

201442036A

厚生労働科学研究委託事業
(難治性疾患等克服研究事業 (難治性疾患等実用化
研究事業 (難治性疾患実用化研究事業)))

色素性乾皮症のiPS細胞を用いた病態解明と
治療法の開発

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 錦織 千佳子

平成27 (2015) 年3月

厚生労働科学研究委託事業
(難治性疾患等克服研究事業 (難治性疾患等実用化
研究事業 (難治性疾患実用化研究事業)))

色素性乾皮症のiPS細胞を用いた病態解明と
治療法の開発

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 錦織 千佳子

平成27 (2015) 年3月

本報告書は、厚生労働省の厚生労働科学研究委託事業（難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患等実用化研究事業（難治性疾患実用化研究事業）））による委託業務として、国立大学法人神戸大学が実施した平成26年度「色素性乾皮症のiPS細胞を用いた病態解明と治療法の開発」の成果を取りまとめたものです。

目次

I. 委託業務成果報告（総括）

色素性乾皮症のiPS細胞を用いた病態解明と治療法の開発

錦織 千佳子	1
--------	---

II. 委託業務成果報告（業務項目）

①遺伝子解析と機能の解析と症状相関との関連性を統合する研究推進

1. フローサイトメトリーを用いたDNA修復能検査の確立	
中野 英司	7
2. 確定診断と患者情報管理を目的とした色素性乾皮症診断センターの構築と維持	
森脇 真一	11
3. 遺伝子解析と機能解析と症状相関に関する研究	
荻 朋男	15
4. 分子シミュレーション解析	
高岡 裕	19
5. 生化学的検討による色素性乾皮症の新規治療標的の探索	
菅澤 薫	21

②患者iPS細胞の樹立と症状が発現する細胞への分化誘導の開発

6. 色素性乾皮症患者iPS細胞の樹立と症状が発現する細胞への分化誘導の開発に関する研究	
青井 貴之	23

③治療開発に関わる研究開発

7. 疾患モデルでのXPA遺伝子導入による治療法に関する研究	
国定 充	25
8. 既知薬の神経細胞への有効性の評価に関する研究	
林 雅晴	29

9. 治療開発に関わる研究開発に関する研究	
竹内 聖二	31
Ⅲ. 学会等発表実績	35
Ⅳ. 班会議報告書	41

色素性乾皮症の iPS 細胞を用いた病態解明と治療法の開発 研究班

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
研究代表者	錦織 千佳子	神戸大学大学院医学研究科内科系講座皮膚科学分野	教授
研究分担者	森脇 真一	大阪医科大学医学部皮膚科学	教授
	林 雅晴	公益財団法人東京都医学総合研究所脳発達・神経再生研究分野	分野長／ 参事研究員
	青井 貴之	神戸大学大学院医学研究科内科系講座 iPS 細胞応用医学分野	特命教授
	菅澤 薫	神戸大学自然科学系先端融合研究環バイオシグナル研究センター ゲノム機能制御研究分野	教授
	萩 朋男	長崎大学原爆後障害医療研究所	准教授
	竹内 聖二	神戸大学大学院医学研究科内科系講座皮膚科学分野	医学研究員
	高岡 裕	神戸大学医学部附属病院医療情報部	准教授
	国定 充	神戸大学大学院医学研究科内科系講座皮膚科学分野	助教
	中野 英司	神戸大学医学部附属病院皮膚科	特定助教

I . 委託業務成果報告（総括）

色素性乾皮症のiPS細胞を用いた病態解明と治療法の開発

業務主任者 錦織 千佳子 神戸大学大学院医学研究科内科系講座皮膚科学分野教授

研究要旨

XP患者の治療や症状の軽減をめざし、病態解明により欠損する因子の補充、原因遺伝子産物の回復・導入の治療開発研究を実施した。XPの病態解明と治療法の開発の検証にXP-iPS細胞から標的臓器細胞へ分化させた疾患モデルの作成を進めた。(i) DNA損傷のFACSを用いた半定量によるDNA修復能のアッセイ法を開発し、20例のXPの遺伝子診断を行なった。(ii)4系統のXPiPS細胞を樹立し神経細胞への分化細胞を得た。今後神経細胞や皮膚の細胞を用いた発現解析と比較する。(iii)疾患モデルマウスに*in vivo*でXPA 遺伝子含有ベクターをHVJ envelopeを用いて経皮的に導入したところ、紫外線DNA損傷量が減少し、組織学的な皮膚障害の改善がみられた。今後投与のタイミング、投与経路、長期照射による効果を確認する。(iv) XP-A細胞におけるread through効果を検討した。ゲンタマイシン500 mg/mlを3日処理にてXPAタンパクの回復と軽度の生存率の改善がみられたが、常用量の50倍であり、安全性の評価とより少ない濃度での有効性の確認が必要である。

A. 研究目的

色素性乾皮症(Xeroderma Pigmentosum; XP)は光線過敏と原因不明の進行性の神経症状をきたす遺伝疾患であるが、その約60%に合併する神経症状に関しては治療法がない。最終的にはその治法開発を実現させる事をめざすが、それ以前に、何故XPにおいて神経症状が生じるのかといった基本的な病態解明が出来ていないので、本研究では、先ず病態解析を進めつつ治療に結びつく可能性のある研究を多角的に進め、その中で実現性の高い治療法を絞り込むことを目的としている。日本におけるXPは重症のA群が約半数を占め、欧米とは傾向が異なるため日本独自に診断・病態解明・治療開発を一体化して進める必要がある。また、XPは遺伝子型-表現型相関があり、遺伝子変異の解析とタンパクの一次構造ならびに生化学的な性質と症状とを関連させて研究を進める事が重要である。これらの状況を考え、本年度は遺伝子診断の精度と確度をあげ、それらの遺伝子型症状相関を明らかにして病態解析に必要な情報源とする事を目指した。さらに、(1)病態解明を進める事により、XPで欠損する機能を補う薬物の探索(2)原因遺伝子産物の機能を回復させる治療の開発として、遺伝子を直接導入する方法と、欠損する遺伝子発現をread throughなどの遺伝子工学的な方法で回復させる方法を検証する

ことにより、XP治療の開発研究のための基盤となる研究を行なうことをめざした。

B. 研究方法

患者試料の集積：神戸大学医学部附属病院皮膚科ならびに大阪医科大学皮膚科に現有するXP疑い患者の初代培養線維芽細胞を樹立し、紫外線感受性試験、相補性試験などのDNA修復試験、XPタンパクのウェスタン解析、XP遺伝子のゲノム解析、発現解析を行った。

遺伝子解析：臨床情報が明確な症例について、遺伝子診断による確定診断を行なった。診断不能例については、次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析を進めた。荻の所属する原研が現有する次世代シーケンサー群—イルミナHiSeq2500(計2台)、ABI SOLID5500—1台(吉浦G)、ABI イオンプロトン1台(吉浦G)、イルミナMiseq1台と、ゲノム解析サーバー群(計500コア/4TBメモリ/2PBディスクスペース)にて解析した。上記装置で解析が困難な例は、荻が連携する遺伝子解析基盤拠点参画グループ助力も仰いだ。

診断を簡便化する手法の開発—FACSを用いたDNA修復アッセイ系の確立：神戸大学医学部附属病院皮膚科において診断されたXP患者細胞および独立行政法人医薬基盤研究所JCRB細胞バン

クより分譲された細胞 (XP-A群3人、C群1人、D群2人、F群1人、バリエーション型1人およびコケイン症候群 (CS) のA群とB群を1人ずつと健常コントロール2人) を用いて、紫外線照射後のCPDもしくは6-4PPの量をそのモノクローナル抗体を用いて測定し、蛍光強度で判定量した。

分子シミュレーション解析：明らかになったXP遺伝子の突然変異の情報を高岡に提供し、突然変異の*in silico*解析を行なうために本予算で整備する解析用高速計算機で、分子動力学計算のソフトNAMD (無料) と統合計算科学システムMolecular Operating Environmentを利用し立ち上げた。

iPS細胞の樹立と神経細胞と皮膚の細胞への分化誘導：神戸大学医学部付属病院皮膚科で遺伝子診断により確定診断をうけたXP患者細胞からiPS細胞を樹立するための、医学倫理委員会の申請を行なった。また、患者体細胞培養からiPS細胞樹立とその特性解析にいたる一連の技術プラットフォームを確立した。一方で、医薬基盤研から遺伝子変異が既知のXP患者線維芽細胞を購入しiPS細胞を樹立した。XPiPS細胞からの神経および皮膚細胞への分化誘導を行い、それぞれの細胞種のマーカー遺伝子発現等で分化細胞の特性評価を行った。

生化学検討による色素性乾皮症の新規治療標的の探索：XP責任遺伝子産物を含むタンパク質複合体の単離・精製は、HA-FLAG二重タグを用いたタンデム・アフィニティークロマトグラフィーによって行った。ヒトXPAおよびDDB2 (XPE) 遺伝子をFLAGタグ、PreScissionプロテアーゼ認識配列、HAタグと順次融合したものを、レトロウイルス・ベクターによりHeLa細胞で発現させた。細胞抽出液を抗HA抗体カラムに通し、PreScissionプロテアーゼによってHAタグを切り離すことで溶出した画分を、さらに抗FLAG抗体カラムに通した。FLAGペプチドで溶出された画分に含まれるタンパク質を質量分析により同定した。一方、HA-FLAG二重タグを融合したヒトXPA遺伝子を発現するトランスジェニックマウスの作製は、pCAG1.1ベクターを用いて行った。

XPAモデルマウスを用いて病体解明の検討：XP-Aマウスを用い紫外線による皮膚の炎症反応における解析と、紫外線照射後の遺伝子の発現の変化を網羅的に捉え、XP-Aマウスで野生型と比較して有意に上昇 (下降) する遺伝子を同定し、その遺伝子産物の中和抗体あるいは遺伝子組み換え体などを投与し、紫外線炎症の制御が可能かを検討した。

XPA遺伝子の導入：XPA-cDNAを含有するベクターをpcHA-XPA、pCAGGS-XPAの二種類準備し、HVJ-envelopeに封入したのち、ハイドロゲルに混

和して疾患モデルマウスに塗布することにより、*in vivo*でXPA遺伝子を経皮的に導入する。

XP-A細胞でのread throughによるタンパク発現の回復：XPA患者細胞 (XP12RO) にゲンタマイシンを添加し (5, 500mg/dl) 1日後と3日後にXPAタンパクの回復をウェスタンブロット法にて評価した。

既存薬による治療開発：XPにおける酸化ストレスとメラトニンの研究：先行研究により示唆されたXP-Aで酸化ストレスとメラトニン代謝との関連を明らかにするため、健常対照の6歳未満2例、6-15歳3例、15歳超2例と、XP-A患者の8-15歳3例、15歳超5例において、1日4回 (0:00, 6:00, 12:00, 18:00) 採取した尿検体で、酸化ストレスマーカー (DNA:8-OHdG、脂質:hexanoyl lysine, HEL) とメラトニン代謝物をELISAキットで定量し、クレアチニン (Cr) 比を求めた。

(倫理面への配慮)

研究推進にあたっては人権保護・擁護、個人情報保護、動物愛護について十分留意し、個人情報保護法、ヘルシンキ宣言、ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針 (平成25年文部科学省、厚生労働省、経済産業省告示第1号)、世界医師会の各種宣言などに基づいて研究を推進している。

C. 研究結果

色素性乾皮の遺伝子診断の確立と試料の収集

今年度は研究代表者施設と研究分担者施設両者合わせて計43例解析した。そのうちXP疑い患者数は28例であった。精査により、XP-A:8例、XP-C:2例、XP-D:3例、XP-F:1例、XP-G:1例、XP-V:5例の20例の確定診断を行なった。XPではなかった例は15例である。

遺伝子診断に進める前に色素性乾皮症の診断に必須であるヌクレオチド除去修復能の評価方法として用いられてきた紫外線照射後の不定期DNA合成能 (UDS) に変わる方法としてフローサイトメトリーを用いたDNA修復能検査を用い、従来行われてきたUDSとの比較を行い、その有用性を検討した。

横軸にそれぞれの細胞におけるUDS、縦軸にフローサイトメトリーを用いて評価した6-4PPの除去率をプロットしたところ、相関係数が0.98と大変勝れた方法である事がわかり、本年度の後半はこの方法も実際に診断に用いた。

XPを強く疑うも遺伝子診断で確定できなかった8症例について分担研究者の所属する長崎大学に細胞を送付し、UDS/RRSの低下が確認され、NERの欠損が認められた細胞について、長崎大学ならびにその連携施設である遺伝子解析拠点とにおいて次世代シーケンサーを用いて全ゲ

ノムシーケンスを行ない、XPF 群の病的変異の同定等を行なった。

分子シミュレーションに関しては、分子動力学計算のソフト NAMD による構造最適化解析ができるようにプログラムを整備した。また解析の更なる高速化に向けて、神戸大学の π コンピュータ (スパコン「京」の兄弟機) で解析可能な分子動力学計算ソフトの Gromacs (無料) を、解析用高速計算機で使用可能にした。NAMD と Gromacs でそれぞれ解析した変異体タンパク質の構造をみたところ、両者に大きな差異は無かった。

XP- iPS 細胞の樹立と皮膚の細胞と神経細胞への分化誘導 : 患者由来 iPS 細胞を、様々な方法で樹立する技術基盤の構築を完了した。XP 患者由来 iPS 細胞を作製するために必要な、学内倫理委員会等の手続きを行った。また、医薬基盤研究所 JCRB 生物資源バンクより、XP 患者由来細胞を入手し、XP-iPS 細胞を樹立し、複数の XP 症例と健常対象者から、それぞれ複数株の iPS 細胞の樹立に成功した。樹立された iPS 細胞の特性解析の結果、分化誘導および分化細胞を用いた病態解析・治療開発研究に供するものとして適格な品質を有していることが確認された。

iPS 細胞から皮膚および神経細胞への分化誘導を行い、得られた細胞の特性評価を行った。既報の方法を参考に最適な分化誘導条件を検討した結果、皮膚と神経それぞれの分化マーカーを発現する細胞を高効率に再現性を持って得ることに成功した。

XP 細胞における生化学的検討 : HeLa 細胞および XP-A 群患者由来線維芽細胞株 (XP2OSSV) を親株として、HA-FLAG 二重タグを N 末端に融合したヒト XPA タンパク質を安定発現する形質転換細胞株を作製した。これまでに FLAG タグのみを用いた小スケールの複合体精製を試み、既知相互作用因子である一本鎖 DNA 結合タンパク質 RPA のほか、ヒストンを含むさまざまな因子を検出している。さらに、XP-A 群患者が示す精神神経症状を考慮して、神経組織における XPA 相互作用因子の探索を行う目的で、HA-FLAG 二重タグを融合したヒト XPA 遺伝子を発現するトランスジェニックマウスを作製した。

疾患モデルマウスに *in vivo* で XPA 遺伝子 : の導入を HVJ envelope を用いて経皮的に導入 (特許第 4906202 号) したところ、紫外線 DNA 損傷量が減少し、組織学的な皮膚障害の改善がみられた (図 1、図 2)。

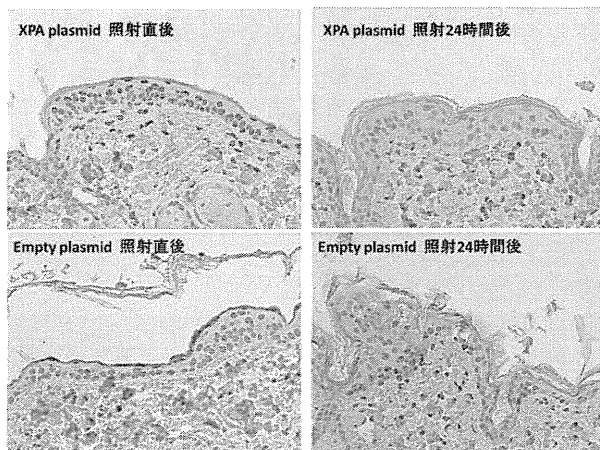


図 1. 疾患モデルでの XPA 遺伝子導入による治療法の開発

XPA -HVJ envelope は XPA モデルマウスにおける sunburn cell の形成を抑制した。

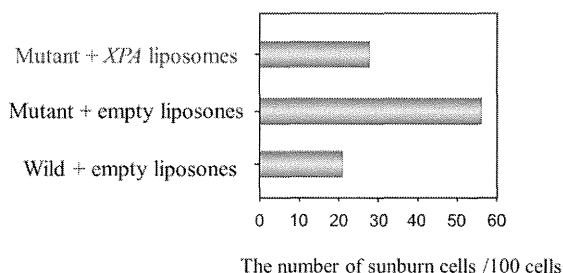


図 2. 疾患モデルでの XPA 遺伝子導入による治療法の開発

ゲンタマイシンによる read through による XPA タンパクの発現の回復 : ナンセンス変異を持つ XP12RO にゲンタマイシン 500 μ g/ml を 3 日処理にて XPA タンパクの回復と軽度の生存率の改善がみられたが、常用量の 50 倍であり実用化にはいくつかの問題が残される。

XP 患者における酸化ストレスの関与とメラトニンの有効性 : 尿 8-OHdG では、6 歳未満対照で 0 時をピークとする日内変動がみられ、発達に伴いリズムは消失し Cr 比も低下した。尿 HEL では、15 歳以下対照で 18 時をピークとする日内変動がみられ、発達に伴いリズムは消失し Cr 比も低下した。XP-A では 15 歳超患者で対照とは逆に Cr 比上昇と 18 時をピークとする日内変動の明瞭化がみられた。

D. 考察

本年度、本研究の予算がついたことで、長年、遺伝子診断がされないまま頓挫していた、診断未確定の XP 患者の遺伝子診断が飛躍的に進んだ。また、神戸大学において、4 系統の XP-iP 細胞の樹立が完了し、皮膚の細胞と神経細胞への分化誘導も確認できた。XP の診療と研究に携わって来

た研究者が一同に介して XP の臨床症状と細胞生物学的、生化学的、遺伝学的観点から病態について多角的に討議することにより、議論を深めることができた。次年度は本年度の本研究の成果としてあきらかとなった生化学的研究や細胞生物学的研究成果を XP-iPS 細胞から分化誘導させて標的臓器細胞において、検証し、さらに XP の病態解析を進める予定である。

既存薬を用いた治療については、ゲンタマイシン以外の read through 薬の候補の探索を行なう。また、日本の XPA 患者の大多数を占める、intron3 にスプライシング受容部に異常をもつ患者細胞で修復能を回復させるような、手法を開発する必要がある、また、iPS 細胞から誘導する神経細胞における XP 患者に投与しているメラトニンの効果を抗酸化作用、Mitophagy 等を指標に神経損傷の改善を見る。

E. 結論

XP の遺伝子診断の系が確立できた。XP-iPS 細胞を樹立し、重要な標的臓器細胞への分化誘導に成功した。今後既存薬を用いた治療などについて、分化誘導した細胞を用いた病態解析の評価も行ない、次年度からの病態解明と治療薬の開発に道を開く事ができた。

F. 健康危険情報

特記すべきこと無し

G. 研究発表

1. 論文発表
 1. Nishigori C : Photocarcinogenesis and inflammation. *Cancer and Inflammation Mechanisms: Chemical, Biological, and Clinical Aspects*. Edited by Hiraku Y, Kawanishi S, Ohshima H, John Wiley & Sons, Inc, pp271-283, 2014
 2. Nakano E, Ono R, Masaki T, Takeuchi S, Takaoka Y, Maeda E, Nishigori C : Differences in clinical phenotype among patients with XP complementation group D: 3D structure and ATP-docking of XPD *in silico*. *J Invest Dermatol* 134(6) : 1775-1778, 2014
 3. Toga T, Kuraoka I, Watanabe S, Nakano E, Takeuchi S, Nishigori C, Sugasawa K, Iwai S : Fluorescence detection of cellular nucleotide excision repair of damaged DNA. *Sci Rep* 4(4) : 5578, 2014
 4. Yogiarti F, Kunisada M, Nakano E, Ono R, Sakumi K, Oka S, Nakabeppu Y, Nishigori C : Inhibitory effects of dietary *Spirulina platensis* on UVB-induced skin inflammatory responses and carcinogenesis. *J Invest Dermatol* 134(10): 2610-2619, 2014
5. Makino-Okamura C, Niki Y, Takeuchi S, Nishigori C, Declercq L, Yarosh DB, Saito N : Heparin inhibits melanosome uptake and inflammatory response coupled with phagocytosis through blocking PI3k/Akt and MEK/ERK signaling pathways in human epidermal keratinocytes. *Pigment Cell Melanoma Res* 27(6): 1063-1074, 2014
6. 錦織千佳子 : 色素性乾皮症 (XP) バリエント型. *皮膚病診療* 36(11): 998-1006, 2014
2. 学会発表
 1. 錦織千佳子 : 光線過敏症の最近の動向. 第 113 回日本皮膚科学会総会・学術大会. 2014.5-6
 2. 錦織千佳子他 : 小児色素性乾皮症 C 群の 1 例. 第 38 回日本小児皮膚科学会学術大会. 2014.5-6
 3. 正木太朗、中野 英司、錦織千佳子、鈴木民夫 : 特異な臨床症状を示した小児色素性乾皮症 C 群(XP-C)の 1 例. 第 36 回日本光医学・光生物学会. 2014.7
 4. 榎達也、倉岡功、渡邊駿、中野英司、竹内聖二、錦織千佳子、菅澤薫、岩井成憲 : 細胞の紫外線損傷 DNA 修復能の蛍光検出. 第 36 回日本光医学・光生物学会. 2014.7
 5. Nishigori C : UV and Melanoma: Insights from Clinical View Points. XXII International Pigment Cell Conference. 2014.9
 6. Nishigori C : Photocarcinogenesis is a complex process caused by DNA damage, inflammation and immunosuppression. 16th International Congress on Photobiology. 2014.9
 7. Nakano E, Ono R, Masaki T, Takeuchi S, Takaoka Y, Sugasawa K, Nishigori C : Genotype -Phenotype Correlation Among Xeroderma Pigmentosum Complementation Group D. The 3rd Eastern Asia Dermatology. 2014.9
 8. 正木太朗、竹内聖二、松田外志朗、錦織千佳子 : ナローバンド、ブロードバンド UVB 照射後のケラチノサイトとメラノサイトにおけるマイクロアレイ解析. 第 73 回日本癌学会学術総会. 2014.9
 9. 竹内聖二、正木太朗、松田外志朗、錦織千佳子 : 角化細胞と色素細胞における、UVB 照射時のマイクロアレイを用いた遺伝子変動解析. 第 73 回日本癌学会学術総会. 2014.9
 10. 竹内聖二、松田外志朗、小野竜輔、錦織千佳子 : A 群色素性乾皮症患者細胞における低線量紫外線照射時の網羅的遺伝子発現解析. 第

57 回日本放射線影響学会. 2014.10

11. 松田外志朗、竹内聖二、小野竜輔、錦織千佳子：低線量紫外線照射が遺伝子発現プロファイルに与える影響. 第 57 回日本放射線影響学会. 2014.10
12. 錦織千佳子：光線過敏症 最近の話題. 第 368 回日本皮膚科学会山形地方会. 2014.12
13. Nakano E, Takeuchi S, Ono R, Masaki T, Nishigori C : NER assay based on flow cytometry of pyrimidine dimerimmunocytochemistry: comparison with unscheduled DNA synthesis using autoradiography. 日本研究皮膚科学会 第 39 回年次学術大会・総会. 2014.12
14. Masaki T, Takeuchi S, Matsuda T, Nishigori C : Microarray analysis in the keratinocyte and melanocyte exposed to Narrow-band UVB and Broad-band UVB. 日本研究皮膚科学会 第 39 回年次学術大会・総会. 2014.12
15. 錦織千佳子、正木太朗、中野英司、竹内聖二、山下大介、荻田典生、酒井良忠：診療科横断的な色素性乾皮症の診療経験. 第 438 回日本皮膚科学会京滋地方会. 2014.12

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
無し

II. 委託業務成果報告（業務項目）

フローサイトメトリーを用いたDNA修復能検査の確立

担当責任者 中野 英司 神戸大学医学部附属病院皮膚科 特定助教

研究要旨

色素性乾皮症の診断においては、その病態であるDNA修復能の評価が重要であり、従来紫外線照射後の不定期DNA合成能 (UDS) を用いて評価されてきた。UDSは広く使用されておりその有用性も確立しているが、RIの使用や時間がかかるなどのデメリットもあり、より簡便な方法が必要となっている。今回、我々はフローサイトメトリーを用いたDNA修復能検査を用い、従来行われてきたUDSとの比較を行い、その有用性を検討した。同方法はUDSの代替となりうること、またXPバリエーションの診断への有用性を確認した。

A. 研究目的

色素性乾皮症 (Xeroderma Pigmentosum : XP) は 8 つの相補性群に分類され、DNA 修復機構の一つであるヌクレオチド除去修復 (Nucleotide excision repair : NER) の異常である A~G 群、および損傷乗り越え修復の異常であるバリエーション型よりなる¹⁾。診断においては DNA 修復能の評価が重要であり、従来は紫外線照射後の不定期 DNA 合成能 (Unscheduled DNA synthesis : UDS) が用いられてきた。UDS は歴史的に確立した方法であり、その有用性も高いが、従来の方法では RI を使用する、手技に熟練を要する、結果が分かるまでに 3 週間程度の時間がかかるといった欠点もあった。我々は診断の迅速化および、より簡便な DNA 修復能評価方法として、フローサイトメトリーを用いた方法²⁾に着目した。これは細胞に紫外線を照射し、紫外線による DNA 損傷のマーカであるシクロブタン型ピリミジンダイマー (CPD) や 6-4 光産物 (6-4PP) を染色し、その蛍光強度を測定することによって NER を評価する方法である。その有用性は報告されているが、従来の UDS との比較はされておらず、診断に応用できるか否かは不明であった。また、DNA 染色とフローサイトメトリーを用いることによって、細胞周期毎の NER を評価できるという利点がある。バリエーション型においては NER の障害ではないため、通常 UDS は低下せず、従来の UDS のみでは診断は困難であった。しかし、細胞周期ごとの NER を評価した場合、S 期特異的に NER が低下していることが示されている³⁾。

今回、我々は XP の診断の迅速化、および病態の解明、また今後 iPS を用いた実験における NER

評価方法として、フローサイトメトリーを用いた方法の確立を目指した。

B. 研究方法

神戸大学医学部附属病院に通院し、皮膚科において診断された XP 患者細胞および、独立行政法人医薬基盤研究所 JCRB 細胞バンクより分譲された細胞を用いた。

XP-A 群 3 人、C 群 1 人、D 群 2 人、F 群 1 人、バリエーション型 1 人および NER 欠損症であるコケイン症候群 (CS) の A 群と B 群を 1 人ずつと健康コントロール 2 人について検討した。A 群は日本で最も多い重症型 2 人と軽症型 1 人を用いた。

UDS は従来の方法で行った⁴⁾。35mm カバースリップに細胞を播き、翌日に UVC30J/m² を照射しトリチウムチミジンを含んだ培養液で 3 時間培養する。その後、Carnoy 固定液で固定後、トリクロ酢酸で洗浄し、オートラジオグラフィで核内に取り込まれたトリチウムチミジンを検出する。ギムザ染色を行い、核内のグレインの数を 100 個の核につき計測し、正常コントロールとの比で UDS を算定した。一部の細胞については過去の報告を参照した。

フローサイトメトリーを用いた NER の評価としては、細胞を 10cm ディッシュに播き、翌日に UVC30J/m² を照射し、任意の時間細胞を培養し、回収する。エタノール固定した後、HCl、RNase 処理し、抗 CPD もしくは抗 6-4PP 抗体を加え、二次抗体、PI を加え、フローサイトメトリーを用いて蛍光強度を測定した。蛍光強度の平均値を用いて、照射直後より、どの程度蛍光強度が低下しているかを評価した。

(倫理面への配慮)

色素性乾皮症の遺伝子診断については現在保険収載となっているが、保険収載前の患者および、現在においても事務の指示によりその目的、方法、使用用途などについては「光線過敏症状を示す遺伝性疾患の早期診断と予後の推定」という研究課題で、神戸大学医学部倫理委員会に承認されている(第160号)。また、患者には診断以外にも医学研究に使用することについて文書でのインフォームドコンセントを受けており、神戸大学医学倫理委員会の規約を遵守し、学内の現有設備を用いて研究を実施する。患者の個人情報が機関外に漏洩せぬよう試料や解析データは神戸大学情報セキュリティポリシーに則り厳重に管理する。また、成果のとりまとめを行い、内外の学会や学術雑誌に積極的に研究成果の発表を行うが、発表に際しては個人情報が漏洩することのないように、また患者やその家族に不利益のないように十分配慮する。本研究に含まれる遺伝子組み換え実験については、神戸大学学内の遺伝子組み換え実験安全委員会にて承認済みである。

C. 研究結果

UDSは表1のごとく、健常コントロールおよびCS、XPバリエーション型ではほぼ100%であった。XPでは重症のA群で2%以下、軽症A群、C群では10%前後、D群、F群は30~40%程度であった。

フローサイトメトリーを用いた方法では、CPDはUV照射24時間後、6-4PPはUV照射6時間後で評価を行った。健常コントロールではCPDは40%程度除去された。XPでは重症型のA群ではほぼ除去されず、軽症型A群では10%程度、C、D、F群、バリエーション型では20%前後であった。CSでは健常コントロールと同程度の40%程度で

表1 UDS結果

相補性群	UDS (%)
Normal	100
Normal	93.55
XP-A	1.86
XP-A	0.88
XP-A (mild)	13
XP-C	10-16
XP-D	27.3
XP-D	30.4
XP-F	38.4
XP-V	93.9
CS-A	80-100
CS-B	100

あった。6-4PPでは、6時間後には健常コントロールにおいてはほぼ全て除去されていた。XPでは重症のA群ではやはりほぼ除去されておらず、軽症のA群、C群では10~20%程度、D群、F群では40%前後、バリエーション型およびCSでは90~100%除去されていた。

横軸にそれぞれの細胞におけるUDS、縦軸にフローサイトメトリーを用いて評価したCPD(図1)と6-4PP(図2)の除去率をプロットした。いずれもUDSとの相関を認めたが、特に6-4PPではUDSとの相関は非常に強く見られた。

図1 UDSとCPD除去率との相関

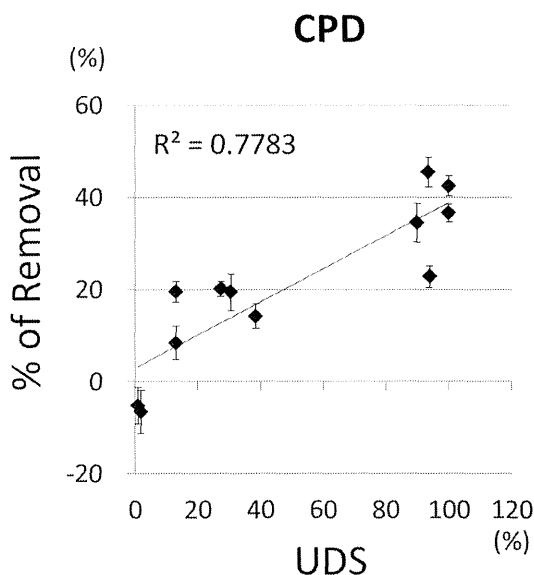


図2 UDSと6-4PP除去率との相関

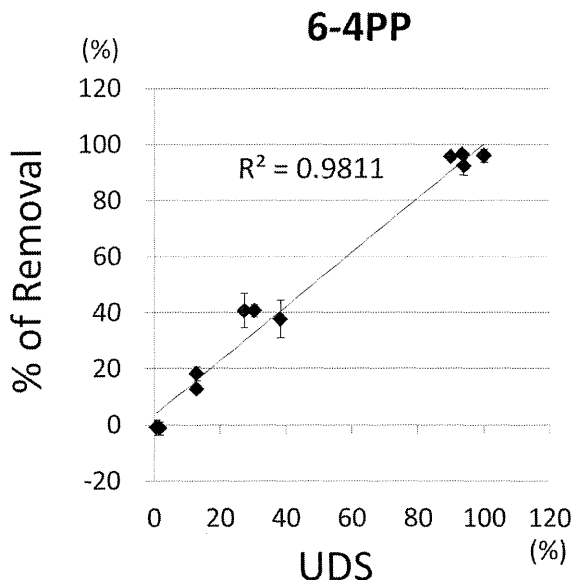
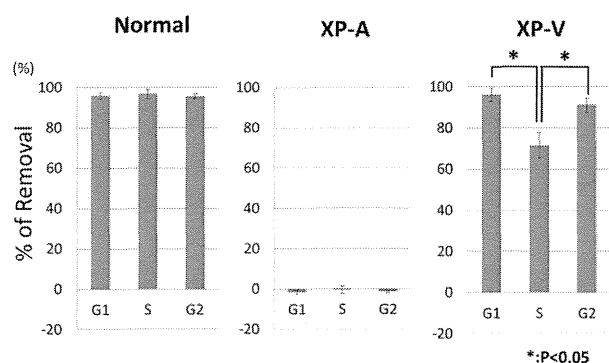


図3 細胞周期ごとの6-4PP除去率



また、PIでDNA染色を行うことにより細胞周期ごとのNERも評価することが可能である。正常細胞では細胞周期ごとの差は見られず、6時間後にはほぼすべての6-4PPは除去される。XPA群でも細胞周期ごとの差は無く、いずれの周期においても6-4PPは除去されない。一方、XPバリエーション型ではG1期、G2期では6時間でほぼすべての6-4PPが除去されるのに対し、S期においてのみ6-4PPの除去が有意に遷延していた(図3)。

D. 考察

色素性乾皮症の診断において、NERを評価することが非常に重要となる。また、今後、新規薬剤の登場などにより治療効果を検証する上でも簡便なNERの評価方法は必要であると考えられる。従来NERの評価方法としてはUDSが使用されてきた。RIを用いたこの方法はこれまで広く用いられてきており、その有用性も実証されているが、近年RIの使用を避ける方法としてBrdUやEdUを代替として用いた方法が報告されている。しかし、BrdUは従来の方法に比べ感度が劣るとされる。EdUは今後、さらなる検証とその方法の確立が期待される⁵⁾。

今回、我々はより簡便な方法としてフローサイトメトリーを用いた方法を使用した。この方法では、従来の方法やBrdUやEdUを使用した方法と異なり、抗体を用いた免疫染色で行うため、これまで確立している方法をそのまま応用することができる。また、DNA染色を行うことで細胞周期ごとのNERを評価できるという利点もある。これまで細胞周期ごとのNERの評価はなされておらず、今後XPの病態解明や新規治療につながる可能性がある。また、XPバリエーション型はUDSの低下がほとんどない症例が多く、その診断には他の検査を組み合わせる必要があった。しかし、フローサイトメトリーを用いた方法ではS期のみNERが低下していることが報告されており、今回、我々は他の相補性群でも検討したが、このS期のNERの低下がバリエーション型のみで見られることを確認した。つまり、バリエーション型の診断に

において、今後症例を増やして検討する必要があるが、S期のNERを評価することで簡便化できる可能性がある。

E. 結論

従来のUDSとフローサイトメトリーを用いたNER評価方法を比較検討した。フローサイトメトリーによるNER検査方法はUDSと相関を認め、特に6時間後の6-4PP除去率は強い相関を示しており、UDSの代替手段となりうる。また、XPバリエーション型の診断において簡便な方法となる可能性がある。

参考文献

- 1) 錦織千佳子：最新皮膚科学体系 16 動物性皮膚症—環境因子による皮膚障害(玉置邦彦編)，中山書店，2003，304-309
- 2) Rouget R, et al. J Biol Chem. 2008; 283: 5533-5541
- 3) Auclair Y, et al. DNA repair (Amst). 2010; 9: 754-764
- 4) Nishigori C, et al. Arch Dermatol. 1994; 130:191-197
- 5) Nakazawa Y, et al. DNA repair (Amst). 2010; 9: 506-516

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Difference in Clinical Phenotype among Patients with XP Complementation Group D: 3D Structure and ATP-Docking of XPD In Silico. J Invest Dermatol. 2014; 134(6):1775-1778

光老化のモデルとしての色素性乾皮症 医学のあゆみ 2014; 248(8): 577-581

2. 学会発表

Genotype -Phenotype correlation among Xeroderma Pigmentosum Complementation Group D. 3rd Eastern Asia Dermatology Congress

NER assay based on flow cytometry of pyrimidine dimer immunocytochemistry: comparison with unscheduled DNA synthesis using autoradiography. 日本研究皮膚科学会第39回年次学術大会・総会

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

いずれもなし。

確定診断と患者情報管理を目的とした色素性乾皮症診断センターの構築と維持

担当責任者 森脇 真一 大阪医科大学皮膚科教授

研究要旨

色素性乾皮症 (XP) は紫外線性DNA損傷の先天的な修復欠損により発症する重篤な遺伝性光線過敏症である。XP患者では露光部皮膚の悪性腫瘍発症リスクは健常人の数千倍であり、また過半数の症例に原因不明、進行性の神経変性を合併する。XPは遺伝的にA~G群、バリエーション型 (V) の8つに分類され、本邦では生命予後が不良であるXPA群、QOLが著明に低下するXPVが多くみられる。XPは各群で重症度や臨床的特徴は異なり、また同じ群でも遺伝型により臨床像が異なるが、多彩なXP症状の病態は未だ不明で、有効な治療法もない。

分担研究者はこれまで16年以上XPの分子細胞診断を行っており、これまで全国から紹介された約300検体を解析し、新規に131例のXP患者を確定した。本年度も分担研究者の施設でXP診断センターを維持し、全国より26例の検体を受け、診療情報の蓄積とXP確定診断のための解析を行った。その中で9例はXP、8例は異常なし、9例は現在精査中である。

分担研究者は本邦XP症例の約半数、様々なXP群、多様な臨床所見を示すXP患者由来検体 (皮膚由来初代培養線維芽細胞株) を保有しており、今後、XP患者由来のiPS細胞を樹立するために症例をピックアップして検体を本研究班内で共有し、XPの病態解明、治療薬探索のために役立てたい。

A. 研究目的

色素性乾皮症 (XP) は紫外線性 DNA 損傷の先天的な修復欠損により発症する重篤な遺伝性光線過敏症である。XP 患者では露光部皮膚の悪性腫瘍発症リスクは健常人の数千倍であり、また過半数の症例に原因不明、進行性の神経変性を合併する。XP は遺伝的に A~G 群、バリエーション型 (V) の 8 つに分類され、本邦では生命予後が不良である XPA 群、QOL が著明に低下する XPV が多くみられる。XP は各群で重症度や臨床的特徴は異なり、また同じ群でも遺伝型により臨床像が異なるが、多彩な XP 症状の病態は未だ不明で、有効な治療法もない。

分担研究者は 1999 年 10 月より、XP とその類縁疾患の分子細胞診断を行っており、これまで XP が疑われ全国から紹介された約 300 検体を解析し、新規に 130 例以上の XP 患者を確定した。

今回、XP 患者由来の iPS 細胞を樹立するために、分担研究者が保持している豊富な臨床材料 (患者皮膚由来の初代培養線維芽細胞) の中から、様々な XP 群、あるいは同一群の中でも多様な臨床所見を示す症例をピックアップして患者家族の同意のもとに本研究に提供し XP の病態解明、治療薬の探索を行うために、本年度も引き続き XP 診断センターを維持し患者情報の集積 (診断結果、症状、検査結果など) を行ってきた。分担研究者はこれまでの実績から本邦 XP 症例の約半数、様々な XP 群、多様な臨床所見を示す患者由来細胞を

保有しており、様々な表現型の XP 患者由来の iPS 細胞が確立でき、様々な皮膚細胞に誘導できれば、XP における臓器特異的で多彩な表現型の分子機構が明らかにでき、さらに XP 患者に適切なテーラーメイド治療を提供するための応用研究に繋がるものと期待される。

B. 研究方法

今年度、この研究報告書作成時まで、26 例の XP 疑い患者が全国の医療施設より研究分担者のもとへ紹介されてきた。

各患者より皮膚を採取し、初代培養線維芽細胞を樹立し、紫外線感受性試験、相補性試験などの DNA 修復試験、XP タンパクのウェスタン解析、XP 遺伝子のゲノム解析、発現解析を行った。また過去の患者同様、各々の患者の臨床情報 (皮膚症状、神経症状、聴力、生活上の自立度、様々な画像検査結果など) を詳細に集め、一括してデータ管理した。

(倫理面への配慮)

本研究 (XP 疑い患者の各種 DNA 修復解析、新規 XP 患者の遺伝子解析など) は実臨床では保険収載され診療上必要な検査のひとつとして認められている。また本研究は大阪医科大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査会においてすでに承認されている。ヒトのサンプルを用いる場合はその審査会の基準を遵守し、患者あるいは家族の文書

による同意を得た後に施行し、その場合検体はコード化して連結可能匿名化して取り扱う。個人情報には十分配慮し、検体の保管も厳重に行った。またコントロール細胞など一部の細胞はすでに論文などで発表されており本研究者が長年連結不可能化して保持しているものである。

以上、倫理面へは十分な配慮のもの、本研究を実施した。

C. 研究結果

今年度解析患者 32 例中、XP 疑い患者数は 26 例であった。精査により、XPA5 例、XPD2 例、XPG1 例、XPV1 例、XP ではなかった例は 8 例であり、残り 9 例は本報告書作成時にはまだ解析中である。また XP 以外では 6 例中、XP 類縁疾患の CS が 3 例、毛細血管拡張性失調症 1 例(放射線照射後の γ H2AX 形成で評価)、他の 2 例は異常なしであった。

本年度新規に確定した XP 患者情報を詳細にチェックし、過去に経験した 100 例以上の XP 患者のリストに加えて 1 つのファイルに患者情報を一括して管理し必要があればすぐに情報収集できるシステムの構築を開始した。

D. 考察

種々の表現型、遺伝型の XP 患者、健常者から iPS 細胞から種々の皮膚細胞(角化細胞、色素細胞、ランゲルハンス細胞など免疫担当細胞、汗腺細胞、毛包細胞)、血球細胞(リンパ球など)、神経細胞などに分化誘導できれば、XP における光線過敏、色素異常、光老化、光発がん、神経変性などの機序の詳細が解明できるのではないかと考える。またその結果を踏まえて、個々の XP 患者に対して患者家族の QOL を高めるためのきめ細かなテーラーメイド対応戦略(テーラーメイドスキンケア、テーラーメイド UV ケア、テーラーメイド治療など)を近い将来に提言したい。

E. 結論

多彩な皮膚症状、神経症状をもつ XP の病態解明、創薬探索のためには、様々な表現型、遺伝型をもつ症例由来の検体(培養線維眼細胞株など)の蓄積は有用である。今後も本研究班の他分担研究者が実施する iPS 細胞の樹立、各種皮膚内細胞への分化誘導研究と並行して、新規 XP 患者の検体、診療情報の蓄積は有用であると思われる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

(英文)

(1)Kokunai Y, Tsuji M, Yuko Ito Y, Kurokawa T,

- Otsuki K, Moriwaki S Immunohistochemical analysis of O6-methylguanine-DNA methyltransferase in human skin tumor, *Medical Molecular Morphology* 47:8-13, 2014
- (2)Sugimoto A, Kurokawa T, Kishi K, Yasuda E, Tamai H, Moriwaki S Generalized milia in an infant with full trisomy 13 *J Dermatol* 41:763-4, 2014
- (3)Moriwaki S, Saruwatari H, Nakanishi N, Kanzaki T, Kanekura T, Minoshima S Trichothiodystrophy Group A : A first Japanese patient with a novel homozygous nonsense mutation in the GTF2H5 gene. *J Dermatol* 41:705-8, 2014
- (4) Ishii K, Kotani M, Fujita A, Moriwaki S Usefulness of a newly-developed device, the Power Tree®, for body massage: Evidence from a medical evaluation. *J Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications*, 4:185-9, 2014
- (5)Kuwabara A, Tsugawa N, Uejima Y, Ogawa J, Otao N, Yamada N, Tanaka K, Masaki T, Nishigori C, iMoriwaki M, Okano T High prevalence of vitamin D deficiency in patients with xeroderma pigmentosum (XP)- A under strict sun-protection *European Journal of Clinical Nutrition*, in press

(邦文)

- (1)森脇真一 光線過敏症～分類と確定診断へのアプローチ～ *日本皮膚科学会雑誌* 123:1938-2939, 2014
- (2)森脇真一 総説 光線過敏症～確定診断へのアプローチ～ *皮膚科の臨床* 56:723-9, 2014
- (3)森脇真一 小児光線過敏症の QI *J Visual Dermatology* 1176-7, 2014
- (4)森脇真一 皮膚科療育の遺伝カウンセリング: その理論と実際 *日本遺伝カウンセリング学会雑誌* 35 : 67-72, 2014
- (4)森脇真一 こどもの異常な日焼け診断の決め手: 色素性乾皮症を疑うべきかの解決法は? 苦手な外来皮膚疾患 100 の解決法～そのとき達人はどのように苦手皮膚疾患を克服したか?～ p104-105 (メディカルレビュー社) 2014
- (6)森脇真一 光接触皮膚炎 皮膚疾患 最新の治療 2015-2016 p99 (南江堂) , 2015.1
- (7)森脇真一 光線過敏症 今日の治療指針 2015 年版—私はこう治療している p1153 -4, (医学書院) 2015.1
- (8)森脇真一 アトピー性皮膚炎患者への紫外線に関する生活指導のポイントを教えてください 臨床力を磨く アトピー性皮膚炎 Q&A 55 p121-123, 2014 (診断と治療社)
- (9)森脇真一 光線過敏症 今日の小児治療指針、第 16 版 (医学書院) 印刷中

- (10)森脇真一 光線力学療法 光と生命の事典 (朝倉書店) 印刷中
- (11)森脇真一 光線力学療法はどこまで有用か 最新・EBM 皮膚疾患の治療 (中外医学社) 印刷中
- (12)森脇真一 色素性乾皮症 難病事典 (学研メディカル秀潤社) 印刷中
- (13)森脇真一 トピック UDS、ポルフィリアなど 定番・外来皮膚科検査法のすべて (文光堂) 印刷中
- (14)森脇真一 遺伝性光線過敏症 定番・外来皮膚科検査法のすべて (文光堂)
- (15)森脇真一 Q15「光や電磁波が皮膚に与える影響について教えてください。」 スキンケアマイスター試験参考テキスト (3級用) (メディカルレビュー社) 印刷中
- (16)森脇真一 Q16「季節、高地、緯度、湿度などで、光の曝露量が異なると、肌へどのような影響がありますか？」 スキンケアマイスター試験参考テキスト (3級用) (メディカルレビュー社) 印刷中
- (17)森脇真一 Q19「日焼けによって肌が赤くなり人と、黒くなる人がいますが、日焼けで違いはありますか？」 スキンケアマイスター試験参考テキスト (3級用) (メディカルレビュー社) 印刷中

2. 学会発表

- (1)Moriwaki S Recent experience in the diagnosis of XP and CS in Japan International symposium on xeroderma pigmentosum and related diseases : Disorders of DNA damage response - Bench to Bedside - March 5, 2014 (Kobe)
- (2)Osawa S, Nakamura A, Maemura K, Otsuki Y, Moriwaki S Post-irradiation DNA Damage Repair Function in Cells Derived from Patients with Xeroderma Pigmentosum and Cockayne syndrome. International symposium on xeroderma pigmentosum and related diseases : Disorders of DNA damage response - Bench to Bedside - March 5, 2014 (Kobe)
- (3)Kraemer KH, DiGiovanna JJ, Khan SG, Tamura D, Bradford P, Totonchy M, Goldstein A, Masaki T, Kuschal C, Ueda T, Inui H, Imoto K, Takeuchi S, Moriwaki S DNA repair disorders xeroderma pigmentosum and trichothiodystrophy : bench to bedside and back. International symposium on xeroderma pigmentosum and related diseases : Disorders of DNA damage response - Bench to Bedside - March 5, 2014 (Kobe)
- (4)Honda H, Nishiyama C, Inobe M, Wakasugi M, Moriwaki S, Matsunaga T Newly developed

- immunoassay for evaluating nucleotide excision repair ability using individual peripheral lymphocytes and its possible application to the diagnosis of xeroderma pigmentosum International symposium on xeroderma pigmentosum and related diseases : Disorders of DNA damage response - Bench to Bedside - March 6, 2014 (Kobe)
- (5)Moriwaki S, Takahashi Y, Nakamura S, Nakazawa Y, Ogi T A Novel XPA gene mutation resulting in trace level of XPA expression in an elderly XP-A patient without neurological abnormalities The 44th ESDR 2014, Sept.12, 2014 (Copenhagen, Denmark)
- (6)Shimizuhira C, Yokota H, Moriwaki S, Yoshida Y, Miyachi Y, Yamanaka S, Kabashima K Establishment of iPS cells from XPA patients as a new tool for its mechanistic analysis The 44th ESDR 2014, Sept.12, 2014 (Copenhagen, Denmark)
- (7)Numemoto S, Osawa S, Kurokawa T, Moriwaki S A case of generalized eruptive teratoacanthomas The 3rd Eastern Asia Dermatology Conference Sept.24-26, 2014 (Jeju, Korea)
- (8)Moriwaki S, Kurokawa T, Kitamura S A child case of cutaneous type of xeroderma pigmentosum group G with a novel mutation The 3rd Eastern Asia Dermatology Conference Sept.24-26, 2014 (Jeju, Korea)
- (9)Shimizuhira C, Yokota H, Moriwaki S, Yoshida Y, Miyachi Y, Yamanaka S, Kabashima K Establishment and characterization of iPS cells derived from XPA patients The 39th annual meeting of JSID, Dec.12, 2014 (Osaka)
- (10)二宮悠紀子、穀内康人、黒川晃夫、森脇真一、高橋麻衣子 遅発型コケイン症候群の1例 第438回日本皮膚科学会京滋地方会 平成26年12月19日 (京都)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

遺伝子解析と機能解析と症状相関に関する研究

担当責任者 荻 朋男 長崎大学原爆後障害医療研究所 准教授

研究要旨

国内の色素性乾皮症 (XP) を中心に、遺伝性皮膚疾患症例の収集と診断を実施した。ゲノム解析とヌクレオチド除去修復活性を指標としたウイルス相補性試験を実施することで、疾患責任遺伝子/相補性群の決定を行った。既知の遺伝子に疾患責任変異が認められない症例について、次世代ゲノム解析を実施した。

A. 研究目的

UDS/RRS 解析 (ヌクレオチド除去修復機構 (NER) の修復活性を高速かつ正確に測定評価する手法) により、NER 欠損性遺伝性疾患の診断をおこなう。さらに、次世代ゲノム解析とウイルス相補性試験により、疾患責任遺伝子変異を同定する。

B. 研究方法

国内外より、色素性乾皮症 (XP) 症例を中心に、遺伝性皮膚疾患症例を収集する。これらの症例を、日光過敏性、皮膚症状、神経症状、発達異常などの病態に応じて分類する。また、不定期 DNA 合成量 (UDS) や、RNA 合成回復量 (RRS) を計測し、NER の修復活性を評価する。さらに、レンチウイルス発現系により患者細胞に既知の NER 因子を導入後、修復活性の回復を調査する事で、疾患原因となっている変異を持つ遺伝子の確定をおこなう。また、ゲノムシーケンシングにより責任変異の同定を行う。解析結果は、検体提供元にフィードバックすることで、臨床診断に役立てる。既知の NER 関連遺伝子に変異が同定されなかった症例は、次世代ゲノム解析により、新規 NER 関連遺伝子の同定を試みる。

(倫理面への配慮)

ヒトゲノム研究は、長崎大学の倫理委員会の承認を得て実施されている。

C. 研究結果

今年度収集した症例で、XP 疑いのある皮膚がん未発症のケースにおいて、UDS/RRS の低下が確認され、NER の欠損が認められた。その後、ウイル

ス相補性試験により、XPF 群である事を確認した。現在、ゲノム解析による病的変異の同定を進めている。その他、本年度収集した国内の XP 疑い症例において、UDS/RRS とともに低下が確認された症例が 7 例あった。ウイルス相補性試験にて、3 例は XPF 群、1 例は XPA 群、1 例は XPC 群、1 例は XPG 群と判明した。残り 1 例は現在ウイルス相補性試験を実施しており、近日中に相補性群が判明すると期待される。相補性群確定済みの症例に関しては、ゲノム解析による責任変異の同定を進めている。また、UDS/RRS 正常の検体 5 例において、ゲノム解析により *XPF* 遺伝子上に病的と疑われる変異を同定した。さらに、既知の遺伝子に疾患責任変異が同定されなかった症例に関して、現在、次世代ゲノム解析による疾患責任遺伝子変異同定を試みている。

D. 考察

XP 疑いで皮膚がん未発症の症例 (30 代女性) において、NER の欠損が認められ、ウイルス相補性試験により XPF 蛋白質の機能異常が示唆された。今後、患者には遮光を勧める事で、皮膚がん発症の危険率を下げる事が可能である。さらに、責任変異を同定し、分子レベルでの解析を進める事で、比較的軽度である病態の原因解明につながると期待される。一方、今期同定した他の XPF 群 2 症例においては、皮膚悪性腫瘍が認められている事から、これら 2 例と先の皮膚がん未発症の症例とを、ゲノム・分子レベルで比較検討する事で、病態緩和薬の開発や他の患者の予後予測などにも役立つと考えられる。