

令和元年5月16日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04887

研究課題名(和文) 表皮における脂質メディエーターの役割の解明と角化異常症の新規治療戦略への展開

研究課題名(英文) Elucidation of roles of lipid mediators in the epidermis to innovate novel therapeutic strategies for keratinization disorders

研究代表者

秋山 真志 (AKIYAMA, Masashi)

名古屋大学・医学系研究科・教授

研究者番号：60222551

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究計画において、研究代表者らは、遺伝性角化異常症患者家系を集積し、次世代シーケンサーを用いた全エクソーム・シーケンシング、全ゲノム・シーケンシングによる病因遺伝子変異解析を網羅的に行い、病因遺伝子を同定し、角化異常症患者データベースを作成した。表皮脂質動態と表皮細胞の分化、増殖との関係性の解明を目指し、疾患モデルマウスで、脂質関連分子、脂質メディエーターと表皮細胞の分化とのクロストークを分析した。今回の研究によって得られた結果から、表皮脂質による表皮細胞の分化・角化に対する影響を包括的にまとめ、それらのデータを総括し、実際に臨床応用可能な角化異常症の治療法を検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果から、表皮脂質メディエーターと表皮細胞の分化との相互作用が包括的に解明されることは、表皮細胞の細胞生物学における大きなブレイク・スルーである。また、角化異常症の多くの症例では、脂質関連分子の異常が病因となっている。本研究で表皮細胞の脂質動態が明らかになることにより、多くの角化異常症の発症機序が詳細に解明され、原因療法への手がかりが得られる。今回の成果は、近い将来、角化異常症の患者さんにとって大きな福音となることが期待される。さらに、表皮の脂質動態の是正という治療戦略は、皮膚バリア機能障害によるアトピー・アレルギー性疾患の治療、予防への応用が大いに期待できる。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we accumulated families with inherited keratinization disorders including ichthyosis, and performed whole exome and/or whole genome sequencing using next generation sequencers to clarify genetic causes of the patients. Clinical information and data from the genetic analysis were collected as our data bank of patients with inherited keratinization disorders.

To elucidate the interaction between epidermal lipid synthesis and metabolism, and differentiation and proliferation of the epidermal keratinocytes, we analyzed detailed epidermal lipid profiles and differentiation/proliferation statuses of the keratinocytes in our mouse models of inherited ichthyoses. We comprehensively summarized the effects of epidermal functional lipids on differentiation and proliferation of the epidermal keratinocytes. From the present results, we considered novel therapeutic manners for keratinization disorders using epidermal functional lipids and lipid mediators.

研究分野：皮膚科学

キーワード：遺伝子 脂質 角化 魚鱗癬 表皮

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我々は、2005年、脂質輸送蛋白 ABCA12 の遺伝子変異が、最重症型の角化異常症、道化師様魚鱗癬の病因であることを明らかにした (Akiyama *et al.* J Clin Invest 2005)。これが、表皮細胞の分化、増殖の調節機構と角化異常症の病態において、脂質の果たす役割が注目を集める大きな契機となった。すなわち、表皮細胞の細胞学と角化異常症の病態における、「脂質の時代」の本格的な幕開けであった。これに前後して、eLOX-3, 12R-LOX, CYP4F22, ABHD5 等の表皮の脂質関連分子の遺伝子変異が、魚鱗癬、魚鱗癬症候群の病因として同定され、角化異常症の疾患概念、分類が再編成されるに至った。しかし、表皮における脂質メディエーターによるケラチノサイトの分化調節機構については、多くの部分が不明であった。本研究は、脂質メディエーターによる表皮ケラチノサイトの分化調節機構を包括的に解明し、角化異常症の新規治療戦略の開発へと展開させるものであった。研究代表者は、20年以上にわたり一貫して遺伝性角化異常症の病因解明に取り組み、世界でも数少ない施設として重症型魚鱗癬の出生前診断を行ってきた。本邦の遺伝性角化異常症約240家系の病因遺伝子変異検索を施行し、表皮細胞の脂質関連遺伝子における病因変異を約90家系で同定していた。重症型魚鱗癬については ABCA12, ALDH3A2 遺伝子変異を多数同定し、また、日本人家系の存在が疑問視されていた ABHD5, ALOX12B, CYP4F22, ALOXE3 変異についても、本邦での罹患家系を初めて報告した。しかし、角化異常症の病態において脂質メディエーターが果たす役割については、解明されていない点如山積していた。そこで今回、我々の有するモデルマウス、トランスジェニック・レスキュー技術、次世代シーケンシング法を駆使する本研究計画を着想した。

2. 研究の目的

表皮細胞の分化と皮膚バリアの形成を制御する因子として脂質メディエーターの重要性が認識されつつあり、表皮細胞生物学は「脂質の時代」を迎えたと言っても過言ではない。我々は、本研究において、表皮における種々の脂質の産生、代謝、輸送を包括的に明らかにし、脂質メディエーターをキーとした表皮細胞の分化、増殖の調節機構を解明するとともに、皮膚バリアとしての角層の形成メカニズムを理解することを目的とした。本研究で解明される、表皮細胞の分化と角層バリア形成の制御システムに対する脂質ダイナミズムを応用して、これまで有効な治療法がなかった角化異常症に対する根本的な治療法を開発を目指した。さらに、角層のバリアの形成過程における脂質の役割を知ることは、近年注目されている、皮膚角層バリア機能障害を発症因子とするアトピー性皮膚炎、食物アレルギー等の種々のアレルギー性疾患に対する治療・予防法の開発へと応用されるものであろう。

3. 研究の方法

本研究では、脂質関連分子の異常、遺伝子変異による角化異常症の患者家系を多数集積し、それらの家系での病因を次世代シーケンシング、カスタム・マイクロアレイ、targeted sequence capture を用いて同定し、表皮における脂質異常に関して脂質分析を行なった。この角化異常症患者での脂質異常のデータとモデルマウスでの所見から、表皮での脂質動態とケラチノサイトの分化との相互作用を包括的に解析した。その知見から、脂質メディエーターとケラチノサイトの分化とのクロストークを利用する角化異常症の新規治療戦略を練った。Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)、retinoid X receptor (RXR)、liver X receptor (LXR) 等の作動薬、阻害薬を用いて、疾患モデルマウスを対象として治療実験を施行することにより、角化異常症の新しい治療法を開発を目指した。さらに、この脂質メディエーターを利用する治療法について、皮膚バリア障害を発症因子とするアレルギー性疾患の予防、治療への応用を模索した。

4. 研究成果

(1) 脂質関連分子の異常による角化異常症患者データベースの作成: 遺伝性角化異常症患者家系を集積し、それらの家系において、既知の病因遺伝子 28 種についての変異解析を網羅的に行った。既知病因遺伝子に変異が同定されなかった家系について、次世代シーケンサーを用いる全エクソーム・シーケンシング、全ゲノム・シーケンシングにより、新規病因遺伝子を同定し、角化異常症患者データベースを作成した。

(2) 表皮脂質動態と表皮細胞の分化、増殖とのクロストークの解明: 患者表皮細胞での角化・分化マーカー分子の発現解析と脂質分析とを併行して行い、それらの相互関係を理解した。角化異常症モデルマウスにおいて、脂質メディエーターの動態と表皮細胞の分化障害をリンクさせて解析した。トランスジェニック・レスキュー系を用い、脂質関連分子、脂質メディエーターと表皮細胞の分化との相互作用を分析した。ヒト変異遺伝子による真の疾患モデルマウスで、ヒト病因変異による脂質動態の異常が表皮細胞分化に与える影響の解析を行なった。

(3) 脂質メディエーターと表皮細胞の分化・増殖とのクロストークを利用した角化異常症の新規治療法の開発: 脂質メディエーターの投与による治療法を開発を目指して、種々の脂質の生物学的活性を評価した。

(4) 研究結果の総括と臨床応用の可能性の評価：今回の研究によって得られた結果から、表皮脂質による表皮細胞の分化・角化に対する影響を包括的にまとめた。さらに、それらのデータと本研究での脂質メディエーターのダイナミズムを利用した治療実験の結果を総括し、実際に臨床応用可能な治療法を検討した。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 19 件) (全て査読あり)

Takeichi T, Okuno Y, Kawamoto A, Inoue T, Nagamoto E, Murase C, Shimizu E, Tanaka K, Kageshita Y, Fukushima S, Kono M, Ishikawa J, Ihn H, Takahashi Y, Akiyama M. Reduction of stratum corneum ceramides in Neu-Laxova syndrome caused by phosphoglycerate dehydrogenase deficiency. *J Lipid Res* 59 (12): 2413-2420, 2018.

Murase C, Takeichi T, Shibata A, Nakatochi M, Kinoshita F, Kubo A, Nakajima K, Ishii N, Amano H, Masuda K, Kawakami H, Kanekura T, Washio K, Asano M, Teramura K, Akasaka E, Tohyama M, Hatano Y, Ochiai T, Moriwaki S, Sato T, Ishida-Yamamoto A, Seishima M, Kurosawa M, Ikeda S, Akiyama M. Cross-sectional survey on disease severity in Japanese patients with harlequin ichthyosis/ichthyosis: syndromic forms and quality-of-life analysis in a subgroup. *J Dermatol Sci* 92 (2): 127-133, 2018.

Takeichi T, Honda A, Okuno Y, Kojima D, Kono M, Nakamura Y, Tohyama M, Tanaka T, Aoyama Y, Akiyama M. Sterol profiles are valuable biomarkers for phenotype expression of Conradi-Hünemann-Happle syndrome with *EBP* mutations. *Br J Dermatol* 179 (5): 1186-1188, 2018.

Takeichi T, Torreló A, Lee JYW, Ohno Y, Lozano ML, Kihara A, Liu L, Yasuda Y, Ishikawa J, Murase T, Rodrigo AB, Fernández-Crehuet P, Toi Y, Mellerio J, Rivera J, Vicente V, Kelsell DP, Nishimura Y, Okuno Y, Kojima D, Ogawa Y, Sugiura K, Simpson MA, McLean WHI, Akiyama M, McGrath JA. Biallelic mutations in *KDSR* disrupt ceramide synthesis and result in a spectrum of keratinization disorders associated with thrombocytopenia. *J Invest Dermatol* 137(11); 2344-2353, 2017.

Kono M, Suga Y, Akashi T, Ito Y, Takeichi T, Muro Y, Akiyama M. A child with epidermolytic ichthyosis from a parent with epidermolytic nevus: risk evaluation of transmission from mosaic to germline. *J Invest Dermatol* 137(9); 2024-2026, 2017.

Takeichi T, Nomura T, Takama H, Kono M, Sugiura K, Watanabe D, Shimizu H, Simpson MA, McGrath JA, Akiyama M. Deficient stratum corneum intercellular lipid in a Japanese patient with lamellar ichthyosis by a homozygous deletion mutation in *SDR9C7*. *Br J Dermatol* 177(3); e62-e64, 2017. doi: 10.1111/bjd.15315.

Takeichi T, Okuno Y, Saito C, Kojima D, Kono M, Morita A, Sugiura K, Akiyama M. Congenital ichthyosis and recurrent eczema associated with a novel *ALOXE3* mutation. *Acta Dermato-Venereol* 97(4): 532-533, 2017. doi: 10.2340/00015555-2549.

Hirabayashi T, Anjo T, Kaneko A, Senoo Y, Shibata A, Takama H, Yokoyama K, Nishito Y, Ono T, Taya C, Muramatsu K, Fukami K, Muñoz-García A, Brash A, Ikeda K, Arita M, Akiyama M, Murakami M. PNPLA1 has a crucial role in skin barrier function by directing acylceramide biosynthesis. *Nat Commun* 8: 14609, 2017. doi: 10.1038/ncomms14609.

Akiyama M. Corneocyte lipid envelope (CLE), the key structure for skin barrier function and ichthyosis pathogenesis. *J Dermatol Sci* 88(1); 3-9, 2017.

Zhong FL, Mamaï O, Sborgi L, Boussofara L, Hopkins R, Robinson K, Szeverényi I, Takeichi T, Balaji R, Lau A, Tye H, Roy K, Bonnard C, Ahl PJ, Jones LA, Baker P, Lacina L, Otsuka A, Fournie PR, Malecaze F, Lane EB, Akiyama M, Kabashima K, Connolly JE, Masters SL, Soler VJ, Omar SS, McGrath JA, Nedelcu R, Gribaa M, Denguezli M, Saad A, Hiller S, Reversade B. Germline NLRP1 mutations cause skin inflammatory and cancer susceptibility syndromes via inflammasome activation. *Cell* 167(1): 187-202. e17, 2016.

Takeichi T, Liu L, Abdul-Wahab A, McMillan JR, Stone KL, Akiyama M, Simpson MA, Parsons M, Mellerio JE, McGrath JA. Large intragenic *KRT1* deletion underlying atypical autosomal dominant keratinopathic ichthyosis. *J Invest Dermatol* 136(10): 2095-2098, 2016.

Suzuki S, Nomura T, Miyauch T, Takeda M, Nakamura H, Shinkuma S, Fujita Y, Akiyama M, Shimizu H. Revertant mosaicism in ichthyosis with confetti caused by a novel frameshift mutation in *KRT1*. *J Invest Dermatol* 136(10): 2093-2095, 2016.

Tanahashi K, Sugiura K, Sato T, Akiyama M. Noteworthy clinical findings of harlequin ichthyosis: digital autoamputation caused by cutaneous constriction bands in a case with novel *ABCA12* mutations. *Br J Dermatol* 174 (3): 689-691, 2016.

Takeichi T, Sugiura K, Tso S, Simpson MA, McGrath JA, Akiyama M. Bi-allelic nonsense mutations in *ABHD5* underlie a mild phenotype of Dorfman-Chanarin syndrome. *J Dermatol Sci* 81(2): 134-136, 2016.

Shibata A, Sugiura K, Suzuki A, Ichiki T, Akiyama M. Apparent homozygosity due to compound heterozygosity of one point mutation and an overlapping exon deletion mutation in

ABCA12: A genetic diagnostic pitfall. *J Dermatol Sci* 80 (3): 196-202, 2015.
Takeichi T, Sugiura K, Hsu C-K, Tanahashi K, Takama H, Simpson MA, McGrath JA, Akiyama M. Novel indel mutation of STS underlies a new phenotype of self-healing recessive X-linked ichthyosis. *J Dermatol Sci* 79 (3): 317-319, 2015.
Sugiura K, Akiyama M. Lamellar ichthyosis caused by a previously unreported homozygous *ALOXE3* mutation in East Asia. *Acta Dermato-Venereol* 95 (7): 858-859, 2015.
Ohno Y, Nakamichi S, Ohkuni A, Kamiyama N, Naoe A, Tsujimura H, Yokose U, Sugiura K, Ishikawa J, Akiyama M, Kihara A. Essential role of the cytochrome P450 CYP4F22 in the production of acylceramide, the key lipid for skin permeability barrier formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 112 (25): 7707-7712, 2015.
Sugiura K, Akiyama M. Update on autosomal recessive congenital ichthyosis: mRNA analysis using hair samples is a powerful tool for genetic diagnosis. *J Dermatol Sci* 79 (1): 4-9, 2015.

〔学会発表〕(計4件)

秋山真志
表皮脂質が担う皮膚バリア機能(教育講演)
第82回日本皮膚科学会東京支部学術大会
2018年
秋山真志
魚鱗癬・魚鱗癬症候群の病態から解き明かされる、表皮バリアの形成機構(シンポジウム)
第91回日本生化学会大会
2018年
秋山真志
魚鱗癬と魚鱗癬症候群(教育講演)
平成28年度日本皮膚科学会東京支部企画研修講習会
2017年
秋山真志
拡大する角化症の臨床:新規疾患概念:自己炎症性角化症(autoinflammatory keratinization diseases)(教育講演)
第116回日本皮膚科学会総会
2017年

〔その他〕

名古屋大学大学院医学系研究科皮膚科学分野のホームページ
<http://www.med.nagoya-u.ac.jp/derma/>

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名:小川 靖
ローマ字氏名:(OGAWA, Yasushi)
所属研究機関名:名古屋大学
部局名:医学部附属病院
職名:助教
研究者番号(8桁):10567754

研究分担者氏名:室 慶直
ローマ字氏名:(MURO, Yoshinao)
所属研究機関名:名古屋大学
部局名:医学系研究科
職名:准教授
研究者番号(8桁):80270990

(2)研究協力者

研究協力者氏名:石川 准子
ローマ字氏名:(ISHIKAWA, Junko)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。