

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K08649

研究課題名(和文) 肥厚性皮膚骨膜炎(PDP)患者由来iPS細胞を用いたPDP新規治療薬の開発

研究課題名(英文) Development of novel therapeutic agent for pachydermoperiostosis (PDP) using iPS cells derived from patients with PDP

研究代表者

野村 尚史(Nomura, Takashi)

京都大学・医学研究科・特定准教授

研究者番号：60346054

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：肥厚性皮膚骨膜炎(PDP)はばち指、骨膜炎骨膜炎肥厚、皮膚肥厚を特徴とする遺伝性疾患である。原因はPGDHやSLCO2A1の欠損によるPGE2過剰症状とされる。COX阻害薬が症状を和らげる。しかしSLCO2A1欠損型では合併する消化器症状のためCOX阻害薬が使用できないことも多い。この研究では、SLCO2A1型PDPに着目し、COX阻害薬以外の治療薬の同定を目指した。この目的にSLCO2A1欠損細胞が有用である。本研究では、少なくとも1系統の完全型PDP患者由来iPS細胞を樹立した。これにより、SLCO2A1の機能やその欠損の影響を試験管内で解析可能となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肥厚性皮膚骨膜炎(PDP)は、ばち指、骨膜炎肥厚、皮膚肥厚、骨髄線維症等の多彩な症状を呈する。これらの症状はPDPに限らず肺疾患や、特に原因のない患者でも見られることがある。本研究結果は、これらの特発性疾患の原因解明につながる可能性があり、学術的意義が大きい。また本研究は、高熱、全身倦怠感、皮膚肥厚による機能的整容的障害、骨膜炎肥厚による関節痛や運動制限、熱中症等々、PDP患者の生活上の制限を改善することにつながることから、社会的経済的意義も大きいと考える。

研究成果の概要(英文)：Pachydermoperiostosis (PDP) is a genetic disorder characterized by clubbed fingers, periosteal thickening (periostosis), and skin thickening (pachyderma). The cause is thought to be PGE2 excess caused by the deficiency of PGDH or SLC02A1; COX inhibitors relieve symptoms. However, SLC02A1 deficiency often precludes the use of COX inhibitors because of concomitant gastrointestinal symptoms. In this study, we focused on SLC02A1-type PDP and aimed to identify therapeutic agents other than COX inhibitors. SLC02A1-deficient cells are useful for this purpose. In this study, we established at least one cell-line of iPS cells derived from a patient with complete PDP. This made it possible to analyze the function of SLC02A1 and the effects of its deficiency in vitro.

研究分野：Immunology

キーワード：pachydermoperiostosis prostaglandin SLC02A1 iPSC

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肥厚性皮膚骨膜炎 (pachydermoperiostosis, PDP) は、ばち指、骨膜性骨膜炎、皮膚肥厚を 3 主徴とする遺伝性疾患である。体液中の prostaglandin (PG) E2 が増加することが知られている。

肥厚性皮膚骨膜炎の原因遺伝子として *HPGD* と *SLCO2A1* が同定されている。欠損遺伝子により、肥厚性皮膚骨膜炎は *HPGD* 欠損型と *SLCO2A1* 欠損型に大別される。これらはともに常染色体潜性遺伝形式をとる。一方、原因遺伝子不明の常染色体優性遺伝性肥厚性皮膚骨膜炎の存在も知られる。

HPGD は 15-hydroxy-prostaglandin dehydrogenase (HPGD) をコードする (図 1A)。HPGD は細胞質に局在し PG を分解する。HPGD が欠損することにより体液中 PG 濃度が過剰になると考えられる (図 1C)。*SLCO2A1* は solute carrier organic anion transporter family A1 (*SLCO2A1*) をコードする。*SLCO2A1* は 12 回膜貫通型タンパクであり、PG トランスポーター (PGT) として機能し、細胞外 PG を細胞内に取り込むことが知られている (新関)。*SLCO2A1* の欠損により、細胞外 PG を取り込めないため、細胞外 PG が細胞質に局在する *HPGD* にアクセスできず、その結果、体液中 PGE2 が過剰となり、肥厚性皮膚骨膜炎を発症すると考えられる (図 1B)。

日本人肥厚性皮膚骨膜炎患者のほとんどは *SLCO2A1* 欠損型である (新関)。このタイプは慢性下痢症を合併する。慢性下痢症の多くは CEAS (chronic enteropathy associated with *SLCO2A1* deficiency) であり、上下消化管内視鏡、カプセル内視鏡により診断される (新関)。*SLCO2A1* 欠損型の肥厚性皮膚骨膜炎患者の胃腸障害は、理論的には CEAS と診断されるべきであるが、内視鏡検査の結果、CEAS の診断基準を満たさない場合もある。その理由は不明である。

SLCO2A1 型肥厚性皮膚骨膜炎は、*HPGD* 欠損型と比べて、低カリウム血症 (Bartter 症候群) 骨髄線維症、リンパ浮腫等を合併する率が高い (表 1)。これは *SLCO2A1* が ATP-conductive Maxi-Cl channel (MAC) を構成することと関連するかもしれない (Sabirov et al.)。MAC は多くの細胞に発現するアニオンチャネルで、通常は静止 (閉孔) 状態だが、生理的、病理的条件下において活性化 (開孔) する。活性化した MAC は、アニオンや低分子有機物質を細胞内から細胞外に放出する。このことにより細胞内浸透圧を調節したり、細胞内 ATP を細胞外に放出したりする。細胞外に放出された ATP は、細胞膜上の ATP 受容体を刺激し、アラームシグナルとして機能する。*SLCO2A1* は アネキシン A2、S100A10 と複合体を形成し MAC を形成する (Sabirov et al.)。そのため *SLCO2A1* の機能欠損は MAC の機能を低下させると推測できる。PGE2 分解酵素を欠失する *HPGD* 型肥厚性皮膚骨膜炎よりも、日本人に多い *SLCO2A1* 型肥厚性皮膚骨膜炎の合併症が多彩であることは、単なる PGE2 過剰症以外に、MAC 機能不全が関与することが理由かもしれない。

上記のように、*SLCO2A1* 欠損型肥厚性皮膚骨膜炎は、原因遺伝子が同定されたにもかかわらず病態の詳細に不明な点が多く、有効な治療法も確立されていない。そこで申請者は、日本人に多い *SLCO2A1* 変異の治療を標的とした創薬基礎研究につなげたいと考えた。この目的を達成するため、PDP 患者の人工多能性幹細胞 (iPSC) を作出することを目標とした。また中西らによって作出された *Slco2a1* 欠損マウス (Nakanishi et al.) の皮膚を観察し、ヒトと同様に皮膚肥厚、骨膜炎が存在するか検討した。

2. 研究の目的

- (1) 肥厚性皮膚骨膜炎患者由来の人工多能性幹細胞 (PDP-iPSC) の作出
- (2) *Slco2a1* 欠損マウスの表現型解析

3. 研究の方法

(1) 京都大学医学部附属病院に通院中の肥厚性皮膚骨膜炎患者の末梢血を採取し、樹立された方法にしたがって iPSC を作出した (R0091: ヒト疾患特異的 iPSC 細胞の作成とそれをを用いた疾患解析に関する研究)。

(2) 中西猛夫博士 (高崎健康福祉大学薬学部) から *Slco2a1* 欠損マウスの皮膚、骨組織を提供いただき、光学顕微鏡を用いて組織学的病変の有無を検討した。

4. 研究成果

(1) 肥厚性皮膚骨膜炎患者 6 名から本研究への参加の同意を得た (表 2)。そのうち、2 名から末梢血を採取し、1 名から iPSC の作出に成功した (図 2)。今後も同意を得た患者から血液を採取し、iPSC の作成を継続する予定である。

(2) *Slco2a1* 欠損マウスの皮膚および骨膜炎は、野生型と比較して明らかな違いを認めなかった (未発表)。マウスで表現型が再現されない理由として幾つかの説明が可能である。一つは加齢要素である。ヒトでは 10 代後半に急激に症状が進行する。一方マウスは生後半年から 1 年の個体を調べた。肥厚性皮膚骨膜炎の症状が顕在化するまで数年を要する場合は、マウスでは再現さ

れない可能性がある。もう一つは成体となった Slco2a1 欠損マウスの表現型が何らかの理由で軽症になっている可能性である。Slco2a1 欠損マウスは出生後の発育が悪く、成体に達する個体は一部であり、Slco2a1 の欠損による表現型を発現する個体が生育中に失われているのかもしれない。ヒトと同様の遺伝子変異を導入したマウスを作成することで、肥厚性皮膚骨膜炎様症状を発症するマウスを作成できるかもしれない。どのようにすれば肥厚性皮膚骨膜炎の動物モデルを作成できるかは今後の課題である。

文献

新関. 非特異性多発性小腸潰瘍症/CEAS の消化管外病変 肥厚性皮膚骨膜炎. 胃と腸. 52 (11): 1445-1452. 2017.

Sabirov et al. The organic anion transporter SLC02A1 constitutes the core component of the Maxi-Cl channel. The EMBO Journal. 36 (22): 3309-3324. 2017.

Nakanishi et al. Prostaglandin transporter (PGT/SLC02A1) protects the lung from bleomycin-induced fibrosis. PLoS ONE. 10 (4): e0123895. 2015.

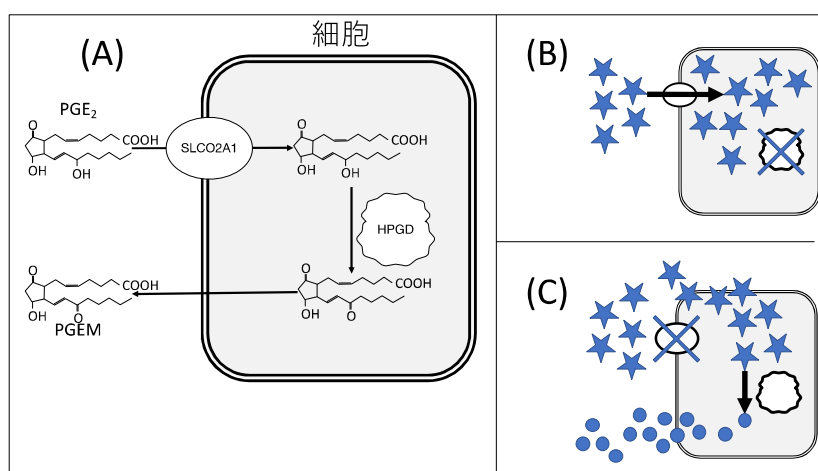


図 1：肥厚性皮膚骨膜炎原因遺伝子の機能

(A) SLC02A1 は細胞膜に存在し、HPGD は細胞質に存在するタンパクである。SLCO2A1 は細胞外の PGE2 を細胞内に取り込む。細胞内の PGE2 は細胞質に存在する HPGD により PGEM に代謝され、主に尿中に排泄される。(B) HPGD 欠損型肥厚性皮膚骨膜炎では、PGE2 が代謝されないため、PGE2 が過剰になると考えられる。HPGD を欠損するため、尿中に PGEM が検出されない。(C) SLC02A1 欠損型肥厚性皮膚骨膜炎では、SLCO2A1 を介した PGE2 の取り込みの効率が悪い。そのため体液中に PGE2 が蓄積する。一方、このタイプの肥厚性皮膚骨膜炎では、尿中 PGEM が増加する。これは HPGD 酵素が過剰な PGE2 を分解する結果と考えられる。細胞外 PGE2 は、SLCO2A1 以外の代替経路で細胞内に取り込まれ HPGD で分解されると推測されるがその詳細は不明である。

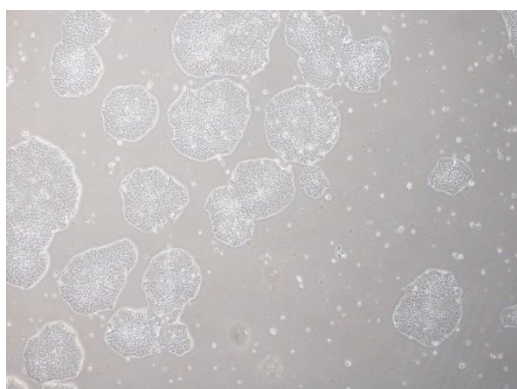


図 2：肥厚性皮膚骨膜炎患者由来 iPSC

表 1：肥厚性皮膚骨膜炎の原因遺伝子と表現型の比較

†; Maxi-Cl channel

PDP 遺伝子型	HPGD 型	SLC02A1 型
遺伝形式	常染色体劣性	常染色体劣性
原因遺伝子	<i>HPGD</i>	<i>SLC02A1</i>
遺伝子産物	PGE2 脱水素酵素 細胞質に局在	PGE2 輸送タンパク MAC ⁺ 構成タンパク
皮膚肥厚	必発 (CVG ⁺)	必発 (CVG ⁺)
腸症 (CEAS) の合併	なし	しばしばあり
骨髄線維症の合併	なし	稀にあり
遺伝子欠損の影響	PGE2 過剰症	PGE2 過剰症および MAC ⁺ 機能不全の可能性

‡; CVG, cutis verticis gyrata of the scalp (頭部脳回転状皮膚)

表 2：iPSC 作出状況

Participant	Allele-1	Allele-2	採血	iPSC
A	R288Gfs*7	R603*	実施	作成
B	R288Gfs*7	R288Gfs*7	実施	未作成
C	R288Gfs*7	E427_P430Δ	未実施	未作成
D	G222R	G222R	未実施	未作成
E	G222R	G222R	未実施	未作成
F	E427_P430Δ	E427_P430Δ	未実施	未作成

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4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 Oiwa Tomohiro, Ishibashi Mami, Okuno Toshiaki, Ohba Mai, Endo Yuichiro, Uozumi Ryuji, Ghazawi Feras M., Yoshida Kazue, Niizeki Hironori, Yokomizo Takehiko, Nomura Takashi, Kabashima Kenji	4. 巻 48
2. 論文標題 Eicosanoid profiling in patients with complete form of pachydermoperiostosis carrying SLC02A1 mutations	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 1442 ~ 1446
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.16012	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 -

1. 著者名 Ishibashi Mami, Oiwa Tomohiro, Nomura Takashi, Yoshikawa Yoshiaki, Niizeki Hironori, Kabashima Kenji	4. 巻 141
2. 論文標題 Role of Prostaglandin E-Major Urinary Metabolite Levels in Identifying the Phenotype of Pachydermoperiostosis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Investigative Dermatology	6. 最初と最後の頁 2973 ~ 2975
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jid.2021.04.025	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 -

1. 著者名 Komatsu Fujii Takayoshi, de Jesus Corrine Sison, Nomura Takashi, Kabashima Kenji	4. 巻 37
2. 論文標題 Non invasive visualization of epidermal hypertrophy of pachydermoperiostosis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology	6. 最初と最後の頁 e344-e345
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jdv.18654	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 -

1. 著者名 Niizeki H., Tanaka R., Nomura T., Seki A., Miyasaka M., Matsumoto Y., Ishibashi M., Narumi S., Nakabayashi K., Yoshida K.	4. 巻 114
2. 論文標題 Lack of cutis verticis gyrata is associated with c.1279_1290del12 of SLC02A1 in 43 Japanese patients with pachydermoperiostosis	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Dermatological Science	6. 最初と最後の頁 86 ~ 88
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jdermsci.2024.03.008	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 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Mami Ishibashi
2. 発表標題 Role of Prostaglandin E-Major Urinary Metabolite Levels in Identifying the Phenotype of Pachydermoperiostosis
3. 学会等名 European Society of Dermatological Research (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹上智也
2. 発表標題 SLC02A1遺伝子変異を有する完全型肥厚性皮膚骨膜症の関節症状にアセトアミノフェンが有効であった1例
3. 学会等名 第122回日本皮膚科学会総会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------