

- tations in the ATP2C1 gene. *J Dermatol Sci.* 51(1) :31-36, 2008
7. Dainichi T, Omori M, Hamada M, Hosokawa C, Moroi Y, Hashimoto T, Furue M. Successful Treatment of Nail Bed Hypoplasia after Nail Loss by Acrylic Nail. *Dermatol Surg.* 34(7) :984-5, 2008
 8. Blazsek A, Sillo P, Ishii N, Gergely P Jr, Poor G, Preisz K, Hashimoto T, Medvecz M, Kárpáti S. Searching for foreign antigens as possible triggering factors of autoimmunity: Torque Teno virus DNA prevalence is elevated in sera of patients with bullous pemphigoid. *Exp Dermatol.* 17(5) :446-54, 2008
 9. Dainichi T, Moroi Y, Urabe K, Hashimoto T, Furue M. Vitiligo onset removes congenital nevocellular nevus cells. *J Dermatol Sci.* 51(1) :66-9, 2008
 10. Dainichi T, Honma Y, Hashimoto T, Furue M. Clavus detected incidentally by positron emission tomography with computed tomography. *J Dermatol* 35(4) :242-243, 2008
 11. Gupta S, Bamford M, Hashimoto T, Harman K. A rare and challenging diagnosis not to be missed. *Clin Exp Dermatol.* 33(3) :375-376, 2008
 12. Dainichi T, Ueda S, Furue M, Hashimoto T. By the grace of peeling: the brace function of the stratum corneum in the protection from photo-induced keratinocyte carcinogenesis. *Arch Dermatol Res.* 300(Supplement 1) :31-38, 2008
 13. Hashimoto T. Treatment strategies for pemphigus vulgaris in Japan. *Expert Opin Pharmacother.* 9(9) :1519-30, 2008
 14. Miyakura T, Yamamoto T, Tashiro A, Okubo Y, Oyama B, Ishii N, Hashimoto T, Tsuboi R. Anti-p200 pemphigoid associated with annular pustular psoriasis. *Eur J Dermatol* 18(4) :481-482, 2008
 15. Ishii N, Maeyama Y, Karashima T, Nakama T, Kusuhara M, Yasumoto S, Hashimoto T. A clinical study of patients with pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus: an 11-year retrospective study (1996-2006). *Clin Exp Dermatol.* 47(12) :1321-1322, 2008
 16. Hamada T, Ishii N, Fukuda S, Takagi A, Yasumoto S, Ikeda S, Hashimoto T. A new c.2541delC mutation in the ATP2A2 gene in a Japanese patient with Darier's disease. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2008 Jul 3. [Epub ahead of print]
 17. Lee SE, Hashimoto T, Kim SC. No mucosal involvement in a patient with paraneoplastic pemphigus associated with thymoma and myasthenia gravis. *Br J Dermatol.* 159(4) :986-8, 2008
 18. Daito J, Katoh N, Asai J, Ueda E, Takenaka H, Ishii N, Hashimoto T, Kishimoto S. Brunsting-Perry cicatricial pemphigoid associated with autoantibodies to the C-terminal domain of BP180. *Br J Dermatol.* 159(4) :984-6, 2008
 19. Mitsuya J, Hara H, Ito K, Ishii N, Hashimoto T, Terui T. Metastatic ovarian carcinoma-associated subepidermal blistering disease with autoantibodies to both the p200 dermal antigen and the gamma2 subunit of laminin 5 showing unusual clinical features. *Br J Dermatol.* 158(6) :1354-7, 2008
 20. Arakaki O, Yamamoto Y, Awazawa R, Nonaka K, Taira K, Asato Y, Hagiwara K, Oyama B, Ishii N, Hashimoto T, Uezato H. Case of linear immunoglobulin A bullous derma-

- tosis associated with acquired hemophilia *J Dermatol* 35(7):437-446, 2008
21. Amagai M, Hashimoto T, Kitajima Y. Post-IIIID 2008 international meeting on autoimmune bullous diseases. *J Invest Dermatol* 128(9):2135-2137, 2008
 22. Lee SE, Kim HR, Hashimoto T, Kim SC. Paraneoplastic pemphigus developed shortly after resection of follicular dendritic cell sarcoma. *Acta Derm Venereol* 88(4):410-412, 2008
 23. Fukushima S, Egawa K, Nishi H, Wakasugi S, Ishii N, Hashimoto T, Yancey KB, Ihn H. Two cases of anti-epiligrin cicatricial pemphigoid with and without associated malignancy. *Acta Derm Venereol* 88(5):484-7, 2008
 24. Arakawa M, Dainichi T, Yasumoto S, Hashimoto T. Lesional Th17 cells in pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus. *J Dermatol Sci*. 2008 Nov 1. [Epub ahead of print]
 25. Dainichi T, Moroi Y, Duan H, Urabe K, Koga T, Miyazono M, Sasaki T, Hashimoto T: Paraneoplastic acanthosis nigricans and silent meningioma producing transforming growth factor- α . *Furue M, Eur J Dermatol*. 2008; 18(6):721-722.
 26. Yasukawa S, Dainichi T, Kokuba H, Moroi Y, Urabe K, Hashimoto T, Furue M: Bullous pemphigoid followed by pustular psoriasis showing Th1, Th2, Treg and Th17 immunological changes. *Eur J Dermatol*. 2008 Dec 5. [Epub ahead of print]
 27. Goto-Ohguchi Y, Nishie W, Akiyama M, Tateishi Y, Aoyagi S, Tsuji-Abe Y, Sawamura D, Ishii N, Hashimoto T, Shimizu H: A Severe and Refractory Case of Anti-p200 Pemphigoid Resulting in Multiple Skin Ulcers and Scar Formation. *Dermatology*. 2008 Dec 5. [Epub ahead of print]
 28. Inokuma D, Kodama K, Natsuga K, Kasai M, Abe M, Nishie W, Abe R, Hashimoto T, Shimizu H. Autoantibodies against type XVII collagen C-terminal domain in a patient with bullous pemphigoid associated with psoriasis vulgaris. *Br J Dermatol*. 2008 Dec 10. [Epub ahead of print]
 29. Ishii N, Yoshida M, Ishida-Yamamoto A, Fritsch A, Elfert S, Bruckner-Tuderman L, Hashimoto T. Some epidermolysis bullosa acquisita sera react with epitopes within the triple-helical collagenous domain as indicated by immunoelectron microscopy. *Br J Dermatol*. 2008 Nov 25. [Epub ahead of print]
 30. Horiguchi Y, Ikoma A, Sakai R, Masatsugu A, Ohta M, Hashimoto T: Linear IgA dermatosis: Report of an infantile case and analysis of 213 cases in Japan. *J Dermatol* 35(11):737-743, 2008
 31. Ishii N, Maeyama Y, Nakama T, Hashimoto T: A case of solitary collagenoma localized on the upper lip mimicking mucocele. *Clin Exp Dermatol*. 2008 Dec 22. [Epub ahead of print]
 32. Ishii N, Maeyama Y, Karashima T, Nakama T, Kusuhara M, Yasumoto S, Hashimoto T. Immunoserological analyses of 55 patients with pemphigus at the Dermatological Department of Kurume University Hospital: an 11-year retrospective study (1996-2006). *Int J Dermatol*. 47(12):1321-1322, 2008
 33. Hamada T, Fukuda S, Ishii N, Abe T, Nagata K, Hatano Y, Nakano H, Sawamura D, Hashimoto T. A Japanese family with dominant pretibial dystrophic epidermolysis bullosa: Identification of a new glycine substitution in the

triple-helical collagenous domain of type VII collagen. *J Dermatol Sci*, in press

34. Tanaka N, Dainichi T, Ohyama B, Yasumoto S, Oono T, Iwatsuki K, Elfert S, Bruckner-Tuderman L, Hashimoto T: A case of epidermolysis bullosa acquisita with clinical features of Brunsting-Perry pemphigoid showing an excellent response to colchicines. *J Am Acad Dermatol*, in press
35. Dainichi T, Kurono S, Ohyama B, Ishii N, Sanzen N, Hayashi M, Shimono C, Taniguchi Y, Koga H, Karashima T, Yasumoto S, Zillikens Z, Sekiguchi K, Hashimoto T: Anti-laminin gamma-1 pemphigoid. *Proc Natl Acad Sci USA*, in press
36. Dainichi T, Ohyama B, Ishii N, Yamaguchi Z, Yasumoto S, Hashimoto T: Refractory oral ulcers with multiple IgG/IgA autoantibodies without skin lesions. *J Am Acad Dermatol*; in press

2. 学会発表

1. Dainichi T, Kurono S, Ohyama B, Ishii N, Hayashi M, Shimono C, Taniguchi Y, Sanzen N, Karashima T, Yasutomo S, Sekiguchi K, Zillikens D, Hashimoto T: Laminin-gamma1 is a major autoantigen in anti-p200 pemphigoid. *International Investigative Dermatology 2008*. May 14-17, 2008, Kyoto, Japan.
2. Dainichi T, Kurono S, Ohyama B, Ishii N, Hayashi M, Shimono C, Taniguchi Y, Sanzen N, Karashima T, Yasutomo S, Sekiguchi K, Zillikens D, Hashimoto T: Autoantigen in anti-p200 pemphigoid. *2008 International Meeting on Autoimmune Bullous Diseases, Invited Lecture*. May 18-19, 2008, Otsu, Japan.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)特になし。

I. 引用論文

1. Zillikens D, et al. (1996) A novel subepidermal blistering disease with autoantibodies to a 200-kDa antigen of the basement membrane zone. *J Invest Dermatol* 106:1333-1338.
2. Chen K-R, et al. (1996) Coexistence of psoriasis and an unusual IgG-mediated subepidermal bullous dermatosis: identification of a novel 200-kDa lower lamina lucida target antigen. *Br J Dermatol* 134:340-346.
3. Zillikens D, et al. (2000) Autoantibodies in anti-p200 pemphigoid stain skin lacking laminin 5 and type VII collagen. *Br J Dermatol* 143:1043-1049.
4. Liu Y, Shimizu H, Hashimoto T. (2003) Immunofluorescence studies using skin sections of recessive dystrophic epidermolysis bullosa patients indicated that the antigen of anti-p200 pemphigoid is not a fragment of type VII collagen. *J Dermatol Sci* 32:125-129.
5. Kawahara Y, et al. (2000) Subepidermal blistering disease with autoantibodies against a novel dermal 200-kDa antigen. *J Dermatol Sci* 23:93-102.
6. Dilling A, Rose C, Hashimoto T, Zillikens D, Shimanovich I. (2007) Anti-p200 pemphigoid: a novel autoimmune subepidermal blistering disease. *J Dermatol* 34:1-8.
7. Shimanovich I, et al. (2003) The autoantigen of anti-p200 pemphigoid is an acidic noncollagenous N-linked glycoprotein of the cutaneous basement membrane. *J Invest Dermatol* 121:1402-1408.
8. Hofmann S-C, et al. (2008) The autoantigen in anti-p200 pemphigoid is synthe-

sized by keratinocytes and fibroblasts and is distinct from nidogen-2. *J Invest Dermatol* 128:87-95.

9. Dainichi T, Kurono S, Ohyama B, Ishii N, Sanzen N, Hayashi M, Shimono C, Taniguchi Y, Koga H, Karashima T, Yasumoto S, Zillikens D, Sekiguchi K, Hashimoto T. Anti-laminin gamma-1 pemphigoid. *Proc Natl Acad Sci U S A*; in press
10. Ido H, et al. (2007) The requirement of the glutamic acid residue at the third position from the carboxyl termini of the laminin gamma chains in integrin binding by laminins. *J Biol Chem* 282:11144-11154

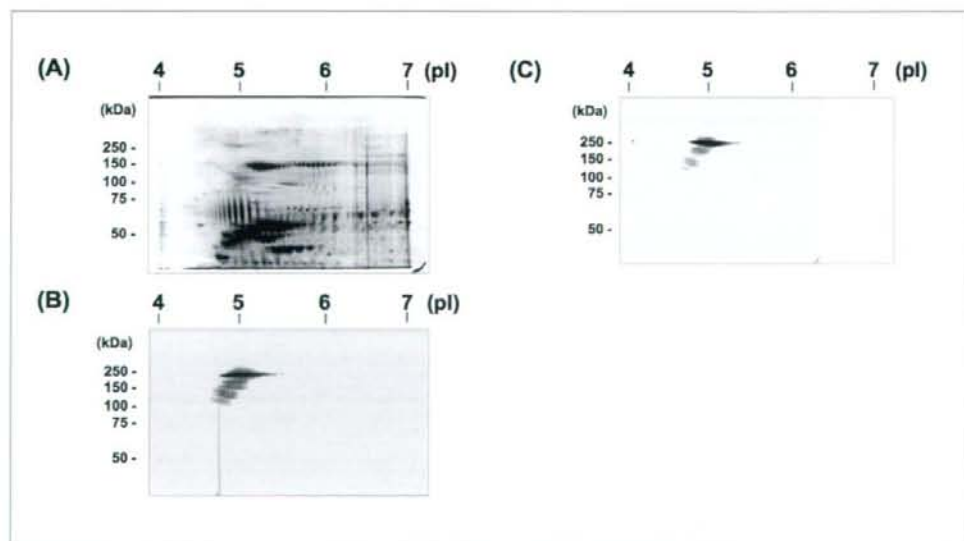


図1 真皮抽出物の2次元電気泳動 (A)。患者血清によるウエスタンブロッティング (B)。分子量250kDa, 等電点5.0付近に特異的なバンドを検出した。質量解析の結果、ラミニン γ 1であった。このバンドは抗ラミニン γ 1抗体で検出されたバンドに一致した (C)。

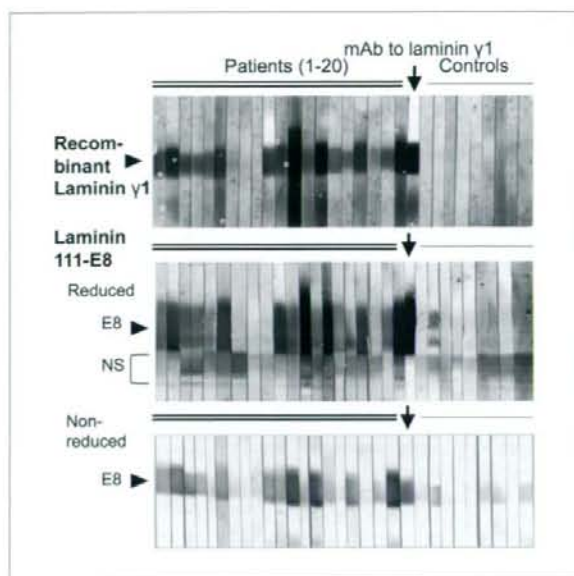


図2 患者および健常人対照血清を用いたウエスタンブロッティング。患者血清20例の大部分が組換えラミニン γ 1（上段）とそのC末端側のE8断片（中段、下段）に反応した。健常血清では反応しなかった。

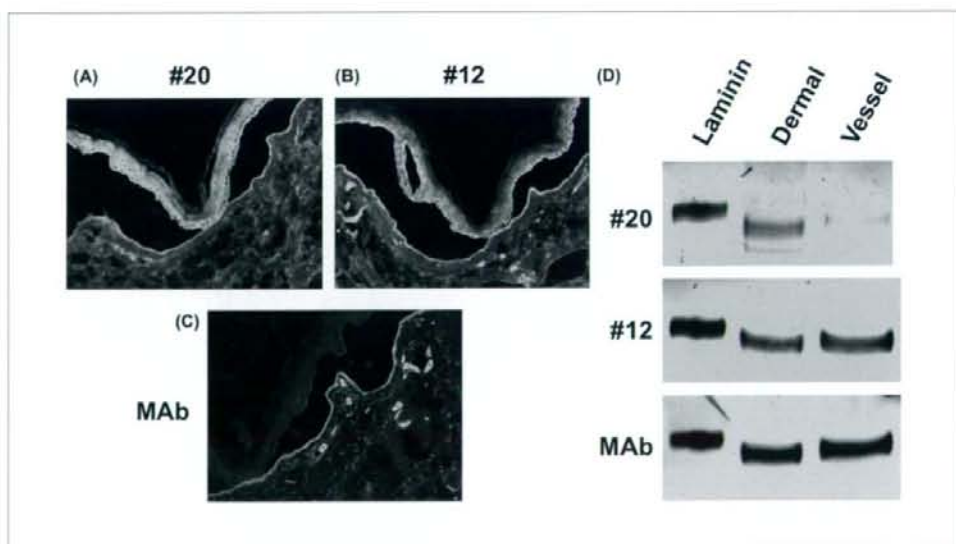


図3 表皮剥離皮膚を用いた蛍光抗体間接法。患者IgGは表皮基底膜部真皮側に反応し（A、B）、1例のみ血管壁にも反応した（B）。抗ラミニン γ 1抗体は基底膜部真皮側と血管壁とに反応した（C）。真皮および血管抽出物を用いたウエスタンブロッティングで、蛍光抗体法で血管に反応を示した症例（D、#12）を除いて、患者IgGは血管由来ラミニン γ 1より真皮由来ラミニン γ 1に高い反応性を示した（D、#20）。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

膿疱性乾癬の病因と治療
—表皮角化細胞におけるLXR 標的遺伝子発現量の変化—

研究分担者 照井 正 日本大学医学部皮膚科 教授

研究要旨 角層バリア機能が破綻すると、表皮角化細胞（EK）の刺激伝達系が活性化され、好中球遊走能に関連するIL-8やS100A8/A9が誘導されるが、乾癬でも角層バリア機能異常が報告されている。角層バリア機能には細胞間脂質が重要である。また、膿疱性乾癬の治療に使用されているステロイドやレチノイド、活性型ビタミンD3は核内レセプターを介して治療効果を発揮する。同じステロイドファミリーに属する核内レセプターの一つであるliver X receptor (LXR)は脂質代謝に関連しているが、表皮角化細胞での働きについては明確にされておらず、本年度の研究ではこれを明らかにすることを実験の目的とした。その結果、LXRの標的遺伝子であるSREBP-1cのカスケードが表皮における脂質ホメオスタシスに重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

共同研究者

横山 愛 日本大学大学院医学系研究科
原 弘之 日本大学医学部皮膚科 准教授
檜島 眞 日本大学医学部生化学 教授

A. 研究目的

培養表皮角化細胞における核内レセプター、liver X receptor (LXR)を介した脂質代謝と表皮角化細胞分化の関連性を明らかにする。乾癬および膿疱性乾癬病変におけるLXRなどの核内レセプター、および、それらの標的遺伝子の発現を分子レベルで検討し、乾癬の分子病態における核内レセプターの役割および分子薬理機構、さらに、乾癬の病態と関連する細胞内シグナルと核内レセプターとの相互作用を解明することを目的とする。

本実験では、肝細胞を初めとする細胞で脂質代謝に関連する、LXR標的遺伝子産物の一つである転写因子sterol response element binding protein (SREBP)に注目して実験を進めた。

B. 研究方法

1. 細胞培養: HaCaT (正常ヒト表皮角化細胞不死化細胞株)²⁰⁾、A431 (有棘細胞癌細胞株)²¹⁾は10%ウシ胎児血清と抗生剤を添加したDMEMを培養液として、培養した。NHEK (正常ヒト表皮角化細胞) (KURABO, Osaka, Japan)はHumedia-KG2 (KURABO)を培養液として培養した。細胞数はZ1Sコーンターカウンターで計測した。
2. リアルタイムRT-PCR解析: Total RNAはRNA iso (Takara Bio, Otsu, Japan)を用いて調整した。SYBR Premix Ex Taq (Takara Bio, Otsu, Japan)を用いてABI Prism 7000 Sequence Detection System (Applied Biosystems, Foster City, CA)で行った。各サンプルの内部標準遺伝子としてGAPDHを用いた。
3. ウェスタンブロット法: 培養したHaCaT細胞からWangらの方法を用いて核抽出したのちに、核内蛋白の抽出を行った。抽出した蛋白を10%ポリアクリルアミドゲル電気泳動を用いて泳動し、ニトロセ

ルロースメンブレン(Bio-Rad)に転写した。発色にはalkaline phosphatase-conjugate substrate kitを用いた。

C. 研究結果

1. ヒト表皮角化細胞の細胞株であるHaCaTの細胞密度を増加させて培養すると、SREBPの発現が亢進する。

2. HaCaTにおける細胞密度依存性の脂質代謝遺伝子発現量の変化

6 ウエルプレートに 1×10^5 個/ウエルのHaCaTを播種して培養した。細胞数は7日目をピークに増加した。定量リアルタイムPCR解析で、日数をへて細胞数の増加と共にケラチノサイトの分化マーカーである involucrin mRNA 発現量が上昇した。LXRの標的遺伝子で脂質合成転写因子である SREBP-1c 遺伝子発現量も同様に経時的に発現が上昇した。LXR合成アゴニスト T0901317 24時間処理で、SREBP-1c 遺伝子発現は増強された。同様に、LXR 標的遺伝子である ABCA1 の発現は高密度になるほど T0901317 による増強効果が得られた。Involucrin の経時的な発現上昇は T0901317 によって抑制傾向にあった (図1)。

3. SREBP-1とLXRのタンパク質発現量

T0901317を処理すると過去の肝細胞での報告と同様に、HaCaTではSREBP-1の成熟型と未成熟型の両方のタンパク質発現が増加した。しかし3日目と7日目で発現量の差はみられず、密度依存性の変化はみられなかった (図2)。

4. 細胞密度依存性の分化と脂質代謝遺伝子発現変化の検討

HaCaTを6ウエルプレートに低密度 (1×10^5 個/ウエル)と高密度 (4×10^5 個/ウエル)で播種した。ケラチノサイトの分化マーカーである involucrin と transglutaminase 1 の mRNA 発現量は高密度になると上昇した (図3-A)。LXR両方の標的遺伝子である SCD-1 は高密

度になると発現量が上昇し、その発現は T0901317 によって増強された。同様に LXR 標的遺伝子である ABCA1 と FAS は T0901317 非存在下では細胞密度依存性の変化はみられず、T0901317 存在下において細胞密度非依存性に著明な増強効果が得られた (図3 A, B)。SREBP-1 によって誘導される ACC は T0901317 によってわずかに発現が増強されるが、細胞密度依存性の変化はみられなかった。Involucrin と transglutaminase 1 の発現は T0901317 によって密度非依存性に抑制傾向がみられた。コレステロール代謝を調節する転写因子 SREBP-2 や コレステロール合成酵素である HMG-CoA synthase と HMG-CoA reductase は細胞密度や T0901317 による影響はうけなかった (図3-C)。

5. 有棘細胞癌細胞株 A431 における細胞密度依存性の脂質代謝遺伝子発現量の変化

定量リアルタイムPCR解析で、5日目にケラチノサイトの分化マーカーである Involucrin mRNA 発現量が上昇し、その後の培養ではほとんど差がなかった。LXR合成アゴニスト T0901317 処理すると、involucrin は HaCaT での実験と同様に減少傾向がみられ、SREBP-1c、ABCA1、FAS の発現は増強された (図4)。

6. LXRアンタゴニストによる SREBP-1c 発現抑制効果

LXRアンタゴニスト 5CPPSS-50 を処理したコンフルエントの HaCaT では SREBP-1c の発現が抑制され、同様に LXR 標的遺伝子である ABCA1 の発現も抑制され、これらの発現上昇が内因性の LXR によって調節されていることが示唆された。アゴニストである T0901317 を処理すると ABCA1 の発現は抑制され、SREBP-1c の発現は抑制されなかった (図5)。

D. 考察

角層バリア破壊が乾癬に類似した遺伝子発

現パターンを示すことから、角層バリア機能を司る角層細胞間脂質の代謝が乾癬発症に関与することが示唆されている。肝臓での脂肪酸・コレステロール代謝は、脂質センサーであるLXRを介して、それぞれSREBP-1cとSREBP-2が制御しているが、これまでの報告によると、皮膚ではSREBP-1cの発現は少なく、脂質代謝にはおもにSREBP-2が関与していると報告されてきた。しかし、今回のHaCaT細胞を用いた実験の結果から、皮膚においても脂肪酸代謝にはSREBP-1cが関与していること、さらに、その発現が分化と関連して変化することを明らかにした。さらに、LXRを介して誘導されたSREBP-1c mRNAが実際に翻訳され、産生が増加し、かつ分化刺激により mature form で活性化型のSREBP-1cが、核内に移行していることを確認した。さらに分化誘導刺激のあるHaCaTでは、LXR agonistの添加で、脂肪酸産生は増強、コレステロールは低下する傾向がみられた。

正常の皮膚において、角層に近い表皮浅層では分化が誘導されるが、その部位でコレステロールの誘導とともにその代謝産物であるオキシステロールも増加していることが推測される。そのオキシステロールはLXRのnatural ligandであり、脂肪酸合成ならびにその顆粒にあるセラミドの産生を増強し、分化の誘導を促進する。一方、オキシステロールはコレステロールの産生を制御すると考えられる。

膿疱性乾癬の表皮は増殖が亢進し、分化誘導が起らない条件と考えられ、脂肪酸合成は低下し、セラミドを介する分化誘導が起りにくい環境となっている。このような条件下では、バリアの破壊もあり、好中球遊走因子であるIL-8やS100A8/A9の産生が亢進し、好中球が集積する。

本研究では、皮膚における脂肪酸代謝にはLXR-SREBP-1c経路が重要であることを明らかにした。本研究は、膿疱性乾癬の分子病態解明や新規治療法の開発へ繋がるものと考えられる。

E. 結論

正常ヒト表皮角化細胞不死化細胞株HaCaTにおいてSREBP-1cのmRNA発現量が密度依存性の分化に伴って増加すること、LXRアゴニストによるLXR標的遺伝子であるSREBP-1cやATP-binding cassette transporter A1(ABCA1)の発現誘導が分化に伴い著明に増強することを見いだした。また密度依存性の分化に伴うLXRアゴニストによるSREBP-1cの発現上昇は有棘細胞癌株であるA431や正常表皮培養ケラチノサイト(NHEK)においてもみられた。

LXR合成アンタゴニストはLXRアゴニストによるABCA1発現上昇を抑制するが、同様に増強されたSREBP-1cの発現上昇は抑制しなかった。このようにSREBP-1cの発現は表皮角化細胞の分化と共に上昇するが、LXRリガンド依存性と非依存性の増強経路が存在する。LXRリガンドはコレステロール産生に深く関わっているが、SREBP-1cの発現の方が脂肪酸代謝に関連する酵素のmRNA発現に平行した。

LXR-SREBP-1cカスケードは表皮における脂質ホメオスタシスに重要な役割を果たしている。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表(平成17年度)

1. 論文発表

英語論文

1. Yokoyama A, Makishima M, Choi M, Cho Y, Nishida S, Hashimoto Y, Terui T. Induction of SREBP-1c mRNA by differentiation and LXR ligand in human keratinocytes. J Invest Dermatol (in press)
2. Togo K, Suzuki Y, Yoshimaru T, Inoue T, Terui T, Ochiai T, Ra C. Aspirin and salicylates modulate IgE-mediated leukotriene secretion in mast cells through

- a dihydropyridine receptor-mediated Ca (2+) influx. Clin Immunol. 2009 [Epub ahead of print]
- Ito K, Hara H, Okada T, Terui T. Hypereosinophilic syndrome with various skin lesions and juvenile temporal arteritis. Clin Exp Dermatol 2008 [Epub ahead of print]
 - Suda T, Hara H, Yoshitake M, Ohbayashi T, Nakamura T, Terui T. Immunohistochemical investigation of mid-dermal elastolysis with a history of erythema. Am J Dermatopathol. 30:477-480, 2008.
 - Mitsuya J, Hara H, Ito K, Ishii N, Hashimoto T, Terui T. Metastatic ovarian carcinoma-associated subepidermal blistering disease with autoantibodies to both the p200 dermal antigen and the gamma2 subunit of laminin 5 showing unusual clinical features. Br J Dermatol 58:1354-1357, 2008.
 - Tochigi M, Hara H, Goshima J, Kobayashi M, Shimizu H, Yokoyama A, Matsunaga A, Takemura T, Terui T. Cutaneous Munchausen's syndrome caused by self-injections of fermented beans. J Eur Acad Dermatol Venereol. 22:886-887, 2008.
 - 照井 正. 好中球性皮膚炎とは. 皮膚アレルギーフロンティア6 :7-12, 2008.
 - 照井 正. 皮膚バリア機能. スキンケア最前線(皮膚科診療最前線シリーズ) 編集 宮地良樹. メディカルレビュー社(東京) p124-127, 2008.
 - 照井 正. 掌蹠膿疱症にビオチンは有効か? EBM皮膚疾患の治療2008-2009. 編著 宮地良樹, 幸野 健. 奈良栗田書店(奈良) p166-169, 2008.
 - 照井 正. 小児に膿疱をみたら. 小児の皮膚トラブル FAQ. 編集 末廣 豊, 宮地良樹, 診断と治療社(東京) p249-251, 2008.

学会発表

- 日本語論文(2008年)
- 坂本久美子, 原 弘之, 大圃詩子, 須田たかね, 清水秀直, 照井 正. 生後7ヵ月の女兒に発症した尋常性乾癬の1例. 皮膚科の臨床 50:179-182, 2008.
 - 後藤美奈, 清水秀直, 大圃詩子, 青木重威, 原 弘之, 照井 正. 初診時膿疱形成がなく診断できなかった稽留性肢端皮膚炎の1例. 皮膚科の臨床 50:682-683, 2008.
 - 原 弘之, 照井 正. 乾癬と好中球. 皮膚アレルギーフロンティア6:33-37, 2008.
 - 照井 正. 生物学的製剤から見えてきた乾癬のメカニズム. 第59回日本皮膚科学会中部支部学術大会(10月12-13日, 名古屋)
 - 照井 正. 乾癬の治療 - 活性化ビタミンD3外用剤の過去・現在・未来. 第60回日本皮膚科学会西部支部学術大会(10月18-19日, 福岡)
 - 照井 正. 乾癬の病態・治療の最近の話題. 第2回 NAGASAKI DERM-ATOROGY FORUM【特別講演】(6月18日, 長崎市)
 - 照井 正. 乾癬の治療をどのように選択したらよいか. 爪フォーラム in Hokkaido【特別講演】(7月12日, 札幌)
- G. 知的所有権の出願・登録状況(予定を含む)
- 特許取得なし。
 - 実用新案登録なし。
 - その他なし。

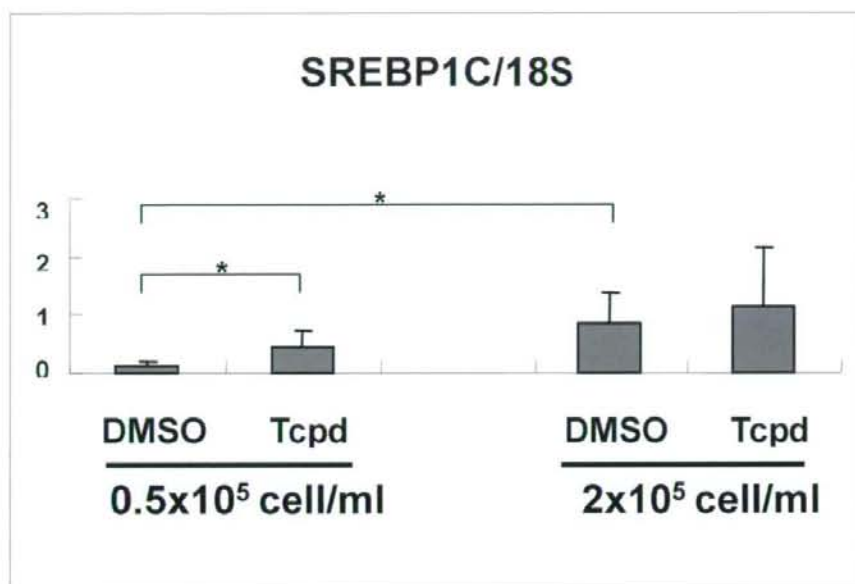


図1 細胞密度の増加とLXRリガンド(Tcpd)添加でSREBP-1cの発現が増加する。

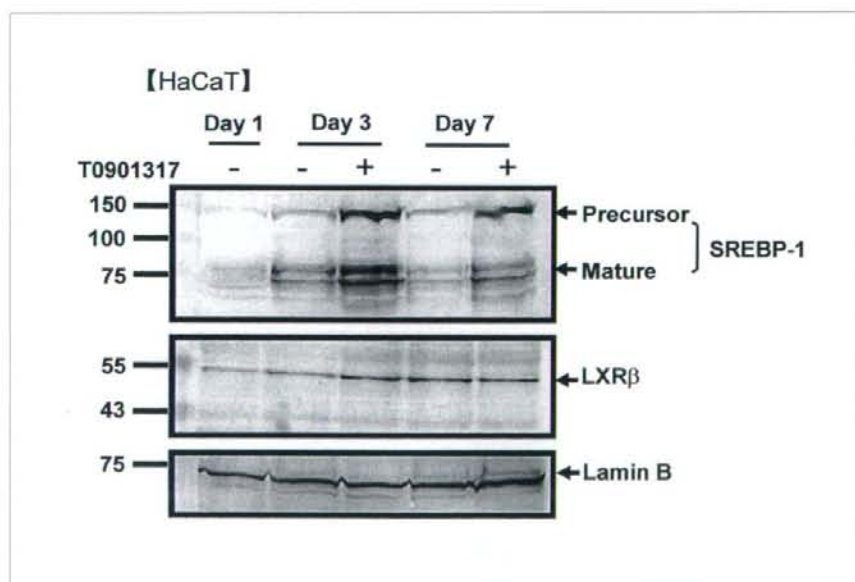


図2 LXRアゴニストによるSREBP-1の発現誘導

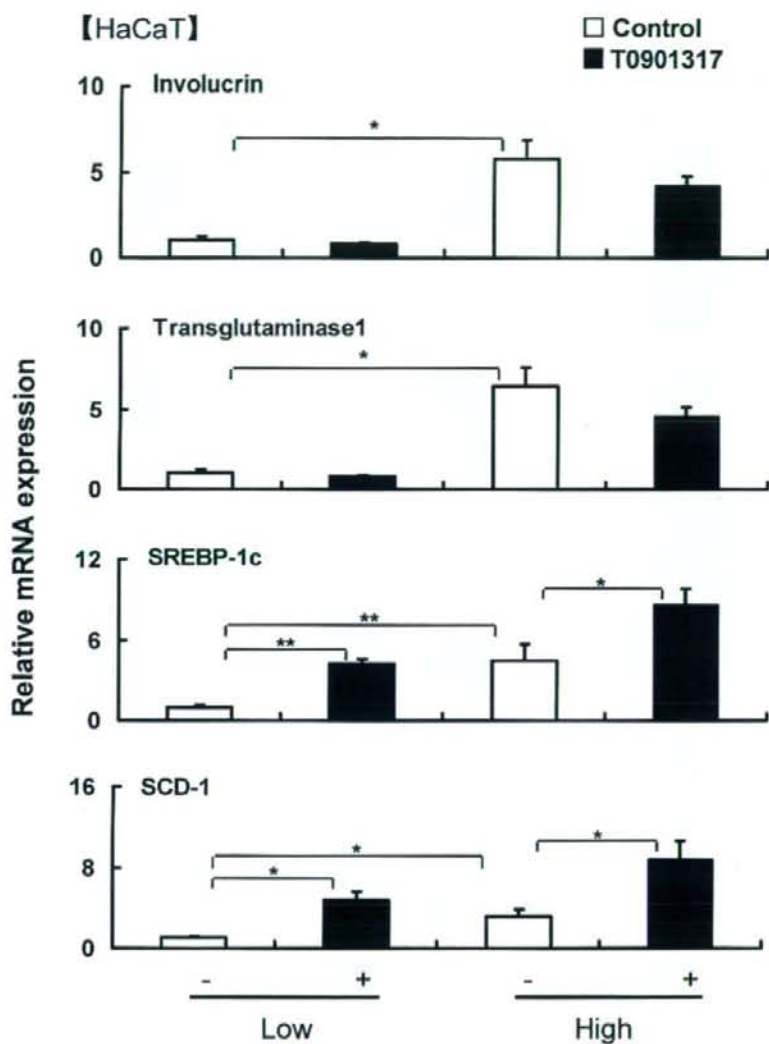


図3 細胞密度依存性の分化と LXR 標的遺伝子発現量の変化(1) : ケラチノサイト分化マーカーと SREBP-1c

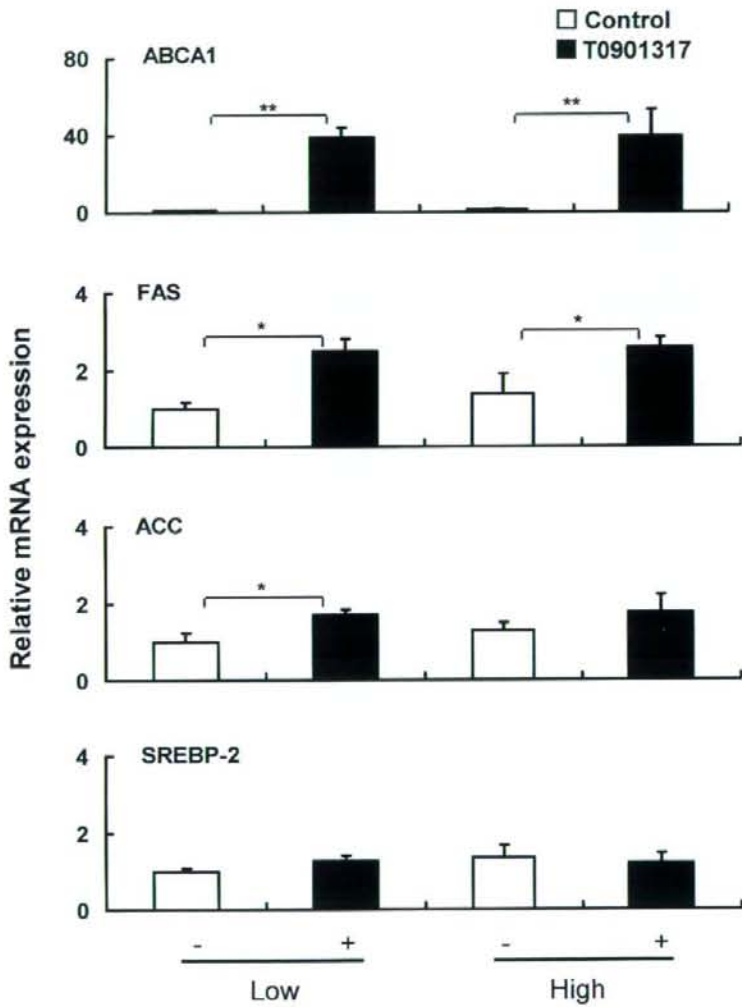


図3 B 細胞密度依存性の分化とLXR 標的遺伝子発現量の変化(2) : 脂肪酸合成酵素遺伝子

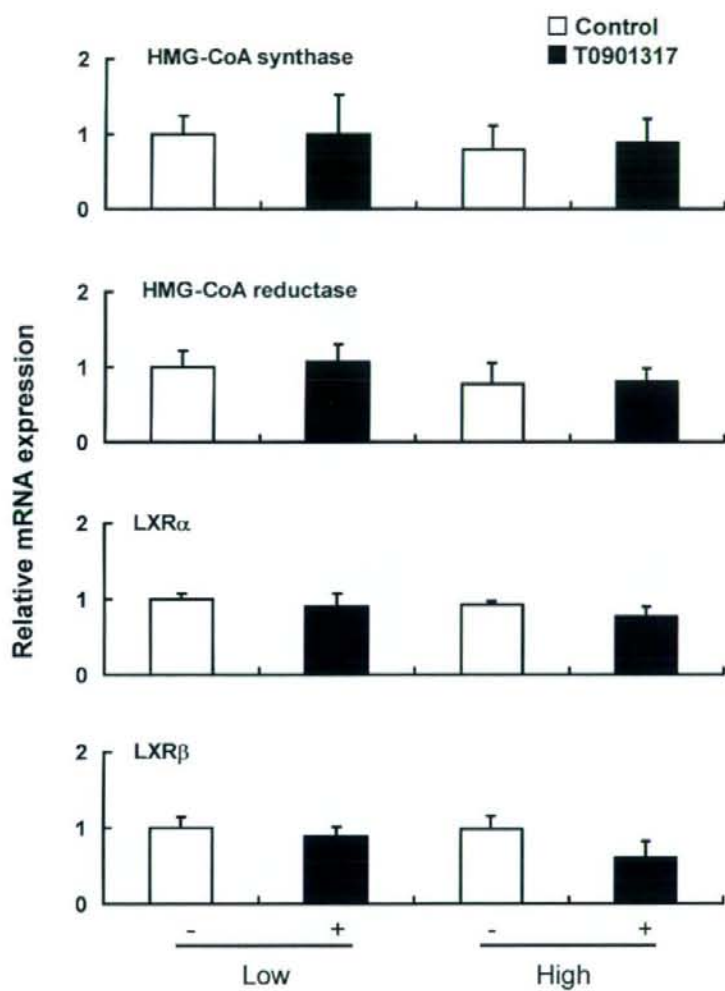


図3 C 細胞密度依存性の分化と LXR 標的遺伝子発現量の変化(3) :
 コレステロール合成酵素遺伝子

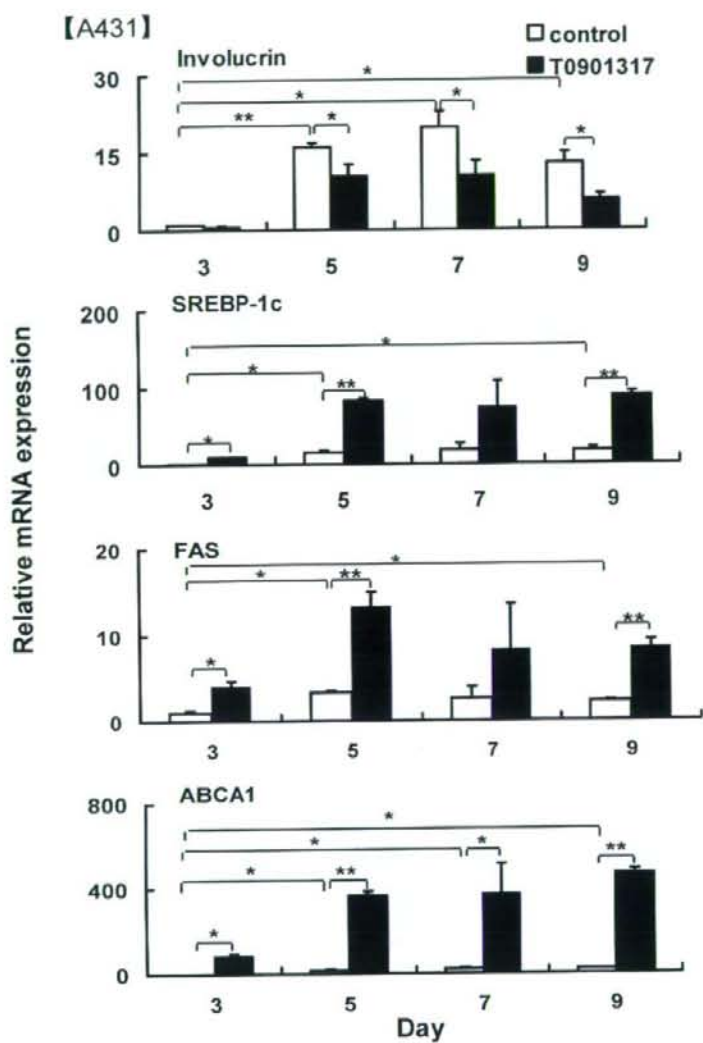


図4 A431における細胞密度依存性のSREBP-1c発現量：
HaCaTと同様にLXRリガンド(TO901317)によりSREBP-
1c, ABCA1の発現が増強された。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

ゲノムワイドな遺伝的相関解析による乾癬感受性遺伝子の同定

研究協力者 小澤 明 東海大学医学部専門診療学系（皮膚科学） 教授

研究要旨 汎発性膿疱性乾癬の免疫遺伝学的背景、病態形成機序を解明することを目的とし、その前段階として、尋常性乾癬について解析を行っている。ゲノムワイドな遺伝的相関解析で絞り込んだ4個の候補遺伝子のうち、Gタンパク連結型受容体スーパーファミリー（GPCR 遺伝子）は、乾癬の発症・病態維持においては抑制的に機能している可能性が示唆されるとともに、偽陽性ではなく真の疾患感受性遺伝子として定義できると考えられた。また、感受性遺伝子間で遺伝学的に相互関係をもつ可能性が示唆された。これらの解析手順・解析結果を踏まえて、汎発性膿疱性乾癬の遺伝子解析に応用していく。

共同研究者

馬淵 智生 東海大学医学部専門診療学系講師
猪子 英俊 東海大学医学部分子生命科学教授
岡 晃 東海大学医学部分子生命科学講師

A. 研究目的

汎発性膿疱性乾癬の免疫遺伝学的背景、病態形成機序を解明する。

B. 研究方法

平成14年度より多施設から集めた尋常性乾癬患者群およびコントロール群の血液由来のDNAを対象とし、ゲノムワイドに遺伝的相関解析を行っている。尋常性乾癬患者437例を対象に、全染色体にわたって設定した26,061個のマイクロサテライトマーカーを用いて遺伝的相関解析を行った。最終的に有意な相関が認められた16個のマーカーの近傍領域について、SNPマーカーを用いた遺伝的相関解析を行った。その結果、①Gタンパク連結型受容体スーパーファミリー（GPCR 遺伝子）、② *SEEK1* 遺伝子（HLA class I領域6p21.3に存在）、③ Ca^{2+} 非依存性細胞接着分子スーパーファミリー、④ *BTNL2* 遺伝子が疾患感受性候補遺伝子として絞り込まれた。

平成20年度は、GPCR 遺伝子について乾癬

患者皮膚での発現を検討するとともに、感受性マイクロサテライトについて、モンゴル人集団で、乾癬患者群102例とコントロール群168例とを対象とした遺伝的相関解析を行った。また、それぞれの疾患感受性遺伝子間で遺伝学的な相互関係があるか否かを検討した。今回は、①と②の遺伝子について検討した。

（倫理面への配慮）

本研究は東海大学医学部 医の倫理委員会
で承認を得ている。

受付番号 01-11（2001年8月20日承認）

C. 研究結果

1. 乾癬患者の皮疹部および無疹部皮膚における GPCR 遺伝子の発現量を測定した結果、皮疹部での発現量が低下していた（図1）。
2. GPCR 遺伝子の感受性マイクロサテライトは、アレル4において、患者群で有意にその頻度が増加していた（図2）。この結果は、日本人集団での解析結果とほぼ同様の結果であり、人種を超えた乾癬との関連が認められた。
3. Cw*0102ネガティブな患者群・コント

ロール群間ではアリル4の頻度に差が認められなかったが、Cw*0102ポジティブな患者群・コントロール群間ではアリル4の頻度に差が認められた(図3)。

D. 考察

1. GPCR 遺伝子は、乾癬の発症・病態維持においては抑制的に機能している可能性が示唆された。
2. 日本人集団での解析結果とモンゴル人集団での解析結果を比較したところ、アリル頻度、Odds Ratioの傾向ともよく近似し、また、得られたP値は、いかなる多重検定の補正を行ってもその有意性が変わらないことから、GPCR 遺伝子は偽陽性ではなく真の疾患感受性遺伝子として定義できると考えた。
3. 乾癬の疾患感受性遺伝子は複数存在すると考えられているが、感受性遺伝子間で遺伝学的に相互関係をもつ可能性が示唆された。

E. 結論

乾癬感受性遺伝子の同定を進める。その手法を生かして、汎発性膿疱性乾癬の遺伝子解析を進め、同時に、同定した複数の乾癬感受性遺伝子について、膿疱性乾癬で相関を示すか否かを検討する。また、膿疱性乾癬についてもゲノムワイドな遺伝的相関解析に着手し、膿疱性乾癬に特異な疾患感受性遺伝子の同定を目指す。そのため、多施設の協力を得て、汎発性膿疱性乾癬のサンプリングを進めている。慢性、難治性である膿疱性乾癬の発症因子の1つが解明されれば、根治的治療の開発が期待できる。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表
1. 馬淵智生、小澤 明：乾癬、Visual

Dermatology 8:22-23,2008

2. 学会発表

2. MABUCHI Tomotaka, OKA Akira, AKASKA Emiko, UMEZAWA Yoshinori, MATSUYAMA Takashi, INOKO Hidetoshi and OZAWA Akira: Expression of GPCR gene in psoriasis. The 12th Annual Meeting the Korean Society for Psoriasis, 2008.5.10, Seoul, Korea
3. T. Mabuchi, A. Oka, T. Kojima, E. Akasaka, S. Tamiya, Y. Umezawa, T. Matsuyama, H. Inoko, and A. Ozawa: A Whole genome-wide association study of Psoriasis within the Japanese population using 26,065 microsatellite markers. International Investigative Dermatology, 2008.5.14-17, 京都
4. 馬淵智生、小澤 明、岡 晃、猪子英俊。乾癬の遺伝子解析。第23回日本乾癬学会学術大会、平成20年9月5日～6日、旭川

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む) 特記すべき事項なし

I. 引用論文

特記すべき事項なし

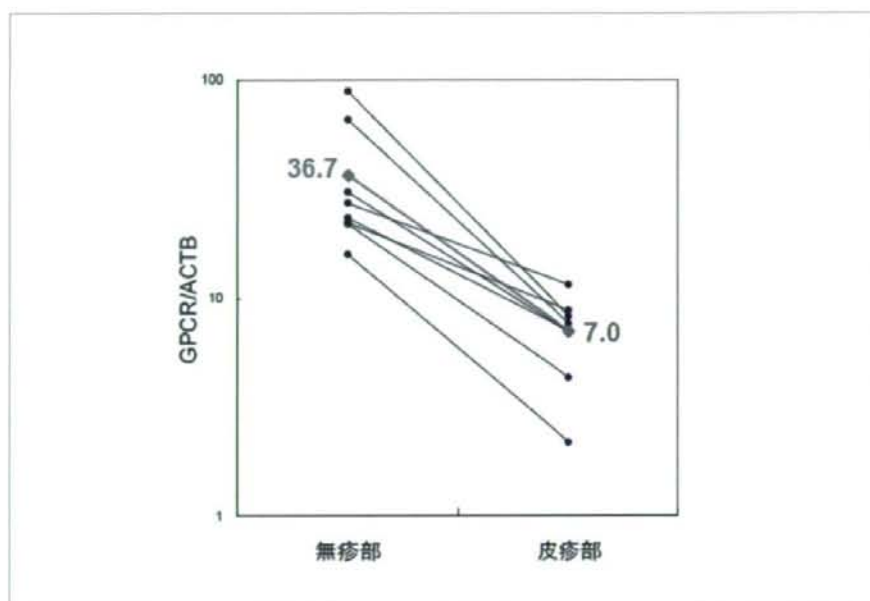


図1. GPCR遺伝子の定量的RT-PCR

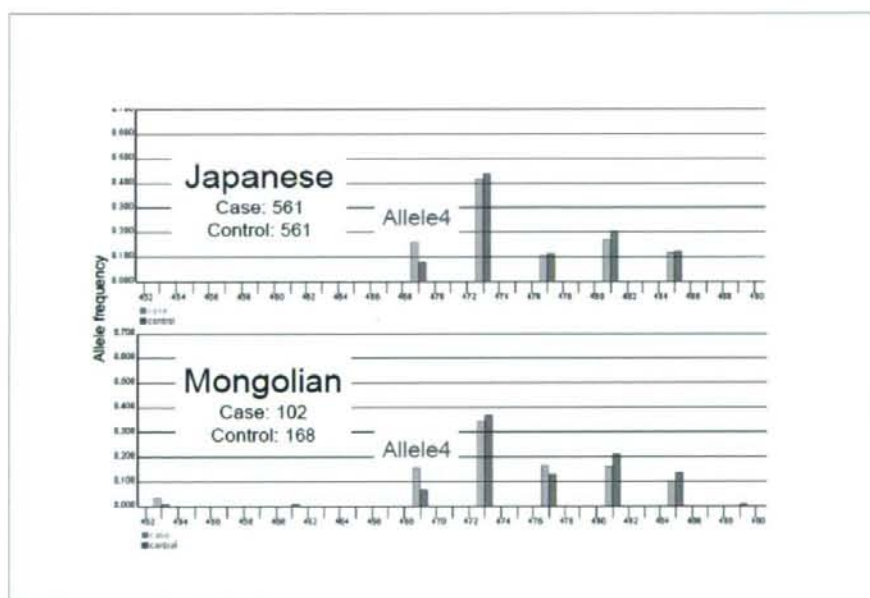


図2. 感受性マイクロサテライトと乾癬との関連

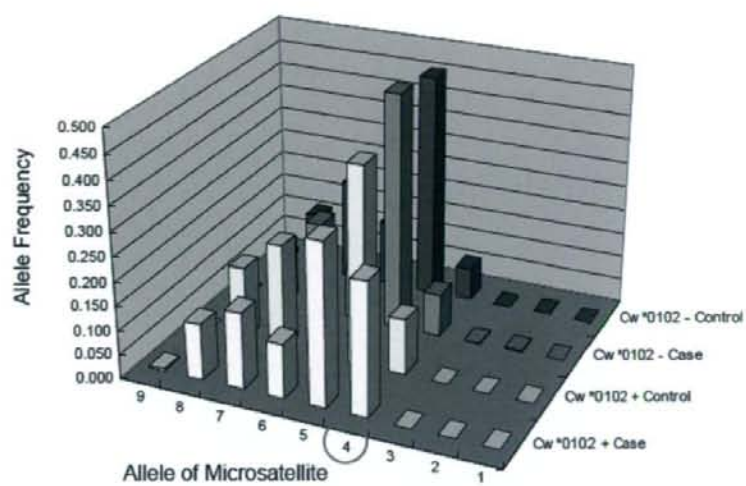


図3. マイクロサテライトと乾癬との関連
～アレル頻度～

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

膿疱性乾癬の薬剤感受性遺伝子解析

研究協力者 武藤正彦 山口大学大学院医学系研究科皮膚科学分野 教授

研究要旨 メトトレキサートに対する薬剤感受性を調べるために、乾癬病型間で比較検討した。乾癬疾患感受性を規定する遺伝子群の解析として、白血球受容体である⑦HLA、④LMIR及び⑤KIRについて多型解析を行った。その結果、1) メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素遺伝子のSNP多型C677T（エクソン4）が乾癬に対するメトトレキサートに対する薬剤感受性（副作用）を規定する主要因子であること、膿疱性乾癬では、2) HLA-A*0206の頻度が増加していること、3) LMIR1のイントロン4（rs1879967）でG→Aへの有意な変異が存在すること、4) KIR遺伝子では、活性化KIR2DS1の頻度が増加していること、を明らかにした。

共同研究者

田中 朱美 山口大学大学院医学系研究科
皮膚科学分野

A. 研究目的

汎発性膿疱性乾癬（GPP）は、Kogoj型膿疱で特徴づけられる難治性免疫異常症であり、ゲノム解析を行うことで、既存の治療法の改良乃至新規治療法の開発を目的とする。

B. 研究方法

GPP 7症例プラス多発家系2家系、尋常性乾癬（PV）182症例、関節症性乾癬（PA）19症例、正常者146名について、DNAを用いてゲノム多型解析を実施した。

（倫理面への配慮）

インフォームドコンセント及び倫理委員会での承認を経て行った。

C. 研究結果

1. メトトレキサートに対する薬剤感受性の検討：葉酸代謝の律速酵素であるメチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素（MTHFR）のSNP解析から、エクソン4に相当する677番目の塩基置換（C→T）があると、

全身倦怠感等副作用を生じ易いことが判明した。（表1, 2）

2. HLAクラスI抗原解析：PAでは、HLA-A*0207の頻度が増加（58% = 11/19）していたのに対し、GPPでは全く認められなかった（0% = 0/7）。反対に、A*0206が正常対照群に比べ、有意な増加を示した（43% (= 3/7) vs 15% (= 85/553), $P < 0.05$ ）。GPP1多発家系例でのHLA解析からも、HLA-A*0206は罹患同胞間で共有されていた。
3. LMIR1多型解析：LMIR（leukocyte monoinnoglobulin-like receptor）のうち、LMIR1（CD300a）のイントロン4のSNP（rs1879967）解析の結果、GPP患者群で7名全員がG/AまたはA/Aであり、G/Gの頻度はゼロであった。この差は、PV患者群（N=182）あるいは健常者群（N=146）と比較してもいずれも有意であった（ $P < 0.05$ ）。（表3）
4. KIR多型解析：HLA-Cを認識するKIR2DS1の頻度が60% (= 3/5)と、PVにおける頻度（45% = 43/96）同様、正常群（28% = 14/50）に比べ増加傾向を示した。