

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 25 日現在

機関番号：11101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670497

研究課題名(和文) TRPV3の遺伝子異常から掌蹠角化症に至る分子機構

研究課題名(英文) Analysis of molecular mechanisms switching from TRPV3 gene abnormalities to palmo-plantar keratoderma.

研究代表者

澤村 大輔 (Sawamura, Daisuke)

弘前大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：60196334

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：先天的に掌蹠の過角化をきたす遺伝性掌蹠角化症は数多くあり、その原因遺伝子がまだ不明なものや遺伝子異常から掌蹠の過角化に至る機序が不明のものも少なくない。近年、申請者のグループは遺伝性掌蹠角化症の研究を精力的に行ってきた。オルムステット病は、脱毛、口囲や肛囲の角化性紅斑、激痒を特徴する遺伝性掌蹠角化症であり、Ca²⁺チャネルであるTRPV3遺伝子の異常で発症することが解明された。今回の研究では、遺伝性掌蹠角化症の遺伝子変異の解析を行い、本症の角化機構との比較を行った。さらに、モデルマウスにおけるTRPV3の機能解析と症状の検討も行った。

研究成果の概要(英文)：There are many types of hereditary palmo-plantar keratoderma, but causative genes and mechanisms of hyperkeratosis of some types of disease have not been elucidated yet. Recently, our group study hereditary palmo-plantar keratoderma extensively. Olmsted syndrome is rare genodermatodes and shows alopecia, periorificial keratoderma and severe itching. The gain-of-function mutation in the gene of TRPV3, which is a Ca²⁺ channel, is found to cause Olmsted syndrome recently. In this study, we clarify causative mutations in several similar hereditary palmo-plantar keratodermas and compare hyperkeratosis mechanisms in Olmsted syndrome and the other palmo-plantar keratodermas. Furthermore, we examined model rat of Olmsted syndrome which has the gain-of-function mutation in the gene of TRPV3.

研究分野：皮膚科学

キーワード：遺伝子 角化 掌蹠 温度 表皮細胞

1. 研究開始当初の背景

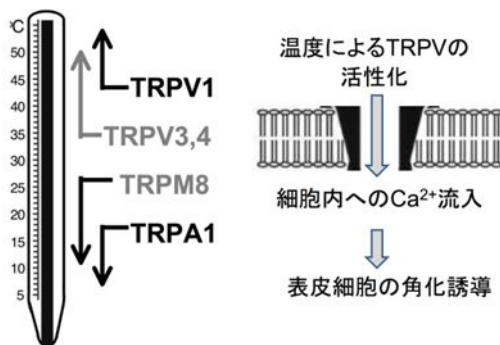
先天的に掌蹠の過角化をきたす遺伝性掌蹠角化症は数多くあり、その原因遺伝子がいまだ不明なものや遺伝子異常から掌蹠の過角化に至る機序が不明のものも少なくない。近年、申請者のグループは遺伝性掌蹠角化症の研究を精力的に行ってきた (KRT1 遺伝子; 2007; JID, GJB2 遺伝子; 2007; JID, KRT9 遺伝子; 2011; BJD, KRT6c 遺伝子; 2011; BJD)。



オームステット病の臨床

オームステット病は、脱毛、口囲や肛囲の角化性紅斑、激痒を特徴する遺伝性掌蹠角化症であり、近年患者の全遺伝子をシーケンスするという新しい方法によって、TRPV (transient receptor potential vanilloid) 3 チャンルの遺伝子異常で生じることが明らかにされた。さらにその変異はチャンネルの機能を欠失するのではなく、逆にその機能亢進が誘導される変異であることも解明された。

TRPV チャンネルは温度感受性のチャンネル受容体群であり、高温から低温に至るまで、あらゆる温度に対応する TRP チャンネルが存在する。細胞膜にある TRPV が活性化されると Ca²⁺の流入が細胞に起こり、種々のシグナルが発動する。特に Ca²⁺は表皮細胞の分化や増殖に重要な因子であることから、申請者は TRPV と表皮細胞の関連に注目している。



2. 研究の目的

今回の研究の目的は、1) オームステット病やその他の遺伝性掌蹠角化症の過角化機序を解明するために、それらの疾患を集積し、その原因遺伝子の探索、ならびに原因遺伝子変異を同定する。2) 今回明らかにされた原因遺伝子である TRPV 3 の表皮細胞での発現を明らかにする。3) オームステット病と同

様の TRPV 3 の機能亢進変異をもつ、のモデル動物である WBN/Kob ラットの掌蹠の変化について観察する、などであった。

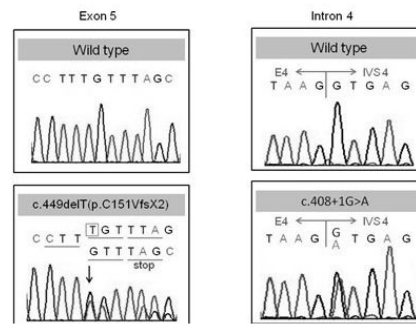
3. 研究の方法

遺伝子変異の検索は、通常の方法で、患者のリンパ球から DNA を抽出した。その後、特定の領域を PCR を用いて増幅し、シーケンスを決定した。正常の配列と比較することにより、遺伝子変異を同定した。

その他、遺伝子発現は RT-PCR、蛋白発現はウエスタンブロット、を用いて測定した。組織学的検討は、通常の方法で行った。

4. 研究成果

遺伝性掌蹠角化症として、長島型掌蹠角化症、Richner-Hanhart 症候群、Papillon Lefevre 症候群、点状遺伝性掌蹠角化症などの遺伝子変異を同定した。



Richner-Hanhart 症候群での tyrosine amino-transferase 遺伝子変異

さらに、表皮細胞での TRPV3 遺伝子の発現を遺伝子レベルでは RT-PCR 法、蛋白レベルではウエスタンブロットで検討したところ、測定したところ、表皮細胞の分化(角化)に伴い、発現が低下することが確認された。また、モデル動物の WBN/Kob ラットでは、その発現は正常とは変わらなかった。これは、オームステット病が、TRPV3 の発現ではなく、機能の異常であることが示された。

また、組織学的に WBN/Kob ラットの掌蹠の角化を正常の状態や、いろいろな刺激が加わった状態のものを検討したが、過角化はそれほど顕著なものではなかった。モデル動物と人の疾患では、同様な変異が相同する遺伝子であっても、異なる症状を示すことはよくあることであり、今後の検討課題となった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 11 件)

Akasaka E, Nakano H, Korekawa A, Fukui T, Kaneko T, Koga H, Hashimoto T, Sawamura D. Anti-laminin 1 pemphigoid associated with ulcerative colitis and psoriasis vulgaris showing

autoantibodies to laminin 1, type XVII collagen and laminin-332. 査読有, Eur J Dermatol. 2015 印刷中.
doi: 10.1684/ejd.2014.2499.

Akasaka E, Okawa Y, Nakano H, Takiyoshi N, Rokunohe D, Toyomaki Y, Sawamura D, Sueki H. Two Japanese familial cases of punctate palmoplantar keratoderma caused by a novel AAGAB mutation, c.191_194delCAAA. 査読有, J Dermatol Sci.2015, 印刷中,
doi: 10.1016/j.jdermsci.2015.02.004.

Koguchi-Yoshioka H, Wataya-Kaneda M, Yutani M, Murota H, Nakano H, Sawamura D, Katayama I. Atopic Diathesis in Hypohidrotic/Anhidrotic Ectodermal Dysplasia. 査読有, Acta Derm Venereol. 2015, 印刷中,
doi: 10.2340/00015555-1978.

Koguchi-Yoshioka H, Wataya-Kaneda M, Nakano H, Tanemura A, Akasaka E, Sawamura D, Katayama I. Severe scoliosis associated with the WNT10A mutation. 査読有, J Dermatol. 2015 ;42(3):322-323.
doi: 10.1111/1346-8138.12762.

Shimizu Y, Ogawa Y, Sugiura K, Takeda J, Sakai-Sawada K, Yanagi T, Kon A, Sawamura D, Shimizu H, Akiyama M. A palindromic motif in the -2084 to -2078 upstream region is essential for ABCA12 promoter function in cultured human keratinocytes. 査読有, Sci Rep. 2014 ; 4:6737. doi: 10.1038/srep06737.

Yoshihara N, Nakano H, Sawamura D, Ikeda S. Novel missense mutation of COL7A1 in a recessive dystrophic epidermolysis bullosa patient with mild clinical phenotype. 査読有, J Dermatol. 2014 ; 41(10): 939-940.
doi: 10.1111/1346-8138.12621.

Minakawa S, Kaneko T, Matsuzaki Y, Akasaka E, Mizukami H, Abe Y, Hozumi Y, Suzuki T, Mitsuhashi Y, Sawamura D. Case of oculocutaneous albinism complicated with squamous cell carcinoma, Bowen's disease and actinic keratosis. 査読有, J Dermatol. 2014;41(9):863-864.

doi: 10.1111/1346-8138.12597.

Moritsugu R, Tamai K, Nakano H, Aizu T, Nakajima K, Yamazaki T, Sawamura D. Functional analysis of the nuclear localization signal of the POU transcription factor Skn-1a in epidermal keratinocytes. 査読有, Int J Mol Med. 2014;34(2):539-544.
doi: 10.3892/ijmm.2014.1803.

Ohashi M, Moriya C, Tanahashi K, Nakano H, Sawamura D, Seishima M. A new EDA gene mutation in a family of X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. 査読有, J Dermatol Sci. 2014;74(2):175-177.
doi: 10.1016/j.jdermsci.2014.01.003.

Inaba Y, Kanazawa N, Furukawa F, Sakurane Y, Nakano H, Sawamura D, Yoneda K, Hamada T, Hashimoto T. Pachyonychia congenita in Japan: report of familial cases with a recurrent KRT16 mutation. 査読有, Eur J Dermatol. 2014;24(1):122-123.
doi: 10.1684/ejd.2013.2244.

Sayyahfar S, Chavoshzadeh Z, Khaledi M, Madadi F, Yeganeh M, Sawamura D, Nakano H, Rezaei N. Congenital insensitivity to pain with anhidrosis mimicking palmoplantar keratoderma. Pediatr Dermatol, 査読有, 2013;30(6):754-756.
doi: 10.1111/j.1525-1470.2012.01833.x.

[学会発表](計3件)

赤坂英二郎, 鷹木由里子, 豊巻由香, 中野 創, 澤村大輔, 矢口 直: SERPINB7 変異を同定した長島型掌蹠角化症の1例. 日本皮膚科学会青森地方会第366回例会, 2014.5.25.ホテルニューキャッスル(弘前市)

櫻庭裕佑, 赤坂英二郎, 六戸大樹, 中野 創, 澤村大輔: 長島型掌蹠角化症型の遺伝子診断. 第29回角化症研究会, 2014.8.2. 東京商工会議所(東京)

赤坂英二郎, 中野 創, 澤村大輔: 点状掌蹠角化症の2家系例. 第28回角化症研究会, 2013.7.27 東京商工会議所(東京)

澤村 大輔 (SAWAMURA, Daisuke)
弘前大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：60196334

(2)研究分担者

会津 隆幸 (AIZU, Takayuki)
弘前大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：00400135

中島 康爾 (NAKAJIMA, Koji)
弘前大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：70374832