

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

角化症研究会記録集 (2006.03) 20巻:80～84.

Netherton症候群の1例

山本明美, 橋本喜夫, 飯塚一, RichardGabriele,
HovnanianAlain

13

Netherton症候群の 1例

山本明美, 橋本喜夫, 飯塚 一
旭川医科大学皮膚科

Gabriele Richard
ジェファーソン医科大学皮膚科: 米国

Alain Hovnanian
プルパン病院皮膚科: フランス

A case of Netherton syndrome

Ishida-Yamamoto A, Hashimoto Y, Iizuka H
(Department of Dermatology, Asahikawa Medical College)

Richard G
(Department of Dermatology and Cutaneous Biology and the
Jefferson Institute of Molecular Medicine, Jefferson Medical
College, USA)

Hovnanian A
(INSERM U563 and Université Paul Sabatier, Department of
Genetics, Purpan Hospital, France)

はじめに

Netherton症候群 (NS)は魚鱗癬とbamboo hairに代表される毛髪異常, ならびにアトピー症状を3主徴とする劣性遺伝性疾患で, 原因はSPINK5遺伝子にコードされるセリンプロテアーゼインヒビターLEKTIの欠損である (Chavanas et al., 2000)。LEKTIの基質候補として, KLK7とKLK5 (Bitoun et al., 2003)があげられている。KLK7とKLK5はデスマグレインなどの分解によって角層剥離に働いていると推定されている (Ekholm et al., 2000)。KLK7は層板顆粒に含まれる分子であることが知られているが (Sondell et al., 1995), LEKTIの細胞内局在は不明であった。今回, 著者らはNSの1症例を経験したので報告するとともに, 正常表皮におけるLEKTIの細胞内局在も明らかにした。

症 例

患者は非水疱型先天性魚鱗癬様紅皮症としてすでに報告した女性と同一である (写真1) (橋本, 他 1978)。出生時から著明な落屑を伴う紅皮症, 落屑を認めた。3歳時には低身長, 低体重を指摘された。皮疹は年齢とともに軽減したが, 顔面と体幹は常に紅く, 四肢には鱗屑を伴う局面がみられていた。17歳ころになって頭髪の伸びが遅いことに気づかれた。毛髪には数本の折れ毛や結節性裂毛がみられた。家族内に同症は認めず, 両親は血族結婚ではない。末梢血好酸球増多 (10.9%), IgE高値 (3,875 IU/ml) を認めた。

遺伝子変異の検索

患者末梢血からゲノムDNAを抽出しPCRによってSPINK5遺伝子全体を増幅した。全33エクソンを個別に増幅し, DNA配列を解析したところ, 2つの変異がみられた (図1)。まずエクソン25にheterozygousな塩基の置換があり (2368C/T), 790番目のアルギニンが停止コドンになっていた (R790X) (図1A左)。図1A中は正常の配列。この変異によって制限酵素TaqIの切断部位が失われることが予想され, 図1A右でこれを確認した。患者 (P) のエクソン25をPCRによって増幅し, TaqIで消化すると, 2つのバンドが生じた。これは変異の入ったアレルに由来する未消化の367 bpの断片と, 正常なアレルに由来する消化された断片を現している (181 bpと186 bpのバンドなので1本にみえる)。正常人 (C1-C6) では完全に消化され, バンドは1本のみに見える。M: DNA 100bp ladder (Promega, WI)。図1B上左はもうひとつの変異である, エクソン5にお

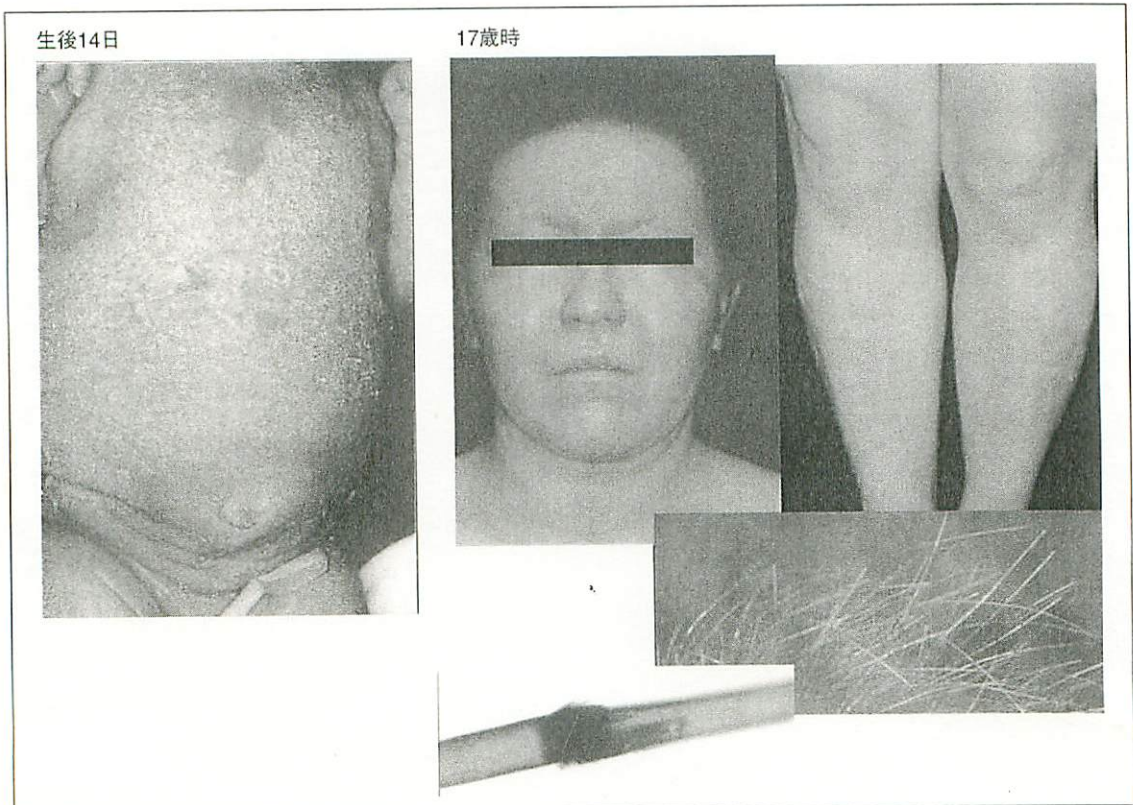


写真1-生後14日目と17歳時の臨床像

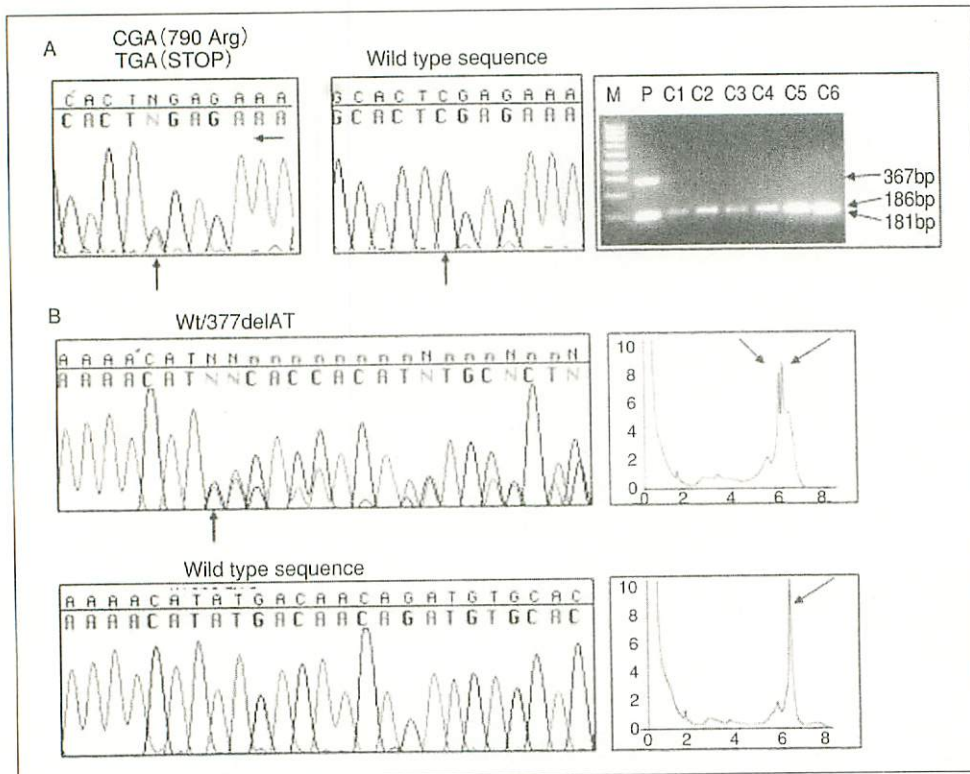


図1-SPINK5遺伝子に変異がみられた。

るheterozygousな2塩基ペアの欠損(377delAT)を示しており、フレームシフトと早期停止コドンを生じる。変異の入ったエクソン5は野生型よりも2ヌクレオチド分短いことがHPLCプロファイルの2番目のピークとして確認され

た(図1B上右)。図1B下は正常対照。

免疫組織学的検討

免疫染色にはLEKTIのN-terminal D1-D6ドメインに対す

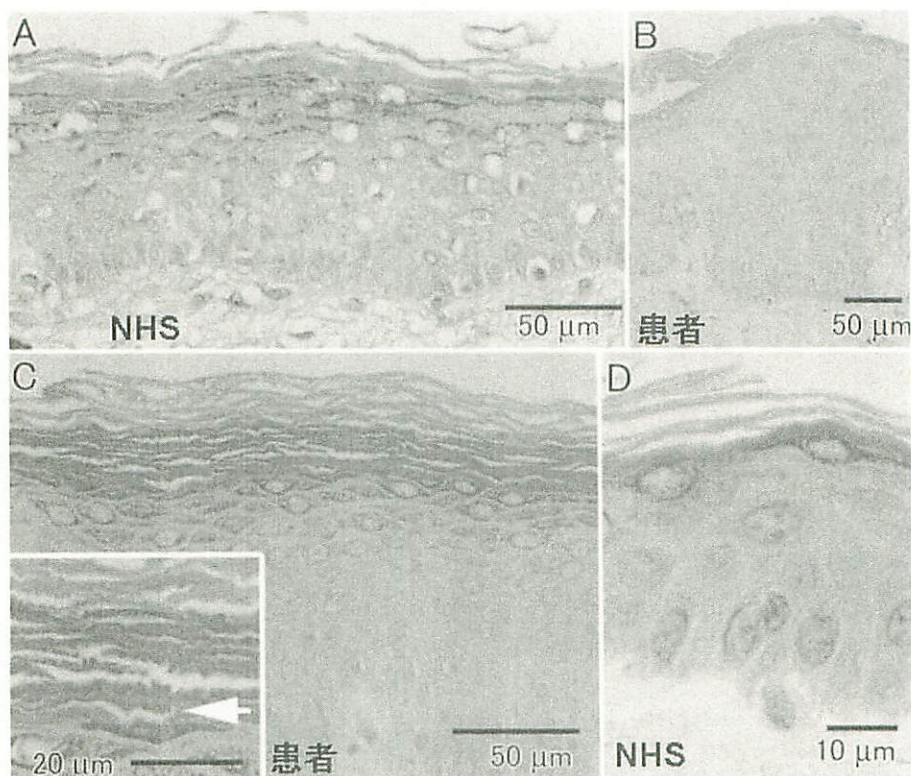


写真2-患者表皮ではLEKTIが欠損し、顆粒層直上で裂隙形成がみられる。



写真3-患者顆粒層細胞ではデスモゾームの非対称性の分離がみられる。

るウサギポリクローナルおよびマウスモノクローナル抗体 (Bitoun et al., 2003), D8-D11ドメインに対するラビットポリクローナル抗体 (Hovnanian, 未発表), デスモグレイン1マウスモノクローナル抗体(Dsg1-P23, Progen, Heidelberg, Germany), KLK7ラビットポリクローナル抗体 (Tanimoto et al, 1999), KLK5ラビットポリクローナル抗体 (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, Calif.) を用いた。

LEKTIの発現をD1-D6ドメインに対する抗体を用いた免疫組織化学法によって調べると、正常では表皮有棘細胞、顆粒細胞の表層側に発現していたが、患者では欠損していた(写真2)。したがって、本例では両方のアレレのLEKTIがほとんど発現していないと考えられる。また、HE標本では患者表皮顆粒層直上での裂隙形成がみられた

(写真2C)。デスモグレインの免疫電顕ではデスモゾームが非対称性に分離していることが示された(写真3)。SPINK5ノックアウトマウスでも同様のデスモゾームの分離が認められている (Descargues et al., 2005)。LEKTIの表皮における生理的な機能はまだ十分に解明されていないが、今回の観察結果から、デスモゾームの分解に関与するタンパク分解酵素の阻害に働いていることが示唆された。Komatsuらも実際に、NS患者角層でのトリプシン様活性が増加していることを報告している (Komatsu et al., 2002)。

また免疫電顕法によってLEKTIが層板顆粒内に含まれることがわかった(写真4)。層板顆粒はpost-embedding法では孤立性の楕円形の顆粒として(写真4A)、凍結超薄切

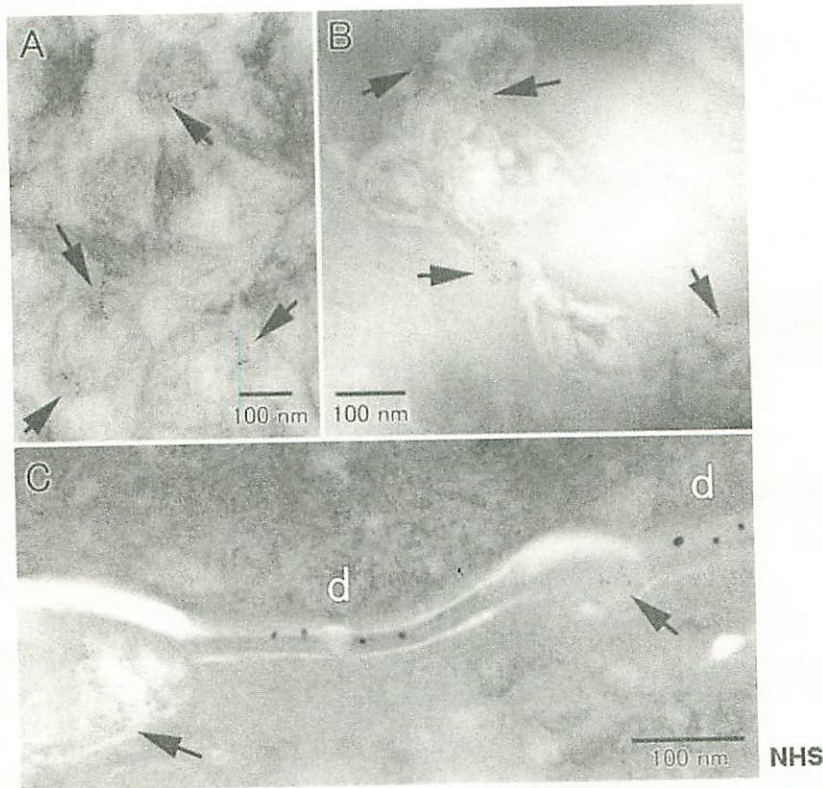


写真4-LEKTIは層板顆粒に含まれる分子で、細胞外に放出される。写真Cの大きな標識はデスモグレイン1。dはデスモゾーム

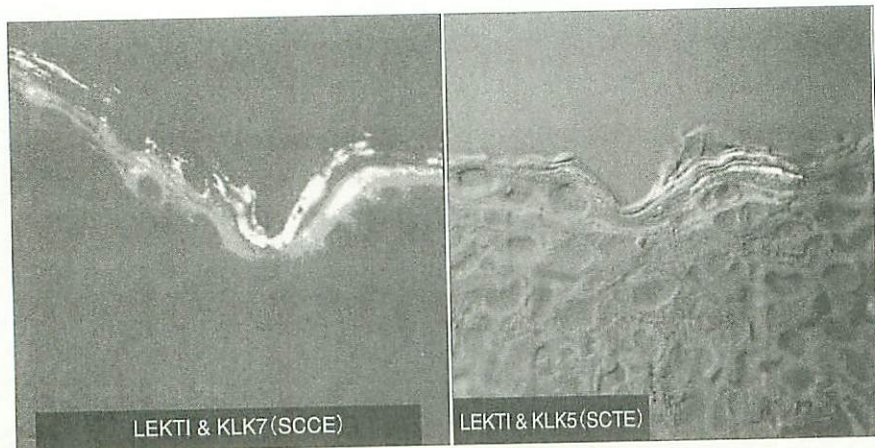


写真5-LEKTIは基質とされる蛋白分解酵素 (KLK7, KLK5) よりも角化細胞分化の早い段階で発現する。

片法では連珠状の構造としてみられるが(写真4B)、いずれの場合も顆粒の一部がLEKTI陽性であった。これまで培養角化細胞からLEKTIが培養液中に分泌されることが報告されている(Bitoun et al., 2003)。免疫電顕法によってLEKTIが顆粒層表層と角層の間で、細胞間に放出されていることが確認された(写真4C)。共焦点レーザー顕微鏡による観察では、LEKTIはKLK7やKLK5よりも分化の早い段階で発現していた(写真5)。

以上の結果から正常表皮とNS患者表皮における角層剥離の機構のモデルを図2のように考えた。すなわち、正常ではまずLEKTIが層板顆粒から分泌されて、あとから分

泌されるKLK5, KLK7によるデスモゾームの分解を一定期間阻止しているが、患者ではLEKTIが欠損しているためにデスモゾームは早期に分解しやすくなっている。

文献

- 1) Bitoun E, Micheloni A, Lamant L, et al : LEKTI proteolytic processing in human primary keratinocytes, tissue distribution and defective expression in Netherton syndrome. *Hum Mol Genet* 12 : 2417-2430, 2003
- 2) Chavanas S, Bodemer C, Rochat A, et al : Mutations in SPINK5, encoding a serine protease inhibitor, cause Netherton syndrome. *Nature Genetics* 25 : 141-142, 2000
- 3) Descargues P, Deraison C, Bonnart C, et al : Spink5-deficient mice mimic Netherton syndrome through degradation of desmoglein 1 by

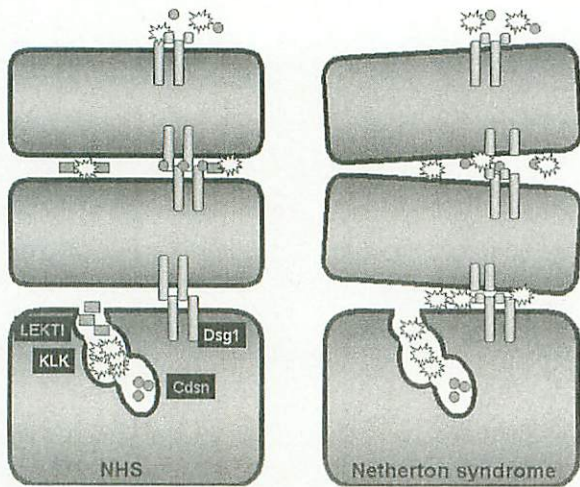


図2-正常表皮における角層剥離調節機構とNetherton症候群の発症機序のモデル

epidermal protease hyperactivity. *Nat Genet* 37 : 56-65, 2005

4) Ekholm IE, Brattsand M, Egelrud T : Stratum corneum tryptic enzyme in normal epidermis: a missing link in the desquamation process? *J Invest Dermatol* 114 : 56-63, 2000

5) 橋本喜夫, 石田明美, 松本光博ほか : Nonbullous Congenital Ichthyosiform Erythroderma の1例. *臨床皮膚科* 41 : 207-213, 1987

6) Komatsu N, Takata M, Otsuka N, et al : Elevated stratum corneum hydrolytic activity in Netherton syndrome suggests an inhibitory regulation of desquamation by SPINK5-derived peptides. *J Invest Dermatol* 118 : 436-443, 2002

7) Sondell B, Thornell L-E, Egelrud T : Evidence that stratum corneum chymotryptic enzyme is transported to the stratum corneum extracellular space via lamellar bodies. *J Invest Dermatol* 104 : 819-823, 1995

8) Tanimoto H, Underwood LJ, Shigemasa K, et al : The stratum corneum chymotryptic enzyme that mediates shedding and desquamation of skin cells is highly overexpressed in ovarian tumor cells. *Cancer* 86 : 2074-2082, 1999

DISCUSSION

石橋 たいへん明快なご研究で、ありがとうございました。思いつきなんです、表皮の場合には、外に垢として落ちていかなければなりませんから、ああいう酵素が必要だと思います。毛の場合もやはりそうなんではないでしょうか。つまりインヒビターがないと毛が折れちゃうのでしょうか？

山本 そうですね。

石橋 毛もやはり角層と同じように、本来はそれがないと折れちゃうようになっているんじゃないか。インヒビターがあるために伸びて行くに過ぎない。そういうことなんじゃないか。いかがでしょうか。ちょっと思いつきなんです。

山本 毛自体の形の異常もありますので、正常で起こっているアナジェン、カタジェン、テロジェンのサイクルが早まっているとかそういうのはまた違った、毛の脆弱性みたいなものがあるのかなと思います。

石橋 最近毛ではケラチンと、いま言ったそれをくっつけるものにKeratin-associated protein, KAPという蛋白が問題になっていますが、表皮の場合はそれがインボルクリンとかいくつかの異なった名称で呼ばれています。KAPの場合は番号が付いていて、そういった蛋白を番号違いのKADとして総括して取り扱おうという傾向にあると思います。ですからそれから見ると、お話のように表皮の角質層でははがれて、垢になって落ちてしまう。それを抑えるように

インヒビターがあるというわけですね。それが毛の場合も同じなんではないかと考えたわけです。毛ではケラチンがあって、KAPがあるわけで、それが外れると折れてしまう。それが折れないように、インヒビターが存在するのではないかと推測したという話なんですがいかがでしょう。

山本 毛でのSPINK5の発現とか、LEKTIのとか、見ていないのです。患者さんの材料もないですし、正常皮膚でのSPINK5とかそういったものもまだ検討したことがないので、Netherton症候群のモデルマウスが、Alain Hovnanian先生たちが作ったものがありますので、今後そういったものも、共同研究する機会があれば考えてみたいと思います。ありがとうございました。

眞鍋 角層がはがれやすくなるということの代償作用として角層が厚くなるかと考えておられるのですか。

山本 そうですね、厚くなっている部分はあるのですけれど、本質的には、早期剥離といいますか、Acantholysisにちょっと似たような変化が、表皮の顆粒層、角層の間で起きているというのが、本質だろうと。

眞鍋 文献的な情報で結構ですが、SPINK5のノックアウトマウスでも同じようなことが起こっているのですか。つまり、先生が形態学的に出された角質の下層の裂隙というのは、やはり、SPINK5のノックアウトマウスでも同じように見られ

るのですか。

山本 はい、2005年の『Nature Genetics』にAlain Hovnanian先生のグループの論文が出ていて、同じようにdesmosomeの非対称性のスプリットを観察して報告されています。

眞鍋 どうもありがとうございました。

須賀 あともう一つ、大磯先生、お願いいたします。

大磯 素晴らしいご発表をありがとうございました。ちょっとお教えいただきたいのですけれども、この患者さんのご両親はアトピー性皮膚炎を生じていましたでしょうか。それとも正常だったか。

山本 私が知る限りではカルテ上にそういう記載はなかったのですけれども、そういう目で患者さんの両親について詳しく皮疹を調べたりしていなかったと思うので、正確なお答えは現在できません。申し訳ないですけど。

大磯 ありがとうございました。

座長—須賀 康
順天堂大学医学部皮膚科

石橋康正
東京通信病院名誉院長

眞鍋 求
秋田大学医学部皮膚科

大磯直毅
近畿大学医学部皮膚科