

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791130

研究課題名(和文)先天性魚鱗癬様紅皮症並びに葉状魚鱗癬患者における新規遺伝子変異解析

研究課題名(英文) Identification of a novel gene mutation causing congenital ichthyosiform erythroderma and lamellar ichthyosis

研究代表者

大澤 倫子 (Osawa, Rinko)

北海道大学・医学(系)研究科(研究院)・客員研究員

研究者番号：50616349

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：これまで原因遺伝子が同定されていない先天性魚鱗癬様紅皮症患者の遺伝子解析を次世代シーケンスにて施行した。結果、既知の病因遺伝子として知られているTGM1、ABCA12、NIPAL4、CYP4F22、ALOXB12、ALOXE3遺伝子にはやはり変異を認めなかった。また、これらの遺伝子のmRNA発現量に低下は認められなかった。他の角化関連遺伝子を変異検索したところ、ケラチン10遺伝子に変異を同定した。現在、この変異の病原性を解析中である。

研究成果の概要(英文)：Mutation analysis in a patient with congenital ichthyosiform erythroderma who carries no mutation in any of the known causative genes was performed using whole-exome sequencing. No causative mutation was indeed identified in any of the known causative genes including TGM1, ABCA12, NIPAL4, CYP4F22, ALOXB12, ALOXE3. mRNA expression levels were subsequently analyzed, but no decrease in the expression levels were detected. Further mutation analysis of genes encoding keratinization-related proteins identified a mutation in KRT10. Now the pathogenicity of the mutation is being analyzed.

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：遺伝性角化症

1. 研究開始当初の背景

先天性魚鱗癬様紅皮症 (congenital ichthyosiform erythroderma; 以下 CIE と略) は、ともに稀な常染色体劣性遺伝性の重症角化症である。近年、病因の解明が進んでいるが、病因は多様であり、脂質輸送タンパク質や脂質分解酵素をコードする遺伝子を中心に、これまでに 6 つの遺伝子異常が報告されている (TGM1、ABCA12、NIPAL4、CYP4F22、ALOXB12、ALOXE3)。研究代表者の研究室ではこれまで本疾患患者 DNA を多数収集しこれらの遺伝子異常を報告しており、これまで多数の遺伝性角化症の遺伝子変異を同定することに成功している。しかし、これら 6 つの遺伝子に変異を持たない症例も少なくなく、実際、本疾患患者のうち、病因遺伝子が同定されていない症例も少なくない。最近になり、ほぼ全エクソンをシーケンスする whole-exome sequencing が安価に施行できるようになり、whole-exome sequencing を用いて種々の遺伝性疾患の病因遺伝子が同定されるようになってきている。そこで、whole-exome sequencing により、新たな病因遺伝子の同定を目指すことにした。

また、2011 年 4 月に、表皮リパーゼ N をコードする LIPN 遺伝子の欠失変異が中東の CIE 患者に同定された。LIPN 遺伝子の変異検索はこれまで日本人家系での報告がなく、日本人にこの遺伝子変異が認められるかどうか未知である。また、表皮リパーゼ N と同様に表皮に発現する表皮リパーゼ K や表皮リパーゼ M は表皮リパーゼ N と似た機能を持つため、それらをコードする、LIPK 遺伝子や LIPM 遺伝子も CIE や LI の病因遺伝子である可能性があるが、これらの変異は世界的にも未だ同定されていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、whole-exome sequencing を用いて、CIE の新規病因遺伝子の同定を目指すとともに、表皮リパーゼ遺伝子 (LIPN、LIPK、LIPM) の遺伝子変異検索を行い、両疾患の病因を明らかにすることである。また、CIE は稀な疾患ではあるが、CIE で認められる皮膚バリア障害の病態解明は、同じくバリア障害を基盤に発症するアトピー性皮膚炎の病因の解明や新規治療法の開発に繋がる可能性

を秘めている。研究代表者の所属する研究室ではこれまで 250 例を超えるアトピー性皮膚炎患者から DNA を採取しており、これまでアトピー性皮膚炎と皮膚バリア障害の関連をフィラグリン遺伝子変異を中心に明らかにしていった。本研究では、新規病因遺伝子とアトピー性皮膚炎の関連についても明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) これまで既知の病因遺伝子に変異が見つからない CIE 患者の DNA を用いて、whole-exome sequencing を行った。得られた sequence variants をリスト化し、病因遺伝子変異候補を抽出した。また、患者皮膚より RNA を抽出し、CIE 病因遺伝子 mRNA 量を real time RT-PCR にて測定した。さらに、ケラチン 10 遺伝子、ロリクリン遺伝子など、他の角化関連遺伝子について、遺伝子変異解析を行った。また、電子顕微鏡や HE 染色、免疫染色を用いて組織学的検討も行った。

(2) 病因遺伝子がこれまで同定されていない CIE 患者の DNA を用い、LIPN、LIPK、LIPM 遺伝子解析を Sanger 法を用いて施行した。

4. 研究成果

(1) 患者は 36 歳男性で、生下時から全身に潮紅と鱗屑を認め、病理学的に不全角化を伴う過角化と表皮の肥厚を認めるものの顆粒変性はなく、家族歴もないことから、先天性魚鱗癬様紅皮症と診断されていた。この患者より DNA を抽出し、whole-exome sequence を行ったところ、やはり本症の既知の病因遺伝子には変異を認めなかった。また、最近新たに CIE の病因遺伝子として報告された CERS3 遺伝子などにも変異を認めなかった。次に、患者皮膚から抽出した RNA を用いて、TGM1、ABCA12、NIPAL4、CYP4F22、ALOXB12、ALOXE3 遺伝子の mRNA 発現を検討したが、すべてコントロールと比べ正常または増加しており、発現が低下しているものはなかった。従って、本患者は新規病因遺伝子変異を有している可能性が高いと考えられた。次に、他の角化関連遺伝子の検討を行ったところ、ケラチン 10 遺伝子に変異を認めた。この変異は症状がない両親には認められず、*de novo* で起こった変異と考えられた。また、この変

異は健常コントロールにも1例も認められなかった。ケラチン10遺伝子の変異では通常、表皮融解性魚鱗癬や ichthyosis with confetti を発症するが、今回解析した患者は臨床的に水疱やびらんを認めず、病理学的にも顆粒変性を認めなかった。また、confetti spot も認めなかった。現在、本患者におけるケラチン10遺伝子変異の病原性についてさらに詳細に検討中である。

(2) これまで収集したCIE患者DNAを用いて表皮リパーゼ遺伝子(LIPN, LIPK, LIPM)の遺伝子変異検索を行ったが、1例も遺伝子変異を有しておらず、日本人患者ではこれらの遺伝子変異は確認できなかった。本邦では未だにこれらの遺伝子異常の報告はなく、極めて稀と考えられた。

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5件)

(英文)

1. Nomura T, Yoneta A, Pohler E, Suzuki S, Osawa R, Mizuno O, Ohguchi Y, Nomura Y, Yamashita T, McLean WHI, Shimizu H.

Punctate palmoplantar keratoderma type 1: a novel AAGAB mutation and efficacy of etretinate.

Acta Dermato-Venereologica (査読有), in press.

doi: 10.2340/00015555-1832.

2. Haga N, Nishie W, Hata H, Miyauchi T, Muramatsu K, Kitamura S, Osawa R, Shimizu H.

Two cases of pseudolymphoma on the lips. British Journal of Dermatology (査読有), in press.

doi: 10.1111/bjd.12837.

3. Koguchi H, Ujiie H, Aoyagi S, Osawa R, Shimizu H.

Characteristic findings of handprint and dermoscopy in reticulate acropigmentation of Kitamura.

Clinical and Experimental Dermatology (査読有), 39巻, 2014年, 85-87頁。

doi: 10.1111/ced.12191.

4. Ujiie H, Aoyagi S, Hirata Y, Osawa R, Shimizu H.

Linear congenital molluscum contagiosum on the coccygeal region.

Pediatric Dermatology(査読有), 30巻, 2013年, e83-84頁。

doi: 10.1111/pde.12035.

5. Koguchi H, Ujiie H, Aoyagi S, Osawa R, Shimizu H.

Confluent and reticulated papillomatosis associated with 15q tetrasomy syndrome.

Acta Dermato-Venereologica (査読有), 93巻, 2013年, 202-203頁。

doi: 10.2340/00015555-1437.

(和文)

6. 柴 景子, 本間英里奈, 青柳 哲, 堀江啓太, 秦 洋郎, 大澤倫子, 氏家英之, 高橋祥公, 清水 宏.

著明な粘液を伴ったグロムス腫瘍の1例.

皮膚科の臨床(査読有), 56巻, 2014年, 111-114頁.

[学会発表](計0件)

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大澤 倫子 (Osawa Rinko)
北海道大学・大学院医学研究科・客員研究
員
研究者番号：50616349

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：