

Keratin 1 Gene Mutation Detected in Epidermal Nevus with Epidermolytic Hyperkeratosis

(顆粒変性を伴った表皮母斑にみられたケラチン 1 遺伝子変異)

学位論文内容の要旨

背景:ケラチンは表皮角化細胞に豊富に発現する中間径線維で細胞骨格をなす。ケラチン 1 はタイプ II ケラチンで、ペアであるタイプ I ケラチンのケラチン 10 と共にヘテロダイマーを形成している。ケラチン 1 の遺伝子変異は水疱型先天性魚鱗癬様紅皮症 (Bullous congenital ichthyosiform erythroderma:BCIE) や掌蹠角化症にて報告されている。一方、ケラチン 10 ではそれらの疾患としての報告の他、少数ながら表皮母斑でモザイク型の遺伝子変異として報告されている。表皮母斑は褐色調の角化した疣状の丘疹や結節が片側性に多発し、Blaschko line に沿って列序性に配列し、一部の症例では組織学的に BCIE にみられる顆粒変性を伴う。顆粒変性を伴う表皮母斑はその臨床像と組織像から分化型のケラチンのモザイク変異から起こると仮定されており、実際、これまでケラチン 10 のモザイク型の遺伝子変異として 4 症例が報告されている。しかし、ケラチン 1 での報告はみられていない。

研究の目的:顆粒変性を伴った表皮母斑についてケラチンの遺伝子変異を調べ、疾患の原因を検索し、臨床像との関連を考察する。また、免疫染色により、ケラチン 1 および 10 の発現や、他のケラチンの代償性の発現について調べる。

実験の方法:組織学的に顆粒変性を伴った表皮母斑の 10 歳の男児の皮疹部組織と末梢血、および両親の末梢血にてケラチン 1、10 の遺伝子検索を行った。皮疹部組織において、ケラチン 1 と 10、2e の免疫染色を行った。

結果:ケラチン 1 のすべてのエクソンおよびイントロンとの境界部について遺伝子検索を行ったところ、患者皮疹部の gDNA にて、イントロン 1 の 591+2 の部位にヘテロでチミンがアデニンに置き換わる変異 (c.592+2T>A) がみられた。この変異は患者血液細胞や他の家族の血液細胞からの gDNA では認められなかった。ケラチン 1 の他のエクソン/イントロンやケラチン 10 遺伝子において変異はみられなかった。変異の確認には mutant allele-specific amplification analysis (MASA 法) を行った。また、c.592+2T>A は正常な 100 alleles にて認められなかったため、polymorphism は否定された。表皮免疫染色を行ったところ、ケラチン 1 では正常より弱い染まりが認められ、ケラチン 2e では通常より下層までの基底層上の広い範囲に染色がみられた。

考察:今回確認されたケラチン 1 遺伝子変異は、スプライシング供与部位の変異 c.591+2T>A であった。この変異は過去に掌蹠角化症として報告されており、本症例はそのモザイク型であった。過去の掌蹠角化症の報告では、mRNA レベルでは H1 と 1A ドメインにおける 22 アミノ酸の欠失 (p.Val175_Lys196del) をおこしていることを示されており、臨床的には体の一部に軽度の過角化をおこしているのみであった。本症例も同様のアミノ酸欠失がおこっていると考えられるが、病変部の皮疹の程度は過去の報告例に比べやや重篤であった。免疫染色からは、ケラチン 1 の変異により代償的にケラチン 2e が基底層上の広い範囲に出現していることがわかった。

結論:ケラチン 10 のみならず、ケラチン 1 のモザイク型の変異にて顆粒変性を伴う表皮母斑を起し得ることがわかった。もし、すべての表皮細胞に今回の変異が起きていたら、体の一部に過角化を伴った掌蹠角化症の臨床像を呈していたと予想される。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 有 賀 正
副 査 教 授 岩 永 敏 彦
副 査 教 授 清 水 宏

学 位 論 文 題 名

Keratin 1 Gene Mutation Detected in Epidermal Nevus with Epidermolytic Hyperkeratosis

(顆粒変性を伴った表皮母斑にみられたケラチン 1 遺伝子変異)

ケラチンは表皮角化細胞に豊富に発現する中間径線維で細胞骨格をなす。ケラチン 1 (K1) はタイプ II ケラチンで、ペアであるタイプ I ケラチンのケラチン 10 (K10) と共にヘテロダイマーを形成している。K1 の遺伝子変異は水疱型先天性魚鱗癬様紅皮症 (Bullous congenital ichthyosiform erythroderma: BCIE) や掌蹠角化症にて報告されている。一方、K10 では BCIE の報告の他、少数ながら表皮母斑でモザイク型の遺伝子変異として報告されている。表皮母斑は褐色調の角化した疣状の丘疹や結節が片側性に多発し、Blaschko line に沿って列序性に配列し、一部の症例では組織学的に BCIE にみられる顆粒変性を伴う。顆粒変性を伴う表皮母斑はその臨床像と組織像から分化型のケラチンのモザイク変異から起こると仮定されており、実際、これまで K10 のモザイク型の遺伝子変異として 4 症例が報告されている。しかし、K1 での報告はみられていない。

今回、我々は顆粒変性を伴った表皮母斑についてケラチンの遺伝子変異を調べ、疾患の原因を検索し、臨床像との関連を考察するべく、10 歳の男児の皮疹部組織と血液細胞、および両親の血液細胞にて K1、K10 の遺伝子検索を行った。また、皮疹部組織において、K1 と K10、ケラチン 2e (K2e) の免疫染色を行った。

結果、K1 のすべてのエクソンおよびエクソン/イントロン境界部について遺伝子検索を行ったところ、患者皮疹部の gDNA にて、イントロン 1 の 591 + 2 の部位に heterozygous でチミン (T) がアデニン (A) に置き換わる変異 (c.592+2T>A) がみられた。この変異は患者血液細胞の gDNA では認められなかったため、モザイク型であることがわかった。また、両親の血液細胞の gDNA について検索したが、変異は認められなかった。尚、K1 の他のエクソンおよびエクソン/イントロン境界部や K10 遺伝子において変異はみられなかった。変異の確認には mutant allele-specific amplification analysis (MASA 法) を行った。また、c.592+2T>A は正常な 100 alleles にて認められなかったため、polymorphism は否定された。表皮免疫染色を行ったところ、K1 では正常より弱い染まりが認められ、K2e では通常より下層までの有棘層、顆粒層の広い範囲に染色がみられた。

今回確認された K1 遺伝子変異は、スプライシング供与部位の変異 c.591+2T>A であった。この変異は過去に掌蹠角化症として報告されており、本症例はそのモザイク型であった。過去の掌蹠角化症の報告では、mRNA レベルでは H1 と 1A ドメインにおける 22 アミノ酸の欠失 (p.Val175_Lys196del) をおこしていることが示されており、臨床的には体の一部に軽度の過角化をおこしているのみであった。本症例も同様のアミノ酸欠失がおこしていると考えられるが、

病変部の皮疹の程度は過去の報告例に比べやや重篤であった。免疫染色からは、K1 の変異によって、代償的に K2e が基底層上の広い範囲に出現していることがわかった。

今回の変異はモザイク型であったが、もし、すべての表皮細胞に今回の変異が起きていたら、過去の報告と同様に体の一部に過角化を伴った掌蹠角化症の臨床像を呈していたと予想される。

主査の有賀正教授からは K10 の遺伝子変異による表皮母斑にて免疫染色を行った症例はあったか、同じ変異でモザイクではない既報告例の臨床像と今回の臨床像とはかなり違っているが、その理由についての質問が、副査の岩永敏彦教授からは病変部での K1 はすべて異常な K1 なのか、また K1 の変異において、K2e が代償的に発現しているという他の論文はあるかとの質問があった。最後に、副査の清水宏教授からは、今後、患者さんの子供に変異が遺伝する可能性と対処法についての質問があり、申請者は大概適切な回答をした。

この論文は、K10 のみならず、K1 のモザイク型遺伝子変異においても表皮母斑を呈することが証明された点で高く評価され、今後、それに伴うケラチンの代償的発現や臨床像との関連などについて明らかにされてゆくことが期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院過程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。