

乾癬表皮における cornified cell envelope
形成機構の研究

(研究課題番号：06454312)

平成6年度科学研究費補助金 一般研究B
—研究成果報告書—



平成8年2月

研究代表者 飯塚 一
(旭川医科大学医学部皮膚科)

乾癬表皮におけるcornified cell envelope形成機構の研究

(研究課題番号06454312)

平成6年度科学研究費補助金(一般-B)研究成果報告書

平成8年2月

研究代表者 飯塚 一

(旭川医科大学医学部皮膚科)

はしがき

cornified cell envelopeは表皮角質細胞における最も強靱な細胞膜裏打ち構造であり、終末角化に際しtransglutaminaseの活性化にともない急速に形成される。このcornified cell envelopeの前駆タンパクは多数知られているが、正常表皮ではロリクリンが主体をなす。一方、細胞増殖の亢進した乾癬表皮ではcornified cell envelopeの組成は相当異なっており、インボルクリンやシスタチン α , spr(small proline-rich protein)といったタンパクの比率が高い。われわれは以前から乾癬表皮における情報伝達系の変動を検討しており、protein kinase Cの活性化シグナルと乾癬表皮の類似性を示してきた(Iizuka et al: J Invest Dermatol 93: 387-391, 1989; Iizuka et al: Biochim Biophys Acta 1093: 95-101, 1991)。その過程でいくつかのcornified cell envelope構成タンパクの発現がAP-1を介するprotein kinase C依存性制御機構により支配されていることが明らかになった(Takahashi, Iizuka: J Invest Dermatol 100: 10-15, 1993)。protein kinase Cはtumor promoterであるTPA (tetradecanoylphorbolacetate)の標的酵素であることがすでに示されており、我々の結果は古くから知られたTPAによる角化の亢進を説明する根拠となっている。本研究においては乾癬表皮と正常表皮のcornified cell envelope構成タンパクの変動を免疫電顕を用いて検討し、乾癬におけるcornified cell envelopeの形成の異常を解析した。またcornified cell envelope構成タンパクの変動がmRNAレベルの変動と連動したものであるかどうかをRT-PCR法により検討した。対象としたタンパクとしては主にインボルクリンとロリクリンがあげられる。前者はcornified cell envelopeの形成において早期に、後者は後期に組み入れられるタンパクである。さらに、われわれはこれらcornified cell envelope形成の変動メカニズムをターンオーバー時間の短縮という観点から検討を加え、乾癬における表皮のリモデリングという概念について考察した。

研究組織

研究代表者：	飯塚 一	(旭川医科大学医学部皮膚科)
研究分担者：	山本 明美	(旭川医科大学医学部皮膚科)
研究分担者：	高橋 英俊	(旭川医科大学医学部皮膚科)

研究経費

平成6年度	6 8 0 0千円
平成7年度	7 0 0千円
計	7 5 0 0千円

研究発表

1. Iizuka H: Epidermal turnover time. *J Dermatol Sci* 8: 215-217, 1994
2. Tsutsui M, Tamura T, Takahashi H, Hashimoto Y, Iizuka H: Stimulatory guanine nucleotide binding protein in pig epidermis: transient increase of the 45KDa cholera toxin substrate (Gs- α) in the tape stripping-induced hyperproliferative epidermis. *Epi Cell Biol* 3: 161-167, 1994
3. Ishida-Yamamoto A, Iizuka H: Differences in involucrin immunolabeling within cornified cell envelopes in normal and psoriatic epidermis. *J Invest Dermatol* 104: 391-395, 1995
4. Takagi A, Iizuka H: UVB-induced calmodulin increase in pig epidermis: analysis of the effect of the calmodulin antagonist, W-13. *Arch Dermatol Res* 287: 326-332, 1995
5. Hashimoto Y, Tsutsui M, Matsuo S, Iizuka H: Flow cytometric analysis of pig epidermal keratinocytes: effects of ultraviolet B irradiation (UVB) and topical PUVA treatment. *J Dermatol Sci* 10: 16-24, 1995
6. Ishida-Yamamoto A, Iizuka H, Manabe M, O'Guin WM, Hohl D, Kartasova T, Kuroki T, Roop DR, Eady RAJ: Altered distribution of keratinization markers in epidermolytic hyperkeratosis. *Arch Dermatol Res* 287: 705-711, 1995
7. Takahashi H, Kobayashi H, Matsuo S, Iizuka H: Repression of involucrin gene expression by transcriptional enhancer factor (TEF)-1. *Arch Dermatol Res* 287: 740-746, 1995
8. Hashimoto Y, Tsutsui M, Matsuo S, Iizuka S, Iizuka H: Topical tacalcitol (1,24-(R)-dihydroxyvitamin D3) induces a transient increase in thymidine incorporation and calmodulin content in pig epidermis following tape stripping in vivo. *J Dermatol Sci* 10: 196-202, 1995
9. Iizuka H: Epidermal architecture that depends on turnover time. *J Dermatol Sci* 10: 220-223, 1995
10. Takahashi H, Kobayashi H, Hashimoto Y, Matsuo S, Iizuka H: Interferon- γ -dependent stimulation of Fas antigen in SV40-transformed human keratinocytes: modulation of the apoptotic process by protein kinase C. *J Invest Dermatol* 105: 810-815, 1995
11. Iizuka H, Takahashi H, Ishida-Yamamoto A, Hashimoto Y: Lack of evidence for adenylate cyclase-modulation of normal pig epidermis by activators of epidermal phospholipase C. *Epi Cell Biol* 4: 35-41, 1995
12. Tamura T, Takahashi H, Iizuka H: Protein kinase C-dependent modulation of stimulatory guanine nucleotide binding protein of fetal rat skin keratinocytes. *Arch Dermatol Res* (in press)
13. Takahashi H, Tamura T, Iizuka H: 1,25-Dihydroxyvitamin D3 increased beta-adrenergic adenylate cyclase response of fetal rat keratinizing epidermal cells (FRSK cells). *J Dermatol Sci* 11: 121-128, 1996
14. Ishida-Yamamoto A, Eady RAJ, Watt FM, Roop DR, Hohl D, Iizuka H: Immunoelectron microscopic analysis of cornified cell envelope formation in normal and psoriatic epidermis. *J Histochem Cytochem* (in press)
15. Takahashi H, Kinouchi M, Tamura T, Iizuka H: Decreased beta2-adrenergic receptor-, loricrin-, and increased involucrin-mRNA transcripts in psoriatic involved versus uninvolved epidermis: analyses by reverse transcription-polymerase chain reaction. *Br J Dermatol* (in press)
16. Iizuka H, Ishida-Yamamoto A, Honda H: Epidermal remodeling in psoriasis. *Br J Dermatol* (in press)
17. 飯塚 一: protein kinase Cシグナルからみた乾癬 西日皮膚 55: 629-637, 1993
18. 飯塚 一: 表皮のturnover time: Weinstein Dataの解析 西日皮膚 56: 675-679, 1994
19. 飯塚 一: 乾癬の病態: turnover timeから見た表皮の構築: 増殖プール一元説 日皮会誌 104: 1653-1656, 1994
20. 飯塚 一: 乾癬の病態: 増殖亢進にともなう表皮のリモデリング 日皮会誌 105: 1588-1590, 1995

結果と考察

1. 乾癬表皮のcornified cell envelope構成タンパクをインボルクリン、ロリクリンについて正常表皮と比較検討した。その結果、正常表皮ではインボルクリンの沈着にともないcornified cell envelopeの形成が角層下方ないし角層直下で起こること、次いで角層上方に至ると、インボルクリンの染色性は減少し、ロリクリンの沈着が認められることが見いだされた。一方、乾癬表皮ではcornified cell envelopeの形成は、表皮のより下方から始まり、ロリクリンの染色性は低下したままであること、インボルクリンの抗原性は角層上方まで（ロリクリンによりマスクされることなく）維持されることが明らかとなった。乾癬ではインボルクリン主体のcornified cell envelopeの形成がより未分化な段階の表皮細胞でなされてしまい、その後、他の構成成分による修飾はあまり起こらないものと考えられる。これらの結果は、少なくとも正常表皮においてはcornified cell envelopeの形成過程が決して瞬間的なものではなく、インボルクリン、ロリクリンの順番に進む秩序だったプロセスであることを示すものである。また、これは同時にcornified cell envelopeの形成が、transglutaminaseの活性化の時点での手持ちの材料によるとする従来のdustbin仮説が少なくとも正常表皮では成り立たないことを示す根拠にもなっている。一方、乾癬表皮では、表皮のより下方から、いいかえると、より未分化な段階の表皮細胞においてインボルクリン主体のcornified cell envelopeの形成がなされてしまい、その後、他の構成成分による修飾は、あまり起こらないものと考えられる。これは、乾癬表皮のcornified cell envelopeがインボルクリン主体の構成要素からなるという従来の推定を支持する所見と思われる(J Invest Dermatol 104: 391-395, 1995; J Histochem Cytochem (in press))。

2. インボルクリンの遺伝子発現は、protein kinase C依存性にAP-1を介して引き起こされることをわれわれはすでに見いだしているが、本研究により、インボルクリン遺伝子mRNAが乾癬皮膚部で増加していること、逆に、ロリクリン遺伝子mRNAは低下していることが明らかとなった(Br J Dermatol (in press))。したがって、乾癬表皮におけるインボルクリン、ロリクリンの変動はおそらく転写レベルで制御されているものと推定される。乾癬ではprotein kinase Cの活性化が従来から推定されており、インボルクリンmRNAの上昇はprotein kinase C活性化にともなうAP-1を介した転写制御として説明される。in vitro培養系においては、ロリクリン遺伝子もAP-1依存性制御を受けることが報告されているが、in vivo乾癬皮膚部におけるロリクリン遺伝子 mRNAの低下の意義は今後の問題である。このほか、今回の研究により、インボルクリン遺伝子は転写因子TEF-1によっても抑制的な制御を受けていることが示された(Arch Dermatol Res 287: 740-746, 1995)。インボルクリン遺伝子発現の抑制機構として、われわれはcyclic AMP系を報告しているが、今回の結果は、それ以外の経路を証明したことになり、表皮細胞におけるインボルクリン遺伝子発現の複雑な制御機構がうかがえる。TEF-1は基底細胞層で発現が強いため、インボルクリンが基底細胞層で発現しない理由の1つを提供していると考えられる。TEF-1とAP-1の相互作用、また表皮細胞において証明されているprotein kinase Cサブタイプとの関連は今後の検討課題である。

3. 乾癬表皮においては増殖亢進が認められるが、このこととcornified cell envelopeの形成を含む角化機構の異常との関連が明らかになった。すなわち乾癬では増殖亢進にともないターンオーバー時間が短縮することに対し、角化のための必要最少時間を維持する過程で、細胞数の増加と加速された角化が引き起こされるという観点が生じた。加速された角化は創傷治癒における表皮細胞の角化に対応し、乾癬における表皮構築の変化とcornified cell envelopeの形成異常を含む角化の変動は、表皮のリモデリングという概念で説明することができ(Br J Dermatol (in press))。この概念にしたがうと、乾癬表皮の異状角化は増殖亢進にともなう2次的変化となり、乾癬治療の意味づけが、明確かつ単純化されたものになることがわかる。