

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？	森脇真一	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	国内
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	森脇真一	臨床力を磨くアトピー性皮膚炎 Q&A 55 p121-123 (診断と治療社)	2014	国内
A rapid comprehensive assay system for DNA repair activity and cytotoxic effects of DNA damaging reagents by measuring unscheduled DNA synthesis and recovery of RNA synthesis after DNA damage.	Jia N, Nakazawa Y, Guo C, Shimada M, Sethi M, Takahashi Y, Ueda H, Nagayama Y & <u>Ogi T</u> .*	Nature Protocols 10(1):12-24	2015	国外
Hypomorphic PCNA mutation underlies a human DNA repair disorder.	Baple EL, Chambers H, Cross HE, Fawcett H, Nakazawa Y, Chioza BA, Harlalka GV, Mansour S, Sreekantan-Nair A, Patton MA, Muggenthaler M, Rich P, Wagner K, Coblentz R, Stein CK, Last JI, Taylor AM, Jackson AP, <u>Ogi T</u> , Lehmann AR, Green CM, Crosby AH	Journal of Clinical Investigation 124(7):3137-3146	2014	国外
Human mediator MED17 subunit plays essential roles in gene regulation by associating with both transcription and DNA repair machineries.	Kikuchi Y, Umemura H, Nishitani S, Iida S, Fukasawa R, Hayashi H, Hirose Y, Tanaka A, <u>Sugasawa K</u> , Ohkuma Y	Genes Cells	in press	国内
Functional regulation of the DNA damage-recognition factor DDB2 by ubiquitination and interaction with xeroderma pigmentosum group C protein.	Matsumoto S, Fischer ES, Yasuda T, Dohmae N, Iwai S, Mori T, Nishi R, Yoshino K, Sakai W, Hanaoka F, Thomä NH, <u>Sugasawa K</u>	Nucleic Acids Res.	in press	国外
Inhibitory effects of dietary Spirulina platensis on UVB-induced skin inflammatory responses and carcinogenesis	Yogianti F, <u>Kunisada M</u> , Nakano E, Ono R, Sakumi K, Oka S, Nakabeppu Y, Nishigori C	J Invest Dermatol 134(10) : 2610-19	2014	国外
Changes in Cerebrospinal Fluid Biomarkers in Human Herpesvirus-6-Associated Acute Encephalopathy/Febrile Seizures.	Tanuma N, Miyata R, Nakajima K, Okumura A, Kubota M, Hamano S, <u>Hayashi M</u>	Mediators Inflamm doi.org/10.1155/2014/564091	2014	国外
Pathological changes in the cardiac muscles and the cerebellar cortex in Vici syndrome.	Miyata R, <u>Hayashi M</u> , Itoh E	Am J Med Genet A 164(12): 3203-3205	2014	国外
Melatonin alterations and brain acetylcholine lesions in sleep disorders in Cockayne syndrome.	Okoshi Y, Tanuma N, Miyata R, <u>Hayashi M</u>	Brain Dev 36(10):907-913	2014	国外
VII先天性代謝異常. DNA修復障害 色素性乾皮症.	林雅晴	別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズNo.28神経症候群 (第2版) III . 日本臨床社, pp664-667	2014	国内
Heparin inhibits melanosome uptake and inflammatory response coupled with phagocytosis through blocking PI3k/Akt and MEK/ERK signaling pathways in human epidermal keratinocytes.	Makino-Okamura C, Niki Y, <u>Takeuchi S</u> , <u>Nishigori C</u> , Declercq L, Yarosh DB, Saito N	Pigment Cell Melanoma Res 27(6) : 1063-1074	2014	国外
Fluorescence detection of cellular nucleotide excision repair of damaged DNA.	Toga T, Kuraoka I, Watanabe S, <u>Nakano E</u> , <u>Takeuchi S</u> , <u>Nishigori C</u> , <u>Sugasawa K</u> , Iwai S	Sci Rep 4(4) : 5578	2014	国外

## IV. 班會議報告書

厚生労働科学研究委託費「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 班会議 報告書

日時 : 平成26年11月28日(金) 13:00~17:00

場所 : ANAクラウンプラザホテル神戸 ライラック

出席者:

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
森脇 真一	大阪医科大学医学部皮膚科学	教授
萩 朋男	長崎大学原爆後障害医療研究所	准教授
林 雅晴	東京都医学総合研究所脳発達・神経再生研究分	参事研究員
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	教授
青井 貴之	神戸大学大学院医学研究科iPS細胞応用医学	特命教授
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
正木 太郎	神戸大学大学院医学研究科内科系講座皮膚科学分野	特命助教

欠席者:

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
-------	-------------------------	-------

## 1. 総括

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)

本研究班がXPの治療開発のための研究班であることと、今年をXPの未診断例を診断することとXPiPS細胞を樹立することを大目標とし、現有するXP患者細胞を用いて病態解明を行ない、治療薬の探索につなげることを目的としていることを報告した。

## 2. 色素性乾皮症の診断センターの維持、確定診断と患者評価

森脇 真一 (大阪医科大学皮膚科)

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、これまで全国から紹介された約 400 検体を解析し、新規に 150 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たい。また XP の病態解明のために、今後も引き続き XP 診断センターを維持し患者集積を行っていききたい。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。またその結果として、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）を提言したい。

### 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（長崎大学原爆後障害医療研究所）

長崎大学とそれと連携する遺伝子解析研究拠点で行なっている遺伝子解析の手法とそれにかかるコストと結果を入手するまでの時間について説明し、研究班のなかで有効に使うことが提案された。次世代シーケンサーで診断が確定した XP 症例を提示した。

### 4. 既知薬の神経細胞への有効性の評価

林雅晴（公益財団法人東京都医学総合研究所）

酸化ストレス研究： 先行研究により XP 脳での酸化ストレス（Adv Exp Med Biol 2008;637:120-7）、XP 患者でのメラトニン代謝異常（Brain Dev 2014 Feb. [Epub ahead of print]）を明らかにした。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。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。XP-A では 15 歳超患者で対照とは逆に Cr 比上昇と 6 時をピークとする日内変動の明瞭化がみられた。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。分担研究者が関与する「発達障害での睡眠障害に対するメラトニン臨床治験」は順調に進み小児適応を得られる可能性が高い。睡眠障害治療と抗酸化薬使用でのメラトニン用量の差を考慮した上で、XP 患者でのメラトニン治療の可能性を追究

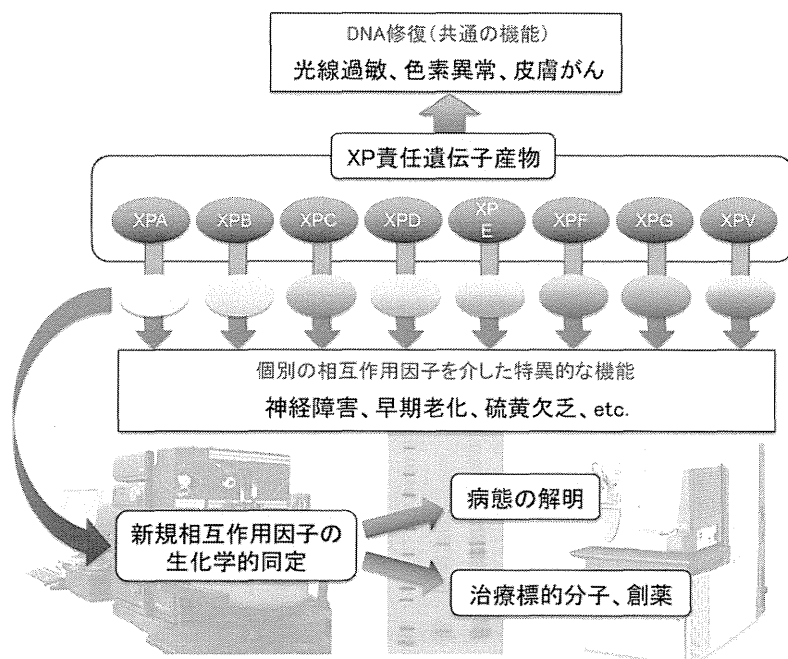
する。

## 5. 色素性乾皮症責任遺伝子産物と相互作用する新規因子の探索と機能解析

菅澤 薫（神戸大学バイオシグナル研究センター）

色素性乾皮症（XP）の責任遺伝子産物は、主要な DNA 修復経路の一つであるヌクレオチド除去修復（XPA~XPG）、または損傷乗り越え DNA 複製（XPV）の分子機構に関与し、紫外線誘発 DNA 損傷による突然変異と皮膚がんの抑制に寄与することが明らかになっている。一方、多くの XP-A 群患者が示す進行性の精神神経症状のように、単純に DNA 損傷の修復異常のみで説明することが困難な症例も少なくない。実際、XPB および XPD タンパク質は基本転写に必須な TFIID 複合体の構成成分であり、これらの遺伝子の変異はヌクレオチド除去修復と基本転写の欠損のバランスにより、きわめて多様で複雑な病態を発現しうることを示されてきた。

我々はこれまでに、XPC タンパク質と相互作用する因子として塩基除去修復酵素チミン DNA グリコシラーゼ（TDG）、ユビキチン様タンパク質 SUMO などを新たに同定し、その意義を明らかにしてきた。本研究ではさまざまな XP 責任遺伝子産物にタンデムタグを融合したものを HeLa 細胞で発現し、タンパク質複合体をアフィニティー精製してその構成成分を質量分析により網羅的に同定する。これらの相互作用因子の機能解析から、XP 責任遺伝子の新たな機能や制御機構を明らかにすることで、病態の理解と新規治療法の開発を目指す。



**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 (別紙 1)**

青井貴之 (神戸大学大学院医学研究科 iPS 細胞応用医学)

**7. 分子シミュレーション解析 (別紙 2)**

高岡 裕 (神戸大学医学部附属病院医療情報部)

**8. 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 (神戸大学大学院医学研究科内科系講座皮膚科学分野)

**9. フローサイトメトリーを用いた DNA 修復能検査の確立**

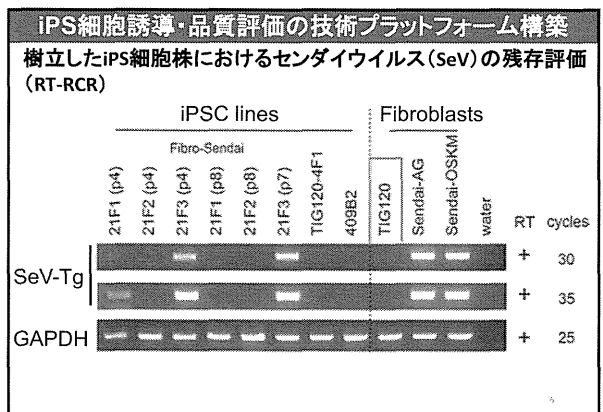
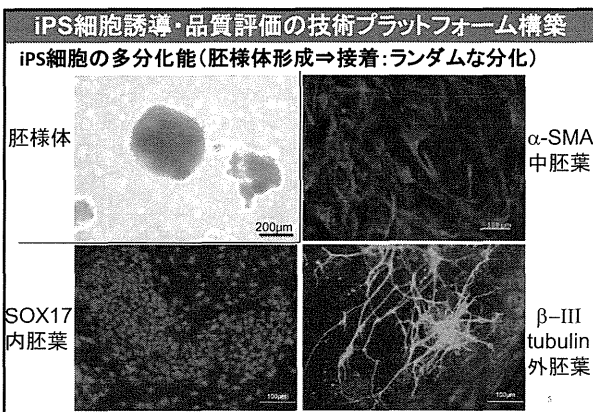
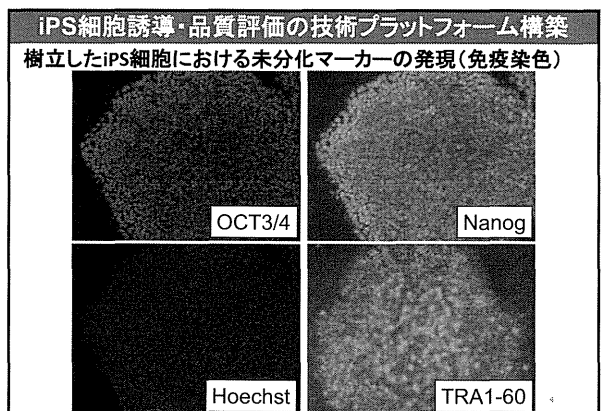
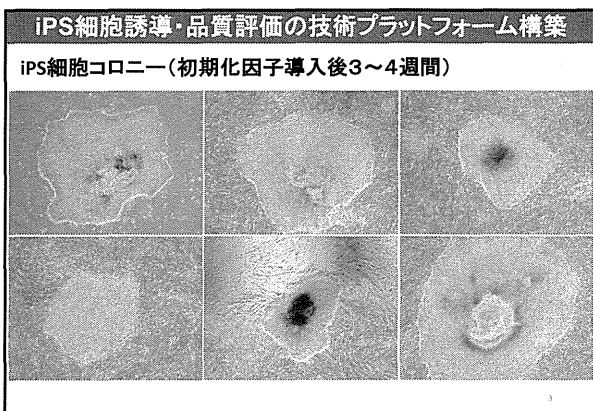
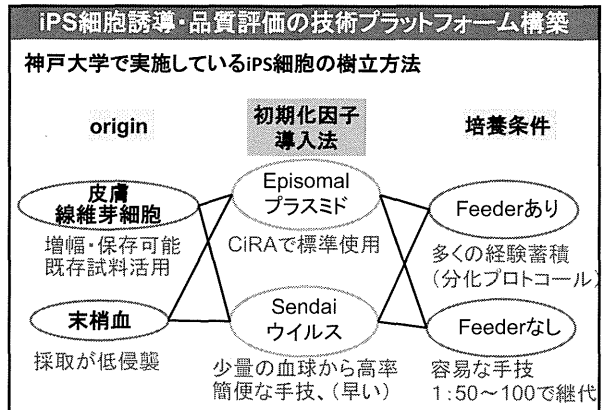
中野 英司 (神戸大学医学部附属病院皮膚科)

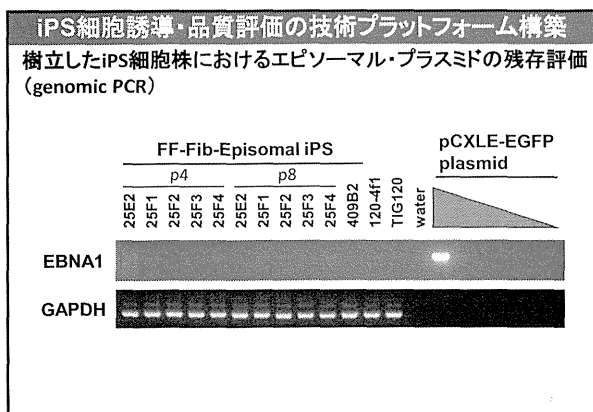
**10. 新しく遺伝子解析を行なった特異な皮膚症状を呈した XP-C 群の一例について XPC 遺伝子変異の型と DUH 遺伝子の変異について報告し、考察を述べた。**

正木 太朗 (神戸大学大学院医学研究科内科系講座皮膚科学分野)

### 研究分担内容

- XP患者/対照健常者由来iPS細胞の樹立
  - ✓ iPS細胞誘導・品質評価の技術プラットフォーム構築
  - ✓ XP患者/対照健常者からのiPS細胞にかかる手続き
  - ✓ iPS細胞の樹立
- XPの標的細胞へのiPS細胞からの分化誘導
  - ✓ iPS細胞からの神経分化誘導



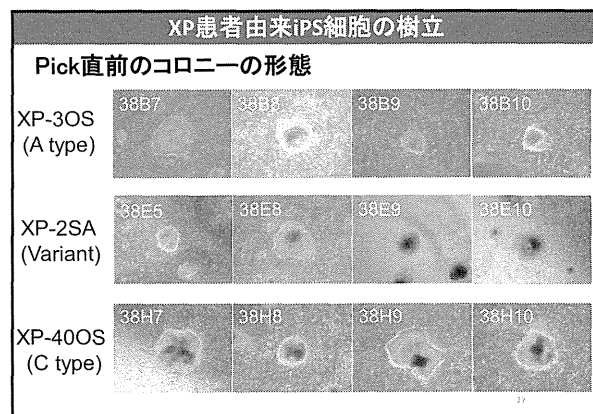
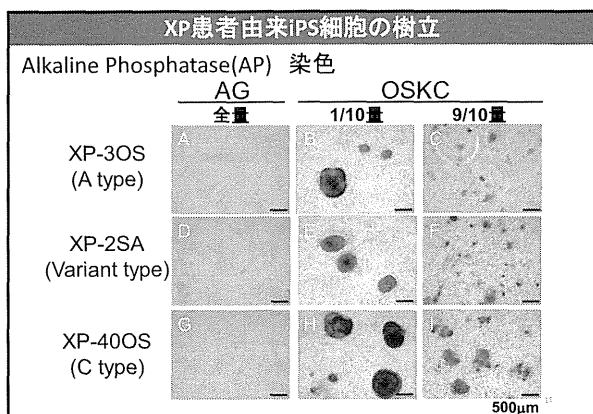
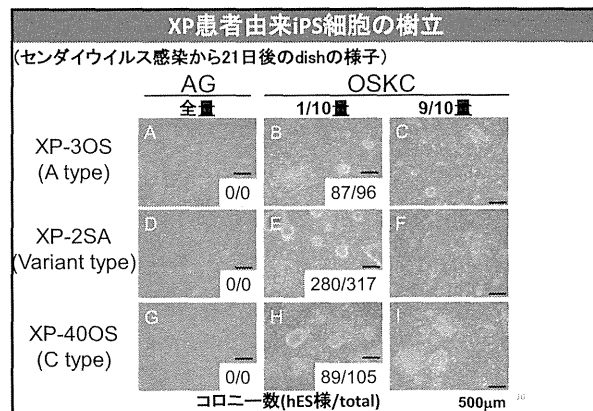
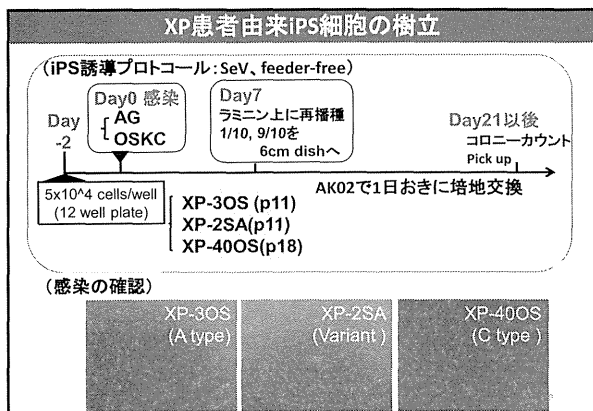


### XP患者由来iPS細胞の樹立

独立行政法人 医薬基盤研究所  
JCRB細胞バンク から細胞提供を受け、開始

細胞種	細胞名	特徴	提供時の継代数
✓ 1	XP3OS	XP typeA	p9
✓ 2	XP35OS	XP typeA	p15
✓ 3	線維芽細胞 XP39OS	XP typeA	p14
✓ 4	XP2SA	XP variant type	p9
✓ 5	XP40OS	XP typeC	p16

\* Genotype 確認中 (皮膚科 正木先生)





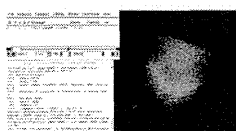
## 今年度目標

1. 分子動力学計算による構造最適化の高速解析系の立ち上げ
2. 各種構造解析の開始
3. 結合ポケットの容量測定プログラム開発

## 導入する解析プログラム

統合パッケージ				
ソフトウェア	開発元	種類	対応OS	備考
MOE	薬化システム	無料	Windows/Mac/Linux	次年度購入予定
MM, MD計算				
AMBER	Washington University	無料	Windows/Mac/Linux	MM, MD計算が可能。水分子や脂質二重膜の付加は不可
NAMD-MDSE	TCRG+薬化システム	一部有料	Windows/Mac/Linux	MD計算のみ可能。水分子や脂質二重膜の付加が可能
CHARMM	The CHARMM Development Project	有料	Windows/Mac/Linux	MD計算のみ可能。水分子や脂質二重膜の付加が可能
ドッキングシミュレーション				
AutoDock	The Scripps Research Institute	無料	Windows/Mac/Linux	タンパク質-配位子ドッキングのみ
ZDock	UMMS	無料	Windows/Mac/Linux/SGI	タンパク質-タンパク質ドッキングのみ
3Dock	Imperial Cancer Research Fund	無料	ソースコード配布	フレキシブルドッキングが可能
ホモロジーモデリング				
MODELLER	UCSF	無料	Windows/Mac/Linux	

## 分子動力学(MD)計算の高速化



NAMD  
分子動力学計算プログラム

本予算で整備した解析用高速計算機で、統合計算科学システム(MOE)と分子動力学(MD)計算のプログラムNAMD(無料)を利用して解析する。計画変更してNAMD利用することで、MD計算が4倍程度高速となった。



	CPU、クロック周波数とコア数	ベンチマーク (P2testmark2)
既存の計算機	Intel Xeon W3540 2.93GHz × 8コア	5506
本予算で導入した計算機 (既存との比)	Intel Xeon E5-2697 2.7GHz × 12コア	17812

新計算機1台あたりの計算速度は既存比で約3倍高速になった。計画変更により今年度のMOE購入を中止した予算で計算機を2台増設し、計算資源の整備を完了した。来年度は、解析データの保存用に大容量のRAID装置を整備予定。

## 更なる計算速度の高速化

π-computer  
(神戸大学計算科学教育センター)



「π-computer」は「京」と同一のアーキテクチャを持つスーパーコンピュータ。高岡は2014年10月に神戸大学計算科学教育センターの借家プロジェクトに加入し、上記計算機利用に向けて現在準備中。汎用プログラムは動作しないため、高岡が開発した構造解析プログラムを移植予定。

ペタFLOPSマシン「京」  
(理化学研究所計算科学研究機構)



「π-computer」の使用経験を積み重ねることで、「京」にプログラムを移植して速やかに解析を移行可能となる。計算量増大に際して必要となれば、京コンピュータの利用も考慮する。

計画には未記載

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

発行 平成27年3月31日

発行所 〒650-0017

兵庫県神戸市中央区楠町7-5-1

神戸大学大学院医学研究科内科系講座皮膚科学分野

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 事務局

