

平成 30 年 6 月 7 日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09785

研究課題名(和文)エクソーム解析による生殖細胞ならびに体細胞系列における乾癬原因変異の網羅的探索

研究課題名(英文) Exploration of psoriasis-susceptibility variants in germline and somatic cells by exome sequencing

研究代表者

岡 晃 (OKA, Akira)

東海大学・総合医学研究所・講師

研究者番号：80384866

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：乾癬の原因変異探索において体細胞系列の変異は全く注目されていない。乾癬病変が全身に現れることは稀で、個体別に好発部位がある場合も多く、これが遺伝子に起因するものであれば、生殖細胞系列の変異のみでは説明できない。本研究では乾癬の中でも、体細胞変異が強く疑われているSuperimposed linear psoriasisの患者を対象に、皮膚部および無疹部のゲノムDNAを用いて、全ゲノムシーケンシングを行い、あらゆる解析に対応できる、大規模データを獲得することができた。現在、この解析中ではあるが、ここで見出された変異は、他の乾癬孤発症例で追試するとともに、発現解析も合わせて実施する予定である。

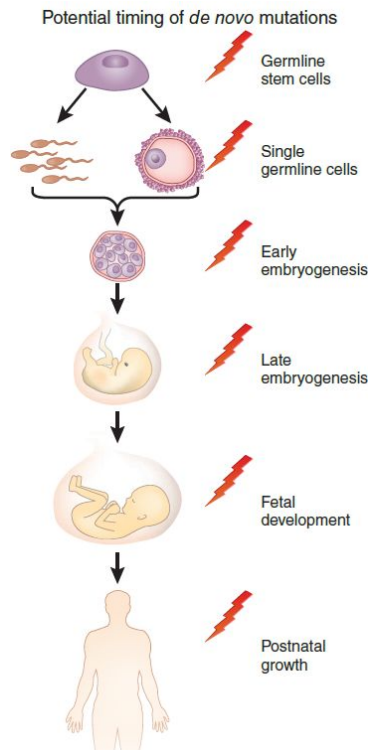
研究成果の概要(英文)：Any somatic mutations in psoriasis have never been investigated, though variants in the germline have been analyzed around the world. However, there should be disease-causing variants in not only germline but also somatic cells. Thus, cutaneous mosaicism may contribute to the psoriasis pathogenesis. Therefore, we investigated variants of affected and unaffected skin in superimposed linear psoriasis showing manifestations along Blaschko's line by whole genome sequencing. We obtain the massive data from sequencing and are exploring DNA substitutions, LOH (loss of heterozygosity), CNV (copy number variant), and structural variant now.

研究分野：分子遺伝学

キーワード：乾癬 Superimposed linear 体細胞変異 全ゲノムシーケンシング

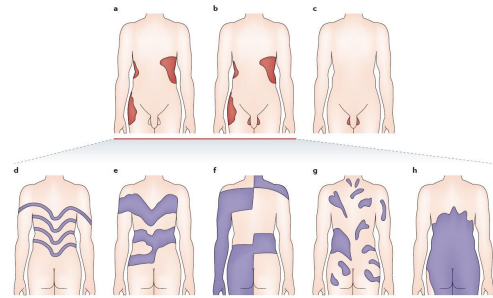
1. 研究開始当初の背景

乾癬の原因変異探索は生殖細胞系列(子孫に伝達される)のみであり、体細胞系列の変異は全く注目されていない。しかし突然変異は生殖細胞系列だけではなく、体細胞系列に生じることにも十分に考えられ、さらにその変異のタイミングは発生初期から成人するまで常にあるはずである。すなわち癌などの体細胞突然変異とは異なり、モザイク状の変異が体に構成される可能性がある。



Nat Genet. 42, 1036-8, 2010

また乾癬病変が全身に現れることは稀で、個体別に好発部位がある場合も多く、これが遺伝子に起因するものであれば、生殖細胞系列の変異のみでは説明できない。さらに遺伝性ではないそれ以外の要因が発症に関与していることも間違いない。さて、いくつかの疾患について、その発症原因は体細胞モザイク変異であることがエクソーム解析により明らかにされている(Nature. 501, 506-11, 2013)。さらに複数の皮膚疾患において体細胞モザイク変異がその原因であるとする証拠がすでに示されている(J Clin Invest. 114, 1407-9, 2004)。しかしながら、他の皮膚疾患でも同様であるが、乾癬においても、想定される変異を網羅的に検出した例はほとんどない。



Nat Rev Genet. 20114:307-20.

2. 研究の目的

乾癬好発皮疹部、無疹部の皮膚ならびに末梢血のゲノム DNA を全ゲノムシーケンシングすることにより、体細胞原因変異の探索を実施する。乾癬に極めて複雑な異質性が存在することは間違なく、従来の画一的な方法でその原因に迫ることができないことを示唆している。体細胞変異の探索により、考えうる変異を網羅的に解析することが目的である。

3. 研究の方法

- (1) 乾癬には複数の亜型が存在し、その中で、極めて低頻度ではあるが、Superimposed linear psoriasis が知られている。これは Blaschko 線に沿って、乾癬様皮疹が出る稀な疾患であり、生後の体細胞変異が強く推定されているが、実際に変異の有無はこれまで検証すらされていない。そこで、東海大皮膚科に受診中のこの疾患の罹患患者を対象に、皮疹部と左肘頭の角化性部位からそれぞれ皮膚生検、さらに採血した。
- (2) 患者臨床情報：60 歳、女性。19 歳時発症。頭部を含む全身に角化性紅斑局面が多発し、当院受診前に全身治療歴があり、レチノイド内服は無効、光線療法は効果不十分、シクロスポリン内服は効果があるものの休薬で再燃していた。治療抵抗性であり、当科初診時の PASI スコアは 13.8 であった。プロダルマブ治療を導入したところ、速やかに皮疹が消失したが、右下腿後面に線状に乾癬皮疹が残存した。Blaschko 線に沿った配列であり、superimposed linear psoriasis と診断した。同部位と左肘頭の角化性部位からそれ

ぞれ皮膚生検した。

(3) 続いて、皮診部、無診部、ならびに末梢血単核球から、DNA ならびに RNA を抽出し、以下の実験に供した。

(4) 全ゲノムシーケンシングはフィルジエン社に委託し、illumina HiSeq X にてシーケンシングを実施し、種々の解析を行った。

4. 研究成果

(1) 平均の depth は 52-67 であり、通常実施されている 30 のほぼ倍、さらに、重複度 10 以上でのカバー率は 98-99% となっており、全ゲノムシーケンシングにおいて十分なデータ量を確保したと言える。

(2) どのようなタイプの変異が原因であるのか分からない。そこで、現在、データの解析中ではあるが、想定されるすべてについて、検討する予定である。すなわち、通常の塩基置換、ゲノム構造変異 LOH (loss of heterozygosity) ならびに CNV (copy number variant) を解析する。

(3) 検出されたゲノムの変異が遺伝子発現量もしくは構造に影響を与え得るものであった場合は、抽出済みの RNA を用いて、今後検討したい。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 6 件)

1. RXRB is a MHC-encoded susceptibility gene associated with anti-topoisomerase I antibody-positive systemic sclerosis. Oka A (1 番目) 他 21 名 J Invest Dermatol. 2017, 137, 1878-86. (査読有)

2. Genome-wide association study for mandibular prognathism using microsatellite and pooled DNA method. Oka A (3 番目) 他 4 名 Am J Orthod Dentofacial Orthop. 2017, 152, 382-8. (査読有)

3. Transethnic meta-analysis identifies GSDMA and PRDM1 as susceptibility genes to systemic sclerosis. Oka A (14 番目) 他 54 名 Ann Rheum Dis. 2017, 76, 1150-8. (査読有)

4. Aggregation of rare/low-frequency variants of the mitochondria respiratory chain-related proteins in rheumatoid arthritis patients. Oka A (3 番目) 他 12 名 J Hum Genet. 2015, 60, 449-54. (査読有)

5. Relationship between human evolution and neurally mediated syncope disclosed by the polymorphic sites of the adrenergic receptor gene 2B-AR. Oka A (4 番目) 他 8 名 PLoS One. 2015, 10, e0120788. (査読有)

6. Recessive inheritance of population-specific intronic LINE-1 insertion causes a rotor syndrome phenotype. Oka A (2 番目) 他 20 名 Hum Mutat. 2015, 36, 327-32. (査読有)

[学会発表](計 0 件)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況(計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡 晃 (OKA, Akira)
東海大学・総合医学研究所・講師
研究者番号: 80384866

(2) 研究分担者

馬淵 智生 (MABUCHI, Tomotaka)
東海大学・医学部・教授
研究者番号: 30408059

池田 志孝 (IKEDA, Shigaku)
順天堂大学・医学部・教授

研究者番号：40193198

照井 正 (TERUI, Tadashi)

日本大学・医学部・教授

研究者番号：30172109

佐野 栄紀 (SANO, Shigetoshi)

高知大学・医学部・教授

研究者番号：80273621

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

()