

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 20 日現在

機関番号：11501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670498

研究課題名(和文) 蒙古斑決定遺伝子の解明と機能解析

研究課題名(英文) Identification and functional analysis of responsible gene(s) for Mongolian blue spot

研究代表者

鈴木 民夫 (SUZUKI, Tamio)

山形大学・医学部・教授

研究者番号：30206502

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：蒙古斑は生下時より認められることや民族によって発生率が大きく異なることから、その形成には遺伝子が大きく関わっていると考えられる。そこで、我々は蒙古斑関連遺伝子を明らかにするために同一家系内に蒙古斑を持つ子供と持っていない子供が存在する蒙古斑形質が分離している4家系(モンゴル3家系、日本1家系)を見つけ、その構成員計41人より遺伝子を提供してもらった。そして、得られたgenomic DNAを用いて連鎖解析を行なった。しかしながら、蒙古斑関連遺伝子の染色体上の位置を特定することができなかった。親の蒙古斑に対する記憶があいまいであり、Ascertainment biasの存在があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：A Mongolian spots is dermal melanocytosis which is a benign, congenital birthmark. It normally disappears five to eight years after birth. It is common among persons who are of Asian, and African descent, while rare in babies of full Caucasian descent, suggesting that genetic factor(s) might determine the condition. Then, in order to identify responsible gene(s) for Mongolian blue spot, we found 4 segregation families that had both babies with, or without Mongolian spot in the families, one Japanese and three Mongolian families. And, we collected 41 samples from the families, and extracted DNA. A linkage analysis to identify the locus on chromosome was done using the DNAs. However, we could not specify the locus which was statistically significant through the experiments. One of reasons why we failed to identify the Mongolian associated gene(s) would be ascertainment bias, which we depended on the uncertain memories of the parents about the Mongolian spot on their kids.

研究分野：色素異常症

キーワード：蒙古斑 色素細胞 メラニン 色素異常症

1. 研究開始当初の背景

蒙古斑は先天的に発生する乳幼児の主に臀部にみられる青色斑であり、病理組織学的にはメラニンを活発に合成する真皮メラノサイトの集簇である。多くは通常5~8歳頃に自然消退する。時に殿部以外にも認められ、男女とも同じ割合で発生する。民族間で出現頻度に差がみられ、モンゴル人や日本人ではほとんど現れ、他のアジア系民族でも漢民族、朝鮮民族、インドネシア人、ブータン人、アメリカ州の先住民族といった人々にも高い頻度で見られる。発生率はモンゴル人の幼児で95%、他の東アジア人の幼児で80%、ヒスパニック系の幼児で40-50%、インド・ヨーロッパ語族の幼児で1-10%と言われている。我々の知る限り、これまでに蒙古斑の出現に関わる遺伝子についての報告は見当たらない。

2. 研究の目的

蒙古斑は生下時より認められることや民族によって発生率が大きく異なることから、その形成には遺伝的な要素が大きく関わっている。また、真皮メラノサイトが関連する疾患、例えば、太田母斑、口唇裂に合併した蒙古斑、後天性太田母斑様メラノージス、色素血管母斑症等については、その発症機序はほとんど不明である。これらの疾患の発症要因も併せて明らかにすることを念頭に、まずは蒙古斑関連遺伝子を明らかにすることを目的とした。そして、蒙古斑関連遺伝子を明らかにしたうえで、これら疾患における同遺伝子の関連性を明らかにする。さらに、メラノーマの真皮内浸潤等における同遺伝子の発現や機能についても検索したい。

3. 研究の方法

モンゴル国の西部に位置するウブス県タリアラン村に Khoton と呼ばれる約9,000人の少数民族がいる。この民族には、同じ家系内に蒙古斑を有する子どもと有さない子供が共存することがある(蒙古斑形質分離家系)。そこで、我々はタリアラン村に行って

それらの家系を見つけて、DNAをサンプリングし、連鎖解析法にて関連遺伝子の染色体上の場所を特定し、最終的には関連遺伝子の同定を試みた。蒙古斑関連遺伝子を明らかにできた後に、同遺伝子の発現を免疫組織化学的方法にて確認する。また、その遺伝子発現を日本人でも確認する。モンゴル人家系のみならず、日本人家系の蒙古斑形質分離家系が見つかった場合は、同様にサンプリングして連鎖解析を行なう。

4. 研究成果

(1) サンプリング

2012年、2013年の計2回、大多数が Khoton 民族(遺伝的連鎖不均衡が報告されている民族)で構成されているモンゴル西部のタリアラン村にてサンプリングを行った。兄弟間または従妹間で蒙古斑発現の有無が分かっている(蒙古斑形質分離家系)3家系25人の唾液サンプリングを行った。さらに、日本人においても蒙古斑分離家系を1家系発見し、16人のサンプリングを行った。

(2) DNA抽出、濃度測定

DNA抽出は DNA genotek 社の Oragene®・DNA を用いて施行した。濃度は life technologies 社の Quant-iT™ PicoGreen® dsDNA assay kit を用い、50ng/μl に調整した。

(3) 連鎖解析

連鎖解析実験は Illumina 社の HumanLinkage V パネル(マーカー数6,056)による GoldenGate Assay のデータを使用した。実験データは GenomeStudio 2009.2 の Genotyping Module にてジェノタイピングを行った後、PLINK Input Report Plug-in v2.1.3 によって出力した .ped および .map ファイルを使用した。

クオリティに関する評価は、出力した .ped ファイルに検体情報を書き加えた後で PLINK 1.07 を使用して、それぞれのオプションにより実施した。ジェノタイピングエラーは、ジ

ジェノタイプを決めることができなかったマーカー数を、--missing オプションを使用して集計した。メンデルアンエラーは、親子の検体間でジェノタイプに矛盾があるマーカー数を、--mendel オプションを使用して集計した。性別判定は、--check-sex オプションを使用して推定した結果を、家系図の情報と比較した。血縁判定については、--genome オプションを使用して、家系内の各検体間における IBD が 0, 1, 2 である確率、血縁関係の指標となる PI-HAT、PPC (pairwise population concordance) の値をそれぞれ得た。

(4) 結果

モンゴルの 3 家系の実験データではジェノタイプエラー率、メンデルアンエラー率ともに全検体とも 1%未満であり、異常はみられなかった。しかし、この 3 家系における解析では有意な LOD score を示す遺伝子座は見つからなかった。

日本人家系に関しては、連鎖解析のためにコアな個体 (mm2, mm3) において、実験的なエラーが含まれることがわかった (mm2 と mm3 は非血縁だが、PI_HAT 値が 0.2452 とやや高く、メンデルアンエラー率が共に 1桁高い数値であった)。

モンゴルの家系においては、Ascertainment bias (確認バイアス、診断バイアス) がある可能性が高いことが想定された。連鎖解析においては、診断ミスが 2 検体以上ある場合は、解析が事実上不可能になる。蒙古斑は通常 5 歳前後で消退してしまうため、すでに消退している場合は、蒙古斑の有無について親の記憶に頼らざるを得ない。さらに、異国の地でのサンプリングであり、蒙古斑の意味が正確に伝わっていなかった可能性もある。今回、有意な結果が得られなかった一つの要因として Ascertainment bias の存在があると考えられる。

日本人の家系については、実験エラーの発覚した mm2, 3 を含む 5 検体 (mm1, 2, 3, 4, 6)

をエクソーム解析に提出し、連鎖解析実験のエラーデータを補完する予定である。

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 19 件)

1. Kawaguchi M and Suzuki T: ADAM17 is involved in the regulation of chemokine expression in keratinocytes. *Int J Dermatol* 53: e233-234 (2014) 査読有
doi:10.1111/ijd.12090.
2. Kawaguchi M and Suzuki T: Gene expression and in situ localization of ADAM17 during skin wound healing. *Int J Dermatol* 53: e229-231 (2014) 査読有
doi:10.1111/ijd.12119.
3. Araki Y, Ishii Y, Abe Y, Yoshizawa J, Okamoto F, Hozumi Y, and Suzuki T: Hermansky-Pudlak Syndrome Type 4 with a novel mutation. *J Dermatol* 41:186-187 (2014) 査読有
doi: 10.1111/1346-8138.12386.
4. Shibata A, Ogawa Y, Sugiura K, Muro Y, Abe R, Suzuki T, and Akiyama M: High survival rate of harlequin ichthyosis in Japan. *J Am Acad Dermatol* 70: 387-388 (2014) 査読有
doi: 10.1016/j.jaad.2013.10.055.
5. Kawaguchi M and Suzuki T: Nail dystrophy without bony involvement in a patient with chronic sarcoidosis. *J Dermatol* 41:194-195 (2014) 査読有
doi: 10.1111/1346-8138.12365.
6. Takeuchi S, Abe Y, Yamada T, Kawano S, Hozumi Y, Ito S, Suzuki T, and Nishigori C: A case of Hermansky-Pudlak syndrome 1 (HPS1) patient with milder symptoms in Japanese. *J Dermatol* 41: 268-270 (2014) 査読有
doi: 10.1111/1346-8138.12390.
7. Yaguchi Y, Kawaguchi M, Murata I, Okamura K, Katagiri Y, and Suzuki T: Chemoradiation using cisplatin and S-1 in locally advanced giant squamous cell carcinoma of the buttock. *J Dermatol* 41: 274-275 (2014) 査読有
doi: 10.1111/1346-8138.12401.
8. Okamura K, Yoshizawa J, Abe Y, Hanaoka K, Higashi N, Togawa Y, Nakagawa S, Kambe N, Funasaka Y, Ohko K, Hozumi Y, and Suzuki T: Oculocutaneous albinism (OCA) in Japanese patients: five novel mutations. *J Dermatol Sci* 74: 173-174 (2014) 査読有
doi: 10.1016/j.jderm.2013.12.011.

9. Yoshizawa J, Abe A, Oiso N, Fukai K, Hozumi Y, Nakamura T, Narita T, Motokawa T, Wakamatsu K, Ito S, Kawada A, Tamiya G, and Suzuki T: Variants in melanogenesis related genes associate with skin cancer risk among Japanese populations. *J Dermatol* 41: 296-302 (2014) 査読有 doi: 10.1111/1346-8138.12432.
10. Kasamatsu S, Hachiya A, Nakamura S, Yasuda Y, Fujimori T, Takano K, Moriwaki S, Hase T, Suzuki T, and Matsunaga K: Depigmentation caused by application of the active brightening material, rhododendrol, is related to tyrosinase activity at a certain threshold. *J Dermatol Sci* 76:16-24 (2014) 査読有 doi: 10.1016/j.jdermsci.2014.07.001.
11. Sasaki M, Kondo M, Sato K, Umeda M, Kawabata K, Takahashi Y, Suzuki T, Matsunaga K, and Inoue S: Rhododendrol, a depigmentation-inducing phenolic compound, exerts melanocyte cytotoxicity via a tyrosinase-dependent mechanism. *Pigment Cell Melanoma Res* 27:754-763 (2014) 査読有 doi: 10.1111/pcmr.12269.
12. Oiso N, Nomi N, Fukai K, Tanemura A, Suzuki T, Katayama I, Wakamatsu K, Muto M, and Kawada A: Nevus depigmentosus with pale skin, yellow-brown hair and a light brown iris. *Eur J Dermatol* 24:406-407 (2014) 査読有 doi: 10.1684/ejd.2014.2350.
13. Kanazu M, Arai T, Sugimoto C, Kitaichi M, Akira M, Abe Y, Hozumi Y, Suzuki T, and Inoue Y: An intractable case of Hermansky-Pudlak syndrome. *Internal Medicine* 53: 2629-2634 (2014) 査読有 doi: 10.2169/internalmedicine.53.2446.
14. Abe Y, Tamiya G, Nakamura T, Hozumi Y, and Suzuki T: Association of melanogenesis genes with skin color variation among Japanese females. *J Dermatol Sci* 69:167-172 (2013) 査読有 doi: pii: S0923-1811(12)00326-X. 10.1016/j.jdermsci.2012.10.016.
15. Saito A, Kuratomi G, Ito C, Matsuoka H, Suzuki T, Ozeki Y, Watanabe T, Fujii K, Shimoda K, Fukushima Y, Inukai T, Ohmori K, and Akiyama K: An association study of the Hermansky-Pudlak syndrome type 4 gene in schizophrenia patients. *Psychiatric Genetics* 234: 163-173 (2013) 査読有 doi: 10.1097/YPG.0b013e32836130a9.
16. Okamura K, Munkhbat B, Batchimeg B, Tamiya G, Hozumi Y, and Suzuki T: Case of a Mongolian child with extensive Mongolian spots in mucopolysaccharidosis type VI: Identification of a novel mutation in the arylsulfatase B gene. *J Dermatol* 40:758-759 (2013) 査読有 doi:10.1111/1346-8138.12237.
17. Kawakami T, Otaguchi R, Kyoya M, Soma Y, and Suzuki T: Patient with dyschromatosis symmetrica hereditaria treated with miniature punch grafting, followed by excimer light therapy. *J Dermatol* 40: 771-772 (2013) 査読有 doi: 10.1111/1346-8138.12205.
18. Monma F, Hozumi Y, Ikematsu S, Kawaguchi M, Kadomatsu K, and Suzuki T: Expression of midkine in normal human skin, dermatitis, and neoplasms: Association with differentiation of keratinocytes. *J Dermatol* 40: 980-986 (2013) 査読有 doi: 10.1111/1346-8138.12333.
19. Kono M, Sugiura K, Sukanuma M, Hayashi M, Takama H, Suzuki T, Matsunaga K, Tomita Y, and Akiyama M: Whole-exome sequencing identifies ADAM10 mutations as a cause of reticulate acropigmentation of Kitamura, a clinical entity distinct from Dowling-Degos disease. *Hum Mol Genet* 22: 3524-33 (2013) 査読有 doi: 10.1093/hmg/ddt207.

〔学会発表〕(計 14 件)

1. Association of melanogenesis genes with skin color variation and risk factor for skin cancers among Japanese population. Suzuki T, Abe Y, Yoshizawa J, Oiso N, Hozumi Y, Nakamura T, Tamiya G: 3rd Eastern Asia Dermatology Congress, Jeju (Korea); September 24-26, 2014
2. ADAM protease inhibitor modulates melanogenesis in human melanocytes. Kawaguchi M, Hozumi Y, Suzuki T: 12th international pigment cell conference, Singapore (Singapore); September 4-7, 2014
3. Positive selection with diversity in oculocutaneous albinisms type 2 gene (OCA2) among Japanese. Shimanuki M, Tamiya G, Abe Y, Hozumi Y, Suzuki T: 12th international pigment cell conference, Singapore (Singapore); September 4-7 2014
4. Oculocutaneous Albinism (OCA) In Japanese Patients: Seven Novel Mutations And A Case Of OCA3. Okamura K, Yoshizawa J, Abe Y, Hanaoka K, Higashi N, Togawa Y, Nakagawa S, Kambe N, Funasaka Y, Ohko K, Kono M, Chinen Y, Hozumi Y, Suzuki T: 12th international pigment cell conference, Singapore (Singapore); September 4-7, 2014
5. ロドデノール誘発性脱色素斑モデルマウ

- スの電顕による観察：鈴木民夫、阿部優子、穂積 豊、岡村 賢、青木仁美、國貞隆弘、第 41 回皮膚かたち研究学会学術大会、石垣記念ホール、東京、2014 年 7 月 27 日
6. Association of melanogenesis genes with skin color variation and risk factor for skin cancers among Japanese population: T. Suzuki, Y. Abe, J. Yoshizawa, M. Shimanuki, Y. Hozumi, G. Tamiya, 第 25 回日本色素細胞学会、大阪大学銀杏会館（大阪府大阪市）、2013 年 11 月 16 日
 7. 広汎性濃色蒙古斑を伴ったムコ多糖症型：岡村賢、Munkhbat B、Batchimeg B、田宮元、穂積豊、鈴木民夫、第 25 回日本色素細胞学会、大阪大学銀杏会館（大阪府大阪市）、2013 年 11 月 16 日
 8. 眼皮膚白皮症における皮膚がん発症リスクについての文献的考察：深井和吉、安水真規子、鶴田大輔、大磯直毅、鈴木民夫、第 25 回日本色素細胞学会、大阪大学銀杏会館（大阪府大阪市）、2013 年 11 月 16 日
 9. 網状肢端色素沈着症は ADAM10 遺伝子変異によって発症する：河野通浩、杉浦一充、林昌浩、高間弘道、鈴木民夫、松永佳世子、富田靖、秋山真志、第 25 回日本色素細胞学会、大阪大学銀杏会館（大阪府大阪市）、2013 年 11 月 16 日
 10. ADAM プロテアーゼ阻害剤はヒトメラノサイトの melanogenesis を調節する：川口雅一、穂積豊、鈴木民夫、第 25 回日本色素細胞学会、大阪大学銀杏会館（大阪府大阪市）、2013 年 11 月 16 日
 11. ロドデノール配合化粧品使用者にみられた白斑に関する検討：阿部優子、吉澤順子、大江倫太郎、穂積豊、山川光徳、鈴木民夫、第 25 回日本色素細胞学会、大阪大学銀杏会館（大阪府大阪市）、2013 年 11 月 16 日
 12. 正常日本人の皮膚色決定因子：鈴木民夫、阿部優子、穂積豊、第 112 回日本皮膚科学会総会 教育講演：わかりやすい色素異常症、パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）、2013 年 6 月 14 日
 13. Genetic studies in Japanese patients with oculocutaneous albinism (OCA): T. Suzuki, J. Yoshizawa, Y. Abe, Y. Hozumi, M. Hayashi, International Investigative Dermatology 2013 (Edinburgh International Conference Center, Edinburgh, UK) 2013, 5,8-11
 14. ADAM protease inhibitor regulates chemokine expression in human keratinocytes, and modulates melanogenesis in human melanocytes: M. Kawaguchi, Y. Hozumi, T. Suzuki,

International Investigative Dermatology 2013 (Edinburgh International Conference Center, Edinburgh, UK) 2013, 5,8-11

〔図書〕(計 5 件)

1. 山口 徹ら編、今日の治療指針 2015 私はこう治療している、P1181、そばかす（雀卵斑）、肝斑、黒皮症：鈴木民夫。医学書院、2015
2. 渡辺晋一ら編、皮膚疾患最新の治療 2015 2016、P238、扁平母斑、カフェオレ斑：鈴木民夫。南江堂、2015
3. 山口 徹ら編、今日の治療指針 2013 私はこう治療している、P1067、尋常性白斑：鈴木民夫。医学書院、2013
4. 滝川雅浩ら編、皮膚疾患最新の治療 2013 2014、P234 - 235、尋常性白斑：鈴木民夫。南江堂、2013
5. 専門編集土田哲也、総編集古江増隆、皮膚科臨床アセット 20 忘れてはならない皮膚科症候群、第 20 巻、P169-173、Hermansky-Pudlak 症候群、大磯直毅、鈴木民夫。中山書店、2013

〔産業財産権〕
出願状況（計 0 件）

取得状況（計 0 件）

〔その他〕
ホームページ等
山形大学医学部皮膚科学講座ホームページ
<http://minfo2.id.yamagata-u.ac.jp/hifuka/>

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
鈴木 民夫 (SUZUKI Tamio)
山形大学・医学部・教授
研究者番号：30206502
- (2) 研究分担者
無し
- (3) 連携研究者
無し
- (4) 研究協力者
穂積 豊 (HOZUMI Yutaka)
技術系職員
岡村 賢 (OKAMURA Ken)
大学院生