

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月17日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21591426

研究課題名（和文） 遺伝性皮膚疾患の責任遺伝子の同定

研究課題名（英文） The identification of causative genes of hereditary skin diseases

研究代表者

有田 賢 (ARITA KEN)

北海道大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：50374434

研究成果の概要（和文）：遺伝性皮膚疾患の原因については近年遺伝子解析技術の進歩により説明が進んでいるが、まだ多くの疾患で原因遺伝子が不明のままである。今回の研究では主に常染色体優性遺伝性疾患であるMichelin tire baby syndromeについて原因遺伝子の究明を行った。3家系より遺伝子サンプルを集積し、連鎖解析法により原因遺伝子の候補領域としてD7S2480-D7S515を同定した。本研究をベースに今後さらなる病因説明が進むことが期待される。

研究成果の概要（英文）：The cause of the inherited skin diseases has been elucidated gradually by means of advanced skills of genetic analyses, however, for a lot of the inherited skin diseases the causative genes has left unknown. We focused on Michelin tire baby syndrome, which is an autosomal recessive congenital skin disease, and investigated the causative gene using linkage analyses. We collected DNA samples from three families of Michelin tire baby syndrome, and we identified a DNA locus D7S2480-D7S515 as a candidate region of the causative gene. We hope a further progress will be made based upon this result.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・皮膚科学

キーワード：Michelin tire baby syndrome, 連鎖解析、遺伝子候補領域

1. 研究開始当初の背景

分子生物学技術の進展に伴い、今まで原因不明であった遺伝性皮膚疾患の責任遺伝子が、近年次々に同定されている。例えば最近では、尋常性魚鱗癬の責任遺伝子として filaggrin が同定され、さらにこの filaggrin の遺伝子変異が、より common な疾患であるアトピー性

皮膚炎の主要な発症因子であることが説明されており (Palmer et al, Nat Genet 2006)、より根本的な治療法の開発に向けて、研究が精力的に行われている。

研究代表者もこれまでに、特異な臨床形態をとる魚鱗癬である Bathing suit ichthyosis の原因遺伝子の説明 (Arita et al. J Invest

Dermatol 2007) や、慢性的搔痒を特徴とする家族性皮膚アミロイドーシスの原因遺伝子の同定 (Arita et al. Am J Hum Genet 2008) を行い、成果を発表してきた。また研究分担者も、先天性魚鱗癬の最重症型である道化師様魚鱗癬の原因遺伝子 ABCA12 の同定 (Akiyama et al, J Clin Invest 2005) を行い、その成果を報告している。このように我々はこれまでに複数の遺伝性皮膚疾患の原因を解明しており、これらの疾患の新規治療法の開発、研究に大きく寄与している。

研究代表者はこれまでに上に示すごとく複数の遺伝性皮膚疾患の原因遺伝子を解明してきた。しかし未だに原因遺伝子の同定されていない遺伝性皮膚疾患は数多く存在する。我々は原因遺伝子が未だ不明である遺伝性皮膚疾患である、常染色体優性遺伝形式をとる非水疱型魚鱗癬様紅皮症、および Michelin tire baby syndrome の家系を有している。前者に関しては、通常非水疱型魚鱗癬様紅皮症は常染色体劣性遺伝形式をとるのに対し、本家系では、collodion baby として生まれ、細かい鱗屑を付着する紅斑をびまん性に認めるなど、典型的な非水疱型魚鱗癬様紅皮症の臨床であるにもかかわらず、常染色体優性遺伝形式をとる。本家系では、TGMI 遺伝子や ABCA12 遺伝子など、今まで非水疱型魚鱗癬様紅皮症の原因として知られている遺伝子に異常を認めないことを、既にシーケンスにより確認している。Michelin tire baby syndrome は、出生時全身の皮膚にリング状の深い皺を複数伴う特徴的な臨床を呈する常染色体優性遺伝性疾患である(右図)。海外報告で15例と稀な疾患であるが、口蓋裂や顔面の形成異常や、種々の過誤腫の合併などが報告され、発達や分化に密接に関連した遺伝子の異常が推測されている。我々はこれらの疾患に対し、これまでの成果を通じて培ってきた連鎖解析、遺伝子配列解析の手法を駆使して、新たな遺伝性皮膚疾患の責任遺伝子の同定を目指すことを着想した。

2. 研究の目的

原因遺伝子の未だ同定されていない遺伝性皮膚疾患である、(1) 常染色体優性遺伝形式をとる非水疱型先天性魚鱗癬様紅皮症、(2) Michelin tire baby syndrome、の家系に対し、連鎖解析法、シーケンス法を用いてその責任遺伝子を同定する。

3. 研究の方法

(1) 遺伝性皮膚疾患家系からの DNA 採取
すでに家系の一部からは、本人の同意を得

て、DNA を採取している。遺伝子の扱いに関しては北大の倫理委員会の指針に沿って行い、個人情報保護に十分に留意する。今後も、各家系の構成員から、本人の同意のもとに DNA を採取し、連鎖解析の対象とする。さらに、国内、海外含め、過去に報告された症例について情報を集積し、可能であれば DNA の採取を検討し、連鎖解析の対象として加えていく。

(2) 連鎖解析・遺伝子配列解析

① 常染色体優性遺伝形式をとる非水疱型先天性魚鱗癬様紅皮症の家系

本疾患に関しては、その臨床・病理から、各種ケラチン遺伝子、cornified cell envelope 形成に関与する遺伝子 (トランスグルタミナーゼ遺伝子等)、脂質代謝や脂質輸送に関連する遺伝子などが候補遺伝子として有力と考えられる。これらの候補遺伝子が存在する染色体領域 (染色体12番長腕、染色体14番長腕等) や、あるいは角化に密接に関連する遺伝子が集族して存在する染色体領域である1q23等に対し、各領域に存在するマイクロサテライトをPCRにより増幅し、連鎖解析を施行する。連鎖が認められた領域から、遺伝子データベース (UCSC Genome Browser; <http://genome.ucsc.edu>) より候補遺伝子を抽出し、各エクソン領域を挟むプライマーを設定し、PCRおよびシーケンス法を用いて遺伝子配列を解析する。上記候補部位を優先的に解析するが、遺伝子同定に至らなかった場合は、全染色体領域に対して網羅的なマイクロサテライト解析を行う。

② Michelin tire baby syndrome

本疾患に関しては、過去に、染色体7番における転座 inv(7)(q22q31.3) (Schnur et al. J Am Acad Dermatol 1993) や、染色体11番における一部欠失 del(11)(q21q23) が報告されており (Burgdorf et al. Arch Dermatol 1980)、当該領域に原因遺伝子が存在する可能性が高いと考えられるため、まず上記遺伝子領域において優先的にマイクロサテライトプライマーを用いて連鎖解析を施行する。連鎖が認められる領域において、遺伝子データベース (UCSC Genome Browser; <http://genome.ucsc.edu>) から、皮膚に発現が多く認められる遺伝子や、病理学的観点から疾患との関与が強く疑われる遺伝子を抽出し、各エクソン領域を挟むプライマーを設定の上、PCRおよびシーケンス法を用いて遺伝子配列を解析する。上記候補部位において連鎖が認められなかった場合は、全染色体領域に対して網羅的なマイクロサテライト解析を検討する。

4. 研究成果

(1) 常染色体優性遺伝形式をとる非水泡型先天性魚鱗癬様紅皮症の解析

ケラチン遺伝子異常に伴う疾患が常染色体優性遺伝形式をとることから、責任遺伝子がケラチン遺伝子と連鎖している可能性を考え、ケラチン遺伝子の集簇する遺伝子座12q13近傍のマイクロサテライトを解析した。しかし本家系においては疾患と12q13領域に存在するマイクロサテライトは連鎖しなかった。このことから12q13領域に存在するケラチン蛋白(ケラチン1、2、5、6)遺伝子は責任遺伝子として否定的であることが示唆された。候補遺伝子として常染色体劣性遺伝型の非水泡型先天性魚鱗癬様紅皮症の原因遺伝子であるTGM1遺伝子を直接シークエンスしたが、変異は見つからなかった。他の候補領域との連鎖に関しては今後の研究課題として進める予定である。

(2) Michelin tire baby syndrome

過去に報告のある染色体7番における転座inv(7)(q22q31.3)や、染色体11番における一部欠失del(11)(q21q23)が候補遺伝子座として考えられたため、当該部位のマイクロサテライト解析を行った。その結果、7q22-q31.3においては連鎖がみられたが、11q21-q23においては連鎖がみられず、7q22-q31.3に責任遺伝子が存在する可能性が示唆された。

遺伝性皮膚疾患家系からのDNA採取については、Michelin tire baby syndromeの家系が新たに2家系見つかかり、本人の同意を得たうえで遺伝子採血を行った。新たに加わった同地域在住の2家系を含め、founder effect存在の仮定のもとで7q22-q31.3領域をさらに詳細に解析したところ、マイクロサテライトマーカーD7S2480-D7S515の範囲(Interval 1Mb)に疾患との連鎖を認め、この領域に責任遺伝子が存在することが示唆された。以上の範囲に含まれる遺伝子をデータベースより抽出し、候補と考えられる遺伝子を直接シークエンス法を用いて変異解析した。現在までHYAL4, SPAM1, EMID2, PCOLCE, PLOD3のシークエンスを完了したが、変異は同定されていない。さらにExonic sequence法を用いて候補領域に存在する全遺伝子のエクソン領域を網羅的に調べ、その結果同領域に複数のpolymorphismが存在することが確認され、病原性をもつ可能性のあるpolymorphismについて、direct sequencingを行い検証を行ったが、疾患の原因と考えられる遺伝子変異を確認することはできなかった。

Michelin tire baby syndromeの責任遺伝子を同定するに当たって、別な視点からの解析も

行った。全身の皮膚の著明な皺が特徴である犬種シャーペイ犬において、ヒアルロン酸合成酵素の一種であるHyaluronan synthase 2の遺伝子HAS2に特有のSingle nucleotide polymorphismが確認されている(Akey et al. Proc Natl Acad Sci USA 107; 1160-5: 2010)。ヒアルロン酸は皮膚の結合織において普遍的で重要な基質の一つであり、Michelin tire baby syndromeの責任遺伝子として理論的に有力である。以上からヒトにおけるHyaluronan synthase 3種(HYAL1, HYAL2, HYAL3)の遺伝子と疾患の連鎖について解析を行った。上記3遺伝子の近傍に存在するマイクロサテライトマーカーを抽出し(それぞれD19S571, D8S514, D16S515)、罹患者との連鎖解析を行ったところ、D19S571のみに疾患との連鎖が認められ、HYAL1とMichelin tire baby syndromeに疾患関連性の存在することが示唆されたため、HYAL1のエクソン領域を直接シークエンスするとともに、イントロン領域のSingle nucleotide polymorphismについても検索したが、疾患との関連を示唆するような変異を同定することはできなかった。以上から、原因遺伝子の同定には至らなかったが、原因遺伝子の存在する候補領域として、D7S2480-D7S515を同定したのを最終成果とする。今後本研究をベースに、さらなるMichelin tire baby syndromeの病因解析が発展することを期待する。

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)

[学会発表](計1件)

① Arita K, Nomura T, Nomura Y, Ota M, Shimizu H:

7q22.1 as a possible gene locus of Michelin tire baby syndrome.

The 36th annual meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology

Kyoto, 2011. 12

6. 研究組織

(1) 研究代表者

有田 賢 (ARITA KEN)

北海道大学大学院医学研究科・助教

研究者番号: 50374434

(2) 研究分担者

秋山 真志 (AKIYAMA MASASHI)

北海道大学大学院医学研究科・准教授

研究者番号：60222551

乃村俊史 (NOMURA TOSHIFUMI)
北海道大学大学院医学研究科・助教
研究者番号：50399911

(3) 連携研究者
()

研究者番号：