

平成 26 年 5 月 28 日現在

機関番号：10101
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2012～2013
課題番号：24791129
研究課題名(和文) アトピー性皮膚炎患者におけるフィラグリン2遺伝子変異解析

研究課題名(英文) FLG2 gene mutations and atopic dermatitis

研究代表者

長谷部 育恵 (Hasebe, Ikue)

北海道大学・医学(系)研究科(研究院)・客員研究員

研究者番号：70616341

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：これまでアトピー性皮膚炎の病因として注目されてきたフィラグリン遺伝子変異の有無に加えて、フィラグリンと類似の機能を持つと推測されているフィラグリン2の遺伝子変異の有無を解析した。結果、新規変異を含む11種類のフィラグリン遺伝子変異のいずれかをアトピー性皮膚炎患者の230%が保有していた。Whole-exome sequencingを用いた解析により、複数の個体にフィラグリン2遺伝子変異を同定した。同定された変異はナンセンス変異であり、機能喪失変異と考えられた。現在、同定されたフィラグリン2遺伝子変異をADサンプルと一般人口サンプルでスクリーニングするためのPCRの条件検討を行っている。

研究成果の概要(英文)：In this study, we performed mutation analysis of the gene encoding filaggrin (FLG) using DNA samples derived from patients with atopic dermatitis. We identified 11 loss-of-function FLG mutations including a novel one and demonstrated that approximately 30% of AD cases carry one or more FLG mutations. Furthermore, we have identified a nonsense mutation in the gene encoding filaggrin 2 (FLG2), which is predicted to have a similar function as filaggrin, using whole-exome sequence analysis. Now the mutation carrier frequency is being analyzed in AD case series.

研究分野：内科系臨床医学

科研費の分科・細目：皮膚科学

キーワード：アトピー性皮膚炎

1. 研究開始当初の背景

フィラグリンは表皮のケラトヒアリン顆粒の重要な構成要素であり、表皮細胞の角化の過程で、角化細胞内を満ちし、正常の角化、および、皮膚表面角層のバリア機能に非常に重要な役割を果たしている蛋白である。最近、我々は、アトピー性皮膚炎 (atopic dermatitis: AD) 患者の約 25%がフィラグリン遺伝子にナンセンス変異やフレームシフト変異を有していることを示した (Nemoto-Hasebe I et al, Br J Dermatol, 2009)。これにより、フィラグリン遺伝子変異が日本人 AD の主要な病因であることが示され、表皮におけるフィラグリンの発現の減少により引き起こされる表皮バリア機能の低下が AD 発症に重要な働きをしていることが明らかになった (Nemoto-Hasebe I et al, J Invest Dermatol, 2009)。

残る約 75%の患者については、未だに病因が不明であるが、これまでの連鎖解析では、フィラグリン遺伝子を始めとした皮膚バリア機能に関係する遺伝子が多数集まっている 1q21 上の epidermal differentiation complex (EDC) と呼ばれる領域に AD との強い相関が認められている。従って、フィラグリン遺伝子変異を持たない AD のうちの一部は、フィラグリン遺伝子変異を有する患者と同様に、EDC 領域に存在する角化関連遺伝子の異常によって生じる皮膚バリア機能の破綻に伴う慢性抗原刺激を背景に発症すると推測される。しかしながら、EDC に存在する、ロリクリンやインポルクリン、ホルネリンなどの古くから知られている角化関連遺伝子の変異が AD 患者で有意に存在するという報告は、これまでのところ、存在しない。そこで、我々は、最近新たに同定されたフィラグリン 2 遺伝子に着目した。フィラグリン 2 は、フィラグリンと同じく、ヒト表皮の顆粒層と角層に発現し、培養角化細胞においてカルシウム添加刺激により発現が増強することから、フィラグリンと類似の機能を持つタンパク質であると推測されており、最近の研究により、皮膚バリア機能の形成や天然保湿因子の産生に深く関与していると考えられている。このフィラグリン 2 遺伝子異常と AD

の関連はこれまで文献上報告されておらず全く未知であるが、フィラグリン 2 と類似のタンパク質と推測されているフィラグリンの産生異常が AD の約 25% で認められることから、フィラグリン 2 遺伝子変異が AD でも認められる可能性は高いものと推測される。

フィラグリン遺伝子変異が AD の主要な病因であることが明らかにされてから、フィラグリンをターゲットとした AD の新規治療法の開発が進められているが、今回、フィラグリン 2 遺伝子の変異が同定されれば、AD の病態と発症因子の理解がさらに進むことも期待される。このように、本研究は、これまで AD の病因として注目されてきたフィラグリン遺伝子変異の有無に加えて、フィラグリンと類似の機能を持つと推測されているフィラグリン 2 の遺伝子変異の有無を解析する点が特色である。これにより、まだ十分に解明されていない AD の病因の一端が明らかになることが期待される。また、AD の病因は長らく不明であり、その治療はこれまでステロイド剤外用を中心とした対症療法に頼らざるを得ず、難治例では皮膚萎縮などのステロイドの副作用を高率に生じ、大きな社会問題となってきた。ステロイドに代わる新規治療薬の開発が強く求められる中、今回の研究により、表皮におけるフィラグリン 2 の発現低下が AD の病因であることが示されれば、フィラグリン 2 をターゲットとした AD の新規治療法、新規予防法の開発につながることも期待される。

2. 研究の目的

フィラグリン 2 は、フィラグリンと同じく、ヒト表皮の顆粒層と角層に発現するタンパク質で、最近の研究により、皮膚バリア機能の形成と皮膚の保湿への深い関与が示唆されており、AD 発症との関連が強く疑われるが、両者の関連はこれまで解明されていない。従って、今回の研究では、AD 患者にフィラグリン 2 遺伝子の変異が認められるかどうかを検討し、AD の新しい発症因子を明らかにすることを目的とする。

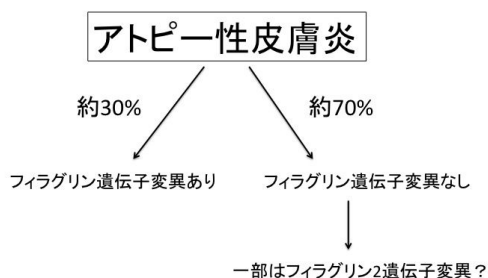
3. 研究の方法

(1) AD 患者サンプルについてフィラグリン遺伝子変異検索を行い、フィラグリン遺伝子変異を持たない患者の抽出を行った。具体的には、これまで日本人で同定されている 11 種類のフィラグリン遺伝子変異のすべてについて direct sequence 法で変異の有無を決定した。

(2) フィラグリン 2 遺伝子は、フィラグリン遺伝子と同様、繰り返し配列が存在し、通常のサンガー法による解析が困難な遺伝子である。そこでまず、日本人の複数の個体から採取した DNA を whole-exome sequencing を用いて、解析し、機能喪失変異（ナンセンス変異、フレームシフト変異、スプライスサイト変異）を持つ variant の同定を行った。同定したバリエーションを AD 患者および一般人口の何割が保有するかについて、サンガー法を用いて解析を試みた。

4. 研究成果

(1) 約 250 名の AD サンプルをスクリーニングしたところ、その約 30%弱がフィラグリン遺伝子変異を有することが明らかになっ



た。

(2) Whole-exome sequencing を用いた解析により、複数の個体にフィラグリン 2 遺伝子変異を同定した。同定された変異はナンセンス変異であり、機能喪失変異と考えられた。現在、同定されたフィラグリン 2 遺伝子変異を AD サンプルと一般人口サンプルでスクリーニングするための PCR の条件検討を行っている。

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)

[雑誌論文](計6件)

(英文)

1. Ohguchi Y, Nomura T, Suzuki S, Mizuno O, Nomura Y, Nemoto-Hasebe I, Okamoto H, Sandilands A, Akiyama M, McLean WH, Shimizu H.

A new filaggrin gene mutation in a Korean patient with ichthyosis vulgaris.

European Journal of Dermatology (査読有), in press

doi なし

2. Nakazato S, Fujita Y, Hamade Y, Nemoto-Hasebe I, Sugita J, Nishie W, Shimizu H.

Wells' syndrome associated with chronic myeloid leukemia.

Acta Dermato-Venereologica (査読有), 93 巻, 2013年, 375-376頁。

doi: 10.2340/00015555-1483.

3. Nishimura M, Nishie W, Nakazato S, Nemoto-Hasebe I, Fujita Y, Shimizu H.

Circumscribed palmer hypokeratosis: correlation between histopathological patterns and dermoscopic findings.

British Journal of Dermatology (査読有), 167巻, 2012年, 221-222頁。

doi: 10.1111/j.1365-2133.2012.10855.x.

(和文)

4. 中里信一, 藤田靖幸, 濱出洋平, 長谷部育恵, 杉田純一, 西江 涉, 清水 宏.

【全身症状を伴う皮膚疾患(2)】<臨床例>慢性骨髄性白血病を合併した Wells 症候群. 皮膚病診療(査読有), 35 巻, 2013 年, 881-884 頁.

5. 中里信一, 藤田靖幸, 古口華子, 長谷部育恵, 近藤 健, 白鳥聡一, 西江 涉, 清水 宏.

顔面の腫脹から診断に至った皮下脂肪織炎様T細胞性リンパ腫の1例.

皮膚科の臨床(査読有), 55巻, 2013年, 1204-1205頁.

6. 長谷部育恵、阿部理一郎.

アフェレシスと希少疾患 成人Still病、非定型的皮疹を認め、免疫抑制剤と血漿交換によって軽快した1例.

日本アフェレシス学会雑誌(査読有), 32巻, 2013年, 138-140頁.

[学会発表](計0件)

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

長谷部 育恵 (Hasebe Ikue)

北海道大学大学院・医学研究科・客員研究

員

研究者番号: 70616341

(2)研究分担者

()

研究者番号:

(3)連携研究者

()

研究者番号: