

## Mini Review

# 若年発症サルコイドーシスとNOD2

## 本邦報告 10 例の遺伝子解析のまとめ

神戸直智<sup>1)</sup>, 西小森隆太<sup>2)</sup>, 金澤伸雄<sup>1)</sup>, 岡藤郁夫<sup>2)</sup>, 藤澤章弘<sup>1)</sup>,  
平家俊男<sup>2)</sup>, 中畑龍俊<sup>2)</sup>, 宮地良樹<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>京都大学大学院医学研究科皮膚科学

<sup>2)</sup>京都大学大学院医学研究科発達小児科学

*Early-onset sarcoidosis and NOD2: Summary on genetic analysis of Japanese 10 cases*

Early-onset sarcoidosis (EOS) is juvenile-onset systemic granulomatosis that mainly affects skin, joints and eyes. Recent discovery of NOD2 mutations in the familial systemic granulomatosis, Blau syndrome, encouraged us to investigate NOD2 mutations in EOS patients reported in Japan. Among 10 cases, heterozygous missense mutations were found in 9 cases; 4 showed R334W that has been typically reported in Blau syndrome, and 5 showed novel H496L, M513T, T605P, N670K, and D382E. All these 6 variants of NOD2 showed increased nuclear factor (NF)- $\kappa$ B activity without its ligand, such as muramyl dipeptide. These findings indicate that the majority of EOS cases reported in Japan shows the genetic etiology of NOD2 mutations that cause constitutive NF- $\kappa$ B activation.

Rec.11/11/2004, Acc.12/27/2004, pp169-172

Naotomo Kambe<sup>1)</sup>, Ryuta Nishikomori<sup>2)</sup>, Nobuo Kanazawa<sup>1)</sup>, Ikuo Okafuji<sup>2)</sup>, Akihiro Fujisawa<sup>1)</sup>,  
Toshio Heike<sup>2)</sup>, Tatsutoshi Nakahata<sup>2)</sup> and Yoshiki Miyachi<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Dermatology, <sup>2)</sup>Department of Pediatrics,  
Kyoto University Graduate School of Medicine

**Key words** 若年発症サルコイドーシス, ブラウ症候群, NOD2

### 若年発症サルコイドーシス

サルコイドーシスは、組織学的に非乾酪性類上皮細胞肉芽腫からなる病変を多臓器に認める、未だ原因不明の全身性炎症性疾患である。一方、4歳以前に発症する若年発症サルコイドーシス (Early-onset sarcoidosis) は、ブドウ膜炎、発疹 (図1)、関節炎を3主徴とし、成人型サルコイドーシスに認められる肺門部リンパ節腫脹を特徴とする肺病変を欠く。若年発症サルコイドーシスにおいては、若年性関節リウマチとの鑑別が重要となる関節炎の頻度が高く、失明、関節拘縮な、臨床的には予後不良の経過をたどる。

### ブラウ症候群

1985年Blauは、ブドウ膜、関節、皮膚を4世代に渡って侵す家族性肉芽腫性疾患を報告した<sup>1)</sup>。1990年Pastoresらは、同様の症状を呈する母娘を報告する際、Blauの報告例と同様の疾患群であると考え、ブラウ症候群 (MIM#186580) の名を与えた<sup>2)</sup>。その遺伝形式は常染色体優性で、家系分析より16番染色体 (16p21-q21) に責任遺伝子が存在することが明らかにされ、さらに消化管における類上皮細胞肉芽腫を特徴とするクローン病の原因遺伝子 (IBD1) がほぼ同じ領域に存在することから、ブラウ症候群との関連が疑われた。2001年、クローン病においてNOD2 (CARD15) 遺

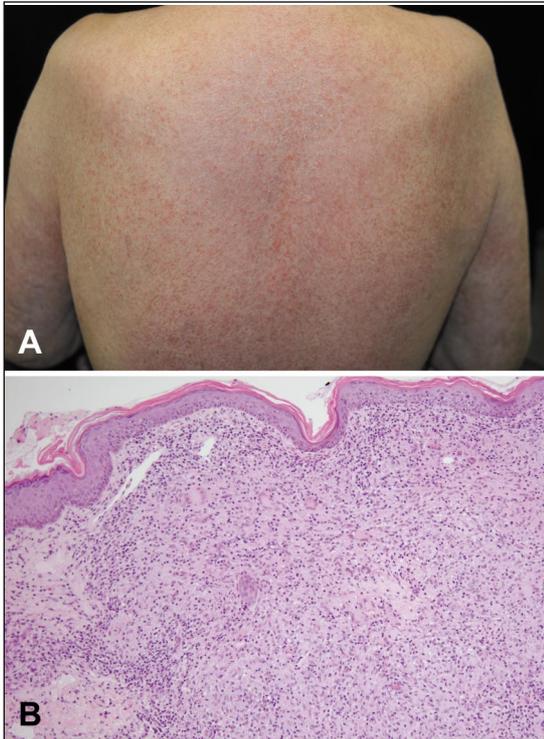


図1 背部の紅斑性皮疹(A)と真皮に著明な類上皮細胞性肉芽腫を認める皮膚病理組織所見(B)

伝子の変異が確認されると<sup>3,4)</sup>, Miceli-Richardらにより, ブラウ症候群4家系の検討が行われ, 本症においてもNOD2に3つの遺伝子変異が確認された<sup>5)</sup>.

## NOD2

NOD2はアポトーシス, 炎症において, その役割が近年解明されつつあるNODファミリー分子の一つである<sup>6)</sup>. NODファミリー分子は, 線虫において分化過程でのプログラム死に必須であるCED-4と, そのほ乳類ホモログであり, アポトーシスの重要な調整因子の一つであるAPAF1(apoptosis protease activating factor 1)が, まず報告された. さらに, APAF1/CED-4のホモログをデータベースから検索することによって, NOD1とNOD2が同定された. 今日ヒトにおいては, NODファミリーとして20以上の分子が知られている(図2).

NOD2は主として単球, マクロファージに発現しており, 細胞質内に分布する. 1040個のアミノ酸よりなり, N末端より蛋白質間相互作用に重要な2個のCARD(caspase recruitment domain)領域, 重合化に関係するNOD(nucleotide oligomerization domain)領域, そしてC末端にはToll様受容体(Toll-like receptor; TLR)の細胞外ドメインとして微生物の特徴的なパターン認識にも関与しているLRR

(leucine rich repeat)が存在し, NOD2においては細菌の細胞壁構成成分であるmuramyl dipeptide(MDP)を認識する(図3). 活性化されたNOD2は, CARD領域がcaspase 1の活性化を介して炎症性サイトカインであるIL-1の活性化に関与するとともに, 重合するRICKを介してNF- $\kappa$ Bを活性化する. すなわち, NOD2は細菌由来成分のセンサーとして細胞内に存在し, NF- $\kappa$ Bへ刺激を伝達する.

クローン病に認められるNOD2の変異がL1007fsinsC, G908R, R702WとLRR領域, あるいはその近傍に位置し, NF- $\kappa$ Bの活性を減少させる機能消失性変異であるのに対して, ブラウ症候群では, R334W, R334Q, L469FとNOD領域に3種類の突然変異が報告されており, これらはMDPなどのリガンド非依存性にNF- $\kappa$ Bの活性を増強する.

## 若年発症サルコイドーシス本邦報告例での検討

若年発症サルコイドーシスがブラウ症候群と同様の病状を呈することに注目し, われわれは本学倫理委員会の承認(承認番号G69)を得て, 当科にて経過観察中の若年発症サルコイドーシス1例を検討し, ブラウ症候群で典型的にみられるNOD2遺伝子変異(R334W)を確認し, 報告した<sup>7)</sup>. これを契機に, 本邦での若年発症サルコイドーシス報告例を集積し, 同意の得られた9例についてさらにNOD2遺伝子変異の有無を検討した<sup>8)</sup>.

その結果, 上記の1例を含め4例にブラウ症候群で典型的に確認されるR334Wの変異を, 他の5例においては新規の変異であるH496L, M513T, T605P, N670K, D382Eを確認した(図3). なお, D382Eが確認された症例においては, この変異に加え, 別のアレルにクローン病において機能消失性変異として報告されているA612Tを有していた. このA612Tは今回われわれが検討した健常者100人におけるNOD2遺伝子のスクリーニングにおいても, 1アレルで確認された. 一方, 若年発症サルコイドーシスとして報告されていたが, 肺野病変と肝に著明な肉芽腫病変を認めた1例ではNOD2の変異は認められなかった.

さらに若年発症サルコイドーシスにおいて確認された遺伝子変異を伴ったNOD2のNF- $\kappa$ B活性化能を, ルシフェラーゼを用いたレポーター・アッセイにて検討したところ, R334Wを含めH496L, M513T, T605P, N670K, D382EのいずれにおいてもNF- $\kappa$ B活性化の上昇が確認された. また, D382EとA612Tを同時に遺伝子導入した際にも, NF- $\kappa$ Bの活性が上昇することが確認された(図3).

以上の結果は, 本邦で報告された若年発症サルコイドーシスの大部分は, 機能獲得性のNOD2遺伝子変異が病因として重要であることを示唆する.

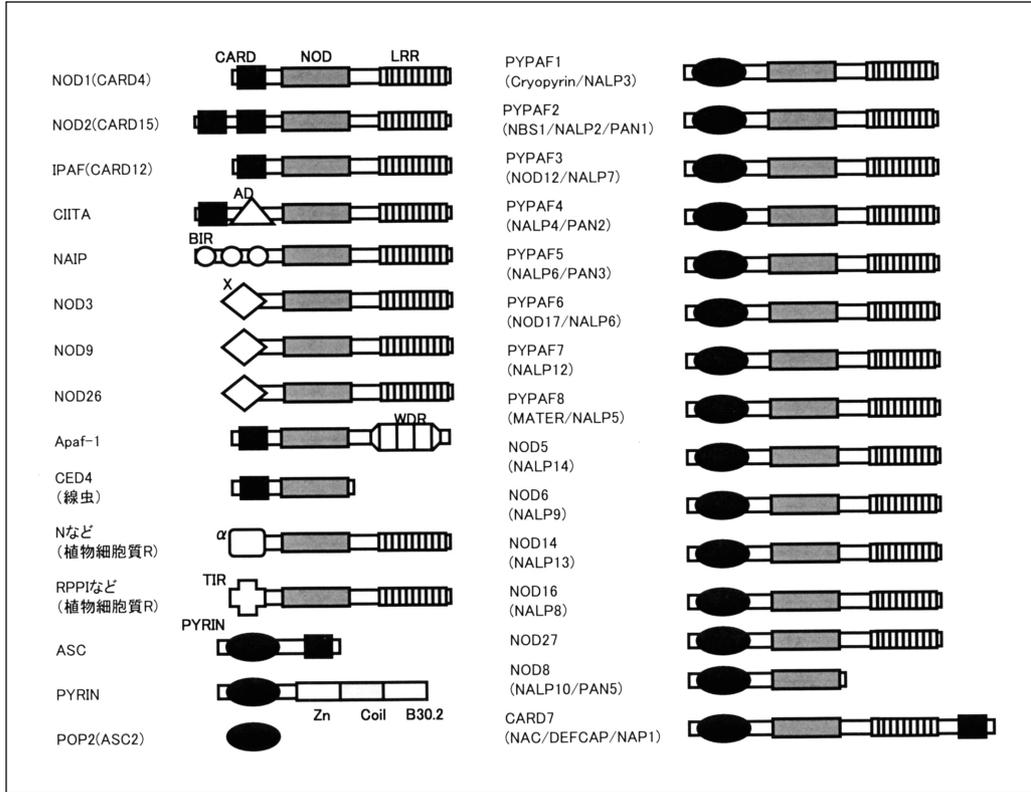


図2 NODファミリー

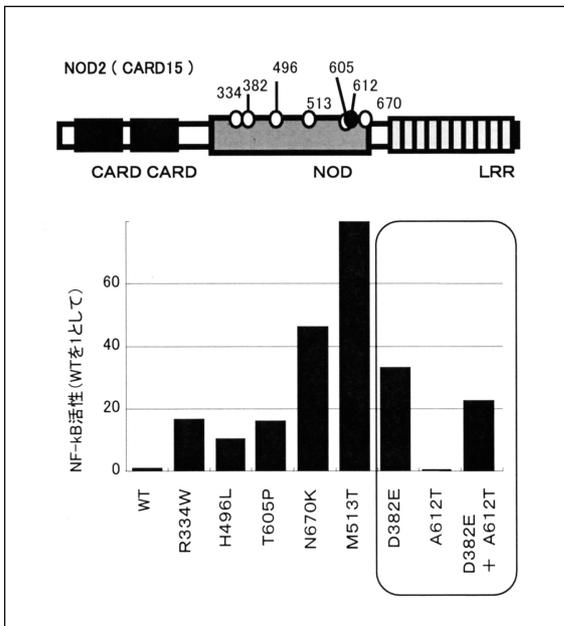


図3 NOD2の模式と若年発症サルコイドーシスで確認された変異の位置およびNF-κB活性

レポーター・アッセイで、R334Wを含めH496L, M513T, T605P, N670K, D382EのいずれにおいてもNF-κB活性化の上昇が確認された。D382EとA612Tを同時に遺伝子導入した際にも(枠線内), NF-κBの活性が上昇する。

### 今後の展望

若年発症サルコイドーシスの症例において、機能獲得性のNOD2遺伝子変異が確認できたものの、この変異が類上皮細胞肉芽腫の出現を特徴とする病気の発症に如何に結びついているかは、未だ不明である。

クローン病においては、NF-κBの活性が減少するという機能消失性の遺伝子変異を持つにもかかわらず、類上皮細胞肉芽腫の出現というブラウ症候群と同様の形質を呈することが疑問とされてきた。しかし最近、NOD2遺伝子を欠損するマウスを用いた解析から、NOD2がTLR2のnegative regulatorとして機能していることが報告され、クローン病においては、NOD2の機能が消失するためにnegative feedbackが抑制され、結果としてTLR2を介した系でNF-κBが上昇することが疾患に結びついているのではないかと推測されている<sup>9)</sup>。

一方、成人に認められる通常のサルコイドーシスにおいては、その発症と*Propionibacterium acnes*との関連が注目されている<sup>10)</sup>。NOD2がLRRを介して微生物の特異的モチーフを認識する一連の分子の一つであることを考えると、*P. acnes*など細菌抗原を認識する際に生じるNF-κBなどの免疫活性化に至るシグナル経路の異常が、その発症に関与しているのではないだろうか。

現在われわれは、NF-κBの活性化がどのような形で肉

芽腫形成を引き起こしているのかという問いに答えるべく,さらなる検討を加えている.

## 謝 辞

症例の集積および解析にご協力して頂いた,松島佐都子,宇谷厚志(京都大学皮膚科)中田真美(同小児科),長井苑子(同呼吸器内科),錦織千佳子(神戸大学皮膚科),堤裕幸(札幌医科大学小児科),藤原幾磨(東北大学小児科),小林浩子(福島県立医大第2内科),藤明彦(精霊病院消化器内科,名古屋市),櫻井嘉彦,中島充(奈良県立医大小児科),湯浅武之助(ゆあさ眼科医院,大阪市)萬木章(岡山大学小児科)各先生方に感謝します.

また,同様の症例を経験された先生がおられましたら,是非ご一報をお願い申し上げます.

## 文 献

- 1) Blau EB: Familial granulomatous arthritis, iritis, and rash. *J Pediatr*, 107: 689-693, 1985.
- 2) Pastores GM, Michels VV, Stickler GB, Su WP, Nelson AM, Bovenmyer DA: Autosomal dominant granulomatous arthritis, uveitis, skin rash, and synovial cysts. *J Pediatr*, 117: 403-408, 1990.
- 3) Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cezard JP, Belaiche J, Almer S, Tysk C, O'Morain CA, Gassull M, Binder V, Finkel Y, Cortot A, Modigliani R, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Macry J, Colombel JF, Sahbatou M, Thomas G: Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*, 411: 599-603, 2001.
- 4) Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, Britton H, Moran T, Karaliuskas R, Duerr RH,

Achkar JP, Brant SR, Bayless TM, Kirschner BS, Hanauer SB, Nunez G, Cho JH: A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*, 411: 603-609, 2001.

- 5) Miceli-Richard C, Lesage S, Rybojad M, Prieur AM, Manouvrier-Hanu S, Hafner R, Chamaillard M, Zouali H, Thomas G, Hugot JP: CARD15 mutations in Blau syndrome. *Nat Genet*, 29: 19-20, 2001.
- 6) Inohara N, Nunez G: NODs: intracellular proteins involved in inflammation and apoptosis. *Nat Rev Immunol*, 3: 371-382, 2003.
- 7) Kanazawa N, Matsushima S, Kambe N, Tachibana T, Nagai S, Miyachi Y: Presence of a sporadic case of systemic granulomatosis syndrome with a CARD15 mutation. *J Invest Dermatol*, 122: 851-852, 2004.
- 8) Kanazawa N, Okafuji I, Kambe N, Nishikomori R, Nakata-Hizume M, Nagai S, Fuji A, Yuasa T, Manki A, Sakurai Y, Nakajima M, Kobayashi H, Fujiwara I, Tsutsumi H, Utani A, Nishigori C, Heike T, Nakahata T, Miyachi Y: Early-onset sarcoidosis and CARD15 mutations with constitutive nuclear factor-kappaB activation: common genetic etiology with Blau syndrome. *Blood*, 105(3): 1195-1197, 2005.
- 9) Watanabe T, Kitani A, Murray PJ, Strober W: NOD2 is a negative regulator of Toll-like receptor 2-mediated T helper type 1 responses. *Nat Immunol*, 5: 800-808, 2004.
- 10) Ishige I, Usui Y, Takemura T, Eishi Y: Quantitative PCR of mycobacterial and propionibacterial DNA in lymph nodes of Japanese patients with sarcoidosis. *Lancet*, 354: 120-123, 1999.