

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：32645

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2022

課題番号：17K00884

研究課題名（和文）メタボリック症候群としての乾癬における脂肪酸結合タンパクのエピゲノム機能解析

研究課題名（英文）Epigenomic analysis of fatty acid binding proteins in psoriasis.

研究代表者

加藤 雪彦 (Kato, Yukihiro)

東京医科大学・医学部・教授

研究者番号：90246231

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：乾癬は慢性的な皮膚炎が障害持続する原因不明の疾患で、患者の10%前後に関節破壊を伴う関節炎を合併する。また、メタボリック症候群と併存しやすく心血管障害のため寿命が6年も短い。脂肪酸結合タンパク（FABP）は細胞内の脂肪酸輸送を担うが、全身のさまざまな病態と深く関連する。申請者は、乾癬患者皮膚全層からRNAを抽出しFABPのサブクラスの遺伝子発現を検討し、また、患者皮膚におけるFABP局在を検討した。予備的な研究で、網羅的遺伝子発現解析により発現の多かった、あるサブクラスのFABPが、すべての乾癬患者でメチル化され、対象群ではメチル化されていなかったため、乾癬の病態との関連が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乾癬は単なる炎症性皮膚疾患ではなく、心血管疾患、関節破壊を伴う関節炎、うつ病など全身の炎症性疾患と捉えることができる。その原因は不明だが、本研究により、網羅的エピゲノム解析から得られた脂肪酸タンパクがヒトサンプルでメチル化されていることが確認できた。今後、これらの意義が解明され、乾癬などの全身性炎症性疾患の機序解明や治療薬開発につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Psoriasis is a disorder of unknown cause in which chronic dermatitis is disabling and persistent, and is complicated by arthritis with joint destruction in about 10% of patients. It is also prone to comorbidity with metabolic syndrome and cardiovascular disorder. The life expectancy is shortened by 6 years due to the cardiovascular disorder. Fatty acid-binding protein (FABP) is responsible for intracellular fatty acid transport and is closely associated with a variety of systemic diseases. The applicant extracted RNA from whole skin layers of psoriasis patients to examine gene expression of subclasses of FABP and to study the localization of FABP in the patients' skin. In a preliminary study, a subclass of FABPs that was highly expressed by comprehensive gene expression analysis was methylated in all psoriasis patients and unmethylated in the target group, suggesting a link to the pathogenesis of psoriasis.

研究分野：皮膚科

キーワード：乾癬 脂肪酸タンパク

1. 研究開始当初の背景

乾癬は慢性的な皮膚炎が障害持続する原因不明の疾患で、患者の 10%前後に関節破壊を伴う関節炎を合併する。乾癬は心血管系疾患、肥満、高血圧、糖尿病、脂質異常症、メタボリック症候群、消化器系疾患など数多くの併存疾患を有する。特に重度の乾癬患者では、心血管障害のため 6 年も寿命が短い。メタボリック症候群は、肥満や高血圧、インスリン抵抗性、脂質異常の要素を考慮し診断され、いずれの要素も健康人に比べ乾癬患者で高い罹患率を有し、乾癬患者の 28.3%がメタボリック症候群を罹患していることがわかっている。乾癬の重症度と体重が相関することが知られており、乾癬の重症度が高まるとメタボリック症候群の割合も上昇する

肥満・2 型糖尿病・心血管疾患などの代謝性疾患において、慢性的な炎症の特徴が見られることが明らかになっている。脂肪酸は、エネルギー源としてだけでなく、代謝調節のためのシグナルとしても機能しており、炎症および代謝反応を調節している。長鎖脂肪酸やエイコサノイドのような疎水性リガンドは不溶性であるためペルオキシソーム、ミトコンドリア、小胞体、脂肪滴、核など様々な細胞内構成要素と結合するためのシャペロンが必要となる。細胞内脂質シャペロンとして知られる脂肪酸結合タンパク質 (FABP) は、代謝や炎症経路にも強く関連している。FABP は、約 130 個のアミノ酸から構成される分子量約 14-15kDa の可溶性タンパク質である。細胞内の脂肪輸送を担い、脂質を介した経路や、関連する代謝・免疫反応経路の中心的存在であることが示されており、肥満、糖尿病、動脈硬化など、さまざまな関連疾患の治療標的としての可能性も注目されている。FABP は、これまでに 10 個のアイソフォームが同定されておりそれぞれ最初に発見された器官や高発現の器官にちなんで命名されており、表皮に関連するのは FABP5 とされる

申請者らは、乾癬患者の病変部を表皮のみならず真皮や脂肪組織を一部含む皮膚全層のマイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析(Agilent 社)を行い、485553 遺伝子座について同じ患者の健常皮膚に比べて最も発現量の高かったのは FABP9 であった。

2. 研究の目的

乾癬の病態における FABP の関与を明らかにして、乾癬の発症における FABP の役割を解明することが目的である。

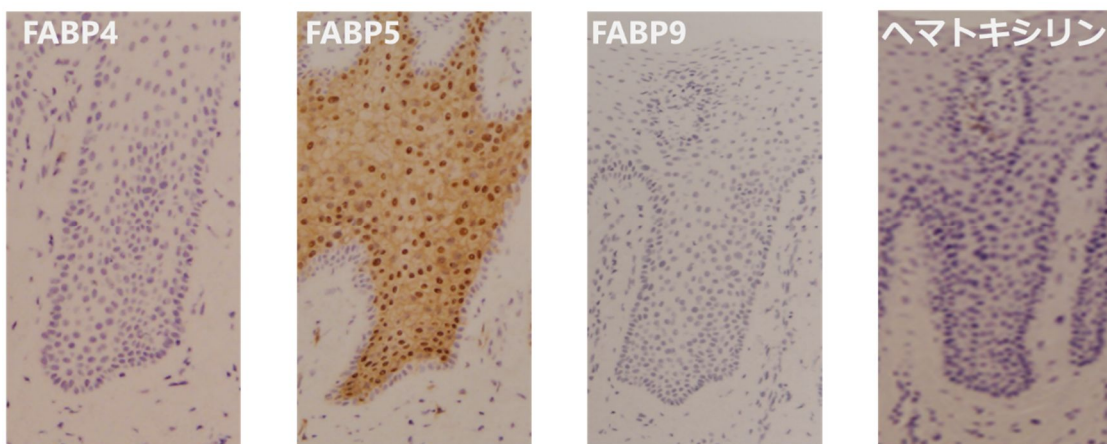
3. 研究の方法

乾癬患者 11 名から乾癬病変部を角層から脂肪織まで含めて採取した。そして、FABP4, FABP5, FABP9 について免疫染色を行った。アジレント社の網羅的遺伝子解析とイルミナ社のゲノムワイドなエピゲノム解析を施行した。皮膚生検組織片から RNA を抽出し逆転写反応により cDNA を合成し、リアルタイム PCR により FABP9 の発現量を調べた。合成した cDNA を用いてメチル化特異的 PCR を行い、メチル化遺伝子の増幅を電気泳動により調べた。メチル化プライマーは 2 つ設定した。

4. 研究成果

マイクロアレイにより、健常人に比べ乾癬患者において高発現かつ高メチル化されていたのは、FABP9 であった。免疫染色では、FABP5 はすべての症例で染色が確認されたことに対し、FABP4, FABP9 はほとんどの症例でタンパクの発現を認めなかった（下図）。

	ヘマトキシリン染色	FABP4染色	FABP5染色 (基底層除く)	FABP9染色
症例 1		-	++	-
症例 3		-	++	-
症例 4	-	-	++	-
症例 5	-	+	++	-
症例 6	Muroの微小膿瘍	-	++	-
症例 7		-	++	-
症例 8	++ (基底層)	+	++	±



また、メチル化特異的 PCR によりすべての症例において FABP9 はメチル化されているため、タンパク発現を抑制されていることが分かった。

FABP9 は生体の精巣において最も多く発現する FABP であり、精子の脂肪酸を酸化から守り、高い生殖能力を維持していると考えられている。正常に発達した精巣に比べて未発達の精巣では、脂肪代謝経路に關与する遺伝子の発現が少ないことから、正常な精巣の成長にお

いて脂肪代謝経路が重要であることがわかる。脂肪酸代謝に関与するビタミン様物質である L-カルニチンは酸化ストレスによって誘導される TNF- α 、IL-6, IL-10 の暴露により、FABP9 と p38-MAPK の活性化が起こることから[23]、乾癬において代表的な炎症性サイトカインのひとつ TNF- α が豊富にみられる際、FABP9 が未知の機序によって活性化される可能性があり、今後の進展に期待したい。

今回の検討では残念ながら FABP9 ノックアウトマウスが入手できず、マウス乾癬モデルによる検討ができなかったが、今後それらを用いて乾癬における FABP9 のメチル化の意義を検討することが望まれる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------