

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 5 日現在

機関番号：24402

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670504

研究課題名(和文) 白皮症の治療 - ナンセンス変異リードスルー効果の基礎研究

研究課題名(英文) Pharmacological treatment of oculocutaneous albinism type 1 by read-through effect

研究代表者

深井 和吉 (FUKAI, KAZUYOSHI)

大阪市立大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：20244642

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：白皮症OCA1の治療戦略として、ナンセンス変異のリードスルー効果による治療を検討した。日本人に最も多いR278X変異に加えて、R402X変異、R116XとW236X、Q255Xの5種類のナンセンス変異について検討した。R116X変異は、薬剤を添加しない状態でも23%の全長蛋白が検出された。これはG418添加により増強しなかった。R278X変異は、ゲンタマイシンによるリードスルー効果は認められず、一方G418添加では濃度依存性にリードスルー効果が観察された。R116XとR278Xについて、PTC124によるリードスルー効果を検討したが、いずれの変異においてもリードスルー効果は認めなかった。

研究成果の概要(英文)：We have chosen R116X, W236X, R278X, and R402X mutations because they are the most frequent four nonsense mutations, and in addition we selected Q255X since we assumed that the -1 position of T, and +1 position of C (T-TAG-C) may be favorable for read-through phenomenon. Among the five nonsense TYR nonsense mutations, read-through effect was noted even without aminoglycosides in R116X. This is probably because the nucleotide sequence around the R116X meets the favorable situation reported by Celia et al as below. Especially, the plus 1 position of C (TGA-C) may be essential for the basal read-through because no read-through effect was observed in other four nonsense mutations (W236X, Q255X, R278X, R402X). In this study, we were not able to find read-through effect of PTC124 with R116X and R278X. This may be in agreement with the fact that the plus 1 position of the R116X and R278X is C and T, respectively.

研究分野：皮膚科学

キーワード：albinism genetic disorder aminoglycoside read-through nonsense mutation

1. 研究開始当初の背景

先天性白皮症についてはこれまで治療方法がなく、白皮症の研究は遺伝子診断を行いそれにともなった病態生理を解析する、というレベルにとどまっていた。今回、先天性白皮症の中でも最も重症なタイプ、つまり視力障害がより高度に認められるタイプであるチロシナーゼ遺伝子異常にともなったOCA1について、治療のための新しい戦略を試みることにした。アミノグリコシドによるナンセンス変異のリードスルー効果を利用して、OCA1患者の治療について検討する。

2. 研究の目的

先天性白皮症については、現在治療法が全く無い状態である。白皮症でももっとも重症のOCA1についての治療戦略として、ナンセンス変異チロシナーゼのアミノグリコシドによるリードスルー効果による治療を検討した。これまで、チロシナーゼ遺伝子のナンセンス変異は23種類が知られている。このうち日本人に最も多いR278X変異に加えて、11症例の報告があるR402X変異、5症例の報告があるR116XとW236X、それに加えてQ255Xはナンセンス変異の周囲塩基配列の状況がリードスルー効果を起こしやすいと考え、これら5種類のナンセンス変異について、リードスルー効果を検討することとした。

3. 研究の方法

レンチウイルスベクターにより wild type とナンセンス変異チロシナーゼを組み込む。ウイルスベクターを293T細胞株、Hela細胞株に感染させる。Puromycin 選択により、感染細胞のみをセレクション。セレクトした感染細胞に薬剤を添加し、チロシナーゼの発現をメッセージ、蛋白レベルで定量し、薬剤によるリードスルー効果を評価する。

4. 研究成果

R116X 変異については、薬剤を添加しない状態でも23%の全長蛋白が検出された。このリードスルー効果はG418添加により増強することはなかった。

日本人に最も多いR278X変異では、ゲンタマイシンによるリードスルー効果は認められなかったものの、G418添加では濃度依存性にリードスルー効果が観察された。R116XとR278Xについて、PTC124によるリードスルー効果を検討したが、いずれの変異においてもリードスルー効果は認めなかった。

5. 主な発表論文等

(雑誌論文)(計9件)

1. Okamura K, Abe Y, Fukai K, Tsuruta D, Suga Y, Nakamura M, Funasaka Y, Oka M, Suzuki N, Wataya-Kaneda M, Seishima M, Hozumi Y, Kawaguchi M, Suzuki T Mutation analyses of patients with dyschromosis symmetrica hereditaria: Ten novel mutations of the *ADAR1* gene. J Dermatol Sci (in press) (査読あり)
2. Kanayama Y, Fukai K, Tsuruta D Circumscribed palmoplantar hypokeratosis in a barber: successful treatment with cryotherapy J Dermatol (in press) (査読あり)
3. Jin Y, Hayashi M, Fain PR, Suzuki T, Fukai K, Oiso N, Tanemura A, Holcomb CL, Rastrou M, Erlich HA, Spritz RA Major association of vitiligo with HLA-A *02:01 in Japanese Pigment Cell Melanoma Res. 2015 May;28(3):360-2. doi: 10.1111/pcmr.12356. Epub2015 Feb 17 (査読あり)
4. Tanemura A, Yang L, Yana F, Nagata Y, Wataya-Kaneda M, Fukai K, Tsuruta D, Ohe R, Yamakawa M, Suzuki T, Katayama

- I An immune pathological and ultrastructural skin analysis for Rhododendrol-induced leukoderma patients. *J Dermatol Sci*. 2015 Mar;77(3):185-8. doi: 10.1016/j.jdermsci.2015.01.002. Epub 2015 Jan 24. (査読あり)
5. Nishigori C, Aoyama Y, Ito A, Suzuki T, Tanemura A, Ito M, Katayama I, Oiso N, Kagohashi Y, Sugiura S, Fukai K, Funasaka Y, Yamashita T, Matsunaga K. Guide for medical professionals (i.e. dermatologists) for the management of Rhododendrol-induced leukoderma. *J Dermatol*. 2015 Feb;42(2):113-28. doi: 10.1111/1346-8138.12744. (査読あり)
 6. Shiratori T, Fukai K*, Yasumizu M, Taguchi R, Tsuruta D, Abe Y, Hozumi Y, Suzuki T. IL36RN gene analysis of 2 Japanese patients with generalized pustular psoriasis *Int J Dermatol*. 2015 Feb;54(2):e60-2. doi: 10.1111/ijd.12657. (査読あり)
 7. Shimizu N, Fukai K, Yanagihara S, Maruyama H, Arakawa T, Tsuruta D. Percutaneous cardiopulmonary support as a possible risk factor for symmetrical peripheral gangrene of the toes. *J Dermatol* 41:1130-1131 (査読あり)
 8. Oiso N, Nomi N, Fukai K, Tanemura A, Suzuki T, Katayama I, Wakamatsu K, Muto M, Kawada A. Nevus depigmentosus with pale skin, yellow-brown hair and a light brown iris. *Eur J Dermatol* 24:406-7 (査読あり)
 9. Yoshizawa J, Abe Y, Oiso N, Fukai K, Hozumi Y, Nakamura T, Narita T, Motokawa T, Wakamatsu K, Ito S, Kawada A, Tamiya G, Suzuki T. Variants in melanogenesis-related genes associate with skin cancer risk among Japanese populations. 2014 *J Dermatol* 41:296-302 (査読あり)
- [学会発表](計13件)
1. Yang J, Kojima H, Kunimoto H, Nakano S, Nakajima K The role of STAT3 C-terminal region in the regulation of STAT3 stability 第87回日本生化学会大会2014年10月18日京都国際会議場(京都府・京都市)
 2. Oiso N, Norimasa Nomi N, Fukai K, Tanemura A, Suzuki T, Katayama I, Wakamatsu K, Muto M, Kawada A. Decreased eumelaninogenesis in a case of nevus depigmentosus with pale skin, yellow-brown hair and a bright brown iris The 39th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology 2014年12月13日 ホテル阪急エキスポパーク(大阪府・吹田市)
 3. Umekoji A, Kunimoto H, Nakajima K, Suzuki T, Tsuruta D, Fukai K Pharmacological treatment of oculocutaneous albinism type 1 by read-through effect 第59回日本人類遺伝学会・第21回日本遺伝子診療学会 合同大会2014年11月19日~22日タワーオール船堀(東京都・江戸川区)
 4. 山内あい子、深井和吉、大迫順子、鶴田大輔 尖圭コンジローマとの鑑別を要した perianal pseudoverrucous papules and nodules の一例 第65回日本皮膚科学会中部支部学術大会2014年10月25日~26日コングレコンベンションセンター(大阪府・大阪市)
 5. 夏見亜希、立石千晴、深井和吉、水上裕加里、平田央、中野創、澤村大輔、鶴田

- 大輔 シクロスポリン内服療法が著効した痒疹型優性栄養障害型表皮水疱症の 1 例 第 36 回水疱症研究会 2014 年 10 月 18 日～19 日順天堂大学医学部(東京都・文京区)
6. 堀口悠衣、深井和吉、梅香路綾乃、鶴田大輔、阿部優子、鈴木民夫、國本浩之、中嶋弘一、佐藤行人、田宮元 チロシナーゼ遺伝子に新規ミスセンス変異 H211Y をホモで認めた眼皮膚白皮症 1 型の姉妹 第 78 回日本皮膚科学会東部支部学術大会 2014 年 10 月 4 日～5 日(日)ホテル青森(青森県・青森市)
7. 山内あい子、深井和吉、田中康之、大迫順子、鶴田大輔、大谷博、前田清、平川弘聖 Muir-Torre syndrome の一家系 日本皮膚科学会第 128 回山陰・第 24 回島根合同開催地方会(森田島根大皮膚科教授・山元鳥取大皮膚科教授 就任 10 周年記念) 2014 年 8 月 30 日～31 日 松江テルサ・松江東急イン(島根県・松江市)
8. 種村篤、楊伶俐、金田眞理、深井和吉、鶴田大輔、片山一朗 ロドデノール誘発性脱色素斑病変の電子顕微鏡による形態解析 41 回皮膚かたち研究学会 2014 年 7 月 26 日石垣記念ホール(東京都・港区)
9. 清水奈美、深井和吉、鶴田大輔、永尾淳、河野通浩 Keratosis punctata palmoplantar の一家系 第 107 回近畿皮膚科集談会 2014 年 7 月 13 日オーバルホール(大阪府・大阪市)
10. 清水奈美、深井和吉、小澤俊幸、新宅治夫、河野通浩、鶴田大輔 色素失調症の男児例 第 38 回日本小児皮膚科学会総会 2014 年 7 月 5 日セルリアンタワー東急(東京都・渋谷区)
11. 深井和吉 ロドデノール誘発性脱色素斑 - 臨床症状と重症度 (教育講演)第 113 回日本皮膚科学会総会 2014 年 5 月 30 日 京都国際会議場(京都府・京都市)
12. 清水奈美、深井和吉、柳原茂人、丸山紘嗣、荒川哲男、鶴田大輔 敗血症に伴った symmetrical peripheral gangrene の一例 第 113 回日本皮膚科学会総会 2014 年 5 月 30 日 京都国際会議場(京都府・京都市)
13. 深井和吉 白皮症と紫外線防御 第三回光皮膚科学研究会 教育講演 2014 年 3 月 8 日 神戸国際会議場(兵庫県・神戸市)
- 〔図書〕(計 4 件)
1. 深井和吉 Sweet 病「今日の治療指針、私はこちら治療している」福井次矢、高木誠、小室一成総編集医学書院、東京、pp1150, 2015 年
2. 深井和吉 先天性白皮症「小児によくみられる皮膚疾患アトラス」横関博雄、片山一朗編集 医薬ジャーナル、大阪市、pp.164-5, 2015 年
3. 深井和吉 小児の白斑を来す疾患「Monthly Book Derma 増大号実践子ども皮膚科外来」編集企画相原道子 全国病院出版会 (印刷中)
4. 鈴木民夫、大磯直毅、深井和吉 遺伝子異常から解明される先天性色素異常症「色素細胞第 2 版」伊藤祥輔、芝原茂樹、錦織千佳子監修 慶応大学出版会(印刷中)
- 〔その他〕
- ホームページ等
<http://www.med.osaka-cu.ac.jp/Derma/report/reports-03.shtml>
6. 研究組織
- (1)研究代表者
 深井 和吉 (FUKAI, Kazuyoshi)
 大阪市立大学・大学院医学研究科・准教授
 研究者番号: 20244642
- (2)研究分担者
 國本 浩之 (KUNIMOTO, Hiroyuki)

大阪市立大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：80372853
