウス、中條・西村症候群患者由来のPSMB8バリエントを有するマウスにおいて、脂肪細胞の分化障害が認められている^{23,24}。免疫プロテアソームがどのような分子機構を介して脂肪細胞の分化に関与するのか、さらなる研究の発展が期待される。

プロテアソームサブユニットの新規の遺伝子バリエントの同定

われわれは最近、PRAASに似て非なる、独立した2症例を見出した¹。2症例とも、新生児期にPRAASと同様の周期性かつ難治性の筋炎などの炎症症状を呈し、頭部CTでもPRAASに特徴的な大脳基底核の石灰化が認められた。しかし、通常のPRAASに認められる脂肪萎縮は示さず、また、PRAASでは稀な肺高血圧やリンパ球減少(獲得免疫不全)が認められた。これらの症例について、それぞれの両親とともにエキソーム解析を行ったところ、症例に特異的かつ共通の遺伝子バリエントとして、プロテアソームのサブユニットβ1iをコードするPSMB9遺伝子に、de

novoの(両親には認められない)ヘテロ接合性のアミノ酸置換バリエント(156番目のアミノ酸グリシンのアスパラギン酸への置換、G156D)が見出された。このグリシンは、種を超えてβ1、β1iを通じて保存されており、立体構造解析からは、βリング同士の接合面に位置すると推定された(図2-A、B)。特に、これまでのPRAASの遺伝子バリエントのほとんどは活性中心あるいはその付近に認められるが、このグリシンは活性中心から離れており、アスパラギン酸への置換によっても、活性中心構造はほとんど影響を受けていないことは大変興味深い(図2-B)。PRAASでは、通常、20S、26Sどちらのプロテアソーム活性も低下する。しかし、患者由来細胞では、β1iの成熟障害など、プロテアソームの形成障害が認められ、20Sプロテアソーム活性は低下しているものの、26Sプロテアソーム活性はほぼ正常であり、不要な蛋白質蓄積の指標となるユビキチンの蓄積もほとんど認められなかった。

さらにこの遺伝子バリエントの病理的意義を明らかにするため、そのバリエントをマウスに導入

し解析したところ、ヘテロ変異マウスにおいて、患者由来細胞と同様に、 β 1i 蛋白質の成熟障害、20S プロテアソーム活性低下が認められる一方で、26S プロテアソーム活性が保持され、ユビキチン蓄積も認められないことが明らかになった。また、ヘテロ変異マウスを免疫学的に解析したところ、血中免疫グロブリンレベルが低下し、T細胞、B細胞、樹状細胞が減少している一方で、好中球や単球は増加していた。興味深いことに、ホモ変異マウスでは、T細胞、B細胞、樹状細胞、NK細胞が完全に欠失するなどさらに重篤な免疫不全を示したにもかかわらず、プロテアソーム活性は20Sだけが低下し、ユビキチン蓄積も検出されなかった。このように、遺伝子バリエーションを導入したマウスにおいて、患者と共通したプロテアソーム異常、獲得免疫不全が認められたことから、*PSMB9* p.G156D が原因遺伝子バリエーションであることが強く示唆された。

免疫不全を伴う PRAAS

これまでの PRAAS の原因遺伝子バリエーションのほとんどは潜性(劣性)遺伝形式を示すが、今回見出された遺伝子バリエーションが、単一遺伝子のヘテロ接合性バリエーション、すなわち顕性(優性)遺伝形式を示す点は大変興味深い。マウスの解析でも、単なる β 1i 欠損では、CD8T 細胞の減少程度で顕著な免疫不全は示さないことから、p.G156D は、単なる機能低下ではなく、機能修飾をひき起こした可能性も考えられる。おそらく、p.G156D による β リング会合障害が20S プロテアソーム機能異常をきたし、非特異的な蛋白質分解能を保持しながらも免疫恒常性を保持する機構が障害されているのではないかと考えられる(図3)。われわれは、今回同定された遺伝子バリエーションによって生じるユニークな病態、PRAAS と似て異なる病態について、免疫不全を伴う自己炎症性疾患、PRAAS-ID という疾患概念を提唱している。

おわりに

PRAAS の治療法はまだ確立されていないが、サイトカインシグナルを遮断する JAK 阻害剤が有効であるということが指摘され²⁵⁾、PRAAS-ID の1症例についても JAK 阻害剤が有効であった²⁶⁾。

またこの症例に臍帯血移植が有効であったことから、造血系細胞の異常が PRAAS-ID の病態形成に重要と考えられる。

PRAAS を含めて、個々の自己炎症性疾患は稀少性疾患である。しかし、プロテアソームの機能異常はがん細胞で亢進しており、プロテアソーム阻害剤が多発性骨髄腫の治療薬として使用されているし、神経変性疾患、心疾患、腸炎、加齢などにおいてプロテアソーム機能異常が認められている。今回樹立されたモデルマウスの解析を進めることにより、プロテアソームの機能異常によって生じる病態解明が進み、PRAAS ばかりでなく、*common disease* に広く応用できる炎症制御剤、炎症制御手段が確立されることが期待される。

謝辞：和歌山県立医科大学生体調節機構研究部の研究室員諸氏、ならびに、共同研究者としてご協力いただきました琉球大学・金城紀子先生、岐阜大学・大西秀典先生、長崎大学・吉浦孝一郎先生および木下 晃先生、東京大学・村田茂穂先生および濱崎 純先生、兵庫県立大学・水島恒裕先生に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Kanazawa N, Hemmi H, Kinjo N, et al. Heterozygous missense variant of the proteasome subunit beta-type 9 causes neonatal-onset autoinflammation and immunodeficiency. *Nat Commun* 2021 ; 12 : 6819.
- 2) 中條 敦. 凍瘡ヲ合併セル続発性肥大性骨竹膜炎. *皮膚科泌尿器科雑誌* 1939 ; 45 : 77.
- 3) 西村長徳, 出来利夫, 加藤正一郎. 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竹膜炎. *皮膚科性病科雑誌* 1950 ; 60 : 136.
- 4) Kitano Y, Matsunaga E, Morimoto T, et al. A syndrome with nodular erythema, elongated and thickened fingers, and emaciation. *Arch Dermatol* 1985 ; 121 : 1053.
- 5) Arima K, Kinoshita A, Mishima H, et al. Proteasome assembly defect due to a proteasome subunit beta type 8 (PSMB8) mutation causes the autoinflammatory disorder, Nakajo-Nishimura syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011 ; 108 : 14914.
- 6) Kitamura A, Maekawa Y, Uehara H, et al. A muta-

- tion in the immunoproteasome subunit PSMB8 causes autoinflammation and lipodystrophy in humans. *J Clin Invest* 2011 ; 121 : 4150.
- 7) Agarwal AK, Xing C, DeMartino GN, et al. PSMB8 encoding the beta5i proteasome subunit is mutated in joint contractures, muscle atrophy, microcytic anemia, and panniculitis-induced lipodystrophy syndrome. *Am J Hum Genet* 2010 ; 87 : 866.
 - 8) Liu Y, Ramot Y, Torreló A, et al. Mutations in proteasome subunit beta type 8 cause chronic atypical neutrophilic dermatosis with lipodystrophy and elevated temperature with evidence of genetic and phenotypic heterogeneity. *Arthritis Rheum* 2012 ; 64 : 895.
 - 9) Brehm A, Liu Y, Sheikh A, et al. Additive loss-of-function proteasome subunit mutations in CANDLE/PRAAS patients promote type I IFN production. *J Clin Invest* 2015 ; 125 : 4196.
 - 10) McDermott A, Jesus AA, Liu Y, et al. A case of proteasome-associated auto-inflammatory syndrome with compound heterozygous mutations. *J Am Acad Dermatol* 2013 ; 69 : e29.
 - 11) Kluk J, Rustin M, Brogan PA, et al. Chronic atypical neutrophilic dermatosis with lipodystrophy and elevated temperature syndrome : a report of a novel mutation and review of the literature. *Br J Dermatol* 2014 ; 170 : 215.
 - 12) Cavalcante MP, Brunelli JB, Miranda CC, et al. CANDLE syndrome : chronic atypical neutrophilic dermatosis with lipodystrophy and elevated temperature-a rare case with a novel mutation. *Eur J Pediatr* 2016 ; 175 : 735.
 - 13) Contreras-Cubas C, Cardenas-Conejo A, Rodriguez-Velasco A, et al. A homozygous mutation in the PSMB8 gene in a case with proteasome-associated autoinflammatory syndrome. *Scand J Rheumatol* 2018 ; 47 : 251.
 - 14) Sarrabay G, Mechin D, Salhi A, et al. PSMB10, the last immunoproteasome gene missing for PRAAS. *J Allergy Clin Immunol* 2020 ; 145 : 1015.
 - 15) Poli MC, Ebstein F, Nicholas SK, et al. Heterozygous Truncating Variants in POMP Escape Nonsense-Mediated Decay and Cause a Unique Immune Dysregulatory Syndrome. *Am J Hum Genet* 2018 ; 102 : 1126.
 - 16) de Jesus AA, Brehm A, VanTries R, et al. Novel proteasome assembly chaperone mutations in PSMG2/PAC2 cause the autoinflammatory interferonopathy CANDLE/PRAAS4. *J Allergy Clin Immunol* 2019 ; 143 : 1939.
 - 17) Sahara K, Kogleck L, Yashiroda H, et al. The mechanism for molecular assembly of the proteasome. *Adv Biol Regul* 2014 ; 54 : 51.
 - 18) Murata S, Takahama Y, Kasahara M, et al. The immunoproteasome and thymoproteasome : functions, evolution and human disease. *Nat Immunol* 2018 ; 19 : 923.
 - 19) Murata S, Sasaki K, Kishimoto T, et al. Regulation of CD8+ T cell development by thymus-specific proteasomes. *Science* 2007 ; 316 : 1349.
 - 20) Davidson S, Yu CH, Steiner A, et al. Protein kinase R is an innate immune sensor of proteotoxic stress via accumulation of cytoplasmic IL-24. *Sci Immunol* 2022 ; 7 : eabi6763.
 - 21) Sasaki Y, Arimochi H, Otsuka K, et al. Blockade of the CXCR3/CXCL10 axis ameliorates inflammation caused by immunoproteasome dysfunction. *JCI Insight* 2022 ; 7 : e152681.
 - 22) Kincaid EZ, Che JW, York I, et al. Mice completely lacking immunoproteasomes show major changes in antigen presentation. *Nat Immunol* 2011 ; 13 : 129.
 - 23) Kincaid EZ, Murata S, Tanaka K, et al. Specialized proteasome subunits have an essential role in the thymic selection of CD8(+) T cells. *Nat Immunol* 2016 ; 17 : 938.
 - 24) Arimochi H, Sasaki Y, Kitamura A, et al. Differentiation of preadipocytes and mature adipocytes requires PSMB8. *Sci Rep* 2016 ; 6 : 26791.
 - 25) Sanchez GAM, Reinhardt A, Ramsey S, et al. JAK1/2 inhibition with baricitinib in the treatment of autoinflammatory interferonopathies. *J Clin Invest* 2018 ; 128 : 3041.
 - 26) Kataoka S, Kawashima N, Okuno Y, et al. Successful treatment of a novel type I interferonopathy due to a de novo PSMB9 gene mutation with a Janus kinase inhibitor. *J Allergy Clin Immunol* 2021 ; 148 : 639.