

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 16 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2011～2013

課題番号：23249058

研究課題名(和文) 脂質輸送蛋白 ABCA12 をターゲットとした、魚鱗癬各病型に対する新規治療法の開発

研究課題名(英文) Innovation of novel treatments for various phenotypes of ichthyosis by restoration of ABCA12 lipid transporter gene expression

研究代表者

秋山 真志 (AKIYAMA, Masashi)

名古屋大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：60222551

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 37,200,000 円、(間接経費) 11,160,000 円

研究成果の概要(和文)：本研究において、我々は、ABCA12遺伝子変異を持つ、先天性魚鱗癬様紅皮症モデルマウスを作成し、ABCA12発現増強因子の解析を行った。ABCA12の発現増強効果が認められた薬剤につき、先天性魚鱗癬様紅皮症モデルマウスに対する治療実験を施行し、ABCA12の発現増強効果、および、皮膚表現型の改善を臨床的に評価し、また、皮膚のバリア機能の改善度も客観的に評価した。

さらに、ABCA12の機能喪失変異を有する道化師様魚鱗癬モデルマウスを作成し、モデルマウスでのABCA12変異に対するリードスルー活性が期待できる各種のリードスルー候補薬剤について、ABCA12の発現の回復と表現形の改善を評価した。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we established ABCA12-mutant mice harboring ABCA12 partial loss-of-function mutations, as model mice for congenital ichthyosiform erythroderma. In the model mice, we evaluated the up-regulation effects on ABCA12 gene expression by various compounds, which were expected to have up-regulation effects on ABCA12 gene expression. As for the compounds which were proved to have up-regulation effects on ABCA12 gene expression, we further investigated treatment efficacy of the up-regulators of ABCA12 gene expression in the model mice, by monitoring ichthyosis phenotype recovery and restoration of skin barrier function.

In addition, we also established model mice carrying ABCA12 loss-of-function mutations as a model of harlequin ichthyosis. Using the model mice, we evaluated treatment efficacy of various read-through compounds to harlequin ichthyosis phenotypes by monitoring restoration of the stratum corneum barrier function and phenotype recovery.

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：皮膚病理学 角化異常症

1. 研究開始当初の背景

我々は、2005年に、世界に先駆けて、最重症型の魚鱗癬、道化師様魚鱗癬の病因が ABCA12 遺伝子変異であることを明らかにした (Akiyama et al, J Clin Invest 2005)。さらに、研究代表者らは、道化師様魚鱗癬患者表皮細胞を培養し、それらの細胞からマウスの皮膚に、道化師様魚鱗癬の病変を再構成することに成功した (Yamanaka, Akiyama, et al, Am J Pathol 2007)。そして次には、道化師様魚鱗癬のモデルマウスである、ABCA12 ノックアウトマウスの作成に成功した (Yanagi, Akiyama, et al. Hum Mol Genet 2008)。重症型の魚鱗癬について、ヒト由来の魚鱗癬再構成病変の系、ならびに、ノックアウトモデルマウスの系の両方を有している研究グループは、世界にも、研究代表者のグループのみであった。私たちのグループが世界的に、魚鱗癬研究においては、突出した存在であったことになる。



図1 最重症型魚鱗癬 (道化師様魚鱗癬) 症例

また、魚鱗癬の出生前診断が可能で、世界でも数少ない施設として、我々は、十年以上にわたり、国内外の重症型魚鱗癬の出生前診断を行うとともに、症例を集積してきた。上述の如く、2005年、我々は、道化師様魚鱗癬の病因が ABCA12 の遺伝子変異であることを解明し、その後、日本人魚鱗癬症例における ABCA12 遺伝子変異を網羅的に同定していた (Akiyama M. Hum Mutat 2010)。これら我々の研究により、興味深いことに、日本人においては、中等症の魚鱗癬、魚鱗癬様紅皮症の過半数の症例は道化師様魚鱗癬と同じ、ABCA12 の遺伝子変異によることが明らかになった (Sakai, Akiyama, et al. J Invest Dermatol 2009)。さらに、我々は、ABCA12 は、

表皮細胞の分化調節に重要な役割を果たしている事を明らかにした (Yanagi, Akiyama, et al. Am J Pathol 2010)。ここに至り、ABCA12 に的を絞り、我々の有するモデルマウス、transgenic rescue 技術、リードスルー解析技術を駆使し、重症型から中等症、軽症までの魚鱗癬の治療法の確立、および、フィグリン欠損を発症因子とするアトピー性皮膚炎 (Nomura, Sandilands, Akiyama, et al. J Allergy Clin Immunol 2007) への応用を目指すことを着想した。

2. 研究の目的

我々は、本研究において、有効な治療法がなかった魚鱗癬の内、最重症型の道化師様魚鱗癬、中等症の先天性魚鱗癬様紅皮症、軽症型の尋常性魚鱗癬の多彩な病型に対して、ABCA12 という表皮の脂質輸送蛋白をキーとして、リードスルー療法と発現増強因子を用いて、根本的な治療法の開発を目指した。具体的には、ABCA12 機能喪失変異による重症例 (道化師様魚鱗癬) を対象としたリードスルー療法の開発、ABCA12 部分機能欠損変異による中等症例 (魚鱗癬様紅皮症) を対象とした ABCA12 発現増強による治療戦略の開発、そして、ABCA12 発現増強による尋常性魚鱗癬 (フィラグリン欠損軽症魚鱗癬) を対象とした代償治療法の開発を目指した。アトピー性皮膚炎の重要な発症因子であるフィラグリンの遺伝子変異による尋常性魚鱗癬の治療法の開発は、魚鱗癬の治療のみで無く、アトピー性皮膚炎の治療、予防法へと応用されるであろう。

3. 研究の方法

本研究では、ABCA12 機能喪失変異による重症型魚鱗癬 (道化師様魚鱗癬) に対しては ABCA12 変異のリードスルー薬剤の開発を目指した。また、ABCA12 のミスセンス変異による中等症の魚鱗癬 (先天性魚鱗癬様紅皮症) に対しては、ABCA12 発現を増大させる活性を有する因子、薬剤を同定し、それを用いた ABCA12 発現増強治療法の開発を試みた。さらに、ABCA12 発現増強因子を用いて、フィラグリン変異による皮膚バリア障害を有する軽症型魚鱗癬 (尋常性魚鱗癬) の新規治療法の開発を行った。ABCA12 増強因子を用いた、フィラグリン変異の表現型の治療法が確立されれば、その技術はアトピー性皮膚炎の治療、予防法へのブレイク・スルーとなることが予想された。

4. 研究成果

(1) 先天性魚鱗癬様紅皮症を対象とした ABCA12 発現増強因子による治療戦略の開発

ABCA12 遺伝子変異を持つ、先天性魚鱗癬様紅皮症モデルマウスを作成し、そのモデルマウス由来培養表皮細胞を用いた ABCA12 発現増強因子の解析を行った。

ABCA12 の発現増強効果が認められた薬剤

につき、先天性魚鱗癬様紅皮症モデルマウス、および、患者由来表皮培養細胞に対する治療実験を施行し、ABCA12 遺伝子および蛋白の発現をモニターし、ABCA12 の発現増強効果、および、臨床症状の改善度を評価した。

(2)魚鱗癬モデルマウスを対象とした ABCA12 発現増強因子による治療効果の評価
魚鱗癬モデルマウス個体に、ABCA12 発現増強因子を投与し、皮膚表現型の改善を臨床的に評価した。また、角質水分量、経表皮的水分蒸散量など、皮膚のバリア機能の改善度を客観的に評価した。

(3) 道化師様魚鱗癬を対象としたリードスルー薬剤による治療効果の評価

ABCA12 変異を有する道化師様魚鱗癬モデルマウスの作成：日本人道化師様魚鱗癬同様に、ABCA12 の機能喪失変異を有する道化師様魚鱗癬モデルマウスを作成した。

上記 1 で作成したモデルマウスでのリードスルー治療実験： ABCA12 変異に対するリードスルー活性が期待できる各種のリードスルー候補薬剤を種々の濃度で投与し、ABCA12 の発現の回復をモニターし、表現形の改善を評価した。

(4) 重症型と中等症の魚鱗癬の臨床応用可能な治療法の開発への道が開かれる。
重症型の魚鱗癬（道化師様魚鱗癬）に対する治療としては、正常の ABCA12 遺伝子を導入する遺伝子治療が期待されて来たが、技術的、倫理的なハードルが高く、まだ、実用には解決すべき問題が多い。今回の研究では、既存の薬剤を用いた ABCA12 遺伝子変異リードスルーによる臨床応用可能な治療法の開発への道が開かれた。

さらに、中等症の魚鱗癬（先天性魚鱗癬様紅皮症）に対しても、本研究により、PPAR agonist 等、既存の薬剤のなかから、ABCA12 の発現を増強する薬剤が特定されつつある。その結果、先天性魚鱗癬様紅皮症に対しても臨床応用可能な治療薬開発へつながる可能性がある。これらの治療法の開発は、これまで、全く原因療法がなかった魚鱗癬の患者とその家族にとって、大きな福音となる。

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 81 件)

すべて査読有り

Ogawa Y, Takeichi T, Kono M, Hamajima N, Yamamoto T, Sugiura K, Akiyama M.

Revertant Mutation Releases Confined Lethal Mutation, Opening Pandora's Box: A Novel Genetic Pathogenesis.

PLoS Genet 10(5):e1004276, 2014. doi: 10.1371/journal.pgen.1004276.

Akiyama M.

The roles of ABCA12 in epidermal lipid barrier formation and keratinocyte

differentiation.

BBA-Mol Cell Biol L 1841(3): 435-440, 2014. doi: 10.1016/j.bbalip.2013.08.009.

Tanahashi K, Sugiura K, Kono M, Takama H, Hamajima N, Akiyama M.

Highly prevalent *LIPH* founder mutations causing autosomal recessive woolly hair/hypotrichosis in Japan and the genotype/phenotype correlations.

PLoS ONE 9(2): e89261, 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0089261.

Shibata A, Ogawa Y, Sugiura K, Muro Y, Abe R, Suzuki T, Akiyama M.

High survival rate of harlequin ichthyosis in Japan.

J Am Acad Dermatol 70(2): 387-388, 2014. doi: 10.1016/j.jaad.2013.10.055

Sugiura K, Shoda Y, Akiyama M.

Generalized pustular psoriasis triggered by amoxicillin in monozygotic twins with compound heterozygous *IL36RN* mutations:

Comment on the article by Navarini et al. J Invest Dermatol 134(2): 578-579, 2014.

doi: 10.1038/jid.2013.354.

Kobayashi T, Sugiura K, Takeichi T, Akiyama M.

The novel CTSC homozygous nonsense mutation p.Lys106X in a patient with Papillon-Lefèvre syndrome with all permanent teeth remaining at over 40 years of age.

Br J Dermatol 169: 948-950, 2013.

Kono M, Sugiura K, Suganuma M, Hayashi M, Takama H, Suzuki T, Matsunaga K, Tomita Y, 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: 3524-3533, 2013.

Sassa T, Ohno Y, Suzuki S, Nomura T, Nishioka C, Kashiwagi T, Hirayama T, Akiyama M, Taguchi R, Shimizu H, Itohara S, Kihara A.

Impaired epidermal permeability barrier in mice lacking the *Elovl1* gene responsible for very long-chain fatty acid production.

Mol Cell Biol 33: 2787-2796, 2013.

Sugiura K, Takemoto A, Yamaguchi M, Takahashi H, Shoda Y, Mitsuma T, Tsuda K, Nishida E, Togawa Y, Nakajima K, Sakakibara A, Kawachi S, Shimizu M, Ito Y, Takeichi T, Kono M, Ogawa Y, Muro Y, Ishida-Yamamoto A, Sano S, Matsue H, Morita A, Mizutani H, Iizuka H, Muto M, Akiyama M.

The majority of generalized pustular psoriasis without psoriasis vulgaris is caused by deficiency of interleukin-36

receptor antagonist.
 J Invest Dermatol 133: 2514-2521, 2013.
Sugiura K, Teranishi M, Matsumoto Y, Akiyama M.
 Clouston syndrome with heterozygous GJB6 mutation p.Ala88Val and GJB2 variant p.Val27Ile revealing mild sensorineural hearing loss and photophobia.
 JAMA Dermatol 149: 1350-1351, 2013.
 Takeichi T, Sugiura K, Matsuda K, Kono M, Akiyama M.
 Novel *ABCA12* splice site deletion mutation and *ABCA12* mRNA analysis of pulled hair samples in harlequin ichthyosis.
 J Dermatol Sci 69: 259-261, 2013.
 Umemoto H, Akiyama M, Domon T, Nomura T, Shinkuma S, Ito K, Asaka T, Sawamura D, Uitto J, Uo M, Kitagawa Y, Shimizu H.
 Type VII collagen deficiency causes defective tooth enamel formation due to poor differentiation of ameloblasts.
 Am J Pathol 181: 1659-1671, 2012.
Sugiura K, Takeichi T, Kono M, Ito Y, Ogawa Y, Muro Y, Akiyama M.
 Severe chilblain lupus is associated with heterozygous missense mutations of catalytic amino acids or their adjacent in the exonuclease domains of 3'-repair exonuclease 1.
 J Invest Dermatol 132: 2855-2857, 2012.
Sugiura K, Takeichi T, Kono M, Ogawa Y, Shimoyama Y, Muro Y, Akiyama M.
 A novel IL36RN/IL1F5 homozygous nonsense mutation, p.Arg10X, in a Japanese patient with adult-onset generalized pustular psoriasis.
 Br J Dermatol 167: 699-701, 2012.
 Yanagi T, Akiyama M, Nishihara H, Miyamura Y, Sakai K, Tanaka S, Shimizu H.
 AKT has an anti-apoptotic role in *ABCA12*-deficient keratinocytes.
 J Invest Dermatol 131: 1942-1945, 2011.
 Li Q, Frank M, Akiyama M, Shimizu H, Ho S-Y, Thisse C, Thisse B, Sprecher E, Uitto J.
Abca12-mediated lipid transport and snap29-dependent trafficking of lamellar granules are critical for epidermal morphogenesis in zebrafish disease model of ichthyosis.
 Dis Model Mech 4: 777-785, 2011.

〔学会発表〕(計 5 件)

秋山真志
 表皮細胞の分化に対する脂肪滴の影響
 シンポジウム「脂肪滴研究の新たな展開：その多彩な機能と疾患」
 第 86 回日本生化学会大会
 2013 年 9 月 11 日、パシフィコ横浜 (横浜市)
秋山真志

教育講習会、わかりやすい皮膚遺伝性疾患
 遺伝性角化症とアトピー性皮膚炎
 第 111 回日本皮膚科学会総会
 2012 年 6 月 3 日、京都国際会館 (京都市)
秋山真志
 教育講演 9 角化症診療のカッティング・エッジ
 角化症の出生前診断 up-to-date
 第 111 回日本皮膚科学会総会
 2012 年 6 月 1 日、京都国際会館 (京都市)
Akiyama M
 ABCA12 and harlequin ichthyosis
 ABC Proteins and Diseases, ABC 2011 in Kyoto, ABC Proteins/Membrane Meso-domains/ES-iPS Cells
 2011 年 11 月 17 日、京都大学 (京都市)
秋山真志
 ABCA12 の遺伝子変異と皮膚疾患：魚鱗癬
 シンポジウム、疾患リスクおよび治療バイオマーカーとしての ABC トランスポーターの遺伝子変異と多型
 第 84 回日本生化学会大会
 2011 年 9 月 23 日、京都国際会館 (京都市)

〔その他〕
 ホームページ等
<http://www.med.nagoya-u.ac.jp/derma/>

6. 研究組織

(1) 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：6 0 2 2 2 5 5 1

(2) 研究分担者

小川 靖 (OGAWA, Yasushi)
 名古屋大学・医学部附属病院・病院助教
 研究者番号：1 0 5 6 7 7 5 4

河野 通浩 (KONO, Michihiro)
 名古屋大学・医学系研究科・講師
 研究者番号：6 0 3 1 9 3 2 4

阿部 理一郎 (ABE, Riichiro)
 北海道大学・医学研究科・准教授
 研究者番号：6 0 3 4 4 5 1 1

杉浦 一充 (SUGIURA, Kazumitsu)
 名古屋大学・医学系研究科・准教授
 研究者番号：7 0 3 3 5 0 3 2

室 慶直 (MURO, Yoshinao)
 名古屋大学・医学系研究科・准教授
 研究者番号：8 0 2 7 0 9 9 0

(3) 連携研究者なし