

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月22日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22591223

研究課題名（和文）乾癬発症候補遺伝子群の高次構造の解明

研究課題名（英文）Networks of single nucleotide polymorphisms of candidate genes to increase psoriasis risk.

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（和文）：日本人の乾癬原因遺伝子の同定を目指したゲノム解析および遺伝子改変動物の作製による乾癬の発症機構を解明する目的の下に研究を進め、(1)乾癬の炎症反応には、HLA 遺伝子とともに複数の遺伝子(IL-12B, IL-36RN, CTLA4)が関与しており、(2)他方、表皮細胞の分化に係る CCHCR1 や FABP5 遺伝子も関与することが判明した。新規のターゲット分子として IL-36 の制御に係る薬剤の開発の可能性を示唆した。

研究成果の概要（英文）：The present study was to investigate the pathophysiological aspects concerning the development of psoriasis (psoriasis vulgaris (N=200), generalized pustular psoriasis(N=10), psoriatic arthritis(N=30) in Japan. We can summarize the results of the present study as follows: first, immunological markers (IL-12B, IL-36RN, TNF- α , and CTLA4) as well as HLA might be involved in the development of psoriasis. Second, genetic defects of the IL-36RN are essential to develop the generalized pustular psoriasis but not psoriasis vulgaris. Moreover these genetic defects of IL-36RN are due to the founder effect of the gene. Third, FABP5 combining linoleic acid is found to be very important in regulating cytokeratin gene K1 of the epidermis, by experiments using FABP5 knockout mice.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：皮膚科学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学、皮膚科学

キーワード：乾癬、発症原因遺伝子、高次構造

1. 研究開始当初の背景

炎症性全身性疾患である乾癬の発症に係る原因遺伝子の探索は国内外を問わず競争が続いている。その主要候補遺伝子として、第

6番染色体短腕上に位置する HLA を核とする PSORS1 が注目を集めているが、その実態は不明のままである。

2. 研究の目的

(1) PSORS1 を構成すると思われる遺伝子群の遺伝子多型を解析することで、PSORS1 の構成要素となりうる各遺伝子を同定していく。

(2) (1) で同定された遺伝子が、どのようにネットワークを形成し、乾癬の発症に貢献しようとしているのか、臨床所見と併せながら、その全体像の構造解析を行う。

3. 研究の方法

(1) 炎症の誘導に係る遺伝マーカーの軸として、HLA 遺伝子多型を尋常性乾癬患者群 (N=200)、汎発性膿疱性乾癬患者群 (N=10) および乾癬性関節炎患者群 (N=30) について実施する。

(2) 炎症の程度を左右するマーカーとして、TNF- α 、IL-12B、IL-23 受容体、アディポネクチン、CTLA4、IL-36RN の各遺伝子の遺伝子多型解析 (SNP 又はシークエンシング) を実施する。

(3) 乾癬は表皮の角化異常を必須とすることから、表皮の角化に係る遺伝子として、FABP5、ビタミン D₃ 受容体および CCHCR1 の各遺伝子の遺伝子多型解析 (SNP 又はシークエンシング) を行う。

(4) ケラチノサイトの生物学的機能解析 FABP5 ノックアウトマウス由来の表皮を用いて各種遺伝子発現パターンの解析及び脂質分析を行う。

以上の(1)から(4)の各項目の研究を進め、乾癬の発症に係る宿主側の遺伝要因の全体像を解明する。

4. 研究成果

(1) HLA と乾癬との相関

乾癬の約 90 パーセントを占める尋常性乾癬では HLA-Cw*0602 との強い相関がみられるのに対し、臨床調査対象疾患に指定されている汎発性膿疱性乾癬では HLA-Cw*0602 は全く観察されず、HLA の観点からみて、両疾患は遺伝学的に異なった疾患であることが示唆された。また、汎発性膿疱性乾癬の兄妹発症例の家系分析の結果から、罹患同胞間で HLA ハプロタイプが共有されていることが判っており、HLA 自身の汎発性膿疱性乾癬発症への関与は十分に考えられる。(J. Investigative Dermatology in press, 2013)。

(2) サイトカイン関連遺伝子群と乾癬との相関

乾癬患者の血中の TNF- α レベルは正常者に比べ上昇していることが認められているこ

とから、TNF- α 分泌に係るサイトカイン遺伝子の遺伝子多型を調べたところ、TNF- α 遺伝子そのものの遺伝子多型には有意なズレが認められなかったが、マクロファージと T 細胞間のシグナル伝達に重要な補助分子である CTLA4 をコードする CTLA4 遺伝子に関して、HLA-DRB1*08 共存下で、溶連菌の細胞壁構成蛋白である M 蛋白に対する免疫応答能が亢進していることを明らかとした (J. Dermatological Science, 2011)。

(3) 遺伝子改変動物の作製による表皮ケラチノサイト内脂質代謝過程の解明

乾癬の表皮内には脂質滴が蓄積するなど、形態学的な異常が従来より指摘されていたので、われわれは、必須脂肪酸であるリノール酸とその輸送蛋白である FABP5 にターゲットを絞り FABP5 ノックアウトマウスを用いた解析を進め、リノール酸の代謝物が FABP5 のリガンドとなり、転写因子である NF- κ B を活性化することでケラチノサイト内にあるケラチン 1 の遺伝子発現を制御していることを明らかにした (J. Investigative Dermatology, 2011)。

(4) 細胞内骨格蛋白を支配する CCHCR1 の役割 PSORS1 の中核をなす HLA-Cw*0602 遺伝子は、CCHCR1*WWCC ハプロタイプと密に連鎖していることを日本人集団において確認し、ビタミン D 受容体遺伝子の発現を支配する CCHCR1*WWCC の変異の生物学的効果を遺伝子のトランスフェクション技術を用いて検討したところ、野生型との間で有意な差がみられることが判った。HLA は、直接又は間接に他の遺伝子をコントロールしている可能性がでてきた。

(5) 汎発性膿疱性乾癬の原因遺伝子の同定

汎発性膿疱性乾癬の原因遺伝子の一つは、IL-36 の分泌を負に制御している IL-36RN 遺伝子の欠落によることをゲノム解析ならびに免疫組織化学的に証明し、日本人における IL-36RN バリエントのマップを完成した (J. Investigative Dermatology, 2013)。本症のための遺伝子診断ツールの開発および IL-36 をターゲットとした薬剤の開発に大きく貢献しうることが十分期待される。(図 1)

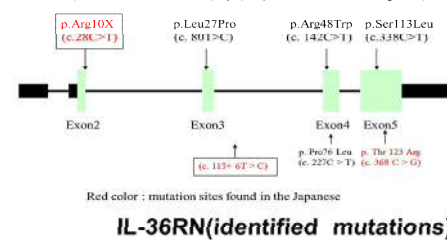


図 1. IL-36RN 遺伝子の構造とバリエント部位

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 14 件)

- ① Sugiura K., Takemoto A., Yamaguchi M., (他 23 名 25 番目), The majority of generalized pustular psoriasis without psoriasis vulgaris is caused by deficiency of interleukin-36 receptor antagonist, *J. Invest. Dermatol.*, 査読有, in press
- ② Ichimiya M., Goishi K., Muto M., Endoscopic groin lymph node dissection as a preferable technique for malignant skin neoplasms, *J. Plast. Surg. Hand Surg.*, 査読有, in press
- ③ Sugawara T., Nemoto K., Adachi Y., Yamano N., Tokuda N., Muto M., Okuyama R., Sakai S., Owada Y., Reduced size of sebaceous gland and altered sebum lipid composition in mice lacking fatty acid binding protein 5 gene, *Exp. Dermatol.*, 査読有, 21, 2012, 543-546, 10.1111/j.1600.0625.2012.01514.x
- ④ 根本圭、武藤正彦、新しい治療への期待—顆粒球吸着療法—、*日皮会誌*、査読無、122、2012、3219-3221
- ⑤ 根本圭、若松研弥、一宮誠、武藤正彦、ステロイド外用薬でコントロールできた疱疹状膿痂疹、*皮膚病診療*、査読無、34、2012、647-650
- ⑥ Yuki T., Hachiya A., Kusaka A., Sriwiranont P., Visscher MO., Morita K., Muto M., Miyachi Y., Sugiyama Y., Inoue S., Characterization of tight junctions and their disruption by UVB in human epidermis and cultured keratinocytes, *J. Invest. Dermatol.*, 査読有, 131, 2011, 744-752, 10.1038/jid.2010.385
- ⑦ Nemoto K., Muto M., Genotyping of human killer cell immunoglobulin-like receptor genes in Japanese patients with psoriatic arthritis, generalized pustular psoriasis or psoriasis vulgaris, *Bull. Yamaguchi Med. School*, 査読有, 58, 2011, 37-43, <http://ds.cc.yamaguchi-u.ac.jp/bulletin/left.html>
- ⑧ Furue M., Yamazaki S., Jimbow K., Tsuchida T., Amagai M., Tanaka T., Matsunaga K., Muto M., Morita E., Akiyama M., Soma Y., Terui T., Manabe M., Prevalence of dermatological disorders in Japan: A nationwide, cross-sectional, seasonal, multicenter, hospital-based study, *J. Dermatol.*, 査読有, 38, 2011, 310-320, 10.1111/j.1346-8138.2011.01209.x
- ⑨ Muto M., Deguchi H., Tanaka A., Inoue T., Ichimiya M., Association between T-lymphocyte regulatory gene CTLA4 single nucleotide polymorphism at position 49 in exon 1 and HLA-DRB1*08 in Japanese patients with psoriasis vulgaris, *J. Dermatol. Sci.*, 査読有, 62, 2011, 70-71, 10.1016/j.jdermsci.2010.10.012
- ⑩ Ogawa E., Owada Y., Ikawa S., Adachi Y., Egawa T., Nemoto K., Suzuki K., Hishinuma T., Kawashima H., Kondo H., Muto M., Aiba S., Okuyama R., Epidermal FABP (FABP5) regulates keratinocyte differentiation by 13(s)-HODE-mediated activation of the NF- κ B signaling pathway, *J. Invest. Dermatol.*, 査読有, 131, 2011, 604-612, 10.1038/jid.2010.342
- ⑪ Deguchi H., Tanaka A., Muto M., Analysis of single nucleotide polymorphisms of methylene-tetrahydrofolate reductase in Japanese psoriasis patients, *Bull. Yamaguchi Med. School*, 査読有, 57, 2010, 41-48, <http://ds.cc.yamaguchi-u.ac.jp/bulletin/left.html>
- ⑫ Muto M., The detection of genetic variants concerning psoriasis susceptibility, *Dermatologie in Beruf und Umwelt*, 査読無, 58(2), 2010, 82-83
- ⑬ Nakamura Y., Fujimoto M., Hayashida N., Takii R., Nakai A., Muto M., Silencing HSF1 by short hairpin RNA decreases cell proliferation and enhances sensitivity to hyperthermia in a human melanoma cell line, *J. Dermatol. Sci.*, 査読有, 60, 2010, 187-192, 10.1016/j.jdermsci.2010.09.009
- ⑭ Wakamatsu K., Naniwa K., Hagiya Y., Ichimiya M., Muto M., A case of psoriasis verrucosa, *J. Dermatol.*, 査読有, 37, 2010, 1060-1062, 10.1111/j.1346-8138.2010.00944.x

[学会発表] (計 4 件)

- ① Masahiko Muto, Michiya Yamaguchi, Akemi Takemoto, Kenichiro Naniwa, Makoto Ichimiya, Genetic Polymorphisms of IL36RN, KIR and HLA in Japanese Patients with Generalized Pustular Psoriasis, 2nd Eastern Asia Dermatology

Congress, 2012. 6. 13-15, Beijing, China

- ② Muto M, Tanaka A, Wakamatsu K, Yamaguchi M, Takemoto A, Genetic association study shows significance of a combination of CTLA4 gene and HLA-DRB1*08 concerning psoriasis-risk genes, 22nd World Congress of Dermatology, 2011. 5. 24-29, Seoul, Korea
- ③ Muto M, Yamaguchi M, Deguchi H, Abe Y, Ichimiya M, Allelic polymorphism and haplotypes of killer cell immunoglobulin-like receptor genes in huma melanoma, The 1st Eastern Asia Dermatology Congress, 2010. 9. 30-10. 2, Fukuoka, Hotel New Otani Hakata
- ④ Muto M, The detection of genetic variants concerning psoriasis susceptibility, The 9th meeting of the German-Japanese Society of Dermatology, 2010. 6. 8-10, Weimar, Germany

〔図書〕(計1件)

- ① 武藤正彦、他、医学書院、乾癬『今日の治療指針』、2013、pp. 1045-1046

〔その他〕

ホームページ等

<https://www.bsbank.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