

論文内容要旨

論文題目

ヒトメラノサイトにおいてホスファチジルイノシトールグリカン、クラス K 遺伝子 (*PIGK*) の発現はチロシナーゼ活性と相関し、*PIGK* の発現はその直上にある短反復配列多型に影響される：ロドデノール誘発性脱色素斑との関連

責任講座： 皮膚科学講座

氏名：岡村賢

【内容要旨】

【背景】

チロシナーゼ阻害薬として美白化粧品に含有されていたロドデノールにより皮膚の脱色素斑が誘発されることが明らかとなり、近年社会問題となった。ロドデノール誘発性脱色素斑は、ロドデノール含有化粧品使用者のうち約 2% に発症し、これは他の化学白斑の発生頻度とほぼ同等である。このことは、ロドデノール誘発性脱色素斑を含めた化学白斑の疾患感受性遺伝子の存在を示唆する。一方で、グリコシルホスファチジルイノシトール(GPI) は 150 以上もの蛋白を錨 (アンカー) として生体膜と結合させ、翻訳語修飾に関わっている。これらの GPI アンカー型蛋白はユビキタスに発現しているが、メラノサイトにおける役割は全くもって調べられていない。

【目的】

ロドデノール誘発性脱色素斑の感受性遺伝子を探るにあたり、今回我々は、GPI アンカー型蛋白の関与に着目した。

【方法】

蛋白と GPI のアンカリングに必須の役割を果たすホスファチジルイノシトールグリカン、クラス K 遺伝子 (*PIGK*) の発現を、既にロドデノールに対する感受性が報告されている 13 種の正常ヒト培養メラノサイト (NHEM) を用いて調べた。さらに、*PIGK* 直上のプロモーター活性領域と予測される場所に位置する唯一の短反復配列多型をジェノタイプングした。*PIGK* の RNA 干渉実験および、ロドデノール暴露下におけるアラマーブルーを用いた細胞増殖活性アッセイも施行した。

【結果】

PIGK の mRNA の発現はロドデノール感受性の高い細胞群において有意に低かった。さらに *PIGK* と *TYR* の mRNA の発現は強い逆相関の関係にあった。*PIGK* 直上の短反復配列のリピート数が多い細胞群ではそうでない群に比べ、有意に *PIGK* の発現が低下していた。NHEM において、*PIGK* のノックダウンによりチロシナーゼの発現が mRNA レベルで有意な上昇を認め、ロドデノールへの感受性は上昇する傾向にあった。

【結論】

ヒトメラノサイトにおいて、*PIGK* の発現とチロシナーゼ活性は強い相関関係にある。*PIGK* 直上の短反復配列多型は、その発現を制御している可能性が強く示唆された。

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 岡 村 賢

論文題目：Microsatellite polymorphism located immediately upstream of the phosphatidylinositol glycan, class K gene (*PIGK*) affects its expression, which correlates with tyrosinase activity in human melanocytes: Association with rhododendrol-induced leukoderma(ヒトメラノサイトにおいてホスファチジルイノシトールグリカン, クラス K 遺伝子 (*PIGK*) の発現はチロシナーゼ活性と相関し、*PIGK* の発現はその直上にある短反復配列多型に影響される：ロドデノール誘発性脱色素斑との関連)

審査委員：主審査委員	中 島	修
副審査委員	鈴 木	匡 子
副審査委員	鈴 木	民 夫



審査終了日：平成 28 年 1 月 8 日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

ロドデノールは、メラニン合成の律速酵素であるチロシナーゼ阻害活性を有する化粧品美白成分であり、化粧品としては最初の大規模薬害の原因物質として注目された。ロドデノールによる皮膚白斑誘発は、チロシナーゼのロドデノール代謝物によるメラノサイトの細胞毒性が主要な発生機序であり、ロドデノールに対する感受性は、メラノサイトでのチロシナーゼ活性レベルと正の相関があることが、13 株の正常ヒト培養メラノサイト (NHEM) を用いた先行研究から報告されている。

しかしながら、ロドデノール含有化粧品使用者の約 2% にしか、白斑の発生は認められておらず、疾患感受性遺伝子の関与が推定されるが、ロドデノール以前の化学白斑薬害は小規模であることから、現在まで、化学白斑の発症機序研究はほとんど進んでいない。

本研究では、上述の NHEM (ロドデノール高感受性 4 株および低感受性 9 株) を利用して、ロドデノール誘発性脱色素斑における感受性遺伝子の探索を行ったところ、グリコシルフォスファチジルイノシトールグリカン (GPI) に標的タンパク質を結合させる段階に必須な機能を有するフォスファチジルイノシトールグリカン, クラス K 遺伝子 (*PIGK*) のプロモーター領域内に存在する、短反復配列 (STR) 多型が、*PIGK* mRNA 発現レベルおよびロドデノール感受性に対して、有意に相関していることを見出した。すなわち、この STR について、ロドデノール低感受性 9 株中 7 株は 5 回繰り返し型のホモ接合体 (5/5) であるのに対し、ロドデノール高感受性 4 株すべては、9 または 10 回繰り返し型と 5 回繰り返し型をもつヘテロ接合体 (9/5 または 10/5) であり、ロドデノール高感受性株は、低感受性株と比較して、*PIGK* mRNA 発現が有意に低下していた。13 株の NHEM で、*PIGK* mRNA レベルとチロシナーゼ (*TYR*) mRNA レベルの間に負の相関が見出された。また、NHEM に対する *PIGK* ノックダウン実験により、ノックダウン株では、*TYR* mRNA レベルが有意に上昇し、さらにロドデノール感受性がコントロール株と比較して上昇傾向にあることが見出された。

本研究から、ロドデノール誘発性白斑感受性遺伝子の新規候補遺伝子として *PIGK* が見出された。本研究により発見された、ロドデノール感受性に相関した STR はプロモーター領域に存在しており、*PIGK* 転写に直接影響を与える可能性が極めて高い。また、*PIGK* ノックダウン実験により、*PIGK* が直接、*TYR* 発現やロドデノール感受性に影響する可能性を示している。GPI アンカータンパク質によるメラノサイト機能制御はこれまでに報告が無く、本研究がもたらした全く新しい視点であり、今後の発展が期待される。

以上から、審査委員会では、本研究が学位 (医学博士) の授与に十分、値するものと判定した。

(1, 200 字以内)