

AMCoR

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

角化症研究会記録集 (2007.03) 21巻:61～65.

表皮層板顆粒をめぐる最近の知見

山本明美

特別講演

表皮層板顆粒をめぐる最近の知見

山本明美
旭川医科大学皮膚科学

Recent advances in epidermal lamellar granule research

Ishida-Yamamoto A
(Department of Dermatology, Asahikawa Medical College)

正常角化に必須の細胞内小器官である表皮層板顆粒について最近のわれわれの研究成果を中心に紹介する。

層板顆粒の実体

層板顆粒は通常の透過型電子顕微鏡下では表皮有棘細胞および顆粒細胞において観察される細胞質内の円形ないしは楕円形の顆粒としてとらえられる(写真1)。しかし特に顆粒細胞が角層細胞に面する細胞膜直下には数個の層板顆粒がつながった状態がしばしば観察されるので、顆粒内容の放出に際しては細胞質内で複数の顆粒が癒合して分岐状あるいは網状構造をとるとも考えられている¹⁾。われわれは層板顆粒の細胞内での分布、形状をより良く把握するために、層板顆粒分子に対する抗体を用いた免疫電顕を施行した。その結果、post-embedding法を用いると層板顆粒は通常透過電顕像と同様に孤立性の卵円形顆粒として観察されたが(写真2左)、生体膜の観察によ

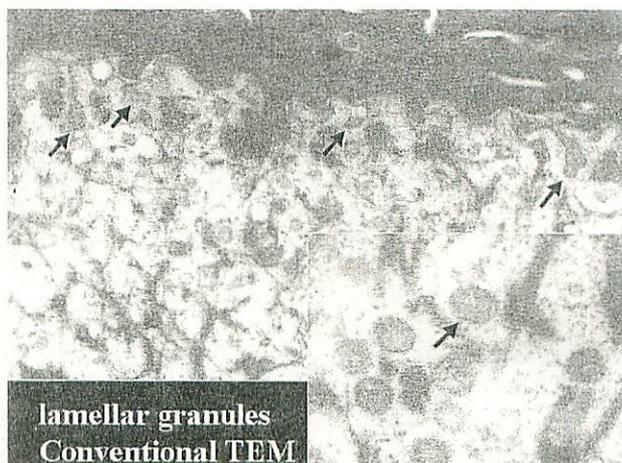


写真1-通常の透過電顕で得られる層板顆粒の微細構造

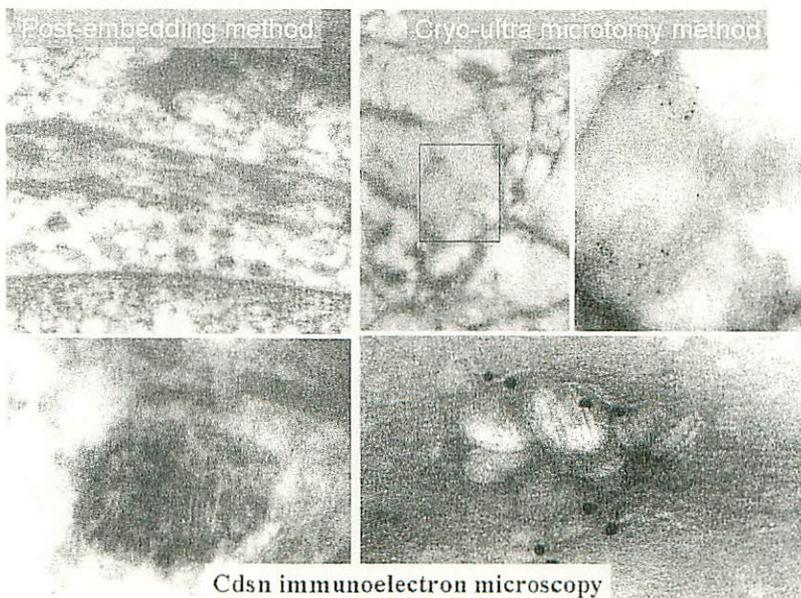


写真2-コルネオデスモシン(Cdsn)の免疫電顕像

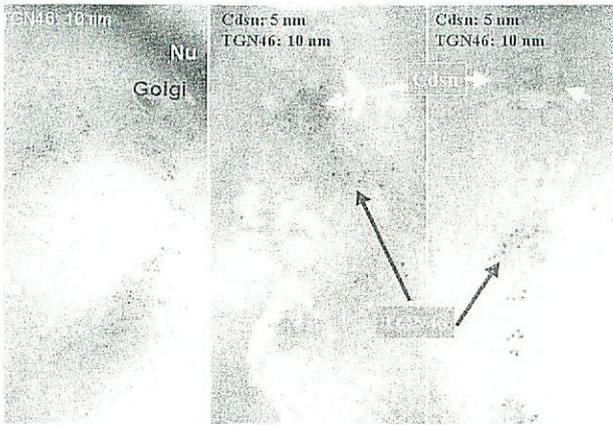


写真3-凍結超薄切片法によるTGNマーカーTGN46と層板顆粒分子Cdsnの二重染色

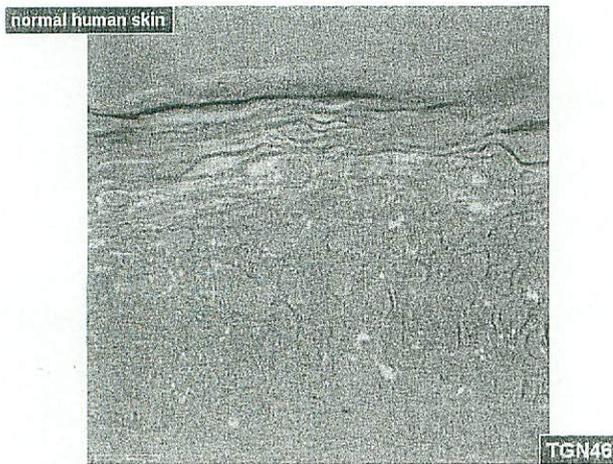


写真4-正常ヒト表皮におけるTGN46の発現。蛍光抗体法

り適した凍結超薄切片法を用いると層板顆粒同士はつながって網目状構造をとっている像が観察された(写真2右)²⁾。

層板顆粒の起源についてはtrans-Golgi network (TGN) から生じてくるという見解が主流である¹⁾。これを確かめるためにTGNのマーカーであるTGN46に対する抗体を用いた免疫電顕法を施行すると、TGN46陽性の管状構造の先端に、層板顆粒分子に対する抗体陽性の構造が生じていることが確かめられた(写真3)²⁾。TGNはゴルジ小体のトランス側にみられる網状構造であるが、細胞の種類によってはその発達度合いに大きな差がある。表皮角化細胞のTGNの発達度合いについてはこれまでよく知られていなかった。TGN46抗体を用いて表皮を染めると、基底細胞と有棘細胞では核周囲に陽性構造がみられるが、顆粒細胞では細胞質内に広く陽性構造が認められる(写真4)。培養表皮角化細胞において、分化段階とTGNの発達度合いの関連をみるために、培地のカルシウム濃度をかえてTGN46陽性構造の変化を観察した。低カルシウムの単層の細胞では核周囲にTGN46陽性構造が局限している

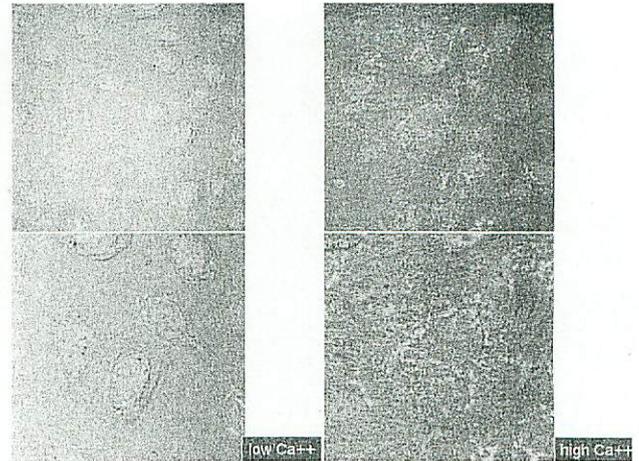


写真5-培養正常ヒト角化細胞 TGN46染色。蛍光抗体法。低カルシウム培地での単層培養(左)と高カルシウム培地で重層化させたのちの表皮の細胞(右)

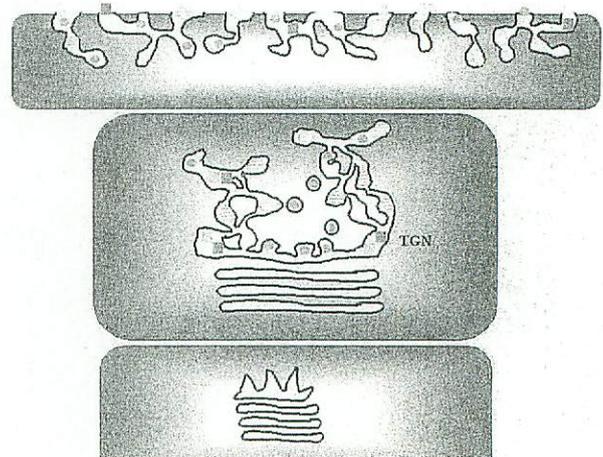


図1-表皮におけるTGNと層板顆粒の関係の模式図

のに比し、高カルシウムの培地に変えて重層化させた後では、シャーレの底面に接する細胞では低カルシウム単層細胞と同様であったが、上層に移行するにつれて細胞質が広がるとともにTGN46陽性構造が網状に拡大することが示された(写真5)。したがって、表皮角化細胞は分化とともにTGNを発達させ、そこから多数の層板顆粒分子を産生し、顆粒を管状の構造内に蓄積し、角質細胞になるときに、これらを短時間に細胞外へと分泌するのに備えているととらえられる(図1)。

新規層板顆粒分子

次にわれわれが、最近同定した新しい層板顆粒分子を紹介する。1つはNetherton症候群の原因遺伝子のSPINK5がコードするセリンプロテアーゼインヒビターであるLEKTIである³⁾。角化細胞の分化の過程で、LEKTIはその標的であるカリクレインとともに層板顆粒に蓄積されるが(写真6)、後者よりもやや早く発現し、放出される像が

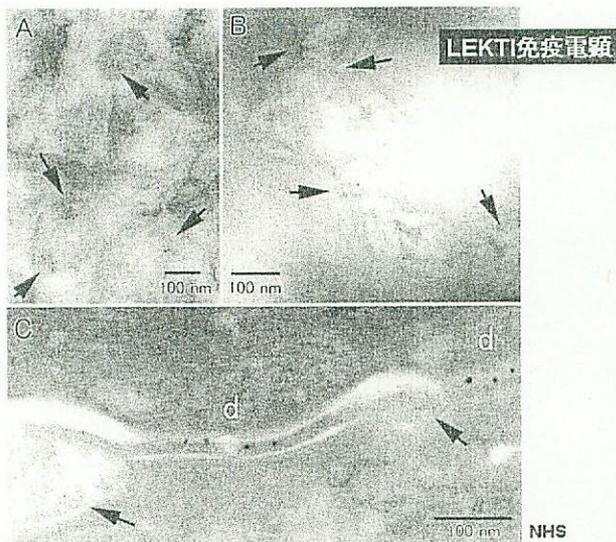


写真6-LEKTIの免疫電顕像
A, post-embedding法。B, C, 凍結超薄切片法。Cはdで示すデスマゾームに局在するデスマグレイン1との二重染色

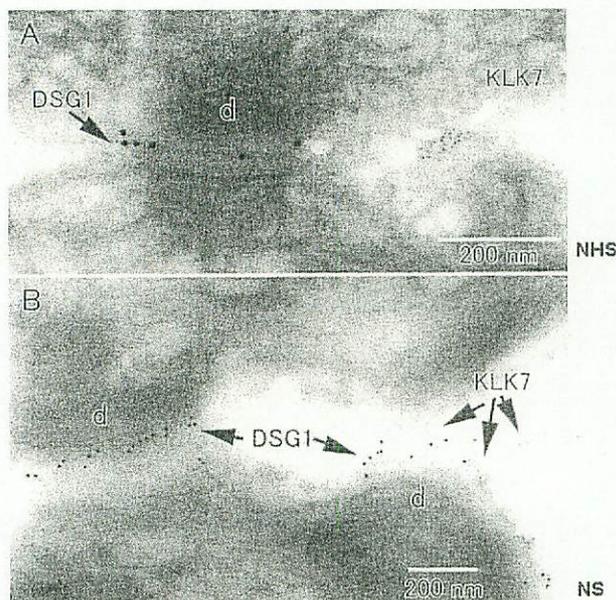
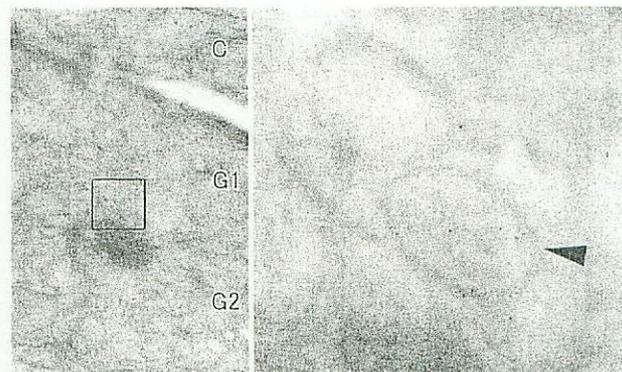


写真7-免疫電顕像
カリクレイン7(KLK7)とデスマグレイン1(DSG1)の二重染色。正常コントロール(上)とNetherton症候群(下)表皮

とらえられた。さらにNetherton症候群ではカリクレインの放出時期に一致してデスマゾームの早期剥離像が認められた(写真7)。

次はシステインプロテアーゼであるカテプシンVとそのインヒビターであるシスタチンM/Eとともに層板顆粒分子であることがわかった(写真8, 9)⁴⁾。興味深いことに細胞外に分泌されたのち、両者は角層細胞のデスマゾーム部分で共局在していた。またマウスではカテプシンLがヒトのカテプシンVに相当すると考えられているが、この欠損マウスでは脱毛や角質肥厚をきたすことが知られ



Cathepsin V IEM post-embedding
NHS

写真8-カテプシンVの免疫電顕像
C, 角層。G1, G2, 顆粒層の上から1層目, 2層目の細胞。左図の四角で囲った部分を右に拡大して示す。矢印で示すように層板顆粒内に陽性である



Cystatin M/E is localized in Lamellar Granules

Normal Human Skin
Post-embedding IEM

写真9-シスタチンM/Eの免疫電顕像
矢印で示す層板顆粒内に陽性である

ている。シスタチンM/Eの欠損マウスでは道化師様魚鱗癬に似た表現形がみられることも知られており、これら新規の層板顆粒分子の異常がヒトの角化症や毛髪の変異症の一因である可能性も考えられよう。

層板顆粒の異常症

層板顆粒の異常がみられる疾患としては2005年にAkiyamaらが脂質のトランスポーターであるABCA12が層板顆粒にグルコシルセラミドを取り込ませること、またその変異によって道化師様魚鱗癬や非水疱型先天性魚鱗癬様紅皮症が生じることを明らかにした⁵⁾。

一方、われわれは神経症状と角化異常症を示す新しい疾患を発見し、これが細胞内小胞輸送に参与する分子SNAP29の変異によることを明らかにした⁶⁾。本症は、主要な症状の頭文字からCEDNIK (Cerebral Dysgenesis, Neuropathy, Ichthyosis, and Palmoplantar Keratoderma) 症候群と命名された。すなわち生後4ヵ月以内に成長障害が明らか

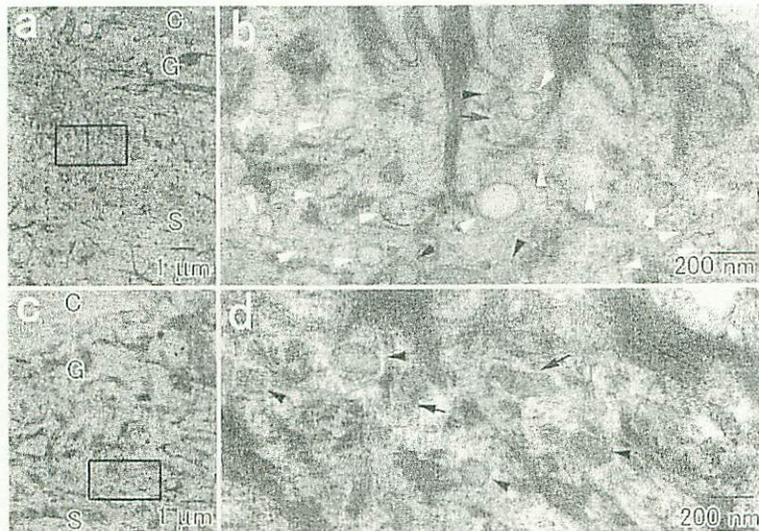


写真10-CEDNIK症候群患者皮膚(上)と正常皮膚(下)における層板顆粒(黒矢印)の電顕像
前者では多数の異常な細胞内小胞(白矢尻)が認められる

となり、小頭症、長い顔、逆蒙古症候群性瞼裂傾斜、眼隔離症、鞍鼻、大きな耳介といった顔貌の異常を示し、神経-眼科的異常としては、眼振、視神経円板の低形成、体幹の筋緊張低下、深部腱反射消失、精神運動発達遅延がみられる。また、生後5ないし11ヵ月から魚鱗癬と掌蹠角化症がみられるようになる。まだイスラエルの2家系でしか発見されていないきわめて稀な疾患であるが、本症が今後広く認識されるにつれて、これまで原因不明とされていた神経皮膚症候群患者のなかに発見される可能性があるだろう。

さて、CEDNIK症候群の角化異常はどのような機序によるのであろうか。われわれはSNAP29が小胞輸送に関与しているのであれば、角化細胞の層板顆粒の輸送をつかさどっている可能性があると考えた。実際に患者表皮を電顕的に観察してみると、有棘層、顆粒層、角層において大きさがまちまちの、細胞内小胞が多数認められた(写真10)。内容は多くが空虚であったが、一部は層板構造を示していた。これらの小胞が異常な層板顆粒であるかどうかを検証するために層板顆粒分子であるグルコシルセラミド、カリクレイン5、カリクレイン7の抗体を用いて免疫電顕を施行すると、多くの小胞がこれらを含んでいることが明らかとなった。すなわち、CEDNIK症候群においては角層のバリア機能や剥離機構をつかさどる分子

を含む層板顆粒の細胞内輸送機構が、SNAP29分子の欠損によって損なわれた結果、角化異常が生じると結論された。本症はSNAPファミリー分子の異常によることが明らかにされた世界で初めての疾患である、という点でも重要な発見と思われる。

文献

- 1) Elias PM, Cullander C, Mauro T, et al : The secretory granular cell: the outermost granular cell as a specialized secretory cell. *J Invest Dermatol Symp Proc* 3 : 87-100, 1998
- 2) Ishida-Yamamoto A, Simon M, Kishibe M, et al : Epidermal lamellar granules transport different cargoes as distinct aggregates. *J Invest Dermatol* 122 : 1137-1144, 2004
- 3) Ishida-Yamamoto A, Deraison C, Bonnart C, et al : LEKT1 is localized in lamellar granules, separated from KLK5 and KLK7, and is secreted in the extracellular spaces of the superficial stratum granulosum. *J Invest Dermatol* 124 : 360-366, 2005
- 4) Zeeuwen PL, Ishida-Yamamoto A, van Vlijmen-Willems IM, et al : Colocalization of Cystatin M/E and Cathepsin V in Lamellar Granules and Corneodesmosomes Suggests a Functional Role in Epidermal Differentiation. *J Invest Dermatol* 127 : 120-128, 2007
- 5) Akiyama M, Sugiyama-Nakagiri Y, Sakai K, et al : Mutations in lipid transporter ABCA12 in harlequin ichthyosis and functional recovery by corrective gene transfer. *J Clin Invest* 115 : 1777-1784, 2005
- 6) Sprecher E, Ishida-Yamamoto A, Mizrahi-Koren M, et al : A mutation in SNAP29, coding for a SNARE protein involved in intracellular trafficking, causes a novel neurocutaneous syndrome characterized by cerebral dysgenesis, neuropathy, ichthyosis, and palmoplantar keratoderma. *Am J Hum Genet* 77 : 242-251, 2005

DISCUSSION

石橋 先生はすでになさっていらっしゃるかもしれませんが、層板顆粒に含まれて自然免疫の抗菌ペプチドであるカテリ

シジンやβデフェンシンが出てきますね。アトピー性皮膚炎ではβデフェンシンの機能が落ちているというデータがあります。

そのあたりのことをアトピー性皮膚炎と正常で免疫電顕によってその違いを証明され、お話の中に追加していただければ大変

よろしいのではないかと感じました。

北島 前から聞こうと思っていましたが、先生のまとめの図で、レクチン1とカリクレイン7とコルネオデスモシンが順番に出てくるように言われ、時間的に早い遅いと言われました。そうした表現は誤解が生じるのではないかと思います。というのは、出てくるのは同時なはずで、場所的にレクチンが出口に近いところ、カリクレイン7がそのちょっと奥、コルネオデスモシンが一番奥と3つに分かれた写真がありましたが、あれはたまたまああいうふう撮れるだけで、出口は3種類のミックス、次は2種類のミックス、奥が1種類であるべきだと思います。

そうした写真を1枚も出されないということは、もしそれが見られなかったら、チューブがつながってああいうふうに出ていくのではなく、チューブが切れて、3つが別々に出ていく可能性もありえます。出ていくときに、全部同時の所見があったのか、なかったのか、質問したいのです。表面から近いところ、その次、一番奥と場所的に違う部位で分泌するけれども、継続的に動いているので、時間的には分泌は同時のはずです。ですから、時間的に早い遅いと言われると混乱しますが、もし本当に早く出るのだったら、別のシステムを取らないといけないと思います。

山本 層板顆粒の分泌のスピードがどれくらいかというのはわからないのです。

北島 3種類がミックスした写真があるはずですが、もしそれがないとするとミックスしないことになるから、別々になっている。

山本 免疫電顕の写真はある一瞬の断面ですから、経時的な変化はわかりません。

北島 いつもああいうふうな写真しか撮れないのなら、パルスで出ていることになりませんか。同時に3カ所がパッパッパッと出て、しばらく休んで、全部出ていったら、もう1回パッパッパッと出る。そうするとレクチンが最初に出て、カリクレイン7が次に出て、コルネオデスモシンが出る。でも、継続的にいっていたら、出口ではいつも3種類ミックスで出ていることになりますね。だから、電顕では3種類の

ミックスの写真もあるのかと思いました。

山本 マウスとラビットの抗体しか使っていないので、三重染色はできないのです。北島 では、最後のコルネオデスモシンだったら、奥から外まで続いているとおかしいですね。

山本 私の想像では細胞の中で網目状につながっていると思いますが、観察できるのは一部の断面で、幸運だったら2個ぐらいの異なる成分の顆粒が数珠状になったところが観察されます。多数のものが本当に連続しているという像はわかりません。

北島 先生の写真で3種類ミックスした小胞が上のほうで見られないなら、つながっているというのが間違っていて、先生のデータからいくとばらばらにあるのが正しいのではないかと思います。難しい問題だと思いますが、サンゴみたいに出ている図を見たときに、それもありうるかと思いました。先生の写真を見せてもらったときも、最初はそれでいいかと思いました。しかし、3種類ミックスの写真を一度も出されないで、サンゴ状になっているのではなく、ばらばらにあるのが正しいのか。そこはどうなのでしょう。

山本 そのお答えになるかどうかわかりませんが、II型肺胞上皮細胞にも層板顆粒がありますが、あれは別々の顆粒です。だから、もしかしたら数珠状ではなく、別々の顆粒であってもいいのかなという迷いはありますので、別の方法を用いて検証したいと思っています。

川田 カテプシンVとシスタチンM/Eのことでお聞きしたいのですが、シスタチンM/Eのところではone chain of cathepsin Lと書いてありましたが、あれはsingle chainのことですか。

山本 はい。

川田 私がラットの皮膚でカテプシンをやったとき、肝臓はすぐtwo chainになりますが、皮膚はsingle chainで留まっています。それはたぶんシスタチンM/Eが皮膚にもあって、それがsingle chainに止めているのだと思いました。

カテプシンVがデスモソームに関連してある。そうするとカテプシンVが活性化したときに、どういう機能が予想されるか、先生のお考えをお聞かせください。

山本 カテプシンVはデスモコリンとコルネオデスモシンを分解する働きがあると推定されていると思います。

川田 病気では何か動きがありますか。

山本 ヒトの皮膚病とのはっきりとした関連は報告されていないと思います。

山西 層板顆粒がチューブ状であるかどうかに関して、先ほど共焦点のデータを出されたと思います。それを下から上に見ていくとチューブ状には見えませんが、ああいう方法では出てこないのですか。

山本 想像では、全体としてはチューブ状だけれども、チューブの中でカテプシンがあったり、シスタチンがあったりと途切れ途切れになっているので、単一の分子だけを見たのではなかなかチューブ状には見えない。しかし、豊富に発現しているものに限って言えば、水平断面でも数珠状になった像が観察されています。今回は報告が間に合いませんでしたが、また別の機会に報告させていただきます。

山西 分泌されたプロテアーゼやプロテアーゼインヒビターが角層間でどのように局在しているのか。細胞間には脂質ラメラ構造がありますが、蛋白はどこにあるとお考えでしょうか。細胞側にあるのでしょうか。

山本 それは不思議ですよ。隙間なく並んでいる脂質ラメラ構造の間にあるようにも思えない。少なくともデスモソームに局在していたシスタチンM/EやカテプシンVについてはそこにあるのだろうけれども、それ以外のものについてはわかりません。ルテニウムなどを固定化して、ラメラ構造がよく見られるような方法で免疫電顕ができればいいのですが、それでは抗体が使えなくなるので、その固定液も使えない。もっといい方法があれば、きれいな脂質ラメラ構造とプロテアーゼ、あるいはインヒビターの局在が比べられていいと思いますが、そういう方法がわからないので、やっていません。

山西 また新しい方法を開発してください。

北島 いまの山西先生の質問にも関係しますが、細胞表面から層板顆粒がチューブ状に入っていたとして、深いところでデスモシンが吐き出すとすると、この部分がパッ

チ状に分かれて中で混ざらないとすれば、細胞膜と小胞と二重膜になっているのでしょうか。メラノサイトがメラノソームをケラチノサイトに入れるときは二重膜になっていますね。そのように二重膜になっていたら、別々にあって混ざらなくてもいいのですが、もし中身だけ吐き出していたら、すぐ拡散してもいいかなと思います。普通電顕ではそのあたりはどうなっているのでしょうか。

山本 少なくともカリクレインに関しては、最初の段階では膜のない、均一な小胞として固まって存在しています。

北島 吐き出したあとはどうですか。

山本 吐き出したあとは拡散します。

北島 チューブの中で膜がなくてもある程度固まっているわけですか。

山本 はい。

北島 層板顆粒がびっしり詰まっていると、層板がビシッと詰まっているように見えますが、それは連続性ではなく、小さなディスクがいっぱい入っている。そのディスクはバイレイヤーがこう来てUターンして、赤血球の中身がなくなってピタッとなったようなものが、ビシッと入っているのでしょうか。それともあの中はいっぱいになっていますか。免疫電顕では層板顆粒の中に酵素がトラップされているものはなかったですか。

山本 リピッドのディスクのところはリピッドディスクで固まっていて、それ以外にそれと接しているかたちでカリクレインのホモジニアスな小胞があるかたちです。

北島 そうすると1個の層板顆粒の中にディスクがあるところと、少し隙間があつて、コルネオデスモシンやカリクレインは小胞に入らないで自由に浮いてあるということですか。

山本 はい。

北島 層板顆粒の1枚の厚さは、リピッドのところは6nmぐらいですから、普通の蛋白粒子はその間は突き抜けてしまいますね。そうすると、吐き出したときに蛋白があれば、ディスクのラメラ構造は開いたり、歪んだりしますね。

山本 いろいろな角化異常症で脂質ラメラ構造が歪んでいることが報告されているので、そうしたときにはプロテアーゼなりがそこに固まっている可能性があるかと思えます。

高森 ベーシックなことですが、カテプシンにしても、カリクレインにしてもプロテアーゼが活性化しているわけですね。その活性化をレギュレーションしているのは、インヒビターもありますが、局所のpHも影響していると思います。そのあたりがどうなっているのか。また、プロテアーゼにはそれぞれサブストレートスペシフィシ

ティがありますが、カリクレインやカテプシンの場合は、どういう蛋白を分解しているのか、特異性があるのか、教えていただけますか。

山本 プロテアーゼについては先生のほうが詳しいと思いますが、pHについては、カリクレインSは中性、カテプシンVは酸性ですから、おそらく角層の上のほうの酸性になったところで働いているのがカテプシンVかなという感じを持っています。ただ直接私が調べたわけではなく、文献的な知識です。ターゲットについては、カリクレインはデスモグレイン1とコルネオデスモシンとデスモコリン1の3つについていわれていますし、カテプシンVはデスモコリン1とコルネオデスモシンについては認められていると思います。

座長—北島康雄
岐阜大学大学院医学系研究科皮膚病態学

石橋康正
東京通信病院名誉院長

川田 暁
近畿大学医学部皮膚科学

山西清文
兵庫医科大学皮膚科学

高森建二
順天堂大学医学部附属順天堂浦安病院皮膚科学

よろしいのではないかと感じました。北島 前から聞こうと思っていましたが、先生のまとめの図で、レクチン1とカリクレイン7とコルネオデスモンが順番に出てくるように言われ、時間的に早い遅いと言われました。そうした表現は誤解が生じるのではないかと思います。というのは、出てくるのは同時なはずで、場所的にレクチンが出口に近いところ、カリクレイン7がそのちょっと奥、コルネオデスモンが一番奥と3つに分かれた写真がありましたが、あれはたまたまああいうふう撮るだけで、出口は3種類のミックス、次は2種類のミックス、奥が1種類であるべきだと思います。

そうした写真を1枚も出されないということは、もしそれが見られなかったら、チューブがつながってああいうふうに出ていくのではなく、チューブが切れて、3つが別々に出ていく可能性もあります。出ていくときに、全部同時の所見があったのか、なかったのか、質問したいのです。表面から近いところ、その次、一番奥と場所的に違う部位で分泌するけれども、継続的に動いているので、時間的には分泌は同時のはずです。ですから、時間的に早い遅いと言われると混乱しますが、もし本当に早く出るのだったら、別のシステムを取らないといけなと思います。

山本 層板顆粒の分泌のスピードがどれくらいかというのわからないのです。

北島 3種類がミックスした写真があるはずですが、もしそれがないとするとミックスしないことになるから、別々になっていく。

山本 免疫電顕の写真はある一瞬の断面ですから、経時的な変化はわかりませんね。

北島 いつもああいうふうな写真しか撮れないのなら、パルスで出ていることになりそうです。同時に3カ所がパッパッパッと出て、しばらく休んで、全部出ていったら、もう1回パッパッパッと出る。そうするとレクチンが最初に出て、カリクレイン7が次に出て、コルネオデスモンが出る。でも、継続的にいっていたら、出口ではいつも3種類ミックスで出ていることになりますね。だから、電顕では3種類の

ミックスの写真もあるのかと思いました。山本 マウスとラビットの抗体しか使っていないので、三重染色はできないのです。

北島 では、最後のコルネオデスモンだったら、奥から外まで続いているとおかしいですね。

山本 私の想像では細胞の中で網目状につながっていると思いますが、観察できるのは一部の断面で、幸運だったら2個ぐらいの異なる成分の顆粒が数珠状になったところが観察されます。多数のものが本当に連続しているという像はわかりません。

北島 先生の写真で3種類ミックスした小胞が上のほうで見られないなら、つながっているというのが間違っていて、先生のデータからいくとばらばらにあるのが正しいのではないかと思います。難しい問題だと思いますが、サンゴみたくに出ている図を見たときに、それもありうるかと思いました。先生の写真を見せてもらったときも、最初はそれでいいかと思いました。しかし、3種類ミックスの写真を一度も出されないで、サンゴ状になっているのではなく、ばらばらにあるのが正しいのか。そこはどうなのでしょう。

山本 そのお答えになるかどうかわかりませんが、II型肺胞上皮細胞にも層板顆粒がありますが、あれは別々の顆粒です。だから、もしかしたら数珠状ではなく、別々の顆粒であってもいいのかなという迷いはありますので、別の方法を用いて検証したいと思っています。

川田 カテプシンVとシスタチンM/Eのことでお聞きしたいのですが、シスタチンM/Eのところではone chain of cathepsin Lと書いてありましたが、あれはsingle chainのことですか。

山本 はい。

川田 私がラットの皮膚でカテプシンをやったとき、肝臓はすぐtwo chainになりますが、皮膚はsingle chainで留まっています。それはたぶんシスタチンM/Eが皮膚にもあって、それがsingle chainに止めているのだと思いました。

カテプシンVがデスモソームに関連してある。そうするとカテプシンVが活性化したときに、どういう機能が予想されるか、先生のお考えをお聞かせください。

山本 カテプシンVはデスモコリンとコルネオデスモンを分解する働きがあると推定されていると思います。

川田 病気では何か動きがありますか。

山本 ヒトの皮膚病とのはっきりとした関連は報告されていないと思います。

山西 層板顆粒がチューブ状であるかどうかに関して、先ほど共焦点のデータを出されたと思います。それを下から上に見ていくとチューブ状には見えませんでした、ああいう方法では出てこないのですか。

山本 想像では、全体としてはチューブ状だけれども、チューブの中でカテプシンがあつたり、シスタチンがあつたりと途切れ途切れになっているので、単一の分子だけを見たのではなかなかチューブ状には見えない。しかし、豊富に発現しているものに限って言えば、水平断面でも数珠状になった像が観察されています。今回は報告が間に合いませんでしたが、また別の機会に報告させていただきます。

山西 分泌されたプロテアーゼやプロテアーゼインヒビターが角層間でどのように局在しているのか。細胞間には脂質ラメラ構造がありますが、蛋白はどこにあるとお考えでしょうか。細胞側にあるのでしょうか。

山本 それは不思議ですよ。隙間なく並んでいる脂質ラメラ構造の間にあるようにも思えない。少なくともデスモソームに局在していたシスタチンM/EやカテプシンVについてはそこにあるのだろうけれども、それ以外のものについてはわかりません。ルテニウムなどを固定化して、ラメラ構造がよく見られるような方法で免疫電顕ができればいいのですが、それでは抗体が使えなくなるので、その固定液も使えない。もっといい方法があれば、きれいな脂質ラメラ構造とプロテアーゼ、あるいはインヒビターの局在が比べられていいと思いますが、そういう方法がわからないので、やっていません。

山西 また新しい方法を開発してください。

北島 いまの山西先生の質問にも関係しますが、細胞表面から層板顆粒がチューブ状に入っていたとして、深いところでデスモンが吐き出すとすると、この部分がパッ

チ状に分かれて中で混ざらないとすれば、細胞膜と小胞と二重膜になっているのでしょうか。メラノサイトがメラノソームをケラチノサイトに入れるときは二重膜になっていますね。そのように二重膜になっていたら、別々にあって混ざらなくてもいいのですが、もし中身だけ吐き出していたら、すぐ拡散してもいいかなと思います。普通電顕ではそのあたりはどうなっているのでしょうか。

山本 少なくともカリクレインに関しては、最初の段階では膜のない、均一な小胞として固まって存在しています。

北島 吐き出したあとはどうですか。

山本 吐き出したあとは拡散します。

北島 チューブの中で膜がなくてもある程度固まっているわけですか。

山本 はい。

北島 層板顆粒がびっしり詰まっていると、層板がピシッと詰まっているように見えますが、それは連続性ではなく、小さなディスクがいっぱい入っている。そのディスクはバイレイヤーがこう来てUターンして、赤血球の中身がなくなってピタッとなったようなものが、ピシッと入っているのでしょうか。それともあの中はいっぱいになっていますか。免疫電顕では層板顆粒の中に酵素がトラップされているものはなかったですか。

山本 リピッドのディスクのところはリピッドディスクで固まっていて、それ以外にそれと接しているかたちでカリクレインのホモジニアスな小胞があるかたちです。

北島 そうすると1個の層板顆粒の中にディスクがあるところと、少し隙間があって、コルネオデスモシンやカリクレインは小胞に入らないで自由に浮いてあるということですか。

山本 はい。

北島 層板顆粒の1枚の厚さは、リピッドのところは6nmぐらいですから、普通の蛋白粒子はその間は突き抜けてしまいますね。そうすると、吐き出したときに蛋白があれば、ディスクのラメラ構造は開いたり、歪んだりしますね。

山本 いろいろな角化異常症で脂質ラメラ構造が歪んでいることが報告されているので、そうしたときにはプロテアーゼなりがそこに固まっている可能性があるかと思えます。

高森 ベーシックなことですが、カテプシンにしても、カリクレインにしてもプロテアーゼが活性化しているわけですね。その活性化をレギュレーションしているのは、インヒビターもありますが、局所のpHも影響していると思います。そのあたりがどうなっているのか。また、プロテアーゼにはそれぞれサブストレートスペシフィシ

ティがありますが、カリクレインやカテプシンの場合は、どういう蛋白を分解しているのか、特異性があるのか、教えていただけますか。

山本 プロテアーゼについては先生のほうが詳しいと思いますが、pHについては、カリクレイン5は中性、カテプシンVは酸性ですから、おそらく角層の上のほうの酸性になったところで働いているのがカテプシンVかなという感じを持っています。ただ直接私が調べたわけではなく、文献的な知識です。ターゲットについては、カリクレインはデスモグレイン1とコルネオデスモシンとデスモコリン1の3つについていわれていますし、カテプシンVはデスモコリン1とコルネオデスモシンについては認められていると思います。

座長—北島康雄
岐阜大学大学院医学系研究科皮膚病態学

石橋康正
東京通信病院名誉院長

川田 暁
近畿大学医学部皮膚科学

山西清文
兵庫医科大学皮膚科学

高森建二
順天堂大学医学部附属順天堂浦安病院皮膚科学