

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

細胞 (2004.10) 36巻12号:488~492.

【表皮ケラチノサイト生物学の最前線】 辺縁帯,ケラチンと層板顆粒に関する最近の知見

山本明美

辺縁帯、ケラチンと層板顆粒に関する最近の知見

Recent advances in cornified cell envelopes, epidermal keratins and lamellar granules

Key words: lorincrin, keratin, lamellar granules, keratinocytes

旭川医科大学医学部皮膚科:Department of Dermatology, Asahikawa Medical College

〒078-8510 旭川市緑ヶ丘東 2-1-1-1 (Fax)0166-68-2529 (e-mail)

akemi@asahikawa-med.ac.jp

山本明美

辺縁帯とケラチンの基礎的事項と角化異常症との関連に関する知見、および角化過程に関する新しい発見の一つとして層板顆粒の実態に関する仕事を紹介する。

辺縁帯 (周辺帯) marginal band, cornified cell envelopes

辺縁帯は角化細胞の終末分化の過程で形成される極めて強靱な構造物である。その役割はさまざまな物理的、化学的障害から生体をまもることとされている。辺縁帯の主な構成蛋白はインボルクリン、ロリクリンなどである。形態的には表皮の辺縁帯は顆粒層最表層において形成され始める。初期には高電子密度の厚さ 15nm 程度の膜であり、角質細胞では厚さ 20nm 程度となり、デスモゾームのアタッチメントプラークと連続して細胞膜の内側を囲む。辺縁帯の形成にあたっては、まず細胞膜の内側でタンパク同士が架橋される。細胞膜の外側には層板顆粒由来のセラミド (ω -hydroxyacyl-sphingosine) が脂質層を形成し、これが細胞膜を置換し、内側の辺縁帯と脂質層が架橋される。

辺縁帯の構成分子を架橋するのは sulfhydryl oxidase と transglutaminase (TGase) である。前者は S-S 結合をつくる。後者は N ϵ -(γ -glutamyl) lysine isopeptide 結合をつくるカルシウム依存性の酵素ファミリーである。ヒトでは6つの TGase ファミリーメンバーが知られており、そのうち辺縁帯の形成に最も重要な働きをしているのは TGase 1 である。細胞膜に結合すると高

い活性をあらわし、細胞質内で可溶性のときは活性が弱い。主たる発現部位は有棘層上層から顆粒層にかけてである。TGase 1 の遺伝子異常によって生じる葉状魚鱗癬では辺縁帯の形成不全がみられ表皮のバリア機能が著しく低下している。魚鱗癬となる機序はモデルマウスをつかった実験から、破綻したバリア機能をおぎなうために角層が肥厚して水分喪失をふせごうと働くためであることが示されている。

辺縁帯構成分子のひとつであるインボルクリンは酸性、可溶性、ロッド状の、グルタミン/グルタミン酸に富む 585 個のアミノ酸からなる 68 kDa の蛋白である。インボルクリンは全ての重層扁平上皮で発現している。正常表皮では有棘層上層から発現する。初期に辺縁帯に架橋され、その後に他の成分が組み込まれる。インボルクリン分子は、離れた分子同士を架橋するのに適した細長い形をしている。ロリクリンは表皮の辺縁帯の主成分で、その 70%をも占める。ロリクリンはグリシン、セリン、システインに富む、不溶性の塩基性蛋白で、表皮の顆粒層上層で発現する。ヒトでは 26 kDa、315 個のアミノ酸からなる。グリシンがならんでループ状にとびだす"グリシンループ"構造を持つ。

辺縁帯構成分子の異常

上述したように、辺縁帯形成を触媒する酵素 TGase1 の異常によって角化異常が生じるが、構成成分の異常ではどうだろうか。インボルクリンやロリクリンを欠損させたマウスをつくった実験では角化異常はほとんどみられなかった。これは他の辺縁帯構成分子によって機能が代償されることによると考えられている。しかし、ロリクリン分子のカルボキシル末端に変異が生じて核移行シグナルを有する特殊なアミノ酸配列が現れる重篤な角化異常があり、ロリクリン角皮症と総称される¹⁾。臨床的には掌蹠のび漫性の角質肥厚、手指と足趾の絞扼輪の形成が特徴的である。本症はこれまでに世界で7家系しか報告されておらず、またそのロリクリン変異も3種類しかみつかっていない。本症ではロリクリン遺伝子に1塩基の挿入変異があり、誤ったアミノ酸配列をもつ蛋白が発現する。我々はこの異常なアミノ酸配列の影響で、変異ロリクリンは核内に異常凝集することを、変異ロリクリン特異抗体を用いて証明した(図1)。本症では変異ロリクリンが核の機能を障害するために角化が異常となると推定した。順天堂大学の須賀康らも本

症のモデルマウスの作成に成功し、実際に変異ロリクリン蛋白の N 末端配列が核移行シグナルとして働くことを証明した²⁾。

角質細胞ケラチン線維

ケラチンは角化細胞に豊富に発現する中間径線維のひとつである。ケラチンは多数の分子種からなるが、等電点の違いから、酸性のタイプ I と、中性から塩基性のタイプ II に大別される。細胞の種類や分化度に応じて各種のタイプ I とタイプ II のケラチンが特定のペアとして発現し、そのペアからなる2量体であるヘテロダイマーが基本単位となり、これが集合して中間径線維となる。細胞内では核の周囲と細胞膜上のデスモゾームや、基底膜部のヘミデスモゾームとをつなぐネットワーク構造を形成する。表皮角化細胞ではタイプ II ケラチンである K1 と K5、タイプ I ケラチンである K10 と K14 の4つの主要ケラチンが発現している。K5 と K14 は基底細胞の主要ケラチンペアであり、細胞が分化するとこれらの合成は停止して K1/K10 ペアの合成が始まる。これらのケラチン分子の遺伝子に変異があるとケラチンネットワークの形成がそこなわれ、そのケラチンの発現細胞、臓器特異的に、水疱症や魚鱗癬など様々な疾患として現れる。その中で、著者が直接研究にたずさわったきわめてまれであるが、ユニークなケラチン異常症について紹介する。

K1 の変異によって生じる疾患として有名なものに水疱型先天性魚鱗癬様紅皮症がある。本症では K1 のロッドドメイン(図2)のアミノ酸置換変異によってケラチン線維は異常凝集塊を形成し、水疱形成を伴う魚鱗癬が生じる。さて、ichthyosis hystrix Curth-Macklin (IHCM) は、全身、特に四肢伸側が乳頭腫状、暗褐色の厚い角質でおおわれるが、水疱が生じることはなく、水疱型先天性魚鱗癬様紅皮症とは臨床的に全く異なる疾患である。組織学的にも表皮中上層でケラチン線維が環状殻を形成するという特有の変化がみられる。我々は本症の1家系が K1 遺伝子の読み枠のずれをきたす遺伝子変異によることを明らかにした(図2)³⁾。この変異によりケラチンの V2ドメインが途中から異常なアミノ酸配列を持つようになり、ケラチンの 10nm の線維形成は障害されないものの、細胞内での線維の分布様式がそこなわれる。このように疾患からケラチンの線維形成機構に関する示唆が得られたのである。また、IHCM 症例と同様な K1 の V2ドメインの変異によって生じたとする striated palmoplantar keratoderma(線状掌蹠角

化症)を報告した Whittock らは、これら2つの疾患でみられた変異ケラチンを培養角化細胞内で発現させたところ、異常に核に移行したと報告し、これが疾患形成機構に関係しているとのべた⁴⁾。しかし、我々の研究では少なくとも上述の IHCM 患者の表皮において、変異ケラチンは細胞質内に局在しており、角化異常は細胞質の細胞骨格の異常に起因していると考えている⁵⁾。培養細胞に遺伝子導入しその効果をみるような実験では、実際に生体でおきていることと同じ現象をとらえているかどうか、慎重な判断が必要であるということを再認識する必要がある。

層板顆粒の正体

層板顆粒は従来の通常の透過電顕では表皮角化細胞にみられる、内部に層板構造を持つ楕円形の顆粒として認識されてきた。有棘細胞から産生されはじめて、顆粒細胞で表層側に内容物を放出し、その機能は角層の細胞間脂質を供給して表皮のバリア機能をつかさどることとされ、この顆粒はトランスゴルジネットワーク (TGN) に由来することが示唆されていた⁶⁾。この顆粒の成分としては脂質や各種のタンパク分解酵素やそのインヒビターなどが知られていた。しかし、これらが別個の顆粒に存在するのか、あるいは同一の顆粒内に複数の成分が混在するのか、また、顆粒の各種成分の合成時期は同時に起きているのか、あるいは時間差があるのか、といった基本的事項は最近まで全く検討されることがなかった。

最近 Norlen は membrane folding モデルという仮説を提唱した⁷⁾。これは TGN、層板顆粒および、顆粒層と角層の間の細胞外領域が連続した膜構造であるというものであるが、この仮説を裏付ける証拠は少なかった。わずかに層板顆粒の連続像が細胞膜近傍でしばしば観察されるという観察結果や⁶⁾、Norlen らの凍結透過電顕法によって観察された、部分的に層板構造を内包する分岐管状構造などがある程度であった⁸⁾。

我々は層板顆粒の成分の局在を共焦点レーザー顕微鏡および凍結超薄切片法を用いて観察することにより、層板顆粒に関する新しい知見を得ることができた⁹⁾。まず、層板顆粒の成分として同定もしくは推定されている分子としてカテプシン D, カリクレイン 7, カリクレイン 8, コルネオデスモシン, グルコシルセラミドを選び、その発現時期を比較した。その結果、それぞれ

発現時期に違いがあることがわかった。このことから、層板顆粒の成分の合成は同時に始まるのではなく、個々の分子で独自にその発現時期が制御されていると考えられた。また、共焦点レーザー顕微鏡によってそれらの局在を観察すると、TGNのマーカである TGN46 の局在とオーバーラップしていたため、層板顆粒が TGN に由来することが示唆された。さらにこれを確認するために免疫電顕法を施行した。Post-embedding 法を用いると層板顆粒は通常の透過電顕の場合と同様に独立した顆粒として観察された。しかし、凍結超薄切片法を用いたところ、層板顆粒は数珠状の連続した構造であった。また、TGN46 陽性の管状構造から突出する袋状構造物に層板顆粒分子が集積しているのが確かめられた。また、別個の層板顆粒分子の局在を比較すると、異なる分子は独立した凝集塊を形成して、連続する数珠状構造内に含まれていた。したがって、1) 層板顆粒は TGN から連続した数珠状管状構造であること、2) 含有される分子は互いに混じり合うことのないようにそれぞれ凝集塊を形成して、細胞膜に到達し放出されること、が考えられた (図 3)。今後、道化師様魚鱗癬をはじめとする、層板顆粒の異常を伴う重篤な角化異常症の病態解明にこの新しい知見が活かされることが期待される。また、層板顆粒に関する基礎的知見を集積してゆくことは、この表皮に特異的な分子輸送機構を利用して外来遺伝子産物を表皮で発現、分泌させ、疾患の治療に用いるといった新たな医療サービスの展開にもつながる可能性があるだろう。

文献

- 1) Ishida-Yamamoto A: J. Dermatol. Sci. 31: 2-8, 2003.
- 2) Suga Y, Jarnik M, et al.: J. Cell Biol. 151: 401-412, 2000.
- 3) Sprecher E, Ishida-Yamamoto A, et al.: J. Invest. Dermatol. 116: 511-519, 2000
- 4) Whittock NV, Smith FJ, et al.: J. Invest. Dermatol. 118: 838-844, 2002.
- 5) Ishida-Yamamoto A, Richard G, et al: J. Invest. Dermatol. 120: 498-500, 2003.
- 6) Elias PM, Cullander C, et al.: J. Invest. Dermatol. Dermatology Symposium Proceedings
3: 87-100, 1998.
- 7) Norlen L: J. Invest. Dermatol. 17: 823-829, 2000.
- 8) Norlen L, Al-Amoudi A and Dubochet J: J. Invest. Dermatol. .20: 555-560, 2003.
- 9) Ishida-Yamamoto A, Simon M, et al.: J. Invest. Dermatol. 122: 1137-1144, 2004.

図1 ロリクリン角皮症患者表皮角層細胞における変異ロリクリンの局在。変異ロリクリン特異抗体を用いた Post-embedding method による免疫電顕法。角層において遺残した核 (Nu) のなかに変異ロリクリンの凝集塊(矢印)がみられる。10 nm gold をもちいて標識した。

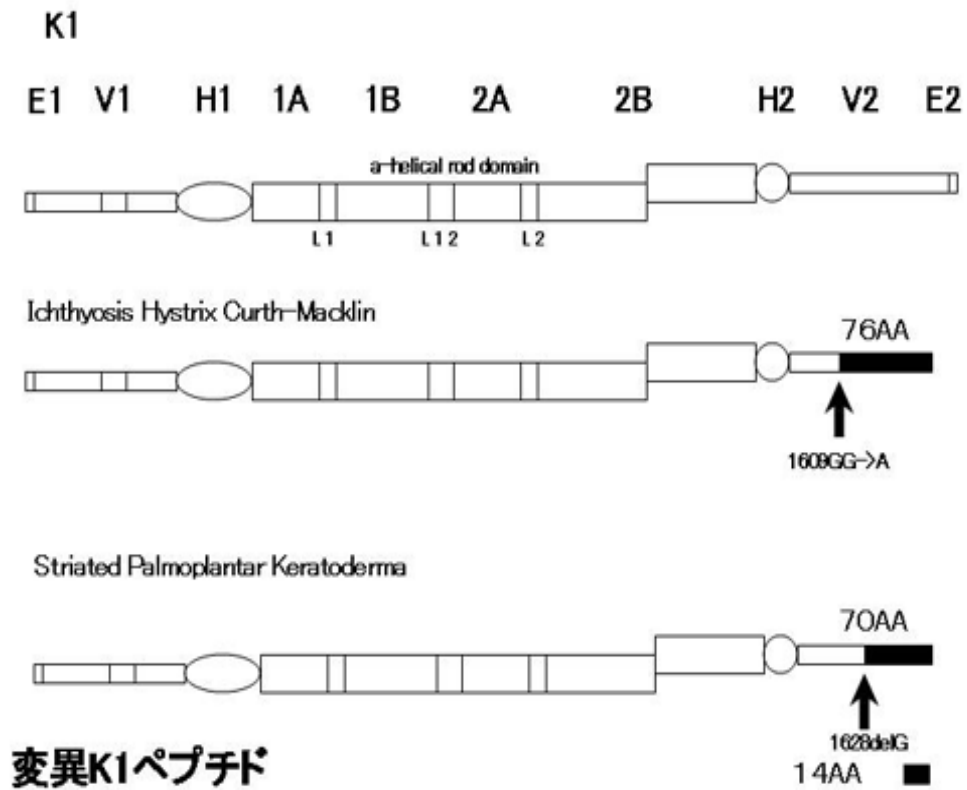


図2 正常のK1分子と、ichthyosis hystrix Curth-Macklinおよび、striated palmoplantar keratodermaの家系でみつかったテイルドメインに読み枠のずれによる変異を持つK1の模式図。

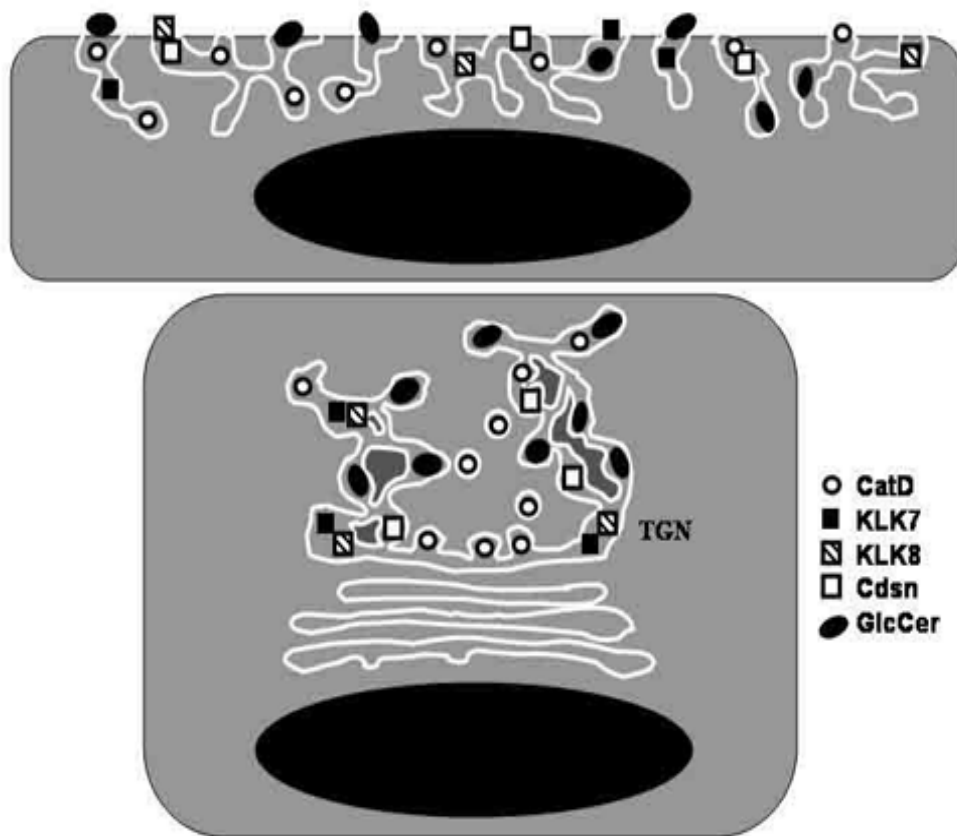


図3 層板顆粒はトランスゴルジネットワーク (TGN) から連続する数珠状につながった管状構造であるという我々の説の模式図。下の細胞は有棘細胞、上の細胞は顆粒細胞をあらわす。カテプシンD(CatD)、カリクレイン7 (KLK7)、カリクレイン8 (KLK8)、コルネオデスモシン(Cdsn)、グルコシルセラミド(GlcCer)の局在とともに示す。文献9の図10を改変。

