

AMCoR

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

現代医療 (1999.10) 31巻10号:2573～2577.

【フリーラジカルと疾患】
NOと皮膚疾患

飯塚一

NO と皮膚疾患

飯塚 一

旭川医科大学 皮膚科 (教授)

はじめに

不対電子を持つ分子や原子をフリーラジカルと呼ぶが、フリーラジカル的一种である一酸化窒素(NO)が、皮膚においても近年、注目されている。NOは、常温では無色、無臭の気体で、細胞膜を自由に通過できるが、急速に酸素、水と反応して、亜硝酸イオン(NO_2^-)、硝酸イオン(NO_3^-)になってしまい半減期が短いという特性がある。したがって、NOは産生された場所の近傍でしか働くことができず、血管内皮細胞と血管平滑筋の場合のように、原則としてNOの生成場所に隣接して標的細胞が存在するという特徴となって現れる。皮膚を構成する細胞は各種NO合成酵素(NO synthase; NOS)を持つが、産生されたNOがどのように皮膚の病態に関与するかについては、この急速な失活というNOの特性を考慮する必要がある。

NO合成酵素(NOS)

NOSとして、ほ乳類では少なくとも3種類が同定されている。脳(神経)型(nNOS; NOS I)、マクロファージ型(iNOS; NOS II)、内皮型(eNOS; NOS III)である。nNOS, eNOSは

構成的(constitutive)に発現しており、カルシウムの存在下で直ちに活性化される(cNOS)。一方、マクロファージ型は誘導性(inducible)でカルシウム非依存性に活性化を受ける(iNOS)。皮膚を構成する細胞には、これらの3種類のうち何らかのタイプのNOSが発現している(表1)。cNOSは原則として種々のアゴニストにより活性化され、比較的少量のNO産生を引き起こす。一方、iNOSは細菌性リポポリサッカライド(LPS)や種々のサイトカインによって新たに合成され、大量のNO産生に関与する。ただしcNOSであっても、血管内皮細胞に対するずり応力のように誘導がかかる場合もある。NOは大量に存在すると細胞毒性をもたらすため、iNOS由来のNOについては、細胞死の観点から解釈する必要がある。この場合、NOは、量の多さのゆえに半減期に逆らい、より遠隔作用を示す可能性がでてくる。

皮膚の血管系におけるNOとレイノー病

NOの生理的作用の最大のものは血管平滑筋に対するものである。皮膚の血管系においても、内皮細胞は各種刺激によりeNOSを介してNOを適宜パルス状に産生する。産生された

表 1. 皮膚に存在する NO 合成酵素(NOS)

	構成的 NOS (cNOS) eNOS/nNOS	誘導型 NOS (iNOS)
発現細胞	表皮細胞 (nNOS) 色素細胞 (nNOS) 線維芽細胞 (eNOS) 血管内皮細胞 (eNOS)	表皮細胞 ランゲルハンス細胞 線維芽細胞 血管内皮細胞 マクロファージ
活性化シグナル	カルシウム 紫外線照射	
誘導シグナル	紫外線照射 (表皮細胞) ずり応力 (内皮細胞)	サイトカイン (IL-8, IFN- γ , TNF- α , TNF- β), 細菌性リポポリサッカライド
標 的	可溶性グアニル酸シクラーゼ	ミトコンドリア呼吸鎖酵素群, 各種核酸合成酵素, ジンクフィンガー蛋白
NO 合成量	少量 (picomolar concentration)	大量 (nanomolar concentration)
推定機能	血管拡張, 局所血流調節, 紅斑形成, 神経シグナル?	免疫調節, 分化, 緊急時角化 (表皮細胞)

NO は近接する血管平滑筋細胞内へ拡散し, 平滑筋細胞内のグアニル酸シクラーゼを活性化する。cGMP の上昇は血管平滑筋の弛緩をもたらす。血流の増加が引き起こされる。

血管内皮細胞には, 常に血流によるずり応力が働いているが, 血管の狭窄性変化が起こると, 抵抗によりずり応力が増大する結果, eNOS が誘導され, NO 合成が進む。この結果, 平滑筋が弛緩し血流は改善される。皮膚の末梢血行不全を来す代表的な疾患としてレイノー病があるが, レイノー病においては, NO の合成が低下していると報告されている¹⁾。

紫外線照射と NO

中波長紫外線照射は, 24 時間から 48 時間続く皮膚の持続的な紅斑を引き起こす。紫外線照射は表皮細胞に働き, nNOS の持続的活性化をもたらす。NO を介して血流を充進させ, 紫外線照射後の紅斑に関与する²⁾。この場合, NO の産生部位である表皮細胞と, 標的部位である血管

平滑筋細胞の距離が比較的遠いため, その意義付けは困難である。紫外線照射に伴う紅斑はグルココルチコイドやシクロオキシゲナーゼ阻害薬の外用で抑制されることから, 紫外線照射後の血流充進には, むしろホスホリパーゼ A₂ とシクロオキシゲナーゼを介するプロスタグランジンの関与が大きいと推定される。さらに紫外線照射は表皮細胞の nNOS を活性化し, NO が表皮基底細胞層に存在する色素細胞に拡散し, cGMP 依存性に色素沈着を起こすことが報告されている³⁾。

一方, 表皮細胞における NOS の持続的活性化は, 表皮細胞そのものに傷害をもたらしている可能性がある。紫外線照射により, 日焼け細胞 sunburn cell と呼ばれる異常角化細胞が現れるが, これに NO の細胞傷害が関与しているという考え方である。ただし, 紫外線照射において NO 単独で細胞死が起こる訳ではなく, このほかに, Fas や p53 を介する経路が, より重要であろうと考えられている^{4,5)}。

創傷治癒と NO

真皮線維芽細胞には、eNOS と iNOS のいずれも同定されており、NO 産生活性を持つ⁶⁾。NO は線維芽細胞の増殖を抑えるため、創傷における NO の抑制的関与が想定され、創傷治癒に際しての線維芽細胞の過剰増殖を抑えているものと考えられている。事実、肥厚性癬痕の線維芽細胞では NO 合成は抑制されている。

免疫系に対する働き

ランゲルハンス細胞は、表皮内に存在するマクロファージ系の免疫担当細胞である。樹枝状突起を持ち、リンパ球に対し抗原提示作用を示す。マクロファージは、細菌性 LPS 刺激や interleukin-8 (IL-8)、interferon- γ (IFN- γ)、tumor necrosis factor- α (TNF- α)、TNF- β といったサイトカイン刺激により活性化を受け、iNOS を強く発現することが知られている。その結果、産生された大量の NO は、結核菌その他の細菌やウイルスの増殖を抑える。ランゲルハンス細胞においても同様に、LPS と IFN- γ 存在下で iNOS が誘導され、大量の NO が産生される⁷⁾。

ランゲルハンス細胞はマクロファージと比べ、食菌作用があまり強くないため、ランゲルハンス細胞における NO の機能については、あまりよく分かっていない。おそらく T 細胞に対する、抗原提示に何らかの役割を果たすという推定がなされるのみである。一方、NO は、IFN- γ を産生する Th1 を抑制するため、IFN- γ 依存性の iNOS を介する NO 産生系は、最終的に iNOS 産生を抑えるというネガティブフィードバック機構が想定される。

乾癬と NO

乾癬は皮膚の炎症性角化異常症の代表疾患である。乾癬においては、表皮細胞増殖の亢進、急速な角化(細胞死)、および真皮の血流亢進が

認められる^{8,9)}。とくに血流に関しては、正常の 10 倍もの血流亢進が認められ、血管の増生と並び、特徴的な所見となっている。注目すべきことは、乾癬表皮細胞では iNOS の発現が亢進しており大量の NO 産生が想定されることである¹⁰⁾。一方、アトピー性皮膚炎や正常の表皮細胞では iNOS の発現は事実上認められていない。in situ hybridization 法による解析では、表皮細胞の iNOS mRNA は、IL-8 受容体 mRNA とおおむね同一部位に存在しており、IL-8 に依存した iNOS の誘導が想定される。事実、表皮細胞培養系において IL-8 と IFN- γ の両者を培養液中に加えると表皮細胞の iNOS が誘導される¹⁰⁾。乾癬においては IL-8 と IFN- γ は病変部でいずれも上昇しており、とくに前者は乾癬でみられる好中球の表皮内浸潤に関与する。また乾癬の浸潤リンパ球は Th1 型のサイトカインプロフィールを有し、IFN- γ を大量に産生する。NO は、上述したように Th1 を抑制するため、IL-8 と IFN- γ により誘導された iNOS は、今度は NO を介して Th1 を抑える負の制御をもたらす。このほか表皮細胞の培養系では、TNF- α と IL-1 β の組み合わせでも iNOS の誘導が起こるが、乾癬病変部ではこれらのサイトカインも上昇している。

誘導された iNOS は大量の NO を産生し、これが乾癬でみられる血流亢進に関与している可能性は大いにある。乾癬においては、血管は正常と比べ表皮に比較的近接して存在しているし⁹⁾、何よりも iNOS 由来の大量の NO は、短い半減期に打ち勝って真皮に拡散し、血管平滑筋に働き得ることが想定されるからである。

表皮細胞で産生された iNOS 由来の大量の NO は、表皮細胞に対する傷害をもたらす。表皮細胞は急速に角化-細胞死の方向に向かう。これは乾癬でみられる表皮ターンオーバー時間の短縮を説明する。乾癬では正常と比べターンオーバー時間が 1/7 から 1/10 に短縮しているが、表皮ターンオーバー時間とは、個々の表皮

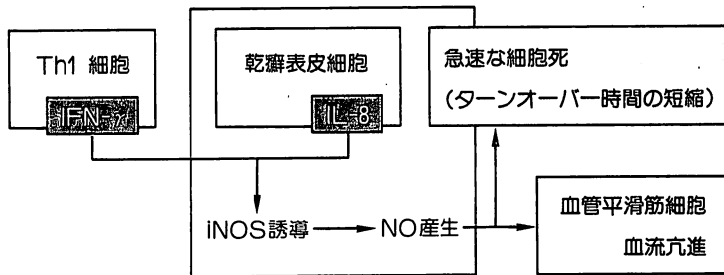


図 1. 乾癬における NO

乾癬表皮細胞では interleukin-8 (IL-8) が上昇し、病変部に浸潤している Th1 細胞由来の interferon- γ (IFN- γ) との相互作用のもとに iNOS が誘導される。iNOS は大量の NO を産生し、NO は乾癬で見られる血管拡張と急速な角化(細胞死)を説明する。ただし、NO では乾癬における表皮細胞増殖は説明できないことに注意。

細胞にとっては分裂から終末角化(細胞死)に至るまでの持ち時間にほかならない。乾癬表皮では急速な細胞分裂と急速な細胞死の両者が起きており、この二つが動的平衡状態を保っている系とみなされる。iNOS 由来の NO は、このように乾癬の血管拡張のほか、表皮細胞に対する傷害活性を示し、乾癬の病態に関与する(図 1)。

おわりに

皮膚においても、フリーラジカルの一つである NO は近年、注目を集めている。NO は基本的に血管平滑筋に働き、血管のトーンを下げる、血流を改善させる因子であるが、このほか表皮細胞、色素細胞、線維芽細胞、免疫系など数多くの細胞に働き、多彩な作用を発揮する。iNOS により産生された大量の NO が、標的細胞に対して、傷害、致死的な作用を発揮するという一方は、皮膚においても基本的には正しいのだが、表皮細胞においては、細胞死そのものが角化と往々にして連動しており、細胞傷害活性と分化誘導作用の分離が難しく、解釈がしばしば困難である。創傷治癒における NO による線維芽細胞の過剰増殖の抑制も、いわゆる

NO の細胞傷害作用が、必ずしも生体にとって不利でないことを支持している。

本稿では、誌面の都合で NO に焦点を絞り、活性酸素や SOD については触れていない。各々、文献を参照していただきたい¹¹⁻¹³⁾。近年、NO が、活性酸素(superoxide)と相互作用し、ペルオキシ亜硝酸(peroxynitrite)を作り、脂質や蛋白の過酸化(oxidation)を起こすことが知られるようになり¹⁴⁾、その意味で NOS と SOD のクロストーク(鈴木らの稿参照)は、皮膚においても重要な検討課題である。いずれにしても皮膚におけるフリーラジカルの研究は、ようやく始まったばかりであり、とくに皮膚疾患の病態との関連についてはほとんど知られておらず、今後の研究が期待される。

文 献

- 1) Anggard E: Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine. *Lancet* 343: 1199, 1994.
- 2) Delinconstantinos G *et al*: Release by ultraviolet B radiation of nitric oxide (NO) from human keratinocytes: a potential role for nitric oxide in erythema formation. *Br J Pharmacol* 114: 1257, 1995.

- 3) Romero-Graillet C *et al* : Nitric oxide produced by ultraviolet-irradiated keratinocytes stimulates melanogenesis. *J Clin Invest* **99** : 635, 1997.
- 4) Aragane Y *et al* : Ultraviolet light induces apoptosis via direct activation of CD95 (Fas/Apo-1) independently of its ligand CD95L. *J Cell Biol* **140** : 171, 1998.
- 5) Kawagishi N *et al* : Epidermal cell kinetics of pig skin in vivo following UVB irradiation : apoptosis induced by UVB is enhanced in hyperproliferative skin condition. *J Dermatol Sci* **18** : 43, 1998.
- 6) Wang R *et al* : Nitric oxide synthase expression and nitric oxide production are reduced in hypertrophic scar tissue and fibroblasts. *J Invest Dermatol* **108** : 438, 1997.
- 7) Qureshi AA *et al* : Langerhans cells express inducible nitric oxide synthase and produce nitric oxide. *J Invest Dermatol* **107** : 815, 1996.
- 8) Iizuka H *et al* : Epidermal remodelling in psoriasis. *Br J Dermatol* **135** : 433, 1996.
- 9) Iizuka H *et al* : Epidermal remodeling in psoriasis : a quantitative analysis of the epidermal architecture. *J Invest Dermatol* **109** : 806, 1997.
- 10) Bruch-Gerharz D *et al* : A proinflammatory activity of interleukin 8 in human skin : expression of the inducible nitric oxide synthase in psoriatic lesions and cultured keratinocytes. *J Exp Med* **184** : 2007, 1996.
- 11) 飯塚 一ほか : アポトーシスからみた乾癬. *日本皮膚科学会雑誌* **108** : 1558, 1998.
- 12) 飯塚 一ほか : 表皮細胞増殖とSOD. *活性酸素フリーラジカル* **3** : 313, 1992.
- 13) 飯塚 一 : SODと皮膚疾患「活性酸素の臨床への展望」谷口直之編, 101頁, 医薬ジャーナル社, 大坂, 1994.
- 14) Kroencke KD *et al* : Nitric oxide : cytotoxicity versus cytoprotection. *Nitric Oxide* **1** : 107, 1997.