

た。その結果、HaCaTとA431では、NHKに比較して顕著なDAP10発現上昇が認められた(図3)。このことから、HaCaTとA431のDAP10発現をsiRNAにより低下させるとNHKと同様な反応を示すかもしれないと考え、この検討を次に行った。HaCaTとA431をDAP10 siRNAで処理し、high conc. S100A 8/A 9で24 hの刺激を行った。結果、DAP10の発現低下は、高いアポトーシス誘導につながる事が明らかとなった(図3)。

4. **NHKへのDAP10強制発現**：次に、NHKにDAP10を強制発現させ、高濃度S100A 8/A 9によるレスポンスがどう変化するか検討した。結果、DAP10の過剰発現は、アポトーシスに対する耐性獲得につながる事が明らかとなった(図4)。
5. **乾癬病変におけるDAP10の発現**：免疫組織染色の結果、乾癬病変部位(表皮層)ではDAP10の顕著な発現上昇が認められ、同部位には活性型Aktが検出された。一方、RAGEの発現状態は、正常組織との比較において大きな変化が認められなかった(図5)。

D. 考察

1. **DAP10によるAktの持続的活性化**：当研究より、DAP10との結合の意義を見出すに至った。それは、(1) RAGEのS100A 8/A 9刺激による重合を抑制し、アポトーシス反応から回避すること、(2) PI 3Kを効率よくリクルートし、Aktの持続的活性化をもたらすこと、の2つである。これらにより、RAGE活性化によるシグナルがサバイバル能亢進にシフトするのである。この反応は、表皮ケラチノサイトで認められた。以前のケラチノサイトのS100A11-RAGE研究

(Sakaguchi et al, MBC, 2008)でも、S100A11刺激がRAGEを介したAkt持続的活性化につながることを見出していたがその持続性の詳細な理由を見出せずにいた。今回の研究より我々は、新たにDAP10の発現抑制によりAktに一過性の活性化が起こるものの、持続的な活性化の方は消失することを見出した。このことから、DAP10はAkt活性化に持続性を待たせることに重要であると考えられた。なぜなら、DAP10の細胞質領域、YXXMモチーフのYがリン酸化されることによってPI 3K (p85)をリクルートできることは周知であり、実際我々の結果で、RAGE-DAP10 complexへの持続的なPI 3Kの結合を確認しているからである。RAGEのアダプター、MyD88もPI 3Kをリクルートする能力があることから、DAP10が消失した状態での一過性のAkt活性の上昇はMyD88の機能で説明できるものと考えている。

2. **RAGE以外の受容体によるAkt活性化シグナル**：我々は、全ての細胞種において、S100A 8/A 9によるAktの活性化がRAGE-DAP10にみで理解できる訳ではないと考えている。S100A 8/A 9が結合する受容体として、TLR 4が既に報告され(Vogl et al., Nat Med. 2007)、我々もEMMPRINを報告した(Hibino et al., Cancer Res. 2013)。いずれもAktの活性化につながる信号伝達経路を持つ。ヒトケラチノサイトでは、Q-PCRにおいて、TLR 4は非常に低い発現(検出限度外)であるが、EMMPRINは検出される(data not shown)。また、RAGE, DAP10, TLR4, EMMPRINは、組織、そして細胞種に応じて、多様な発現状態を示す(data not shown)。S100A 8/A 9シグナルの細胞種に応じた更なる複雑化を生み出しているかもしれない。

3. 乾癬肥厚とS100A8/A9-RAGE-DAP10

シグナル： 正常ケラチノサイトにおいてDAP10を誘導する因子は何であろうか。乾癬病態では、IL-22がその発症に重大に関わっているが (Boniface K et al., Clin Exp Immunol. 2007; Zhang N et al., Mlo Cell Biochem. 2011)、正常細胞においてDAP10はこのIL-22によって強く誘導されることが明らかとなった (RAGEは変化せず)。IL-22が乾癬病態に重要な役割を持つことは以下の報告から明らかである。

(1) In vitroの培養3次元表皮モデルにIL-22を作用させると角化細胞の終末分化の異常が起こり、不全角化と顆粒層の減少を伴う表皮肥厚が観察されるが、これはまさしく乾癬の病変部皮膚で見られる所見である (Nogralles KE et al., Br J Dermatol. 2008; Wolk K et al., J Mol Med (Berl) . 2009)。

(2) マウスのin vivoの実験では、IL-22を過剰発現させると皮膚に肥厚を伴う乾癬様の変化が起こる (Wolk K et al., J Mol Med (Berl) . 2009)。

(3) IL-23のマウス皮膚への局所投与により乾癬に類似した病態が誘導されるが、これがIL-22に大きく依存していることが、IL-22欠損マウスや抗IL-22中和抗体投与による実験から示されている (Zheng Y et al., Nature. 2007; Rizzo HLet al., J Immunol. 2011)。

(4) 化合物イミキモドをマウス皮膚に塗布することで誘導される膿疱性乾癬様モデルにおいてもIL-22が病態形成に重要であることが報告されている (Van Belle AB et al., J Immunol. 2012)。

これらの知見はIL-22が乾癬で見られる著明な表皮肥厚と角化細胞の分化異常に深く関与していることを示している。

また、上記に加え、IL-22はRAGEのリガンドであるS100A8/A9発現を正

常ケラチノサイトにおいて強く誘導する (Wolk K et al., Eur J Immunol. 2006; Sonnenberg GF et al., Nt Immunol. 2011)。従って、IL-22によるDAP10のS100A8/A9と平行な高発現誘導は、病態発症上、乾癬病態表皮肥厚現象において理にかなった現象であると考えられた。

乾癬病態では、S100A8/A9により活性化されたRAGE-DAP10は、PI3KのみならずGrb2, Grb7を呼び込む可能性がある。Grb7は我々による新規な発見であり、これはErbB2のアダプターとして増殖性シグナル伝達に働くことが知られている分子である (Stein D et al., EMBO J. 1994; Pradip D et al., Am J Cancer Res. 2013)。両アダプター分子はRas活性化を生み出すことから (Gale NW et al., Nature. 1993; Chu PY et al., J Biol Chem. 2010)、乾癬病態における増殖異常性肥厚現象には、こちらの経路も大きな意味を持つかもしれない。

最近、上皮性がんのサバイバル能亢進にIL-22が大きく関わっていることも報告されている。がんに集まって来たT細胞 (CD4+ T cell, Th22 cell) の出すIL-22がパラクラインで (Zhuang Y et al., Cancer Immunol Immunother. 2012)、あるいは、がん細胞自身が産生するIL-22がオートクライン (Zhang W et al., Clin Cancer Res. 2008) でがん細胞に作用し、増殖とサバイバル能を亢進させるという内容である。種々上皮性がんではS100A8/A9およびRAGEの発現が亢進している多くの報告があり (Gebhardt C et al., Biochem Pharmacol. 2006;)、加えてDAP10の発現が亢進している最近の報告 (Benitez AC et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 2011) もふまえると、我々の今回見出したS100A8/A9-RAGE-DAP10機序が、上記IL-22によるがん進展のコンテキストでも機能していること

が十分に考えられる。

4. 膿疱性乾癬とS100A8/A9-RAGE-DAP10シグナル(IL-36Raとの関係): 近年、膿疱性乾癬発症IL-1 R antagonists(IL-1 Ra and IL-36Ra)の重要性が注目を浴びている(Cowen EW and Goldbach-Mansky R, Arch Dermatol. 2012)。膿疱性乾癬患者にIL-1 Raの変異(Shepherd J et al., J Invest Dermatol. 2004; Jesus AA et al., Arthritis Rheum. 2011; Minkis K et al. Arch Dermatol. 2012)やIL-36Raの欠失、変異(Marrakchi S et al., NEJM 2011; Farooq M et al., Hum Mutat. 2013)が見つかったことに起因する。これらアンタゴニスの機能不全によりIL-1 Rファミリーからの炎症性シグナルにブレーキがかからなくなるのである。我々は、IL-36Rのアゴニストの一つIL-1 F9 (IL-36 γ)の産生分泌がS100A8/A9刺激により表皮角化細胞から顕著に亢進すること、さらに、このIL-1 F9が表皮角化細胞に働きかけ、S100A8/A9の産生分泌を亢進させる現象を報告した(正のフィードバック機構)(Nukui et al., J Cell Biochem. 2008)。すなわち、IL-36Raの欠失患者において、S100A8/A9の上昇は、炎症反応の憎悪を促す危険因子と判断できる。また我々は、以前にRAGEが活性化されるとMyD88に依存してIL-1 aとIL-1 b (IL-1 Rのアゴニスト)が強く誘導されてくる結果も得ている(Sakaguchi et al, PLoS One, 2011)。これらのことから、(1) S100A8/A9-RAGE-TIRAP/MyD88-炎症レスポンス(IL-1 a,-1 b,-1 F9)、(2) S100A8/A9-RAGE—DAP10-増殖、サバイバルレスポンスはIL-1 R antagonists変異患者における膿疱性乾癬発症に密接に結びついていることが考えられた。

上述したようにIL22は、乾癬病態の

発症と進展に重要な役割を果たすものと考えられている。今回の研究より、S100A8/A9-RAGE-DAP10は、ケラチノサイトの側において、IL-22の関わる乾癬病態の複雑な分子機構の一つに位置することが示唆された。今後、IL-22を標的とした乾癬治療を実際に行うことによって、当分子機構の乾癬病態への真の重要性が明らかになってくるものと考えられる。

E. 結論

RAGEから派生するシグナル経路は多種多様であり、その理由の一つには多様なRAGEアダプタータンパク質(mDia-1, Dock7, TIRAP/MyD88)が存在することが上げられる。では、リガンドの濃度に応じた特異的RAGE信号伝達はどのように制御されているのだろうか。例えば、低濃度のS100Bタンパク質刺激は神経栄養因子として働くが、高濃度ではアポトーシス誘導する。我々は本研究で、RAGEの多様な信号伝達経路の中から特定の信号伝達経路の選択および増強に働く機構を見出した。それは、上記アダプタータンパク質(mDia-1, Dock7, TIRAP/MyD88)に加え、新たなRAGE共役性アダプタータンパク質DAP10を同定できたことによる。

昨年度の人口的受容体2量体、多量体化システムの検討より、RAGE-DAP10ヘテロダイマーは、Akt活性化を介した増殖生存シグナルを増幅し、RAGEマルチマーは、Caspase8の活性化を介した細胞死(アポトーシス)シグナルにつながる事が判明した。この結果は表皮ケラチノサイトにおいて実際に反映されていた。リガンドとしてS100A8/A9を使用し、低濃度と高濃度によるRAGE信号伝達制御が以下のように明らかとなった。

- (1) low conc.S100A8/A9 → RAGE-DAP10結合 → Akt活性化 → 増殖サバイバル能亢進、
- (2) high conc. S100A8/A9 → RAGE重

合亢進 (DAPI10結合消失) → Caspase 8 活性化 (Akt活性化の消失) → アポトーシス (サバイバル能低下)、

DAPI10の発現は、乾癬発症に深く関わるIL-22によって強く誘導されることも判明した。実際、乾癬表皮のDAPI10の染色を行ったところ、正常に比較してRAGEは変化が顕著で無いが、DAPI10は非常に高レベルであることを認めた。このことより、通常乾癬患者でみられる高濃度のS100A8/A9においても表皮角化細胞はアポトーシスを起こさず、逆に増殖促進および生存能亢進の結果となることで乾癬発症患部における肥厚につながっているものと考えられた。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表 (平成25年度)

論文発表

1. Yamamoto K, Murata H, Putranto EW, Kataoka K, Motoyama A, Hibino T, Inoue Y, Sakaguchi M, Huh NH. DOCK 7 is a critical regulator of the RAGE-Cdc42 signaling axis that induces formation of dendritic pseudopodia in human cancer cells. *Oncol Rep.* 29 : 1073-1079, 2013.
2. Putranto EW, Murata H, Yamamoto K, Kataoka K, Yamada H, Futami J, Sakaguchi M, Huh NH. Inhibition of RAGE signaling by intracellular delivered-inhibitor peptides using PEI-cationization. *Int J Mol Med.* 32 : 938-944 2013.
3. Hibino T, Sakaguchi M, Miyamoto S, Yamamoto M, Motoyama A, Hosoi J, Shimokata T, Ito T, Tsuboi R, Huh NH. S100A 9 is a novel ligand of EMMPRIN that promotes melanoma metastasis. *Cancer Res.* 73 : 172-183, 2013.
4. Murata H, Sakaguchi M, Kataoka K,

Huh NH. SARM 1 and TRAF 6 bind to and stabilize PINK 1 on depolarized mitochondria. *Mol Biol Cell.* 24 : 2772-2784.

5. Saito K, Sakaguchi M, Iioka H, Matsui M, Nakanishi H, Huh NH, Kondo E. Cocksackie and adenovirus receptor is a critical regulator for the survival and growth of oral squamous carcinoma cells. *Oncogene* 2013. doi : 10.1038/onc.2013.66. (in press) .

学会発表

1 阪口 政清 ; 多機能受容体RAGEの共役受容体の発見とその意義、新学術領域「自然炎症」「脂質マシナリ」合同若手ワークショップ、徳島県鳴門市、2013年 (H25年) 7月2-4日 (3日) .

2 Masakiyo Sakaguchi, Hitoshi Murata, Toshihiko Hibino, and Nam-ho Huh ; S100A 8/A 9 targets oncogenic survival pathway via RAGE that critically enhanced by a RAGE co-receptor (多機能受容体RAGEの共役受容体の発見とその意義)、横浜、第72回日本癌学会学術総会、2013年10月3-5日 (3日) .

H. 知的所有権の出願・登録状況 (予定を含む)

該当なし

図1 DAP10 は Akt の持続的活性化に重要

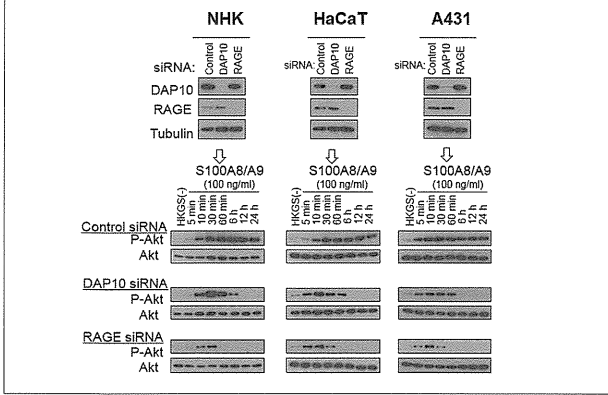


図2 細胞種における S100A8/A9 レスポンス

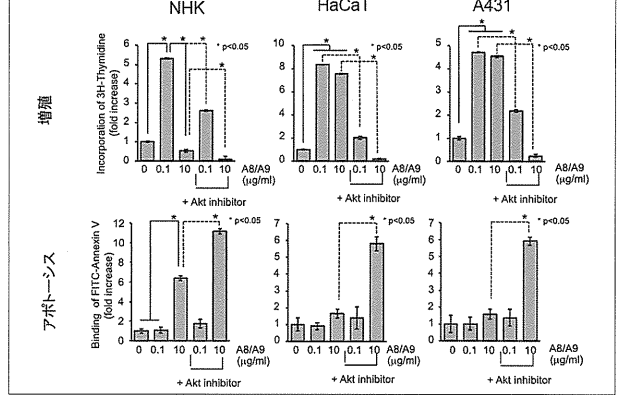


図3 細胞種における DAP10 発現の差異

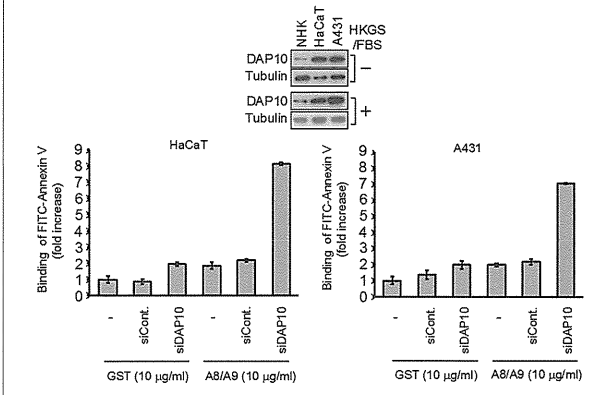


図4 DAP10 の NHK への強制発現

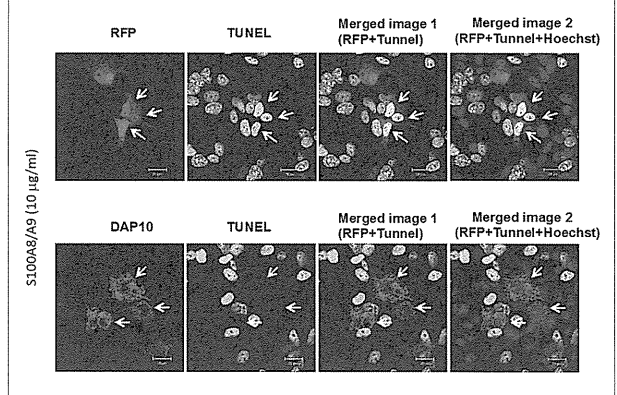
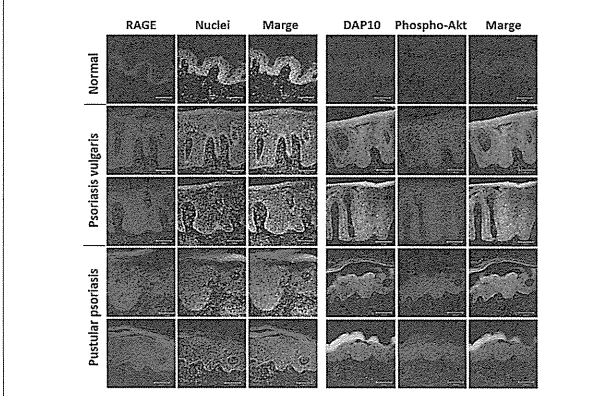


図5 DAP10 の乾癬皮膚組織における発現



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

遺伝的相関解析による乾癬感受性遺伝子の同定
次世代シーケンサーによる解析

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（GWAS）を行い、これまでに、G蛋白連結型受容体スーパーファミリー（*GPCR* 遺伝子）を含む4個の疾患感受性候補遺伝子を絞り込んだ。今年度は昨年度に引き続き、*GPCR* 遺伝子と乾癬の相関について他人種（韓国人集団）を対象とした解析を行った。その結果、*GPCR* 遺伝子座の感受性マイクロサテライトを含むハプロタイプは、*HLA-C* 遺伝子座の疾患感受性マイクロサテライトを含むハプロタイプとは独立したハプロタイプであることがわかった。さらにリスクハプロタイプを有する個体を対象に次世代シーケンサーを使用してエクソーム解析し、複数の非同義変異を見いだした。これらの結果から、*GPCR* 遺伝子と乾癬とのきわめて高い関連性が再確認され、また、真の乾癬感受性遺伝子は*HLA-C* 遺伝子近傍ではなく、より広いHLA領域に存在している可能性が示唆された。

共同研究者

馬淵 智生

東海大学医学部
専門診療学系准教授

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
総合医学研究所講師

Jai Il Youn

韓国ソウル大学医学部
皮膚科教授

Tae Yoon Kim

韓国カソリック大学
皮膚科教授

マーカーを用いたゲノムワイドな遺伝的相関解析（GWAS）により、①G蛋白連結型受容体スーパーファミリー（*GPCR* 遺伝子）、②*SEEK 1* 遺伝子（HLA class I 領域 6 p21.3）、③Ca²⁺非依存性細胞接着分子スーパーファミリー（*CADM 2* 遺伝子）、④*BTNL 2* 遺伝子（HLA class II領域）を、疾患感受性候補遺伝子として絞り込んだ。

平成23年度からの3年間は、下記の研究計画に沿って研究を進めている。

1) GWASにより見いだされた乾癬疾患候補遺伝子の同定

(1) 候補4遺伝子の同定と相互関係の検討
(2) 候補遺伝子の transgenic mouse の作製

(3) 候補遺伝子と臨床型との関係の解析
2) 他人種における乾癬感受性候補遺伝子解析を検討、確認

(1) 世界の各施設（人種）で見いだされた

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。その前段階として、尋常性乾癬の疾患感受性遺伝子を同定する。

平成14年度より、国内の多施設から集めた尋常性乾癬561例、およびコントロール群の血液由来DNAを対象とし、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

候補遺伝子の日本人での解析

(2) われわれが報告した乾癬感受性候補遺伝子に関する他人種での解析と比較

3) 膿疱性乾癬の疾患感受性遺伝子解析

(1) 症例の集積 (DNA サンプル)

(2) 1)、2)の結果から、膿疱性乾癬と尋常性乾癬において、その疾患感受性遺伝子の異同の解析

(3) 膿疱性乾癬の疾患感受性遺伝子の解析と同定

平成25年度は、上記研究計画の2)(2)を解析した。

B. 研究方法

前回までの報告で見いだした乾癬リスクハプロタイプを有する日本人乾癬2例と韓国人乾癬2例を対象に次世代シーケンサーを使用してエクソーム解析を行った。

なお、本研究はそれぞれの施設の倫理委員会にて研究承認を得た。

C. 研究結果

リスクハプロタイプ上に複数の非同義変異(アミノ酸置換を伴う遺伝子変異)を見いだした。

D. 考察

乾癬とHLA-Cw6の人種を越えた強い相関は以前から広く知られている。昨年度の報告書で報告したように、今回のわれわれの研究でも、*HLA-C* 遺伝子座の疾患感受性マイクロサテライトと日本人乾癬との遺伝的相関解析の結果、4.66という高いオッズ比が示された。これらの知見から、これまで、真の乾癬感受性遺伝子は*HLA-C* 遺伝子の近傍に存在しているものと考えられ、複数の施設から複数の候補遺伝子が報告されてきたが、いまだ同定には至っていない。

その一方で、現在進めている一連の解析結果から、*GPCR* 遺伝子と乾癬とのきわめて高い関連性が示されてきた。今回のエクソーム

解析によるリスクハプロタイプ上の非同義変異の発見は、乾癬の原因遺伝子の同定に近くものである。

E. 結論

今回の研究で見いだしたアミノ酸置換による遺伝子変異が及ぼす機能的影響について、今後検討していく予定である。

また、現在、前述の研究計画のうち、2)の(2)に関して、他の乾癬感受性候補遺伝子についても同様の方法で解析を進めている。さらに、これらの遺伝子について、研究計画3)の解析を進めている。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表 (平成25年度)

論文発表

1. Oka A, Mabuchi T, Ikeda S, Terui T, Haida Y, Ozawa A, Yatsu K, Kulski JK, Inoko H. IL12B and IL23R gene SNPs in Japanese psoriasis. *Immunogenetics*. 65: 823-8, 2013
2. Akasaka E, Mabuchi T, Manabe Y, Yahagi E, Yamada-Hiruma A, Yamaoka H, Kojima T, Kato M, Ikoma N, Ozawa A, Haruki Y. Long-term efficacy of psoriasis vulgaris treatments: analysis of treatment with topical corticosteroid and/or vitamin D 3 analog, oral cyclosporin, etretinate and phototherapy over a 35-year period, 1975-2010. *J Dermatol*. 40: 238-43, 2013
3. Ohtsuki M, Terui T, Ozawa A, Morita A, Sano S, Takahashi H, Komine M, Etoh T, Igarashi A, Torii H, Asahina A, Nemoto O, Nakagawa H; Biologics Review Committee of the Japanese Dermatological Association. Japanese guidance for use of biologics for psoriasis (the 2013 version). *J*

Dermatol. 40: 683-95, 2013

名古屋

4. Haida Y, Ikeda S, Takagi A, Komiyama E, Mabuchi T, Ozawa A, Kulski JK, Inoko H, Oka A. Association analysis of the HLA-C gene in Japanese alopecia areata. Immunogenetics. 65: 553-7, 2013

H. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）

特記すべき事項なし

学会発表

1. Ikeda S, Takagi A, Komiyama E, Yoshiwara N, Mabuchi T, Haida Y, Oka A, Ozawa A. An association study of alopecia areata using microsatellite markers within the major histocompatibility complex. 7th World Congress for Hair Research、平成25年5月6日、イギリス・エジンバラ
2. Ozawa A. Genetic analysis in psoriasis “A Japan-Korea joint research project for analysis on psoriatic gene”. The 9th Asian Dermatological Congress、平成25年7月12日、中国・香港
3. 岡 晃、馬淵智生、池田志孝、照井 正、小澤 明、Tae-Yoon Kim、Jai-Il Youn、猪子英俊. 次世代シーケンサーによる乾癬関連遺伝子座のシーケンシング解析. 第28回日本乾癬学会、平成25年9月7日、東京
4. 小宮根真弓、馬淵智生、青山裕美、秋山真志、池田志孝、小澤 明、金蔵拓郎、佐野栄紀、武藤正彦、山西清文、黒沢美智子、照井 正、岩月啓氏. 膿疱性乾癬（汎発型）（GPP）診療ガイドライン改訂版の作成. 第77回日本皮膚科学会東部支部学術大会、平成25年9月21日、大宮
5. 馬淵智生、小澤 明、武藤正彦、岩月啓氏、青山裕美、山西清文、今井康友、池田志孝、金蔵拓郎、佐野栄紀、中島喜美子、秋山真志、小宮根真弓、黒沢美智子、照井 正、葉山惟大、稲富 徹. 膿疱性乾癬（汎発型）（GPP）診療ガイドライン2013（素案）. 第64回日本皮膚科学会中部支部学術大会、平成25年11月3日、

GPCR遺伝子近傍のマイクロサテライトと乾癬との関連

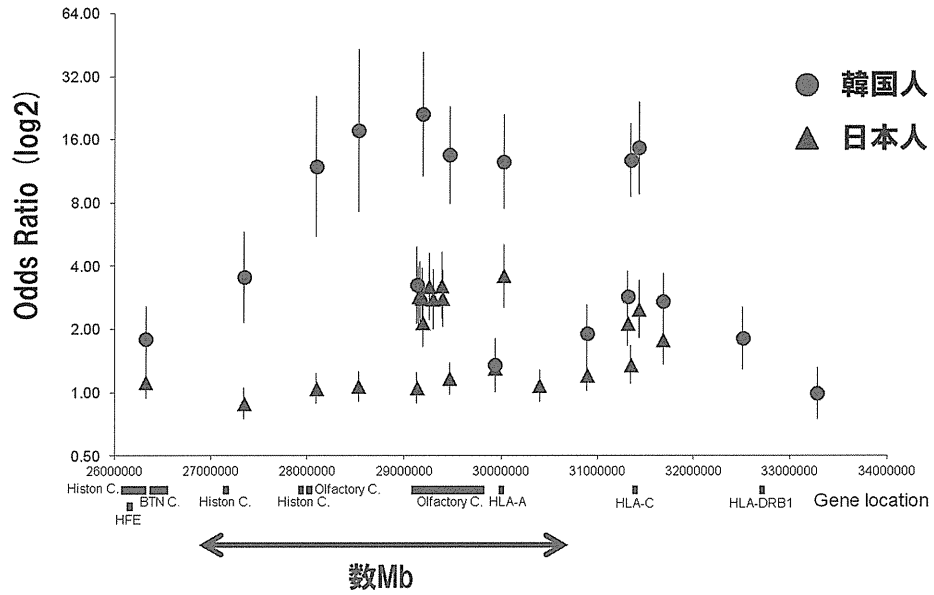


図 GPCR 遺伝子近傍のマイクロサテライトと乾癬との関連

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

膿疱性乾癬の病態
ビタミンD3産生・代謝酵素の皮膚特異的強発現の影響

研究分担者 照井 正 日本大学医学部皮膚科学系皮膚科学分野 教授

研究要旨 活性型ビタミンD3製剤は尋常性乾癬の治療に多用されており、乾癬の病態にはビタミンD3とカルシウムが重要な役割を果たしている。現在までの報告から膿疱性乾癬も同様にビタミンD3とカルシウムが重要な役割を果たしていることが示唆される。

本研究の目的は、膿疱性乾癬におけるビタミンD3の役割を解明するために、昨年度に引き続き表皮細胞にCyp27b1（活性化ビタミンD3合成酵素）とCyp24a1（活性化ビタミンD3不活化酵素）を皮膚で強発現させその影響をみることである。前年度までにマウスCyp27b1, Cyp24a1の発現プラスミドにマウス・トランスグルタミナーゼ1のプロモーターを組み込んだコンストラクトを作製した。今回はこのコンストラクトを表皮細胞に導入する。

共同研究者

佐野 栄紀 高知大学 皮膚科
玉井 克人 大阪大学 皮膚科
山西 清文 兵庫医大 皮膚科
葉山 惟大 日本大学 皮膚科

A. 研究目的

活性型ビタミンD3は表皮細胞の増殖を抑制し、角化を正常化し、分化を正常化させる。この作用のため活性型ビタミンD3は乾癬の治療に広く用いられている。皮膚への紫外線療法はビタミンD3の活性化やその受容体の発現を促進するため、乾癬に有用である。ビタミンD3は循環血漿中では活性化酵素、不活化酵素により厳密に濃度が管理されている。表皮でも同様の酵素が働いており、循環血漿中よりやや高い濃度に維持されている。乾癬の病態を知るためにはこれらの酵素の機能の解析が重要となるが、表皮細胞におけるビタミンD3、その代謝酵素についてはいまだ不明な点が多い。

膿疱性乾癬では血中カルシウム濃度が低下していることことがある。さらに血中カルシ

ウム濃度の低下で膿疱性乾癬様皮疹が出現したとの報告や活性型ビタミンD3軟膏外用により膿疱性乾癬が誘導されたとの報告から膿疱性乾癬の病態にもカルシウムとビタミンD3が関与していると考えられる。

これまでの研究で乾癬病変部位の角層バリア機能が低下していることを報告している。乾癬の病変部位では角質水分量の維持に必要なセラミドが優位に低下している。Low dose（1/2 MED）の紫外線はセラミドの産生酵素であるSPTのmRNAの発現や活性型ビタミンD3産生酵素である1-hydroxylaseの発現を増強させる。また長鎖セラミドの産生に必要なELOVLはVDRの活性化により発現が促進される。このようにビタミンD3はセラミドの代謝にも深く関与している。

本研究ではビタミンD3代謝酵素を培養表皮細胞に強発現させることにより、その分化や脂質代謝への影響を解析することを目的とする。現在までマウスCyp27b1（活性化ビタミンD3合成酵素）、Cyp24a1（活性化ビタミンD3不活化酵素）の発現プラスミドにマウス・トランスグルタミナーゼ1のプロモ

ターを組み込んだコンストラクトを作製した。このコンストラクトをマウス293AD細胞に遺伝子導入してmRNAの増幅を確認した。今回の実験は上記コンストラクトをマウス表皮細胞に遺伝子導入する。

B. 研究方法

実験1：マウス扁平上皮癌セルラインへの遺伝子導入 前回までの研究で作製したコンストラクトをマウスSCCセルラインであるSCC VIIに導入し、m-RNA、タンパクの発現を確認する。

実験2：マウス表皮細胞への遺伝子導入
上記コンストラクトをC57BL/6マウスより分離した表皮角化前駆細胞に導入し、m-RNA、タンパクの発現を確認する。

C. 研究結果

実験1

遺伝子導入2週間後の細胞を回収し、RT-PCRを実施したところ、RNAレベルでの発現が確認された。(図1)

さらにタンパクレベルでの確認を行ったが、タンパクレベルでの発現は確認されなかった。(図2)

実験2

上記のごとくマウスSCCセルラインには遺伝子導入ができなかった。そのためマウスのプライマリーの表皮細胞に導入することにし、C57BL/6マウスより分離した表皮角化前駆細胞に導入した。Geneticin添加培地で薬剤選抜を実施した。薬剤選抜の結果、耐性株を取得することができなかった。

D. 考察

遺伝子導入の条件や導入するセルラインを再検討する必要がある。

E. 結論

マウス*Cyp27b1*, *Cyp24a1*の発現プラスミドにマウス・トランスグルタミナーゼ1のプロ

モーターを組み込んだコンストラクトを作製したが、現在までに導入した細胞の作製に成功していない。今後、遺伝子導入の条件や導入するセルラインを再検討する必要がある。また同時にコンストラクトを再検討する必要がある。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表 (平成25年度)

論文発表

1. 布村 聡, 照井 正, 岡山 吉道, 羅 智靖 IgE κ と protein L によるマスト細胞活性化 臨床免疫・アレルギー科 60 : 317-323, 2013.
2. 布村 聡, 岡山 吉道, 照井 正, 羅 智靖 【細胞表面受容体】構造的特徴: 1 回膜貫通型 受容体の遺伝子: TLR マスト細胞のToll様受容体: 生体の科学64 : 506-507, 2013.
3. 高柳 たかね, 松川 吉博, 照井 正, 管 白. 急性増悪した関節症性乾癬にインフリキシマブ投与が著効した1例. 臨床皮膚科67 : 214-218, 2013.
4. Oka A, Mabuchi T, Ikeda S, Terui T, Haida Y, Ozawa A, Tatsu K, Kulski JK, Inoko H. IL12B and IL23R gene SNPs in Japanese psoriasis. Immunogenetics 65 : 823-828. 2013.
5. Ohtsuki M, Terui T, Ozawa A, Morita A, Sano S, Takahashi H, Komine M, Etoh T, Igarashi A, Torii H, Asahina A, Nemoto O, Nakagawa H; Biologics Review Committee of the Japanese Dermatological Association. Japanese guidance for use of biologics for psoriasis (the 2013 version). J Dermatol 40 : 683-695, 2013.
6. Hatada Y, Kahiwakura J, Hayama K, Fujisawa D, Sasaki-Sakamoto T, Terui

T, Ra C, Okayama Y. Significantly high levels of anti-dsDNA immunoglobulin E in sera and the ability of dsDNA to induce the degranulation of basophils from chronic urticaria patients. Int Arch Allergy Immunol 161 (Suppl 2):154-158, 2013.

7. Kawashima M, Yokose U, Hachiya A, Fujimura T, Tsukahara K, Kawada H, Kitahata T, Takema Y, Terui T, Nakagawa H. Improvement of crow's feet lines by topical application of l-carbamimidoyl-L-proline (CLP). Eur J Dermatol 3:195-201, 2013.

訂版(2013)の概要. 第77回日本皮膚科学会東京支部学術大会、2013年2月15-16日

H. 知的所有権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし

学会発表

1. 小宮根真弓、馬渕智生、青山裕美、秋山真志、池田志孝、小澤 明、金蔵拓郎、佐野栄紀、武藤正彦、山西清文、黒沢美智子、照井 正、岩月啓氏：膿疱性乾癬(汎発型)診療ガイドライン改訂版の作成. 第77回日本皮膚科学会東部支部学術大会、2013年9月21-22日.
2. 馬渕智生、小澤 明、武藤正彦、岩月啓氏、青山裕美、山西清文、今井康友、池田志孝、金蔵拓郎、佐野栄紀、中島貴美子、秋山真志、小宮根真弓、黒沢美智子、稲富 徹、葉山惟大、照井 正：膿疱性乾癬(汎発型)(GPP)診療ガイドライン2013(素案). 第64回日本皮膚科学会中部支部学術大会、2013年11月2-3日.
3. 東 裕子、照井 正、金蔵拓郎：膿疱性乾癬(汎発型)(GPP)診療ガイドライン2013(素案)について. 第65回日本皮膚科学会西部支部学術大会、2013年11月9-10日
4. 葉山惟大、照井 正、小宮根真弓、池田志孝、黒沢美智子、馬渕智生、小澤 明、秋山真志、山西清文、青山裕美、岩月啓氏、佐野栄紀、武藤正彦、金蔵拓郎：膿疱性乾癬(汎発型)診療ガイドライン改

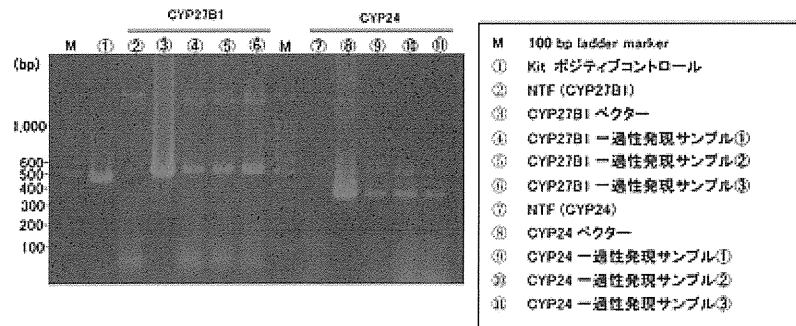


図1: マウス sccVII 細胞への遺伝子導入
 遺伝子導入2週間後の細胞を回収し、RT-PCRを実施したところ RNA レベルでの発現が確認された。

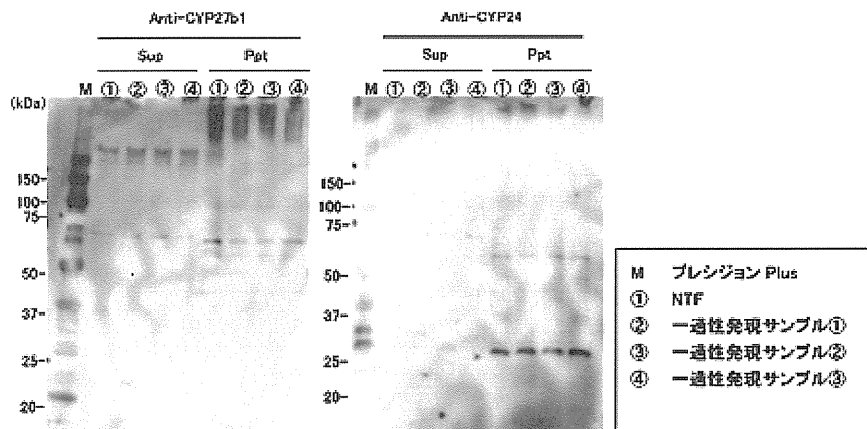


図2: マウス sccVII 細胞への遺伝子導入 (WB)
 sccVII 細胞への遺伝子導入2週間後の培養上清および細胞を回収し、CYP27B1(69kd)およびCYP24a1(65kd)の発現を確認した。タンパクレベルでの発現は確認されなかった。

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

モデルマウスを用いた乾癬皮疹形成におけるIL-23とIL-22の必要性

研究協力者 佐野栄紀 高知大学医学部皮膚科 教授

研究要旨 乾癬に症状、transcriptome、生物学的製剤の反応性が酷似しているマウスモデル（K.Stat 3 C）のIL-23, IL-22ノックアウト背景による解析により、IL-23は皮疹形成に必須であるが、IL-22は非存在下でも同様に皮疹が形成されるため、必須ではないことを明らかにした。

共同研究者
高石 樹朗
Wenjun Ouyang

A. 研究目的

乾癬はTh17細胞が関与する自己免疫疾患の一つであり、Th17関連サイトカインが重要な働きをしている。Th17を分化増殖させるIL-23は抗体の臨床効果から乾癬に必須の分子であると示唆されているが、Th17細胞の分泌するIL-22については必須か否か不明である。今回、モデルマウス（K5.Stat 3 C）背景をIL-23KO、IL-22KOにすることによってTPA誘導性皮疹形成に影響を検討した。

B. 研究方法

常法に従ってマウスを交配し、IL-23p19KO、およびIL-22KO背景のK5.Stat 3 Cマウスを得た。耳介皮膚にTPA外用による皮疹を形成した。一部の実験では抗IL-17抗体をTPA外用前に投与した。皮疹の組織評価、qRT-PCR法にてmRNAレベルを解析した。マウス初代培養表皮細胞を各種サイトカイン刺激後、mRNAを定量した。

C. 研究結果

1. TPA誘発による乾癬様皮疹の表皮肥厚は、対照に比してIL-23KOで著明に抑制されていた（図1）。このとき、Th17関連分子およびS100A 8/9遺伝子発現が有意

に抑制され、同時にamphiregulinなどのEGFR ligandsおよびIL-19, IL-20, IL-24などIL-20 family cytokineのmRNAの抑制も認められた。一方、IL-22KOでは表皮肥厚や炎症細胞浸潤は対照と同等に認められ、乾癬関連遺伝子発現も対照と同等であった。

- このIL-22KOマウスに抗IL-17抗体を投与したところ、IL-23KO同等に著明な表皮肥厚抑制が認められた。これはIL-22非存在下において、IL-17依存的にIL-22の効果を代替できる分子が発現することを示唆している。
- K5.Stat 3 Cマウス表皮角化細胞の培養系にてIL-17を加えることにより、IL-24, IL-19などIL-22同様表皮肥厚を誘導できるIL-20 subfamily cytokinesの発現を認めた。従って、IL-22非存在下でもIL-17によりこれらが代替的に働いていることを示唆した。

D. 考察

IL-23の下流で活性化するTh17細胞はIL-17およびIL-22を産生し、乾癬皮疹形成に働いていると報告されている。しかし、IL-22の役割については諸説があり、まだ十分には理解されていない。今回の我々の研究により、IL-22は乾癬病像形成に必須ではなく、IL-17存在下において産生される他のIL-20 subfamily cytokinesが機能代替しうる

ことを示唆した。また、IL-23はTh17のみならず、表皮肥厚など乾癬発症に寄与できるEGFR ligandsの産生を促すことを示唆する結果を得た。このように、IL-22の乾癬形成における役割を、IL-23、IL-17との比較において明らかに出来た。これは、抗IL-23あるいは抗IL-17抗体療法が確立されているのに対し、抗IL-22が有効でないというclinical trialの結果とも合致するものである。

E. 結論

乾癬病態におけるIL-23/Th17経路の重要性は明らかであるが、IL-22は必須の分子ではなく、それに変わる多くのサイトカインがredundantに働きうるということが明らかになった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表 (平成25年度)

論文発表

1. Takaishi M, Nakajima K, Wenjun Ouyang, Sano S. Psoriasis-like skin lesions are dependent on IL-23 but develop in the absence of IL-22 in a model mouse. *J Dermatol Sci*, 2013, in press.
2. Yokogawa M, Takaishi M, Nakajima K, Kamijima R, Fujimoto C, Kataoka S, Terada Y, Sano S. Epicutaneous application of Toll-like receptor 7 agonists leads to systemic autoimmunity in wild-type mice: A new model of SLE, Arthritis Rheum, 2013, in press.
3. Tarutani M, Shiga T, Nakajima K, Nakano H, Sawamura D, Sano S. Dys-trophic epidermolysis bullosa pruriginosa in a mother and daughter successfully treated by low dose cyclosporine. *Eur J Dermatol*, 2013, in press.
4. Nakamura T, Harumo J, Takaishi M, et al. LRIG 1 inhibits STAT3-dependent inflammation to maintain corneal homeo-stasis. *J Clin Invest*, 2013, in press.
5. Tarutani M, Nakajima K, Takaishi M, Ohko K, Sano S. Epidermal hyperplasia induced by Raf-MAPK signaling requires Stat 3 activation. *J Dermatol Sci*, 2013: 72, 110-115.
6. Hirai T, Kanda T, Sato K, Takaishi M, Nakajima K, Yamamoto M, Kamijima R, Digiovanni J, Sano S. Cathepsin K is involved in development of psoriasis-like skin lesions through TLR-dependent Th17 activation. *J Immunol*, 2013: 190, 4805-4811.
7. Nakajima H, Nakajima K, Tarutani M, Sano S. Clear association between serum levels of adipokines and T-helper 17-related cytokines in patients with psoriasis. *Clin Exp Dermatol*, 2013: 38, 66-70.
8. Nakajima K, Terao M, Takaishi M, Kataoka S, Goto-Inoue N, Setou M, Horie K, Sakamoto F, Ito M, Azukizawa H, Kitaba S, Murota H, Itami S, Katayama I, Takeda J, Sano S. Barrier abnormality due to ceramide deficiency leads to psoriasiform inflammation in a mouse model. *J Invest Dermatol*, 2013: 133, 2555-2565.

学会発表

1. Sato K, Takaishi M, Sano S. The role of TNF converting enzyme in psoriasis. *International Investigative Dermatol*, Edinburgh, Scotland.
2. Shiga T, Sato K, Tarutani M, Kataoka S, Sano S. TNF inhibitors directly target Th17 cells in psoriasis. *International Investigative Dermatol*, Edinburgh, Scotland.
3. 志賀建夫、多喜川千恵、高田智也、樽谷勝仁、佐野栄紀. アバタセプトによる乾癬様皮膚疹の1例、第29回日本臨床皮膚科医会総会、名古屋

4. 志賀建夫、佐藤健治、樽谷勝仁、片岡佐
誉、佐野栄紀. TNF阻害薬は乾癬皮疹部の
Th17細胞を直接の標的とする、第112回日
本皮膚科学会総会、横浜
5. 中島喜美子、高石樹朗、佐野栄紀、寺尾
美香、片山一朗、井上菜穂子、竹田潤二.
表皮細胞特異的セラミド合成酵素ノックア
ウトマウスはIL-23依存的 $\gamma\delta$ -178細胞増
加と乾癬様病変を呈する、第28回角化症研
究会、東京
6. 高田智也、高橋綾、佐野栄紀. PET/CT
による乾癬性関節炎の解析、第28回日本乾
癬学会、東京
7. 中島英貴、中島喜美子、森重隆次、佐野
栄紀. ペントラキシン3：乾癬のバイオ
マーカーとしての有用性、第28回日本乾癬
学会、東京
8. 高橋綾、高田智也、佐野栄紀. PET/CT
による乾癬性関節炎の解析、日本脊椎関節
炎学会第23回学術集会、名古屋
9. 高田智也、佐藤健治、佐野栄紀. 乾癬に
おけるパラドックス反応の病態機序、第65
回日本皮膚科学会西部支部学術大会、鹿児
島

H. 知的所有権の出願・登録状況（予定 を含む）

なし

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

汎発性膿疱性乾癬と局面型尋常性乾癬における表皮細胞のIL-33発現、
およびCD11c陽性樹状細胞の分布に関する検討
治療前後における血清中炎症分子の解析

研究分担者 小宮根真弓 自治医科大学皮膚科学 准教授

研究要旨 汎発性膿疱性乾癬は、組織学的にも、臨床的にも尋常性乾癬とはその所見を異にし、病態も尋常性乾癬とは異なっている可能性がある。抗TNF抗体製剤での治療中に膿疱化する症例もあり、膿疱の出現については何らかの免疫学的機序が関与している可能性がある。膿疱化の機序を探ることによって、汎発性膿疱性乾癬の発症機序、あるいは増悪機序についての知見が得られる可能性がある。膿疱性乾癬および局面型尋常性乾癬の症例から皮膚生検を施行し、表皮細胞および樹状細胞に着目して免疫組織学的に検討した。また、治療前後の患者血清中の炎症分子について、その変動と皮疹の重症度との関連について解析した。

共同研究者
唐川 大
牧 伸樹
津田 英利
大塩 智之
大槻マミ太郎

および局面型尋常性乾癬の病変部から辺縁部にかけての所見を比較検討する。

また、治療前後の患者血清中のサイトカインなどの炎症分子について、その変動と皮疹の重症度の関連について検討する。

A. 研究目的

汎発性膿疱性乾癬は、臨床的には浮腫性紅斑上に多数の膿疱が存在し、角化が強く落屑の多い尋常性乾癬とは臨床的にも異なる。病理学的には、膿疱性乾癬では尋常性乾癬のような表皮肥厚は目立たず、好中球の表皮内浸潤が著明で膿疱形成が著しい。これらの所見からも、その病態が異なっている可能性がうかがわれる。強力なステロイド外用治療や、抗TNF抗体製剤での治療中に膿疱化を見る症例もあり、膿疱の出現については何らかの免疫学的機序が関与している可能性がある。膿疱化の機序を探ることによって、汎発性膿疱性乾癬の発症機序、あるいは増悪機序についての知見が得られる可能性がある。今回、表皮細胞が発現するIL-33と、CD11c陽性樹状細胞に着目し、免疫組織学的に膿疱性乾癬

B. 研究方法

- ①膿疱性乾癬患者および局面型尋常性乾癬患者の病変部皮膚を辺縁の正常部をかけて生検し、半分はホルマリン固定、半分はOCTコンパウンドで包埋し凍結標本とした。ホルマリン固定した標本はパラフィンで包埋して薄切し、凍結標本はクリオスタットにて薄切して免疫染色に用いた。
- ②乾癬患者の血清を抗TNF抗体製剤であるアダリムマブの治療前後で採取・保存し、血清中のサイトカインおよびS100タンパクについて測定し、皮疹の重症度との関連について解析した。

C. 研究結果

- ①表皮細胞が発現するIL-33について
尋常性乾癬、関節症性乾癬、膿疱性乾癬の表皮細胞において、細胞核におけるIL-33の

発現を認めた。

表皮肥厚の程度が強いほどIL-33の発現が高く、膿疱形成の程度が強いほどIL-33発現の程度が低い傾向を認めた。

核内に存在するIL-33はNF κ Bの活性化を抑制するという報告がある。我々の検討においても、核内のIL-33はTNF α によるNF κ Bルシフェラーゼ活性の誘導を抑制した。また、IL-33の存在によって表皮細胞からのIL-8産生が抑制されるという結果が得られている。

以上のことから、膿疱性乾癬では、尋常性乾癬と比較すると表皮細胞核におけるIL-33発現の減弱により、TNF α 刺激による表皮細胞におけるIL-8の発現が亢進している可能性が示唆された。

②膿疱性乾癬と尋常性乾癬における樹状細胞の分布について

膿疱性乾癬と局面型尋常性乾癬における樹状細胞の分布を検討したところ、両者では明らかに樹状細胞の分布が異なっていた。

特に、膿疱性乾癬患者の膿疱部ではCD1a陽性・ランゲリン陽性ランゲルハンス細胞が少なく、特に膿疱直下の表皮ではCD1a陽性細胞は消失していた。一方CD11c陽性細胞は、尋常性乾癬では主に真皮上層に多数認めるのに対し、膿疱性乾癬の膿疱直下では表皮内に多数浸潤していた。

③乾癬患者血清中の炎症分子の治療前後での変動について

尋常性乾癬、関節症性乾癬、および膿疱性乾癬患者の血清を、抗TNF α 抗体製剤であるアダリムマブの投与前と経過中に少なくとも3回で採取・保存し、血清中の炎症分子(IL-22、IL-6、VEGF、sTNFR) およびS100ファミリー蛋白(S100A7、S100A12)を測定した。

今回検討した範囲では、S100A7のみが、皮疹の重症度と有意差をもって関連を認めた。

D. 考察

膿疱性乾癬は局面型尋常性乾癬と比較して、

表皮細胞の肥厚が少なく膿疱形成が著明であることは、通常のヘマトキシリン・エオジン染色から明らかであるが、今回の検討から、膿疱性乾癬の表皮内ではランゲルハンス細胞数が極端に少ないこと、膿疱直下ではCD11c陽性細胞の表皮内浸潤が著しいことが明らかとなった。さらに、肥厚した尋常性乾癬の表皮細胞核にはIL-33が発現しているが、膿疱性乾癬表皮ではほとんど発現していないことが明らかとなった。IL-33は核内に存在する場合には、転写調節に関与し、これまでの検討からNF κ Bの活性化を抑制することによって表皮細胞からのIL-8産生を抑制することがわかっている。膿疱性乾癬表皮核内でIL-33発現を認めないことは、その表皮からのIL-8産生亢進を説明し得ると考えられる。ランゲルハンス細胞の消失とCD11c陽性樹状細胞の増加については、IL-33発現との関連は不明であるが、今後、さらに検討したいと考えている。

血清中の炎症分子については、症例により各種サイトカインの変動は異なったが、今回検討した中では、S100A7の変化がPASIの変化を最もよく反映していた。今回測定したその他の分子についても、過去の報告にて乾癬の皮疹の重症度(PASI)と相関するという報告があるが、これまでの報告では治療前後を比較するのみであったのに対し、今回は、治療中のPASIの変動について、治療前を含めて少なくとも4点で観測しており、PASIの変動と血清中の炎症分子の値の関連についてより詳細に検討できたと考えられる。今回の検討においてはPASIとの相関をみとめたのはS100A7のみであった。今回測定した炎症分子のうち、S100A7は主に表皮細胞において産生されるものである。過去の文献で、 β ディフェンシンと皮疹の変動との良好な相関関係を検出した報告があり、やはり表皮細胞が主に産生する分子である点で共通している。乾癬の皮疹の重症度をよく反映する血清中マーカーとしては、S100A7を含め表皮細胞が産生する分子が候補となる可能性がある

と考えられる。

E. 結論

- ①膿疱性乾癬と尋常性乾癬での樹状細胞の局在は異なる。
- ②膿疱性乾癬表皮ではIL-33発現をみとめない。
- ③乾癬皮疹重症度の血清マーカーとしては、S100A7を含め表皮細胞が産生する炎症分子が重要である可能性がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表（平成25年度）

論文発表

1. Ohtsuki M, Terui T, Ozawa A, Morita A, Sano S, Takahashi H, Komine M, Etoh T, Igarashi A, Torii H, Asahina A, Nemoto O, Nakagawa H; Biologics Review Committee of the Japanese Dermatological Association: Chair: Hidemi Nakagawa. Japanese guidance for use of biologics for psoriasis (the 2013 version). J Dermatol. 2013 Sep; 40 (9): 683-95.
2. Meephansan J, Komine M, Tsuda H, Karakawa M, Tominaga S, Ohtsuki M. Expression of IL-33 in the epidermis: The mechanism of induction by IL-17. J Dermatol Sci. 2013 Aug; 71 (2): 107-14.
3. Nagai T, Karakawa M, Komine M, Muroi K, Ohtsuki M, Ozawa K. Development of psoriasis in a patient with chronic myelogenous leukaemia during nilotinib treatment. Eur J Haematol. 2013 Sep; 91 (3): 270-2.
4. Maki N, Komine M, Takatsuka Y, Maekawa T, Murata S, Ohtsuki M. Pustular eruption induced by sorafenib in a case of psoriasis vulgaris. J Dermatol. 2013 Apr; 40 (4): 299-300.

学会発表

1. 牧 伸樹、唐川 大、小宮根真弓、大槻 マミ太郎: Adalimumab使用中の乾癬患者における血中サイトカインと臨床像の検討。第112回日本皮膚科学会総会、2013年6月、横浜。
2. 小宮根真弓、馬淵智生、青山裕美、秋山真志、池田志学、小澤 明、金蔵拓郎、佐野栄紀、武藤正彦、山西清文、黒沢美智子、照井 正、岩月啓氏: 膿疱性乾癬（汎発型）診療ガイドライン改訂版の作成。第77回日本皮膚科学会東部支部学術大会、2013年9月、大宮。

H. 知的所有権の出願・登録状況（予定を含む）

なし

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

生物学的製剤を活用した汎発性膿疱性乾癬治療の最適化

研究分担者 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 汎発性膿疱性乾癬（GPP）の治療の選択肢の一つに生物学的製剤（インフリキシマブ）が登場して3年を経過し、その臨床効果の個人差を事前に予測できる指標の開発が喫緊の課題となっていた。数ある単一塩基置換（SNP）の中から、複数の有力なSNP候補を探し出した。即ち、TNFAIP3のSNP（rs610604）とIL-12B SNP（rs6887695とrs3212227）の多型がGPPを含む乾癬に対するインフリキシマブ投与効果に影響を与えることが示された。しかしながら、GPP発症に寄与するIL-36RNの遺伝子変異の有無はその投与効果に影響を与えなかった。

今後、症例を集積しインフリキシマブの投与効果に影響を与える遺伝子群についてさらに検討を重ね、投与効果予測の精度をあげていく必要がある。

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

山口 道也 山口大学大学院医学系研究科皮膚科学分野

（rs610604, rs2230926）、IL-12B（rs6887695, rs3212227）の3種類の遺伝子につきSNP解析を行った。次いで、疾患および薬剤感受性との相関を検討した。

A. 研究目的

わが国における汎発性膿疱性乾癬（以下GPPと略す）の治療ガイドラインに生物学的製剤（以下インフリキシマブを指す）が加えられ、オーダーメイド医療の視点から、その効果的投与法の開発が注目されるようになった。

本研究では、これまでにインフリキシマブ投与を受けたGPPを含む乾癬患者群について、ゲノム解析の手法を駆使して有用な事前効果予測指標の探索を行うことを目的とする。

B. 研究方法

1) 対象：同意の得られたGPP患者11名と尋常性乾癬患者220名および関節症性乾癬患者4名を乾癬群とし、陰性対象には健常者161名を用いた。

2) SNP解析と相関解析：IL-36RN（c.28C > T, c.115+ 6 T > C）、TNFAIP 3

C. 研究結果

1) IL-36RN変異とGPPとの相関

GPP患者11名のうち、4名（36.4%）にc.28C > T変異が認められ（ $p < 1 \times 10^{-5}$ ）、このうちの2名はc.115+6 T > C変異を併発していた。他方健常者群では、c.28C > Tおよびc.115+6 T > Cのいずれの変異も認められなかった。また、疾患対対照としての尋常性乾癬患者群でも220名中わずか1名（0.5%）にc.28C > T変異を認めた。

以上の結果から、IL-36RNのc.28C > Tのナンセンス変異はGPPにかなり特異性の高い遺伝子変異であることが示唆される。

2) TNFAIP 3と乾癬との相関

TNF- α 産生を制御する因子の一つであるTNFAIP 3のSNP（rs610604）と乾癬との相関を調べた（表1）。T/Gヘテロ接合体の頻度に関して、尋常性乾癬患者群では220名中36名（16.4%）に認められたのに対して、健常者群では161名中20名（12.4%）と頻度が低