

令和 5 年 6 月 3 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03704

研究課題名(和文) 汗孔角化症の病態メカニズム解明を通じたヒト細胞競合の理解

研究課題名(英文) Pathophysiology of porokeratosis and cell competition in human

研究代表者

久保 亮治 (Kubo, Akiharu)

神戸大学・医学研究科・教授

研究者番号：70335256

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：播種状汗孔角化症46例、ミベリの古典型汗孔角化症7例、線状汗孔角化症5例の合計58例を集積し、原因となる遺伝学的変化の検索を行った。播種状汗孔角化症46例中29例がMVD、6例がMVK、7例がFDPSにgermline変異を有していた。線状汗孔角化症5例中2例がMVDにgermline変異を有していた。ミベリの古典型汗孔角化症7例すべて既知の原因遺伝子に病原性変異を認めず、更なる解析の結果、新規原因遺伝子Xを同定した。X産物の免疫染色により、汗孔角化症の皮疹が変異細胞のクローン性増殖により生じていることを証明した。また遺伝子Xの欠損マウスを作成し、汗孔角化症モデルマウスを作成中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

汗孔角化症は未だ有効な治療方法が確立されておらず、新規治療法開発のために病態メカニズムの解明が待ち望まれている。我々は今回、汗孔角化症の新規原因遺伝子Xを同定し、汗孔角化症の皮疹が変異細胞のクローン性増殖により生じていることを初めて組織学的に証明した。この成果は、今後の治療法開発のための大きなヒントとなる。またモデルマウス開発が確実に進展しており、今後の病態解明と治療法開発のための基盤となることが期待できる。

研究成果の概要(英文)：A total of 58 cases of porokeratosis, including 46 cases of disseminated porokeratosis, 7 cases of Mibelli's classic porokeratosis, and 5 cases of linear porokeratosis, were accumulated to search for causative genetic alterations. Of the 46 cases of disseminated porokeratosis, 29 had germline pathogenic variations in MVD, 6 in MVK, and 7 in FDPS. Two of the five cases of linear porokeratosis had germline pathogenic variations in MVD. No pathogenic variations were found in the known causative genes in all 7 cases of Mibelli's classic porokeratosis, and after further analysis, we identified a novel causative gene X for porokeratosis. Immunostaining for the product of the novel causative gene X has demonstrated that the skin lesions of porokeratosis are caused by clonal proliferation of the gene cells. Mice deficient in the novel gene X have been generated, and a porokeratosis mouse model is now under development.

研究分野：皮膚科学

キーワード：細胞競合 汗孔角化症 クローン性増殖 前癌状態

1. 研究開始当初の背景

汗孔角化症は、メバロン酸経路の酵素をコードする複数の遺伝子 (*MVD*, *PMVK*, *MVK*, *FDPS*) のいずれかの変異によって生じる優性遺伝性疾患である。病原性変異を持つ人が発症する率は不明であるが、代表的な病原性変異 (*MVD* c.746T>C) を日本人の 400 人に 1 人が持つことから、潜在的な患者数は相当数存在すると考えられる (Kubo et al, JID 2019)。患者皮膚の表皮細胞は、原因遺伝子の野生型アレルと病原性変異アレルとを 1 つずつ持つ。我々は、野生型アレルに体細胞変異または染色体相同組換えが生じて両アレル欠損となった「変異細胞」が、汗孔角化症の皮疹を形成することを明らかにした (Kubo et al, JID 2019)。すなわち、汗孔角化症の 1 つ 1 つの皮疹は、身体のあちらこちらで独立に生じた変異細胞が周りの細胞を押しつけてクローン増殖した、変異細胞のコロニーであると我々は予想した。さらに我々は、汗孔角化症の環状皮疹の中央部は変異細胞でほぼ 100% 占められており、変異細胞と野生型細胞とが混在する皮疹辺縁部において特異的に苔癬型免疫反応とコルノイドラメラ形成が生じることを示唆する結果をそれまでに得ていた。このような 2 種類の細胞間での陣地の取り合いとそこから生じる反応は、ショウジョウバエなどのモデル動物において「細胞競合」現象として見出されたが、ヒトにおける「細胞競合」現象はほぼ未解明であり、汗孔角化症はヒト「細胞競合」を解析するための最適のモデル疾患と考えられた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、汗孔角化症の皮疹が形成されるメカニズムと炎症が惹起されるメカニズムを「細胞競合」現象に着目して解明し、治療ターゲットとなる分子パスウェイを同定することであった。1970 年に Reed らは、汗孔角化症の皮疹は何らかの変異細胞のクローン増殖であるという説を、病理組織観察から提唱した。半世紀の時を経て我々は、線状汗孔角化症と表在播種型汗孔角化症の皮疹がいずれも、メバロン酸経路の酵素が両アレルとも欠損した変異細胞がクローン増殖することにより生じる「変異細胞のコロニー」であることを強く示唆する所見を得た (Kubo et al, JID 2019)。本研究では、変異細胞が周りの野生型細胞を押しつけてコロニーを形成する細胞生物学的メカニズムと、変異細胞と野生型細胞が競合するコロニー辺縁において特異的に苔癬型免疫反応とコルノイドラメラ形成が惹起されるメカニズムを、変異細胞と野生型細胞との間で生じる細胞競合現象に着目して解析することを目的とした。

3. 研究の方法

汗孔角化症患者リクルートを通じた、患者組織の集積、原因遺伝子の同定、genotype-phenotype correlation の解析、原因遺伝子不明の症例の解析を通じた新規原因遺伝子の探索。

患者皮膚の病変部と正常部のそれぞれから確立した初代培養表皮細胞の確立と解析
MVD および MVK のコンディショナル KO マウスの確立、および K14cre ERT マウスと nT/nG マウスとの掛け合わせを通じた、それぞれのモザイク欠損マウスの作出。

4. 研究成果

播種状汗孔角化症 46 例、ミベリの古典型汗孔角化症 7 例、線状汗孔角化症 5 例の合計 58 例を集積し、原因となる遺伝学的変化の検索を行った。播種状汗孔角化症 46 例中 29 例が MVD、6 例が MVK、7 例が FDPS に germline 変異を有していた。また 29 例の MVD 変異中 22 例が日本人の founder 変異と考えられる c.746T>C 変異を有していた。播種状汗孔角化症 29 例中 4 例で、既知の原因遺伝子に病原性変異を認めなかった。線状汗孔角化症 5 例中 2 例が MVD に germline 変異を有していた。残り 3 例では既知の原因遺伝子に病原性変異を認めなかった。ミベリの古典型汗孔角化症 7 例すべて既知の原因遺伝子に病原性変異を認めず、更なる解析の結果、新規原因遺伝子 X を同定した。X 遺伝子産物の免疫染色により、コルノイドラメラの内側の皮疹部の表皮が X 遺伝子のノックアウト細胞で 100% 占められており、コルノイドラメラの外側の正常部では X 遺伝子産物の発現が認められることを示した。すなわち、汗孔角化症の皮疹が変異細胞のクローン性増殖により生じていることを初めて証明することができた。以上の成果より、汗孔角化症の皮疹辺縁において 2 種類の異なる細胞集団が接しており、その接線に沿ってコルノイドラメラが形成されていることが明らかになり、2 種類の異なる細胞集団が接する面において細胞競合が生じ、その結果、細胞死が誘導されてコルノイドラメラが形成されている可能性が示された。更なる解析のためにはマウスモデルの作出が必要である。MVD, MVK, さらに新規原因遺伝子 X の欠損マウスを作出した。nT/nG マウスおよび K14cre ERT マウスとの掛け合わせを通じて、汗孔角化症モデルマウスを作成中であり、本マウスモデルを用いて哺乳類における細胞競合現象の解析を進めて行く予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Shiyya C., Aoki S., Nakabayashi K., Hata K., Amagai M., Kubo A.	4. 巻 184
2. 論文標題 Linear and disseminated porokeratosis in one family showing identical and independent second hits in <i>MVD</i> among skin lesions, respectively: a proof of concept study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 British Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 1209 ~ 1212
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/bjd.19824	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kubo A
2. 発表標題 Diagnosis and management of mosaic disorders
3. 学会等名 The 46th Annual Meeting of Taiwan Dermatological Association（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 久保亮治
2. 発表標題 汗孔角化症はメバロン酸経路遺伝子のセカンドヒット変異細胞がクローン増殖して炎症を引き起こす優性遺伝性疾患である
3. 学会等名 第3回日本免疫不全・自己炎症学会 総会・学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 久保亮治（河野通浩 編）	4. 発行年 2021年
2. 出版社 全日本病院出版会	5. 総ページ数 78
3. 書名 汗孔角化症の診断と病態 in 角化症診療マニュアル	

1. 著者名 椎谷千尋, 久保亮治 (責任編集 秋山 真志)	4. 発行年 2021年
2. 出版社 学研メディカル秀潤社	5. 総ページ数 110
3. 書名 表在播種型汗孔角化症と線状汗孔角化症の親子例～セカンドヒットによる発症メカニズムの証明と自己炎症の可能性 in Visual Dermatology Vol.20 No.7	

〔産業財産権〕

〔その他〕

汗孔角化症の発症メカニズムを解明 ～日本人の400人に1人が発症素因を持つことが明らかに～ http://kompas.hosp.keio.ac.jp/sp/contents/medical_info/science/202001.html
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	福本 毅 (Fukumoto Takeshi) (80778770)	神戸大学・医学部附属病院・助教 (14501)	
研究分担者	高橋 勇人 (Takahashi Hayato) (40398615)	慶應義塾大学・医学部(信濃町)・講師 (32612)	
研究分担者	藤田 春美 (Fujita Harumi) (30736971)	慶應義塾大学・医学部(信濃町)・特任助教 (32612)	削除：2020年12月2日

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------