

AMCoR

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

角化症研究会記録集 (2002.02) 16巻:60～62.

K1テイルドメインの変異によるIchthyosis hystrix

山本明美, SprecherE., RichardG.

14

K1テイルドメインの変異によるIchthyosis hystrix

山本明美

旭川医科大学皮膚科

E. Sprecher, G. Richard

ジェファーソン医科大学皮膚科：米国

Ichthyosis Hystrix caused by a mutation in the tail domain of K1

Yamamoto A

(Department of Dermatology, Asahikawa Medical College)

Sprecher E, Richard G

(Department of Dermatology, Jefferson Medical College, USA)

はじめに

Ichthyosis hystrix (IH) は、広範囲の皮膚が厚い棘状や疣状の角質で覆われることを主徴とする角化症症例に用いられる病名であり、異なる原因の疾患が含まれている。この中で、Curth-Macklin型 (IHCM) は常染色体優性遺伝性疾患で、特徴的な電顕所見を呈する。角化細胞のケラチン線維がトノフィブリルをつくらず、フェルト状の細線維の集塊として殻状に核を囲む。過去に本症の1家系での連鎖解析では、ケラチン遺伝子は原因から除外されている¹⁾。われわれはそれまで Vohwinkel's keratoma hereditarium mutilans と診断されていた1家系が実際には IHCM であり、さらにその原因が K1 のテイルドメインの変異であることを発見したので報告する。加えてその K1 変異によるロリクリンの細胞内局在の異常もみられたので報告する。

症 例

症例は3代にわたるアフリカ系アメリカ人の1家系で、常染色体優性遺伝性に4歳から54歳までの男性2名、女性3名が発症していた(写真1a)。発症は生後6ヵ月から3歳で、いずれも足底のび漫性の角質肥厚、手掌の線状の角化性病変、関節背面の角化性丘疹がみられた(写真2)。1例では背部にも癒合傾向のある角化性丘疹がみられた。2例では足趾の紋扼輪の形成もみられた。病理組織ではまれに2核の角化細胞も観察された。なお、この家系は過去に Vohwinkel's keratoma hereditarium mutilans として報告されていた家系と同一である²⁾。

写①
p. 114

写②
p. 114

方 法

電顕、免疫電顕はすでに報告した方法によった³⁾。連鎖解析には、染色体1q21, 12q11-q13, 17q21, 18q12の20個のpolymorphic microsatellite markerを用いてhaplotypeを解析し、multipoint LOD scoreを算出した。遺伝子変異の検出には、患者材料からPCRによりタイプIIのケラチン遺伝子のうち、K6a, K6bのcDNA, K1のgenomic DNAを増幅し、塩基配列を決定した。検出された変異はallele-specific PCRにより検証した。

結 果

電顕的に患者表皮の角化細胞は基底層では正常であるが、その直上の細胞から胞体内のケラチン線維がトノフィブリルを形成せず、フェルト状の殻のような構造をとり、細胞辺縁に分布していた(写真3)。細胞膜上では

写③
p. 114

デスモゾームに付着していた。これらがケラチンであることは、免疫電顕でケラチン抗体陽性であることから確認された。以上から、本例をIHCMと診断した。

連鎖解析から、本家系では染色体1q, 17q, 18qには疾患遺伝子は存在しないことがわかった。12qのマーカーD12S1622とはLOD score 1.5で連鎖が示唆された。12qにはタイプIIケラチンの遺伝子がのっているが、このうち、K6a, K6bの患者cDNAには病原性のある変異はみつからなかった。K1のgenomic DNAでは罹患者のみにV2ドメインをコードする部分にheterozygousな5191GG->A変異がみつかった(写真1b)。これにより読み枠が変わり、229bp下流に早期停止コドンが出現する(写真4)。この結果、患者は野生型K1の他に、hydrophilicなグリシンに富むV2ドメインが、グリシンに乏しいhydrophobicな配列に置き換わった変異型K1を発現することになる。allele-specific PCRによってこの変異は、正常人ではみられず、患者のみに起きていることも確認された(写真1a)。

写④ (写真4)。この結果、患者は野生型K1の他に、hydrophilicなグリシンに富むV2ドメインが、グリシンに乏しいhydrophobicな配列に置き換わった変異型K1を発現することになる。allele-specific PCRによってこの変異は、正常人ではみられず、患者のみに起きていることも確認された(写真1a)。

ケラチンのグリシンに富むドメインは、ロリクリンの同様のドメインと相互作用することが示唆されているため⁴⁾、ロリクリンの局在を免疫電顕にて調べた。すでに報告したように、正常表皮の顆粒層最上層でロリクリンはデスモゾームのアタッチメントプラーク上に集積するが³⁾、患者ではデスモゾーム部分以外の細胞膜上に局在していた(写真5)。デスモゾーム上のロリクリン標識が全細胞膜上の標識に占める割合は正常では 0.66 ± 0.016 、患者では 0.30 ± 0.013 であり、有意に低下していた($p < 0.0005$)。また、通常電顕では、正常表皮では辺縁帯形成の際にデスモゾームのアタッチメントプラークの電子密度が高くなるが³⁾、患者ではこの傾向も失われていた(写真6)。

写⑤ (写真5)。デスモゾーム上のロリクリン標識が全細胞膜上の標識に占める割合は正常では 0.66 ± 0.016 、患者では 0.30 ± 0.013 であり、有意に低下していた($p < 0.0005$)。また、通常電顕では、正常表皮では辺縁帯形成の際にデスモゾームのアタッチメントプラークの電子密度が高くなるが³⁾、患者ではこの傾向も失われていた(写真6)。

写⑥ (写真6)。患者ではこの傾向も失われていた(写真6)。

考 案

今回われわれは、K1遺伝子のフレームシフト変異によ

りグリシンリッチなテイルドメインが変化することによって発症したIHCMの1家系を発見した。患者表皮ではK1発現細胞のケラチン線維は異常となっており、この変異がケラチン線維束の三次元構造にdominant negative効果をもつことが示された。

K1やK10のグリシンに富むドメイン(グリシンループ)は、ロリクリンの同様のドメインと相互作用するという仮説が提唱されている⁴⁾。ロリクリンは角化細胞辺縁帯の主成分であるが、現時点ではどのような機序で細胞膜の近傍に運ばれるのか不明である。過去にわれわれは、ロリクリンがデスモゾームのアタッチメントプラークに集積することを報告した³⁾。今回、K1テイルドメインに変異をもつ患者角化細胞においてこの傾向が失われていたことから、ケラチンとロリクリンの相互作用、とくそのグリシンリッチドメインを介するものがロリクリンの細胞内局在を決めている可能性が示唆された。なお、本研究の詳細は別に報告した⁵⁾。

文 献

- 1) Bonifas JM, Bare JW, Chen MA et al: Evidence against keratin gene mutations in a family with ichthyosis hystrix Curth-Macklin. *J Invest Dermatol* 101: 890-891, 1993
- 2) Cole RD, McCauley MG, Way BH: Vohwinkel's keratoma hereditarium mutilans. *Int J Dermatol* 23: 131-134, 1984
- 3) Ishida-Yamamoto, Eady RAJ, Wat FM et al: Immunoelectron microscopic analysis of cornified cell envelope formation in normal and psoriatic epidermis. *J Histochem Cytochem* 44: 167-175, 1996
- 4) Steinert PM, Mack JW, Korge BP et al: Glycine loops in proteins: their occurrence in certain intermediate filament chains, loricrins and single-stranded RNA binding proteins. *Int J Biol Macromol* 13: 130-139, 1991
- 5) Sprecher E, Ishida-Yamamoto A, Becker OM et al: Evidence for novel function of the keratin tail emerging from a mutation causing ichthyosis hystrix. *J Invest Dermatol* 116: 511-519, 2001

DISCUSSION

今門 ご質問をお願いいたします。

高橋 ドミナントネガティブが起こるのはなぜだとお考えですか。

山本 ピーター・スタイナーからも共同研究に入っていただき、ケラチン線維が重合して中間径線維をつくるかどうかを検討したのですが、一応10nmの線維はつくり、形態的にも認められます。しかし、そこからどうもスパイク状に変なアミノ酸を持って

いるテイルが突き出ているような状態になるので、それがドミナントネガティブ効果を起こすのではないかと思います。ただ、それ以上はわかりません。

高橋 私たちも、ケラチン14のテイルも同じような働きをしていて、ケラチン14がケラチン14側の蛋白にうまく巻き込むようにして太い線維をつくるのではないかと、いま検討しているところです。先生のもは

タイプ1ケラチンですが、テイルドメインにはそういう機能があるのかなと思いました。

もう一つは、結局この診断はコース・マクリーンタイプになるのですね。

山本 それもheterogeneityがあつて、たとえば、この家系では掌蹠が非常に冒されていますが、そうではない家系もあります。ケラチンの遺伝子座が除外された家系はそ

うでした。すべてがケラチン1ではなく、違う症例もおそらくあると思います。

高橋 インタラクトする同士の蛋白みたいなかたちになりそうですか。

山本 そうですね。先生がクローニングされているようなケラチン結合蛋白の中のどれかが別の家系で異常なのではないでしょうか。探してください。

須賀 最初はVohwinkel症候群という診断がついていたということでした。しかしながら、ケラチン1のテイルドメインの変異でロリクリンが辺縁帯をつくることに対して足場が奪われるということでしたが、実際は辺縁帯がつくられているわけですね。そのあたりはどうお考えですか。

山本 表現型はたまたまロリクリンのミューテーションのものと似ていますが、必ずしもロリクリンが異常になることでその表現型をつくるのではないと思っています。報告の後半は、ロリクリンが辺縁体はどう移行することができるのかに興味があったので調べただけで、病態を説明するものではないと思っています。

須賀 ロリクリンの移行の障害では説明できないと。

山本 それはできないと思います。

長島 非常に珍しい症例をありがとうございました。カース・マクリーンタイプの症例は報告も少ないですね。

昔話で申し訳ないのですが、30年ほど前に『皮膚科学大系』を書いたときに、顆粒変性に非常に興味を持っていました。この組織は、その当時顆粒変性と非常に似ていると注目されていたもので、2核が出てくる非常に特徴的な組織です。そういう面で文献的にカース・マクリーンはよく知っていましたから『皮膚科学大系』にも書きました。その後、10年くらい前に関西医大から日本の症例が出ましたが、残念ながらペーパーになっていない。ただ、角化症研究会の記録にはありますので、参考にさせていただきたいと思います。申し上げたいのは、少なくともこの10年間にこうした仕事が出てきた。角化症に限らずすべての面でものすごい進歩がある。そんなことを感じましたので、一言追加させていただきました。

もう一つ、これはお願いですが、プログラムをみると表題に「Ichthyosis hystrix」としか書いていない。最初にみたとき、この表題で先生は何を述べられるのかなと思いました。そもそもIchthyosis hystrixという病名はあまり使わない。カース・マクリーンならばOKです。ですから、そういうタイプということをはっきり演題に書いていただきたい。そうすれば私ももう少し勉強してきたところです。

山本 すみません。Ichthyosis hystrix・Curth-Macklinタイプと書くべきでした。

座長—今門純久
筑波大学医学専門学群臨床医学系皮膚科

高橋健造
群馬大学医学部皮膚科

須賀 康
順天堂大学医学部皮膚科

長島正治
杏林大学名誉教授

13. WAVE®による常染色体劣性魚鱗癬の変異スクリーニング

写真1-WAVE®核酸フラグメント解析システム

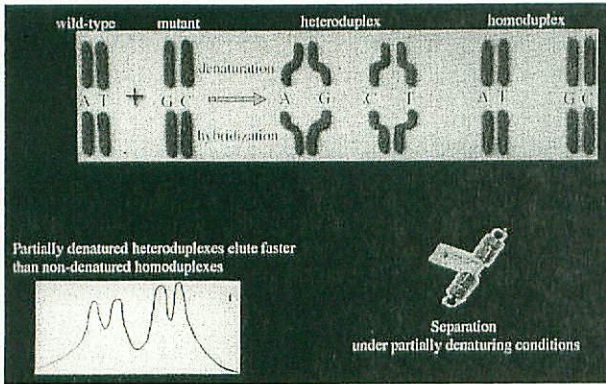


写真2-今回スクリーニングを実施した症例

	age	clinical diagnosis	Institute	conf.
Case 1	1 m.o.	LI	磐城共立Hp	演題11
Case 2	3 y.o.	CIE	京府医大	第11回角化症研究会
Case 3	67 y.o.	CIE	大阪日赤	京滋地方会
Case 4	19 y.o.	LI	岡山大学	第13回角化症研究会



Session—VI

14. K1テイルドメインの変異による Ichthyosis hystrix

写真1-a: 家系図と allele-specific PCR
b: K1遺伝子塩基配列

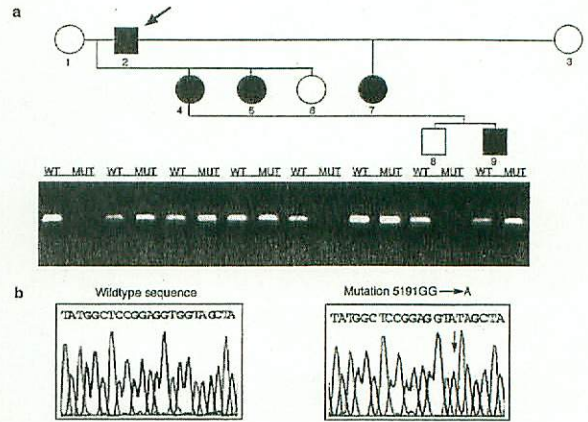


写真2-臨床像と皮膚病理組織像

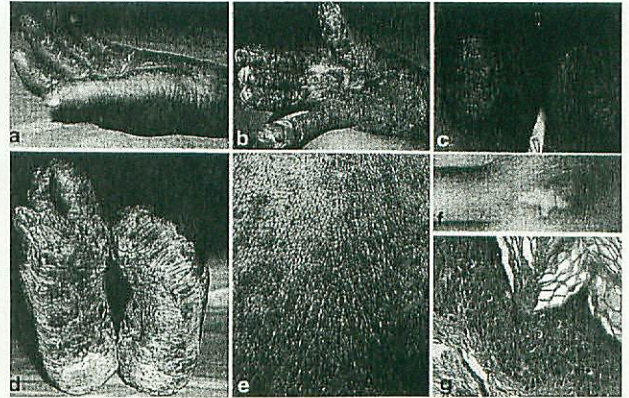


写真3-患者表皮有棘細胞の電顕像

a: 核(N)周囲に空胞化(*印)がみられ、その外側にフェルト状の細線維がみられる。四角を囲った部分を拡大しbに示す。
b: 細線維はデスモゾーム(d)につながっている。

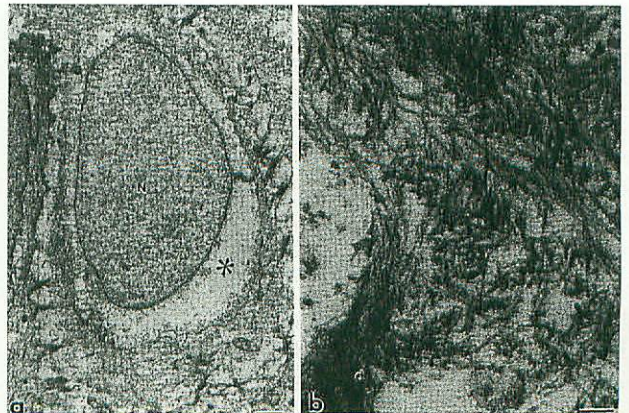


写真4-野生型および変異型のK1のアミノ酸配列

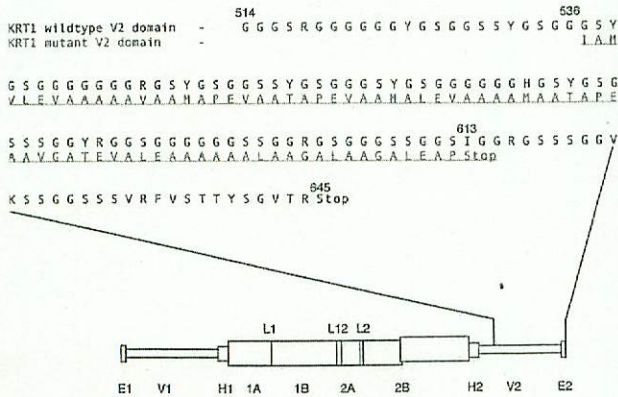


写真5-ロリクリンの免疫電顕。患者 (IHCM) と正常人 (NHS) の表皮顆粒層上層
d: デスモゾーム

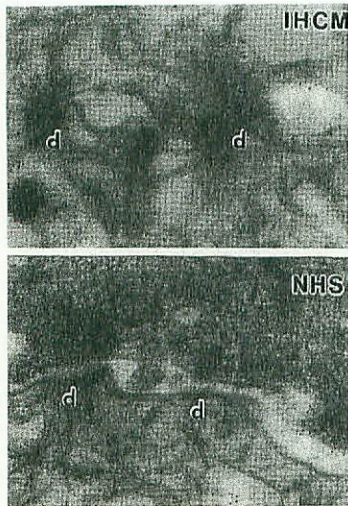
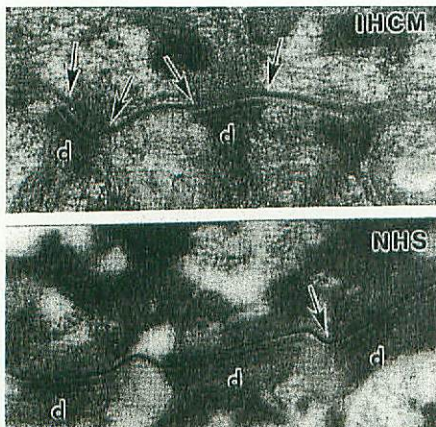


写真6-通常電顕。患者 (IHCM) を正常人 (NHS)。矢印で電子密度の高い辺縁帯を示す。d: デスモゾーム



15. 変異MK6aトランスジェニックマウスの phenotype

写真1-生後1日目の $\Delta 2B$ -Pトランスジェニックマウス(右)

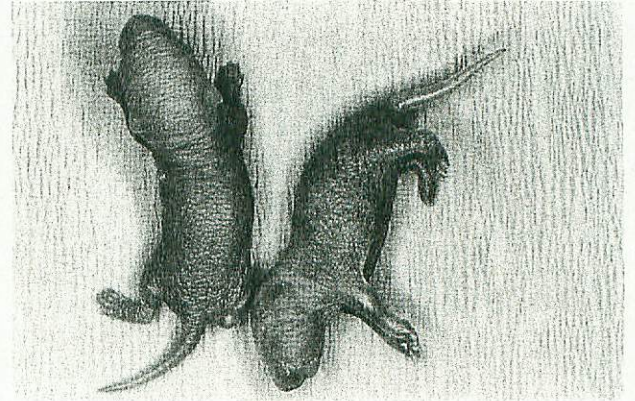


写真2- $\Delta 2B$ -Pトランスジェニックマウスの病理組織像



写真3- $\Delta 2B$ -Pマウスの表皮内水疱を形成した部分の抗体染色

