

AMCoR

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

皮膚アレルギーフロンティア (2010.03) 8巻1号:13~17.

【バリア機能とアレルギー】
フィラグリンとは

山本明美

フィラグリンとは

What is filaggrin?

山本明美 〈Akemi Ishida-Yamamoto〉

旭川医科大学皮膚科学講座

要約

フィラグリンは表皮角化細胞のタンパクで、まずその前駆体が顆粒細胞でプロフィラグリンとしてつくられ、これはケラトヒアリン顆粒の主成分となる。顆粒細胞が角質細胞になるときに、プロフィラグリンは分解し、フィラグリンができる。後者は角化細胞のケラチン線維を凝集する作用があり、このために角層細胞は顆粒細胞と形態的に大きく異なってコンパクトに扁平化している。その後、フィラグリンは小分子に分解され、これらが保水機能を発揮するので、角層における天然保湿因子の主要な成分となる。ヒトのフィラグリン遺伝子は染色体1番の長腕に存在し、その前後には角化細胞の分化に関連する複数の遺伝子が配列している。最近そのひとつとして、フィラグリンと似たフィラグリン2が報告された。

KEY WORDS／epidermal differentiation complex／ケラチン／ケラトヒアリン顆粒／天然保湿因子／プロフィラグリン

ケラチン

細胞骨格を構成するタンパクの一つ。細胞骨格には太い方から順に、微小管、中間径フィラメント、アクチンフィラメントと3種類あるが、このうち、上皮細胞の主要な中間径フィラメントがケラチン。

天然保湿因子 **natural moisturizing factors**

角層に存在する、フィラグリン由来のアミノ酸とそれに由来する小分子、イオン、乳酸、尿素など、生体由来の保水機能をもつ因子。

はじめに

フィラグリン filaggrin とは **filament** を **aggregate** する **protein** ということで命名された分子で、かつては **histidine-rich protein**、あるいは **stratum corneum basic protein** と呼ばれていた。また関節リウマチの特異的自己抗体の標的分子としても知られていた。最近フィラグリンの遺伝的欠損により尋常性魚鱗癬となり、さらにそれはアトピー性皮膚炎の主要な発症要因であることがわかって、この分子に大きな注目が集まっている¹⁾。本稿ではフィラグリンに関する基礎的知見を解説する^{1, 2)}。

1 フィラグリン遺伝子

フィラグリンをはじめとする **S100 fused-type protein (SFTP) family** の遺伝子はヒトでは染色体 1q21 にクラスターを形成して存在する（このクラスターは **epidermal differentiation complex** と呼ばれる）（図1）。**SFTP** 遺伝子はいずれも3つのエクソン、すなわち翻訳されない小さなエクソン1、翻訳開始部位と **S100** ドメインのコードを含む小さなエクソン2、**EF** ハンドドメインと繰り返し配列部分をコードする大きなエクソン3からなる。

フィラグリン遺伝子は表皮の顆粒細胞で発現する。培養角化細胞では培地のカルシウム濃度をあげることによって誘導される。レチノイン酸はフィラグリン mRNA 合成の段階と、プロフィラグリンをフィラグリンに分解する酵素の活性の段階の両方で発現抑制に働く。

2 フィラグリンとその前駆体の構造

フィラグリンは表皮顆粒細胞でまずプロフィラグリンという不溶性、中性の前駆タンパクの形で産生される（図2、3）。プロフィラグリンは、10個から12個のフィラグリンユニットが短いリンカーペプチドを介して数珠つなぎに配列しており、その前後にN、C末端配列がある、全体では約400 kDaの巨大な分子で、多くのセリン残基でリン酸化を受けている（カゼインキナーゼIIとPKC δ がこのリン酸化に関与する）。

プロフィラグリンの半減期は約6時間で、顆粒細胞が角質化するときに脱リン酸化（プロテインフォスファターゼ2A (PP2A)による）と、タンパク分解酵素（プロフィラグリンエンドプロテイナーゼI、カルパイン、**furin**などによる）の作用を受け、N末端ドメインの切断と、37kDaのフィラグリン分子への分解がおきる。

N末の配列は、81個のアミノ酸からなる、酸性、疎水性のAドメインと、212個のアミノ酸からなる塩基性、親水性のBドメインからなる。Aドメインは**S100** タンパクの特徴をもつ二つの**EF** ハンド型のカルシウム結合ドメインを有しており、上述のようにプロフィラグリンは**SFTP** ファミリーの一員である。Bドメインに、核移行シグナルが含まれているため、N末端ドメインはフィラグリンドメインから切り離された後、核内に移行する³⁾。

フィラグリンはヒスチジン、アルギニン、セリン、グリシン、グルタミン酸などに富み、塩基性 (pH>10) のタンパクである。非極性のアミノ酸はほとんど含まれていない。フィラグリンはペプチジルアルギニンデイミナーゼによってその分子中のアルギニン残基がシトルリンに変

換されるという修飾をうけ、結合していたケラチンからはずれる。なお、最近、関節リウマチの診断によく用いられる CCP（環状シトルリン化ペプチド）抗体は、シトルリン化フィラグリンユニットにシスチン残基を導入して、ヨウ素酸化で人工的に環状化した分子を認識する抗体であるが、これは軟骨に存在するシトルリン化したタンパクに対する関節リウマチ患者血清中の抗体が交差反応するものをみているとされる。角層でのフィラグリンの半減期は約 24 時間で、caspase-14 などの作用をうけて分解されて、アミノ酸とその誘導体となる。

3 フィラグリンの機能

プロフィラグリンにはケラチン線維を凝集する作用はなく、ケラチン線維に沈着し、ケラトヒアリン顆粒の主成分として存在する（図 4）。なお、ケラトヒアリン顆粒には少なくとも形態的にことなる 2 種類があり、プロフィラグリンを含む方を F 顆粒、ロリクリンを含む方を L 顆粒と呼ぶ。

フィラグリンは *in vitro* の実験ではその名のとおり、角質細胞の形成に際して、ケラチン線維同士を凝集させ、‘macrofibril’を形成する。組織上ではコンパクトにつまった角質細胞内のケラチンの線維間物質として存在する（図 5）。フィラグリンがケラチンに結合する仕組みとしては、お互いの分子の荷電部位が引き合うためと考えられている（ionic zipper 仮説）⁴⁾。その結果、角質細胞の内部のケラチン線維がコンパクトに凝集し、細胞全体が扁平化すると考えられている。またフィラグリンがケラチン分子同士を引き寄せることでケラチン分子間の S-S 結合の形成が容易になるとも考えられている。

フィラグリンはまた培養細胞において発現させるとアクチン線維やデスモゾームタンパクの構造、分布の変化、細胞死を起こすことが知られている⁵⁾。しかし *filaggrin* を有棘層から過剰発現させた *transgenic mice* では特に表現形の異常は生じなかったとされ⁶⁾、*in vitro* のデータとの違いの理由は知られていない。

フィラグリンのごく一部は角化細胞が角質層に分化する際に活性化するトランスグルタミナーゼによって他のタンパクに架橋され、細胞膜上で辺縁帯の一部となる（辺縁帯のタンパク成分の中の割合としては 1%未満）。

角質層の上層では、フィラグリンの分解産物であるアミノ酸とその誘導体が天然保湿因子（その 40%をも占める）として角層に水分をあたえるため、角層に柔軟さを与え、また落屑に関する酵素の活性化もはかられる。グルタミン由来の PCA(*pyrrolidone carboxylic acid*)はその代表例である。興味深いことに羊水中や高湿度環境ではフィラグリンは分解されないことから、環境の湿度の変化に対応してフィラグリン分解を調節する機構が想定される⁷⁾。また、ヒスチジン由来のウロカニン酸は紫外線を吸収し、紫外線障害を防ぐ働きをする。実際にプロフィラグリンの分解の異常をおこすカスパーゼ 14 欠損マウスでは紫外線障害がおきやすくなっている⁸⁾。

一方、N 末端ドメインの機能としては、プロフィラグリンを不溶性にし、ケラトヒアリン顆粒として沈着させるという働きが示唆されている。また、カルシウムの貯蔵庫としてもはたらき、自身のカルシウム依存性の修飾や角化細胞の分化を調節するという考えがある。N 末端ドメイ

ンの核移行シグナルはフィラグリン配列が除かれた状態で機能を発揮し、実際にヒト表皮で顆粒細胞や錯角化において核内に局在する。N末端ドメインは角化に際し核内でのカルシウム依存性の反応に関与するという可能性が示唆されている³⁾。

4 フィラグリン2

最近、フィラグリン遺伝子の近傍にフィラグリン2と命名されたフィラグリン類似のタンパクの遺伝子があることが報告された(図1)⁹⁾。フィラグリン2はフィラグリンと同じく、表皮の顆粒層で発現し、ケラトヒアリン顆粒に局在し、角層内ではびまん性に存在する。フィラグリン2はヒスチジンとグルタミンに富む2391個のアミノ酸からなる、約248 kDaのタンパクである。N末端にはS100タンパク型のカルシウム結合ドメインと1つのEFハンドドメインがある。中央部分には2種類のアミノ酸配列(Aタイプ、Bタイプ)が数珠つなぎに並んでいる。これらはセリン、スレオニン、グリシンに富んでいる。Aタイプはhornerin(角層の成分となる、別のSFTPタンパク)と相同性が高く、Bタイプは塩基性アミノ酸であるヒスチジンとアルギニンにも富んでおり、フィラグリンと相同性が高い。フィラグリン2遺伝子は培養角化細胞でカルシウム濃度を上げることによって発現が誘導される。顆粒細胞から角質細胞になるさいに、タンパク分解による修飾をうけるという、フィラグリンと似た挙動を示し、同様に天然保湿因子を提供するという機能をもつ可能性が示唆されている。

おわりに

フィラグリンについて知れば知るほど、極めてよくできている思わずにはいられない。生きている細胞では細胞骨格を破たんさせない前駆体として存在する。細胞が死んだ直後では外界からの侵害に耐えられるように細胞をコンパクト化する。外層ではフレキシブルな外皮であるために必要な水分を与える。紫外線障害から生体をまもる働きもする。これが欠損しても尋常性魚鱗癬という比較的軽い表現型であるのが不思議なくらいであるが、そこは代償機能がきちんと用意されているからかもしれない。

図1 ヒトの染色体1q21における、フィラグリンとその他のSFTPファミリーの遺伝子の位置関係

図2 プロフィラグリンの分解過程とフィラグリンの作用

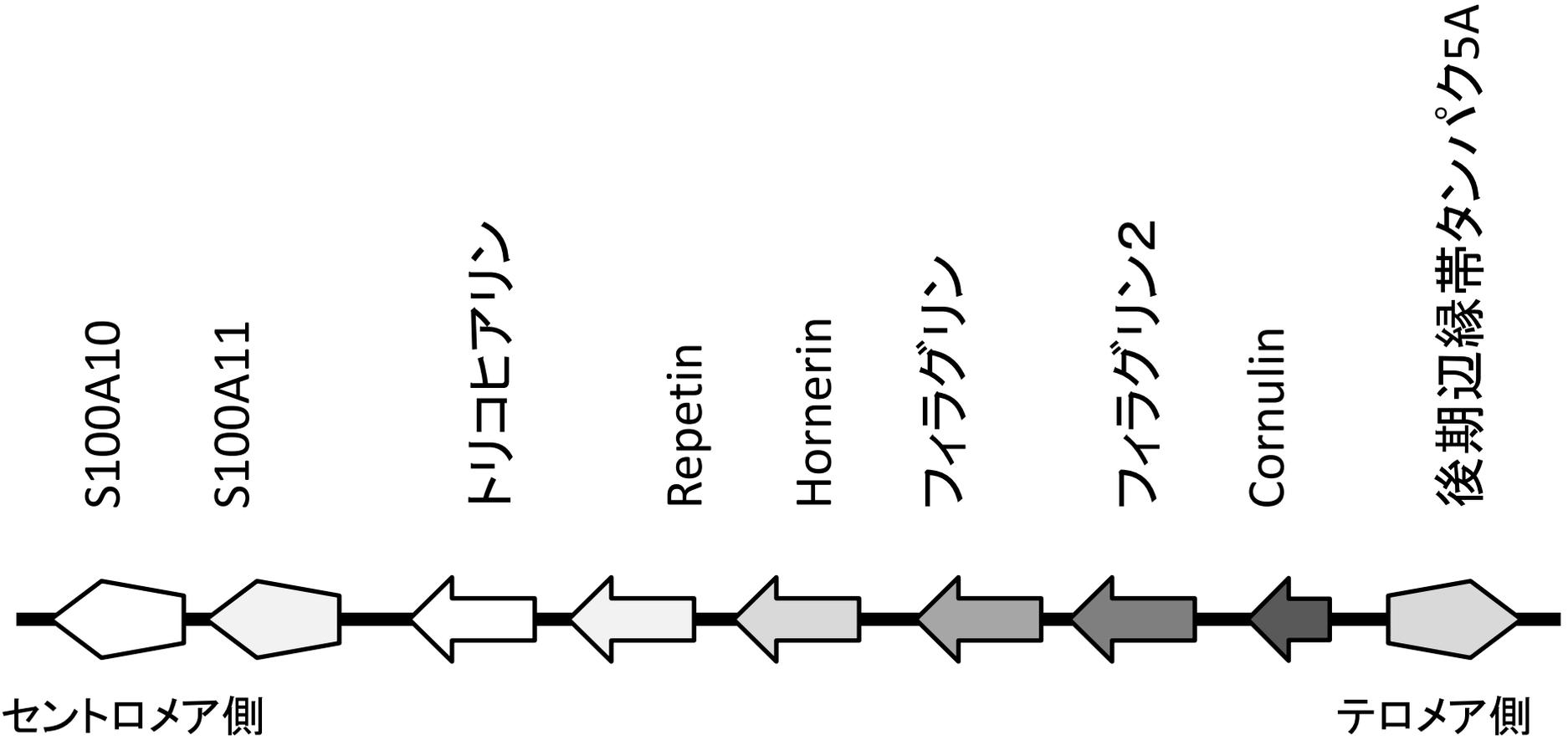
図3 正常ヒト皮膚におけるフィラグリン抗体の免疫組織染色。顆粒層(プロフィラグリンの状態)と角層下層が陽性に染色されている。破線は真皮表皮境界部をしめす。

図4 表皮顆粒細胞における(プロ)フィラグリンとロリクリンの局在を示す免疫電顕写真。フィラグリンを5nm(白い楕円)、ロリクリンを10nmの金コロイド粒子(矢印)で標識している。

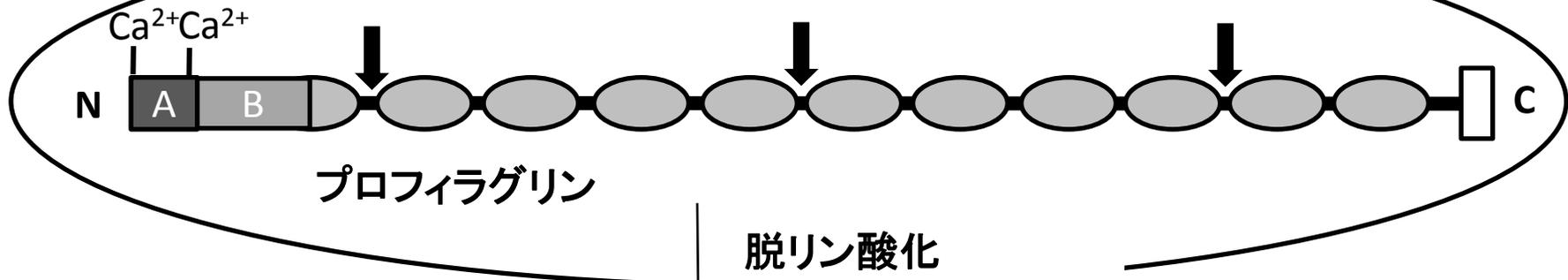
図5 フィラグリン抗体の免疫電顕法。顆粒層最上層(G)ではケラチン線維の束上のケラトヒアリン顆粒に相当する部位に反応がみられる。角層最下層(C1)ではコンパクトになった細胞質全体に反応がみられる。角層の2層目(C2)ではフィラグリンは分解され、反応はほとんどみられない。

References

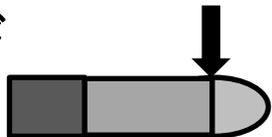
- 1) Sandilands A, Sutherland C, Irvine AD et al: *J Cell Sci* **122**:1285-1294, 2009.
- 2) Presland RB, Dale BA: *Crit Rev Oral Biol Med* **11**:383-408, 2000
- 3) Pearton DJ, Dale BA, Presland RB: *J Invest Dermatol* **119**:661-669, 2002.
- 4) Mack JW, Steven AC, Steinert PM: *J Mol Biol* **232**:50-66, 1993.
- 5) Presland RB, Kuechle MK, Lewis SP, et al: *Exp Cell Res* **270**:199-213, 2001.
- 6) Presland RB, Coulombe PA, Eckert RL, et al: *J Invest Dermatol* **123**:603-606, 2004.
- 7) Scott IR, Harding CR: *Dev Biol* **115**:84-92, 1986.
- 8) Denecker G, Ovaere P, Vandenabeele P, et al: *J Cell Biol* **11**:180:451-458, 2008.
- 9) Wu Z, Hansmann B, Meyer-Hoffert U, et al: *PLoS ONE* **4**: e5227, 2009



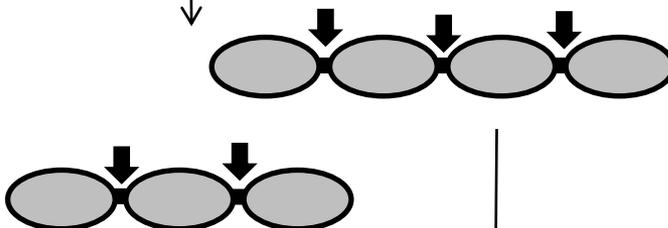
ケラトヒアリン顆粒



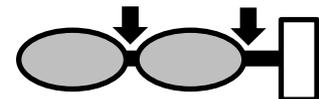
N末端ペプチド



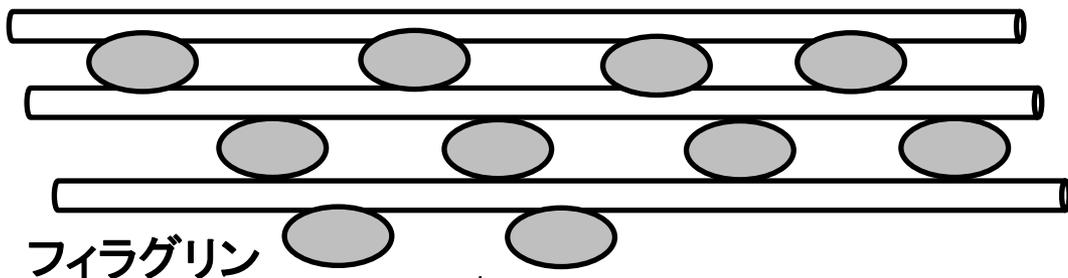
脱リン酸化
初期のタンパク分解



フィラグリンオリゴマー

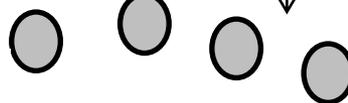


ケラチン



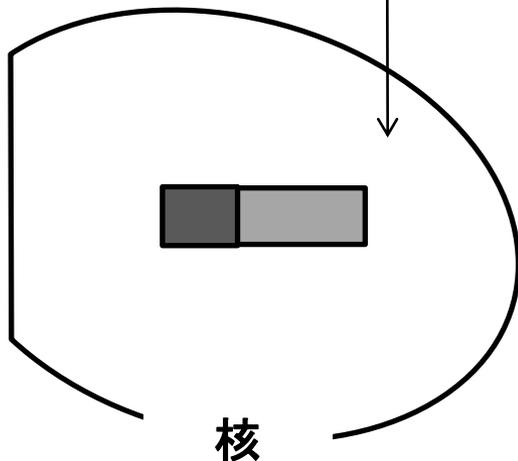
フィラグリン

タンパク分解
アミノ酸の修飾

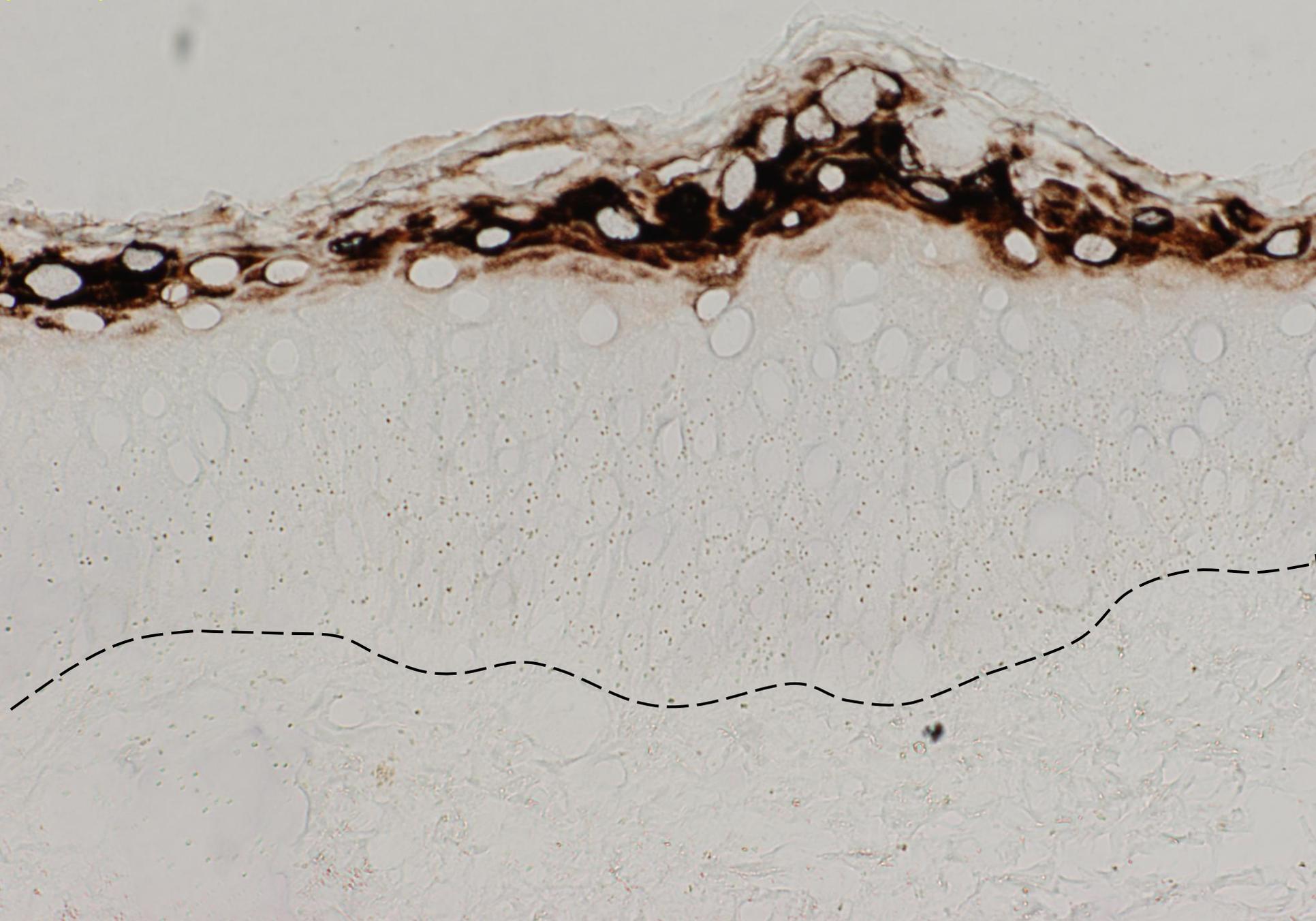


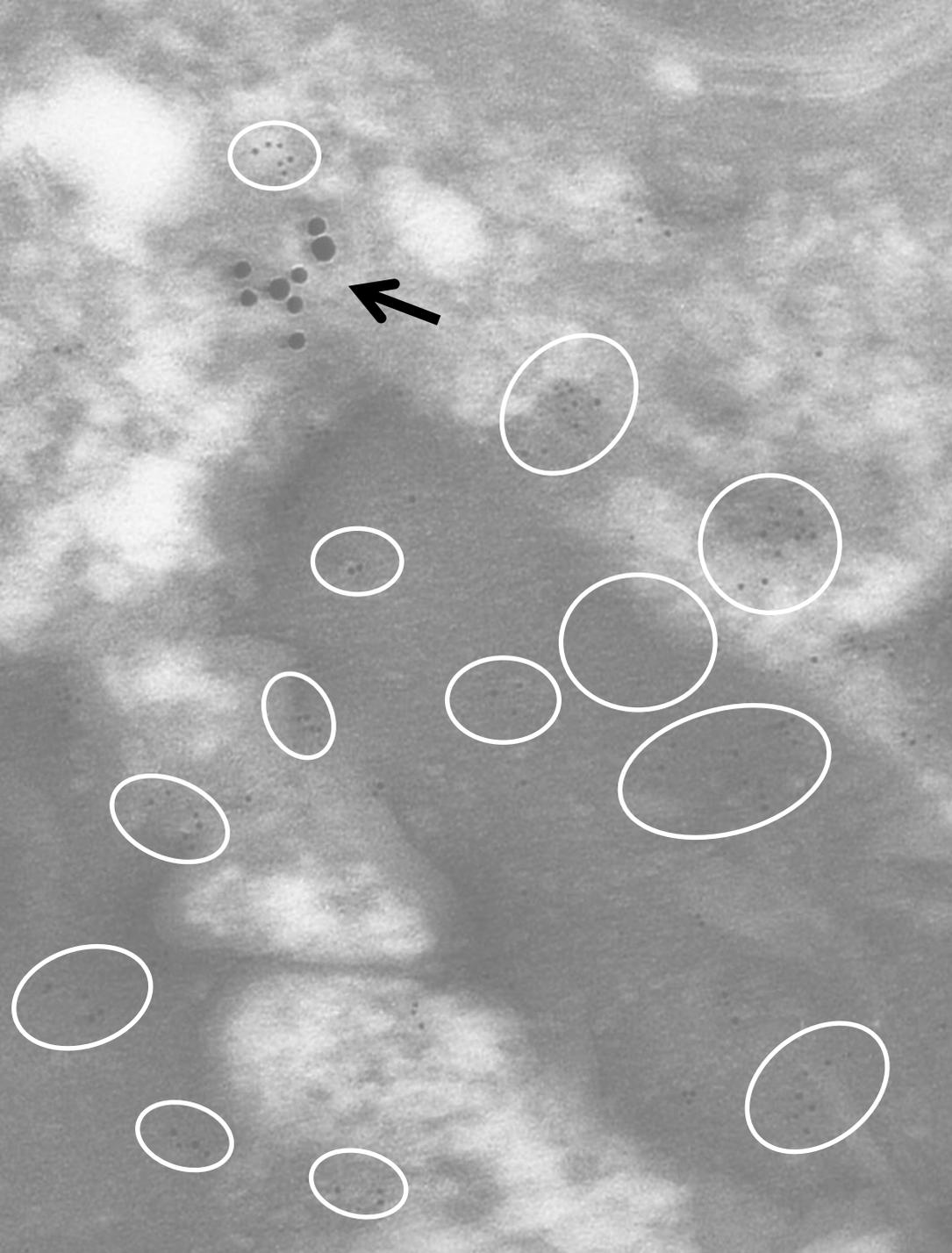
天然保湿因子

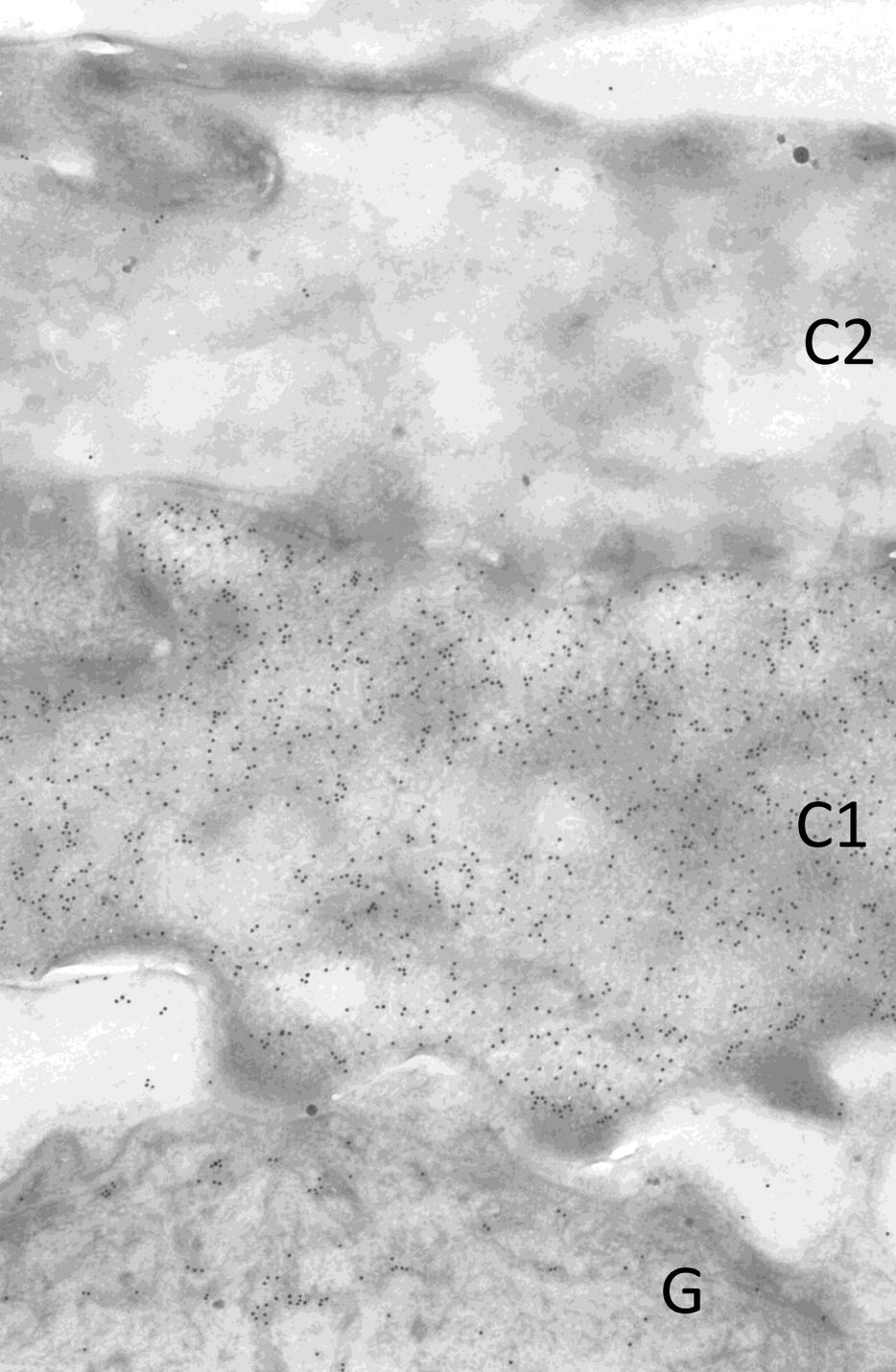
二次のタンパク分解
核内移行



核







C2

C1

G