

新規マウス自然発症性皮膚炎原因遺伝子 *Tmem79* の同定と ヒトアトピー性皮膚炎患者での *Tmem79* の解析

研究分担者 海老原 全 慶應義塾大学医学部皮膚科学 准教授
研究分担者 佐々木貴史 慶應義塾大学医学部総合医科学研究センター 特任講師

研究要旨

Flg^{fl} 変異と *ma* 変異を有し血中 IgE 値上昇を伴う皮膚炎を自然発症するモデルマウス Flaky tail の皮膚炎原因変異は *ma* 変異であり、*ma* 変異は皮膚バリア遺伝子 *Tmem79* のナンセンス変異である事を明らかにした。ヒト AD 患者 250 人の解析結果、*TMEM79* に AD に関連する変異を同定する事はできなかったが、*ma* マウスでの皮膚炎発症メカニズム解明により、AD における皮膚炎の発症メカニズムの一部が解明されると期待される。

研究協力者

塩濱 愛子 慶應大医学部 MSD アレルギー研究寄附講座
特任助教

A . 研究目的

近年アトピー性皮膚炎(AD)患者からフィラグリン(*FLG*)遺伝子の機能喪失変異が疾病素因である事が疫学的に明らかにされ、皮膚バリア機能障害が、アトピー性皮膚炎の発症原因の一つとなる事が明らかになった。Flaky tail マウスは、*Flg* 5303delA(*Flg^{fl}*)変異と *matted* (*ma*)変異を有し血中 IgE 値上昇を伴う皮膚炎を自然発症することから、AD モデルマウスとして注目されている。しかし我々が樹立した *Flg* KO マウスは皮膚炎を自然発症しなかった。この事から、Flaky tail マウスの自然発症皮膚炎の原因遺伝子を同定し、Flaky tail マウスの皮膚炎発症のメカニズムを解明する事を試みた。

B . 研究方法

Flaky tail マウスの皮膚炎発症の原因変異を同定するために、野生型マウスと交配を行い *Flg^{fl}* 変異と *ma* 変異の分離を行った。最小責任ゲノム領域を次世代シーケンサーにより網羅的に解読し、遺伝

子変異を同定した。同定した原因遺伝子候補を *ma* マウスに導入したトランスジェニックマウスを作出し、皮膚炎症状がレスキューされるか解析を行った。同定した原因遺伝子 *Tmem79* の mRNA 及びタンパク質の発現解析を行った。慶應義塾大学病院皮膚科を受診した AD 患者 250 人に対し *TMEM79* 遺伝子の解読し、ヒト AD 患者での関連解析を行った。

C . 研究結果

野生型マウスと Flaky tail マウスの戻し交配に *Flg^{fl}* 変異と *ma* 変異を分離した結果、皮膚炎は *Flg^{fl}* 変異ではなく、*ma* 変異が原因であった(図 1)。最小責任ゲノム領域の解読の結果、*Tmem79* 遺伝子ナンセンス変異を同定した。*Tmem79* ゲノム領域をクローニングし *ma* マウスに導入した結果、皮膚炎症状がレスキューされた(図 1)。発現解析の結果、*Tmem79* mRNA は表皮に特異的に発現し、抗 *Tmem79* 抗体を用いた皮膚染色の結果、*Tmem79* は顆粒層の最上層に特異的に発現していた。テープストリッピング法を用いて *ma* マウス角質層を解析した結果、*ma* マウスの角質層は野生型より脆弱性を示した(図 2)。AD 患者 250 人に対し *TMEM79* 遺伝子の解読を行ったが、AD と関連する変異を同定す

る事はできなかった。

D . 考察

Flaky tail マウスは、血中 IgE 上昇を伴う皮膚炎を自然発症し *Flg^{fl}* 変異を有している事から、AD モデルマウスとして用いられてきた。今回の研究で、Flaky tail マウスの皮膚炎の原因遺伝子は *Flg^{fl}* 変異ではなく、新たな皮膚バリア遺伝子 *Tmem79* のナンセンス変異である事を明らかにした。*Tmem79* 遺伝子は顆粒層に特異的に発現し、その欠損により角質層が脆弱性を示す事から、*Tmem79* は皮膚バリア関連因子であった。これらの事から、皮膚バリア遺伝子欠損が皮膚炎発症の原因となる事が明らかになった。ヒト AD 患者では関連する TMEM79 変異を同定できなかったが、共通する皮膚炎自然発症メカニズムが存在する可能性が高いことから、*ma* マウスでの皮膚炎発症メカニズム解明により、AD における皮膚炎の発症メカニズムの一部が解明されると期待される。

E . 結論

マウスにて欠損により血中 IgE 上昇を伴う自然発症皮膚炎の原因となる新規皮膚バリア遺伝子 *Tmem79* を同定した。ヒト AD 患者 250 人から関連する TMEM79 変異は同定できなかったが、*ma* マウスでの皮膚炎発症メカニズム解明により、AD における皮膚炎の発症メカニズムの一部が解明されると期待される。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表 (平成 25 年度)

< 論文発表 >

1. Kanda S, Sasaki T, Shiohama A, Nishifuji K, Amagai M, Iwasaki T, Kudoh J: Characterization of canine filaggrin: gene structure and protein expression in dog skin. **Vet Dermatol** 24 (1), 25-31, 2013.
2. Kubo A, Shiohama A, Sasaki T, Nakabayashi K, Kawasaki H, Atsugi T,

Sato S, Shimizu A, Mikami S, Tanizaki H, Uchiyama M, Maeda T, Ito T, Sakabe J, Heike T, Okuyama T, Kosaki R, Kosaki K, Kudoh J, Hata K, Umezawa A, Tokura Y, Ishiko A, Niizeki H, Kabashima K, Mitsuhashi Y, Amagai M: Mutations in *SERPINB7*, encoding a member of the serine protease inhibitor superfamily, cause nagashima-type palmoplantar keratosis. **Am J Hum Genet** 93 (5), 945-956, 2013.

3. Sasaki T, Shiohama A, Kubo A, Kawasaki H, Ishida-Yamamoto A, Yamada T, Hachiya T, Shimizu A, Okano H, Kudoh J, Amagai M: A homozygous nonsense mutation in the gene for *Tmem79*, a component for the lamellar granule secretory system, produces spontaneous eczema in an experimental model of atopic dermatitis. **J Allergy Clin Immunol** 132 (5), 1111-1120, 2013.
4. 佐々木貴史, 天谷雅行: アトピー性皮膚炎の皮膚バリアからみた病態. **臨床免疫・アレルギー科** 60 (3), 276-281, 2013.

< 学会発表 >

1. Sasaki T, Shiohama A, Kubo A, Kawasaki H, Ishida-Yamamoto A, Yamada T, Hachiya T, Shimizu A, Okano H, Kudoh J, Amagai M: A homozygous nonsense mutation of gene for *Matrin*, a component of lamellar granule secretory system, produces spontaneous dermatitis in mice. **The International Investigative Dermatology 2013**, Edinburgh, Scotland, 2013. 5. 8- 11.
2. 海老原全: 皮膚バリア機能から考えるアトピー性皮膚炎の治療. **第25回日本アレルギー学会春季臨床大会**, 横浜, 2013. 5. 11- 12.
3. 佐々木貴史, 塩濱愛子, 久保亮治, 川崎洋, 山本明美, 山田健人, 蜂矢隆久, 清水厚志, 岡野栄之, 工藤純, 天谷雅行: 新規自然発症皮膚炎原因遺伝子 *Matted* の同定. **第34回日本炎症・再生医学会**, 京都, 2013. 7. 2- 3.

4. 正木克宜, 加畑宏樹, 福永興幸, 加川志津子, 持丸貴生, 松坂雅子, 鈴木雄介, 川崎洋, 佐々木貴史, 天谷雅行, 浅野浩一郎, 別役智子: 重症喘息患者におけるFilaggrin遺伝子変異の検討. **第21回臨床喘息研究会**, 伊勢, 2013. 10. 5.
5. 佐々木貴史, 塩濱愛子, 久保亮治, 川崎洋, 山本明美, 山田健人, 蜂矢隆久, 清水厚志, 岡野栄之, 工藤純, 天谷雅行: 新規自然発症皮膚炎原因遺伝子mattedの同定. **第41回日本免疫臨床学会総会**, 下関, 2013. 11. 27-29.
6. Sasaki T, Shionama A, Kawasaki H, Kubo A, Yamada T, Okano H, Amagai M: A homozygous nonsense mutation in Matted, a novel skin barrier gene associated with lamellar granule secretory system, causes spontaneous dermatitis in mice. **42nd Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology**, Chiba, Japan, 2013. 12. 11- 13.

H . 知的所有権の出願・登録状況(予定を含む)

なし

< 特許取得 >

出願番号: 特許出願 2012-4752

出願日: 2012 年 3 月 5 日

公開番号: 特許公開 2013-179920

公開日: 2013 年 9 月 12 日

出願人: 学校法人慶應義塾

発明者: 天谷雅行、佐々木貴史、塩濱愛子、工藤純、久保亮治

発明の名称: 自然発症皮膚炎の新規原因因子及び皮膚疾患モデル動物

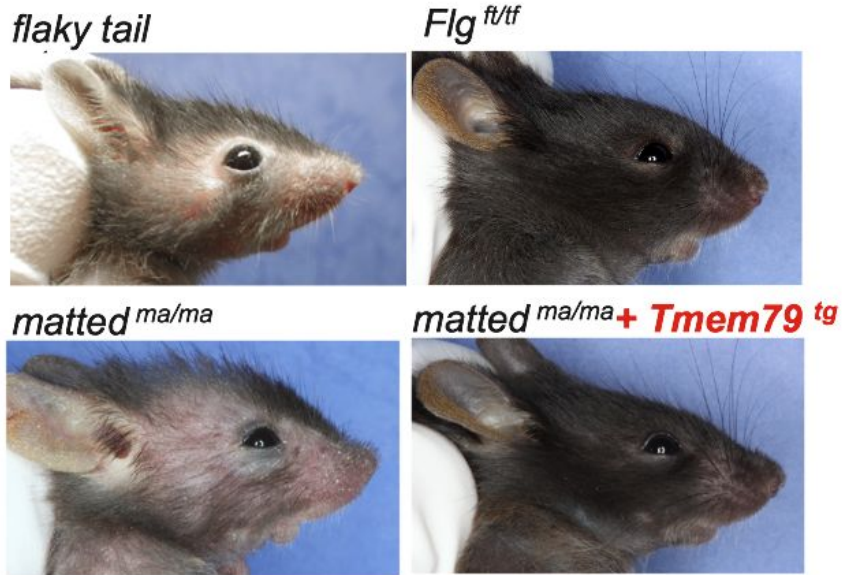
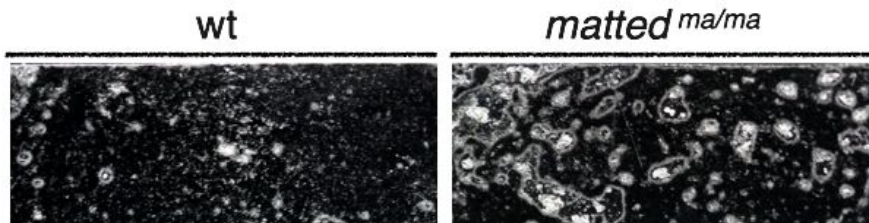


図1 Flaky tailマウスの *Flg*^{ft/ft} と *ma* の分離と *Tmem79*レスキューマウス

テープ剥離角層の正面像



残存角層の垂直切片像

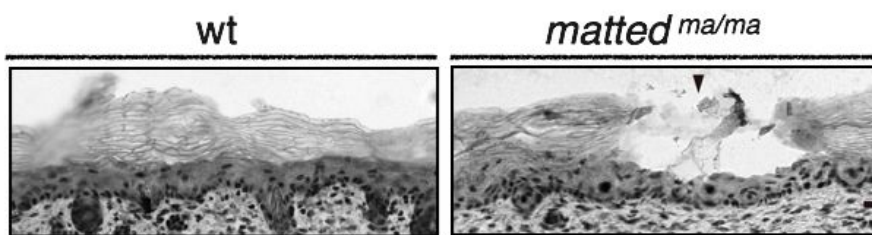


図2 *ma*マウス角層脆弱性