

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007～2008

課題番号：19591308

研究課題名（和文） 乾癬発症関連遺伝子群の解明と最適化治療開発への応用

研究課題名（英文） Genetic variation in the genes encoding psoriasis susceptibility and its clinical application to psoriasis therapy

研究代表者

武藤 正彦 (MUTO MASAHIKO)

山口大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：40175625

研究成果の概要：乾癬は、免疫学的異常と環境要因が相互に作用し合って発症する慢性疾患である。遺伝学的解析の結果、(1)乾癬の発症には免疫反応の制御に関わる血液型のひとつである HLA-Cw6 の極めて重要である、(2)この HLA と結合するレセプターに多様性があり、そのことが乾癬治療薬の効き具合に寄与している。(3)従来からの別の乾癬治療薬（メトトレキサート）の効果と葉酸代謝に関わる酵素の遺伝子多型とが相関する、以上の点を明らかにした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2008年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

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：皮膚病理学

1. 研究開始当初の背景

日本人乾癬患者集団における疾患感受性の網羅的な遺伝子解析及び従来の乾癬治療薬に対する薬理遺伝学的解析はほとんど行われていなかった。

2. 研究の目的

(1)遺伝学的解析（主に単一塩基多型解析：SNP）を行い、乾癬の発症に寄与する複数の遺伝子の存在を明らかにする。

(2)従来からの乾癬治療薬への反応性を薬理遺伝学的観点から検討することで、治療効率

の改善を図る。

3. 研究の方法

当科外来通院中又は入院中の乾癬患者 (N=150) の末梢血より抽出した DNA を用いて、下記の遺伝学的及び薬理遺伝学的解析を行った。

(1)HLA 領域の多型解析(HLA, HCR)

(2)IL-12/23p40 遺伝子の多型解析

(3)CTLA4(cytotoxic T lymphocyte antigen

4) 遺伝子の多型解析

(4)KIR(killer cell immunoglobulin-like receptor)遺伝子の多型解析

(5)LMIR(leukocyte mono-immunoglobulin-like receptor)遺伝子の多型解析

(6)メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素(MTHR)の多型解析

HLA と KIR については PCR-SSP 法により、残りは SNP 法又はシーケンス法により、遺伝学的解析(相関及び連鎖)を行った。

有意差の検定は、カイ二乗検定及び affected sib-pair method により評価した。

4. 研究成果

(1)遺伝子としては HLA-Cw6 分子を支配する HLA-Cw6 が尋常性乾癬と強い相関を示すことを明らかにした。さらに、膿疱性乾癬と HLA-A*0207 との間にそれぞれ強い相関が観られた。HLA と密に連鎖した遺伝子の中のひとつ、HCR は特にそのエクソン4の領域に高度の SNP 多型が存在すること、そしてその多型は、乾癬治療に重要なビタミン D₃ を結合するビタミン D レセプターの制限酵素切断多型(Fok I 及び Apa I 酵素)と強い相関を示すことを明らかにした。

乾癬は多因子疾患であるから、乾癬の発症を1個の遺伝子異常で説明することはできない。発症に寄与する第2、第3の遺伝子を探索する必要性が生じてくる。その探索過程で、下記のようないくつかの候補遺伝子(IL-12/23p40, *CTLA4*)が浮上してきた。

(2)サイトカイン IL-12/23 の共通サブユニットを構成する p40 分子の遺伝子多型が乾癬と相関又は連鎖することをつきとめた。IL-12/23p40 のトランスジェニックマウスが皮膚炎を発症することを合せて考えると、IL-12/23p40 遺伝子多型が疾患感受性を支配していることは十分あり得る。近い将来、乾癬の治療として抗 IL-12/23p40 抗体治療が導入されたとき、その生物製剤の効果のあり方を判定する上でも、上記 IL-12/23p40 遺伝子多型の存在は有用な情報を提供できるものと期待される。

(3)*CTLA4* 遺伝子の多型解析から、*CTLA4* の SNP 多型が、乾癬との相関が既に判っている HLA-DR*08 と相関を示した。この事実は、抗原提示細胞から T 細胞へのシグナル伝達の際に、バリエントを有する乾癬患者では、シグナル伝達に乱れが生じる可能性を示唆するものである。

(4)HLA をリガンドとする KIR 分子を支配する KIR の遺伝子多型解析から、活性化に関わ

る KIR2DS1 の頻度が、乾癬患者群で有意に増えていることを明らかにした。すなわち、活性化型 KIR 遺伝子をより多く持つ乾癬患者ほど、シクロスポリンに対する反応性が良くないことが判った。以上より、シクロスポリンをはじめとする免疫抑制剤を用いた免疫学的制御をアプローチする上で、KIR 遺伝子の持つ多型性が有用なマーカーとなり得る。

(5)乾癬の病態形成に重要な好中球によく発現されている抑制型 LMIR の SNP 解析から、exon6(rs2034310)の SNP 変異(G→A)が乾癬と相関を示した。

(6)葉酸代謝に重要な温度に敏感な MTHFR 酵素遺伝子の C677T 変異があれば(表1)、乾癬治療薬であるメトトレキサートへの治療反応性が良くない、と事前評価することができる(投稿準備中)。

表 1

メトトレキサート投与歴のある乾癬患者における MTHFR の多型解析		
症例	C677T	臨床研究
1. 尋常性乾癬	C/C	○
2. 乾癬性紅皮症	C/C	○
3. 関節症性乾癬	C/C	○
4. 尋常性乾癬	T/T	×
5. 尋常性乾癬	C/T	×
6. 尋常性乾癬	C/T	×
7. 膿疱性乾癬	T/T	×
8. 膿疱性乾癬	C/T	×

メトトレキサートの投与は Weinstein 法に準ずる。

本研究を遂行したことで、日本人集団において乾癬発症に寄与する遺伝子群の解明が一步前進し、乾癬治療を考える上でも、ゲノム情報を把握しておくことが極めて重要であることを指摘できたものと考えられる。

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 12 件)

- ① Furukawa, F., Muto, M. and Ichikawa, O. Ethnic differences in immunogenetic Features and photosensitivity of cutaneous lupus erythematosus. Archives of Dermatological Research, 301:111-115, 2009. 査読有
- ② 中村好貴、山口道也、寺本由紀子、一宮誠、武藤正彦。山口大学皮膚科における PDT および PDD 症例の検討。日本レーザー医学会誌、30:13-17, 2009. 査読有
- ③ 根本圭、中村好貴、出口弘隆、武藤正彦、中野純二。Eruptive collagenoma の 1 例。西日本皮膚科、71(2):141-143, 2009. 査読有
- ④ 一宮誠、秋田浩二、武藤正彦。腓腹神経を温存した Distally-Based Sural Flap によって再建した左足底部熱傷癒痕癌の 1 例。皮膚科の臨床、50:1715-1717, 2008. 査読有
- ⑤ Takahata, Y., Hiruma, M., Shiraki, Y., Tokuhisa, Y., Sugita, T. and Muto, M. Treatment of dermatophyte onychomycosis with three pulses of terbinafine (500mg day⁻¹ for a week). Mycoses, 52:72-76, 2008. 査読有
- ⑥ Yamaguchi, M., Tanaka, A. and Muto, M. A possible association of single-nucleotide polymorphisms in the alpha-helix coiled-coil rod homologue gene with psoriasis in a Japanese population. The Bulletin of the Yamaguchi Medical School, 55, (3-4) 43-49, 2008. 査読有
- ⑦ Nakamura, C., Nakamura, Y., Gondo, T., Takaki, E., Fujimoto, M., Inoue, S., Nakai, A. and Muto, M. HSF1 is important for protection of mouse epidermal cells against heat stress. The Bulletin of the Yamaguchi Medical School, 55(1-2):1-8, 2008. 査読有
- ⑧ Takahata, Y., Hiruma, M., Sugita, T. and Muto, M. A case of onychomycosis due to *Aspergillus sydowii* diagnosed using DNA sequence analysis. Mycoses, 51:170-173, 2008. 査読有
- ⑨ Motita, K., Nemoto, K., Nakamura, Y., Yamaguchi, M. and Muto, M. Expression of claudin in melanoma cells. Journal of Dermatology, 35:36-38, 2008. 査読有
- ⑩ Takahata, Y., Sugita, T., Hiruma, M. and Muto, M. Quantitative analysis of *Malassezia* flora in psoriasis (*research snippets*). Journal of Investigative Dermatology, 127:2492, 2007. 査読有
- ⑪ Takahata, Y., Sugita, T., Kato, H., Nishikawa, A., and Muto M. Cutaneous *Malassezia* flora in atopic dermatitis differs between adults and children. British Journal of Dermatology, 157:1178-1182, 2007. 査読有
- ⑫ Takahata, Y., Sugita, T., Hiruma, M. and Muto, M. Quantitative analysis of *Malassezia* in the scale of patients with psoriasis using a real-time PCR assay. British Journal of Dermatology, 157:670-673, 2007. 査読有

[学会発表] (計 6 件)

- ① Muto, M. The Genetic Basis for the Association of HLA-Cw*0602 with Psoriasis. 8th Asian Dermatological Congress, October 3, 2008, Seoul
- ② 武藤正彦、乾癬遺伝子ゲノムプロジェクト 2008、第 23 回日本乾癬学会学術大会、2008 年 9 月 6 日、旭川市
- ③ 武藤正彦、血中 IL-4 が高値を示した成人型毛孔性紅色糠疹、第 23 回角化症研究会、2008 年 8 月 2 日、東京
- ④ 武藤正彦、抗ヒスタミン薬の使い方とリスク管理、日本臨床皮膚科医会中国支部・総会学術講演会、2008 年 7 月 27 日、山口市
- ⑤ 武藤正彦、Methotrexate therapy in psoriasis and genetic variants of methylenetetrahydrofolate reductase. 第 8 回日独皮膚科学会、2007 年 11 月 15 日、横浜市
- ⑥ 武藤正彦、ゲノム多型を応用した乾癬の治療設計、第 67 回日本アレルギー学会秋季学術大会、2007 年 11 月 1 日、横浜市

[図書] (計 2 件)

- ① 武藤正彦、中外医学社、EBM2008-2009 皮膚疾患の治療、2008、4 ページ
- ② 武藤正彦、文光堂、皮膚疾患診療実践ガイド、2009、856 ページ

[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

<http://dermatology.med.yamaguchi-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

武藤 正彦 (MUTO MASAHIKO)
山口大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：40175625

(2) 研究分担者

一宮 誠 (ICHIMIYA MAKOTO)
山口大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：20314809

(3) 連携研究者

なし