

# AMCoR

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

Derma. (2000.08) 38号:13~17.

【無菌性膿疱の診断と治療】  
膿疱症におけるinvolucrinとelafin

山本明美, 中根 宏, 高橋英俊, 飯塚 一



◆特集／無菌性膿疱の診断と治療

## 膿疱症における involucrin と elafin

山本明美\*1 中根 宏\*2 高橋英俊\*3 飯塚 一\*4

**Key words** : 膿疱性乾癬 (pustular psoriasis), 尋常性乾癬 (psoriasis vulgaris), 辺縁帯 (cornified cell envelope), 蛋白分解酵素 (protease), 好中球 (neutrophil)

**Abstract** Involucrin は正常表皮の辺縁帯の構成成分で細胞外に形成される脂質膜と結合し、表皮のバリア機能に重要な働きをしており、尋常性乾癬表皮では発現が亢進している。Elafin は正常表皮では発現しないが、尋常性乾癬表皮では豊富に発現され、好中球の蛋白分解酵素を阻害するとともに、辺縁帯の成分ともなる。膿疱性乾癬では involucrin の発現は亢進しているが、elafin は過剰な蛋白分解酵素と複合体を形成して相対的に不足することがある。

### はじめに

Involucrin と elafin はともに表皮のバリア構造である辺縁帯の成分であるが(図 1)<sup>1)</sup>, elafin は正常表皮では発現せず、また蛋白分解酵素の阻害作用を併せ持つのに対し、involucrin は正常表皮で発現し、辺縁帯の骨組みを形成する重要な蛋白であるが、それ以外の生物学的機能は知られていないという違いがある。膿疱症において辺縁帯形成を検討した報告はこれまでほとんど知られていないが、本稿ではまず辺縁帯形成一般、および involucrin と elafin に関する最新の知見を紹介し、膿疱症の例として膿疱性乾癬におけるこれら蛋白の発現について尋常性乾癬の場合と比較しながら考察を加える。

### 表皮の分化と細胞外脂質膜、辺縁帯の形成

表皮の分化、すなわち角化は複雑な、しかし巧妙に制御されたプロセスである。その過程のなかにあつて、有棘層では遊離脂肪酸、コレステロール、硫酸コレステロール、セラミドなどを蓄積する層板顆粒が合成され、これが顆粒層で細胞外に放出され、さらに角層の細胞間で脂質の多重層となる。細胞内では顆粒層の上層から細胞膜を裏打ちするように辺縁帯が形成されはじめる。

辺縁帯形成過程においてはカルシウム依存性の酵素トランスグルタミナーゼ(TGase)が細胞膜内面上で、辺縁帯前駆体蛋白のグルタミン残基の  $\gamma$ -カルボキシル基と、リジン残基の  $\epsilon$ -アミノ基との間に架橋をつくる<sup>1)</sup>。表皮では少なくとも 4 つの TGase が発現しているが、このうち辺縁帯の形成に主要な働きをしているのは TGase 1 である。TGase 1 は細胞膜の内面に結合した状態で存在し、細胞内カルシウム濃度が上昇すると活性化されて、近傍に待機している involucrin を細胞膜上のデスモゾーム蛋白などに架橋し始める<sup>2)</sup>。その後、loricrin など他の蛋白も順次架橋され、辺縁帯が成熟する。辺縁帯の最も細胞膜よりに存在

\*1 Akemi YAMAMOTO, 〒078-8510 旭川市緑が丘東 2 条 1 丁目 1 の 1 旭川医科大学皮膚科学教室, 講師

\*2 Hiroshi NAKANE, 同教室, 助手

\*3 Hidetoshi TAKAHASHI, 同教室, 講師

\*4 Hajime IIZUKA, 同教室, 教授

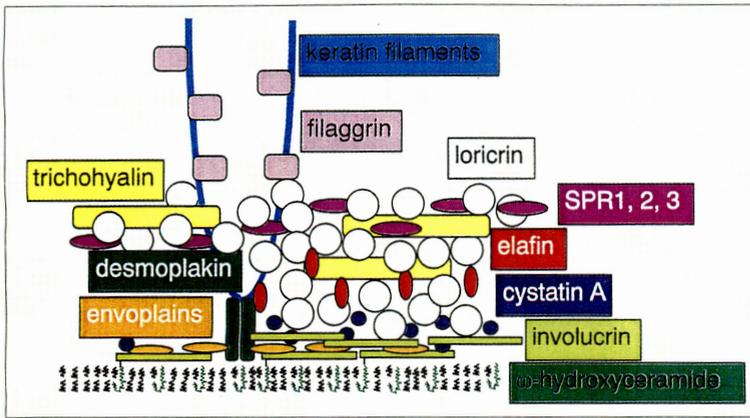


図 1. 辺縁帯の構造のモデル図

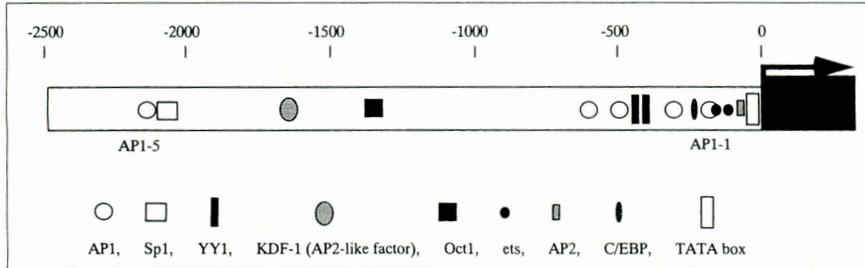


図 2. involucrin 遺伝子上流域の構造

する involucrin は上述の細胞間脂質のなかの長鎖  $\omega$ -hydroxyceramide とエステル結合している (図 1)<sup>3)</sup>。TGase 1 は最近このエステル結合の形成も触媒することが示された<sup>4)</sup>。したがって本酵素の欠損は辺縁帯の形成に加えて、細胞間脂質と細胞膜内側の involucrin の結合の両方を損なうことが予想される。本酵素遺伝子の変異による酵素活性の低下が葉状魚鱗鱗の原因の一つであることが知られており<sup>1)</sup>、また本酵素遺伝子を欠損させたマウスの表皮には辺縁帯の形成が全く認められず、表皮バリア機能は著しく損なわれることも分かった<sup>5)</sup>。

### involucrin の特徴

ヒトの involucrin はグルタミン/グルタミン酸に富み大部分が  $\alpha$  ラセン構造をとる、長さ 46 nm 余りのロッド状、68 kDa の可溶性酸性蛋白である<sup>6)</sup>。アミノ酸 10 塩基からなる特徴的なペプチドの繰り返し配列を持つ。表皮有棘層上層で発現し、上述のように TGase により架橋されて辺縁帯の構成成分となる。Involucrin を過剰発現させたマウスでは表皮のかさつき、逆立った毛、毛の伸長の遅れなどの異常が観察された<sup>7)</sup>。Involucrin 欠

損マウスでは表皮のバリア機能が低下することが示されている<sup>8)</sup>。

Involucrin 遺伝子は 1q21 において loricrin や profilaggrin などの表皮分化関連蛋白の遺伝子と近接してクラスターを形成している。Involucrin mRNA の転写においてはプロモーターの上流にあるいくつかの転写因子(activator protein 1(AP1), AP2, Sp1, ets factors, POU domain 転写因子, CCAAT/enhancer-binding protein (C/EBP), keratinocyte differentiation factor-1, YY1 など)結合部位が重要な働きをしている<sup>9)-12)</sup>(図 2)。このうち特に AP1 がベースレベルおよび TPA などの phorbol ester 依存性の involucrin 遺伝子プロモーターの活性増強作用の主要な部分をになっている。5つの AP1 部位のうち、最も上流(遠位)の AP1 site-5 を含む領域(遠位エンハンサー)は involucrin の組織特異的な発現に必要で<sup>13)</sup>、最も下流(近位)の領域(近位エンハンサー)にある AP1 site-1 が involucrin 遺伝子発現に最重要であり、両者を変異させると転写活性は 80%低下する<sup>14)</sup>。AP1 site-1, -5 は多種ある AP1 のうち、junB, junD, Fra-1 と結合することが示されている<sup>14)</sup>。Involucrin 遺伝子発現の AP1

site-1 に至る刺激情報伝達には protein kinase C (PKC) → Ras → MEKK 1 → MEK 3 → p 38/RK 系が重要であり、同時におそらく MEK 1, 並びに MEK 7 を介した系も重要と考えられている<sup>15)</sup>。Involucrin 遺伝子の転写を誘導するのは PKC の isoform のうち,  $\alpha$  と  $\eta$  であることが示されている<sup>16)</sup>。遠位エンハンサー内の AP 1 site-5 はその近傍の Sp 1 site に Sp 1 が結合することによって転写活性がさらに増強する<sup>17)</sup>。レチノイドによる involucrin 遺伝子発現抑制効果はレチノイン酸受容体と AP 1 転写複合体との相互作用のもとにもたらされるという<sup>18)</sup>。Involucrin 遺伝子のベースレベルの発現と TPA などの phorbol ester による促進効果には C/EBP 結合部位も必要である<sup>19)</sup>。これに対し, ets 因子結合部位 (EBS-1, EBS-2) や AP-2 結合部位はベースレベルのプロモーター活性には必要だが, TPA 依存性の活性上昇には関与していないという<sup>19)</sup>。多種の POU domain 転写因子が involucrin 遺伝子のプロモーター活性を抑制することが分かっているが, これは involucrin 遺伝子内の POU domain 転写因子結合部位 (オクタマー配列) に対する直接作用ではないことが示されている<sup>20)</sup>。近位エンハンサーのやや上流には AP 1, YY 1 結合部位を含む転写サイレンサーと考えられる領域がある<sup>11)</sup>。このように多数ある角化関連蛋白の中で involucrin はその遺伝子発現調節機構が最も良く解明されているもののひとつであり, これを軸として角化過程全体の進行がどのようにコントロールされているかが理解されるようになることが期待される。

### Elafin の特徴

Elafin の特徴については本誌 22 号に詳しく解説した<sup>21)</sup>。概略を述べると, 前駆体 preproelafin から蛋白分解を受けて産生される elafin は, そのアミノ末端にシグナルペプチド (presequence) があり, 細胞外に分泌される。この配列に続いてトランスグルタミナーゼの基質ドメインがあり, カルボキシル末端にプロテアーゼ阻害作用をになう

ドメインがある。Elafin は蛋白分解酵素阻害剤としてセリンプロテアーゼのうち白血球エラスターゼ, 膵エラスターゼ, プロテアーゼ 3 (好中球の産生するエラスチン分解酵素) を阻害するが, カテプシン G, トリプシン, キモトリプシン, プラスミンなどは阻害しない。(pro)elafin は辺縁帯の中間層において, そのグルタミン残基, リジン残基とともに他の辺縁帯構成成分である loricrin, keratin, desmoplakin などとの間の架橋形成に加わっている。

Elafin 遺伝子は染色体 20 q 12-q 13 に存在し, 5' 上流域には TATA-box と CCAAT-box が存在する。プロモーター領域にはいくつかの転写因子の結合配列が存在し, このうち AP 1, NF-IL 6 結合が特に重要と考えられているが, involucrin の場合と比べてその遺伝子発現調節機構はまだ不明な部分が多い。

### 乾癬と involucrin, elafin

尋常性乾癬では involucrin の発現は亢進しており<sup>22)</sup>, 有棘層下層から発現し<sup>23)</sup>, TGase 1 の発現も亢進しており<sup>24)</sup>, 辺縁帯の形成が早期に起こって involucrin が架橋され始める<sup>23)</sup>。尋常性乾癬表皮では PKC 活性は見かけ上, 低下しているが, これは PKC 活性化後にみられる down regulation の状態を見ているものと解釈されており, 上記の現象は PKC の活性化から一元的に説明することが可能である<sup>25)</sup>。尋常性乾癬では involucrin より後に架橋されて辺縁帯の主成分となるべき loricrin の発現は低下している<sup>22)26)</sup>。かわって, 正常表皮では発現されない elafin 蛋白が involucrin よりやや遅れて有棘層で発現し (Nakane, et al, 論文投稿準備中), 辺縁帯の成分となる。尋常性乾癬表皮では好中球の表皮内浸潤 (これも PKC による表皮細胞の IL-8 の発現誘導によって引き起こされている可能性がある<sup>25)</sup>) によってエラスターゼ活性が上昇し, その抑制のために elafin が動員されると考えられる<sup>27)</sup>。(白血球エラスターゼによって elafin の発現誘導がおこるという報告も

ある<sup>21)</sup>。以上のことから、乾癬表皮では loricerin を主成分とする物理的、化学的な強靱な正常辺縁帯ではなく、好中球由来の蛋白分解酵素による表皮の破壊を抑えるための特殊な辺縁帯の合成へむけた、正常とは異なる分化の方向をたどっていると考えられることもできよう。しかし、辺縁帯上に架橋された elafin が蛋白分解酵素の阻害作用を実際になっているという直接的な証拠はない。また、辺縁帯形成と elafin の細胞外への分泌の時間的経緯も明らかではなく、今後の検討課題として残されている。

膿疱性乾癬における involucrin と elafin の発現とその病態形成への関与についてはいまだ知見が乏しく、将来の研究にゆだねられている部分が多い。我々の予備実験では本症での involucrin の発現は、尋常性乾癬表皮と同様に亢進している(中根ほか、未発表)。一方、elafin は mRNA の合成は亢進しているが、表皮の elafin 活性は尋常性乾癬と比べて低下している<sup>28)29)</sup>。膿疱性乾癬の病因は現在不明であるが、少なくとも elafin 遺伝子の多型と本症との関連は否定されている<sup>30)</sup>。しかし、elafin が過剰な蛋白分解酵素と複合体を形成して相対的に不足し、好中球による組織破壊に対応できなくなることにより膿疱形成がおこるとも考えられ、膿疱性乾癬の病態形成には elafin が関係しているかもしれない。免疫組織学的にも膿疱部分の elafin の染色性の減弱が報告されている<sup>29)</sup>。我々の研究でも膿疱部分における elafin の発現は減弱し、ときに核周囲の Golgi 野に蓄積する像が観察された<sup>31)</sup>。しかし、膿疱性乾癬表皮において辺縁帯に involucrin, elafin がどう架橋されているのかはまだ検討されていない。

## 文 献

- 1) Ishida-Yamamoto A et al : Structural organization of cornified cell envelopes and alterations in inherited skin disorders, *Exp Dermatol*, 7 : 1-10, 1998.
- 2) Nemes Z et al : Involucrin cross-linking by transglutaminase 1. Binding to membranes directs residue specificity, *J Biol Chem*, 274 : 11013-11021, 1999.
- 3) Marekov LN et al : Ceramides are bound to structural proteins of the human foreskin epidermal cornified cell envelope, *J Biol Chem*, 273 : 17763-17770, 1998.
- 4) Nemes Z et al : A novel function for transglutaminase 1 : attachment of long-chain  $\omega$ -hydroxyceramides to involucrin by ester bond formation, *Proc Natl Acad Sci USA*, 96 : 8402-8407, 1999.
- 5) Matsuki M et al : Defective stratum corneum and early neonatal death in mice lacking the gene for transglutaminase 1 (keratinocyte transglutaminase), *Proc Natl Acad Sci*, 95 : 1044-1049, 1998.
- 6) Eckert RL et al : Involucrin-structure and role in envelope assembly, *J Invest Dermatol*, 100 : 613-617, 1993.
- 7) Crish JF et al : Tissue-specific and differentiation-appropriate expression of the human involucrin gene in transgenic mice : an abnormal epidermal phenotype, *Differentiation*, 53 : 191-200, 1993.
- 8) Jansen J-M et al : Disturbed permeability barrier function in transgenic involucrin deficient mice, *J Invest Dermatol*, 112 : 542, 1999.
- 9) Takahashi H et al : Analysis of the 5'-upstream promoter region of human involucrin gene : activation by 12-o-tetradecanoylphorbol-13-acetate, *J Invest Dermatol*, 100 : 10-15, 1993.
- 10) LaPres JJ et al : Identification of a functional determinant of differentiation-dependent expression in the involucrin gene, *J Biol Chem*, 271 : 23154-23160, 1996.
- 11) Lopez-Bayghen E et al : Transcriptional analysis of the 5'-noncoding region of the human involucrin gene, *J Biol Chem*, 271 : 512-520, 1996.
- 12) Eckert RL et al : The epidermis : genes on-genes off, *J Invest Dermatol*, 109 : 501-509, 1997.
- 13) Crish JF et al : The distal regulatory region of the human involucrin promoter is required

- for expression in epidermis, *J Biol Chem*, 273 : 30460-30465, 1998.
- 14) Welter JF et al : Fos-related antigen(Fra-1), junB, and junD activate human involucrin promoter transcription by binding to proximal and distal AP 1 sites to mediate phorbol ester effects on promoter activity, *J Biol Chem*, 270 : 12614-12622, 1995.
  - 15) Efimova T et al : Regulation of human involucrin promoter activity by a protein kinase C, Ras, MEKK 1, MEK 3, p 38/rk, AP1 signal transduction pathway, *J Biol Chem*, 273 : 24387-24395, 1998.
  - 16) Takahashi H et al : The  $\alpha$  and  $\eta$  isoform of protein kinase C stimulate transcription of human involucrin gene, *J Invest Dermatol*, 110 : 218-223, 1998.
  - 17) Banks EB et al : Characterization of human involucrin promoter distal regulatory region transcription activator elements-a role for Sp 1 and AP 1 binding sites, *Biochem J*, 331 : 61-68, 1998.
  - 18) Monzon RI et al : Regulation of involucrin gene expression by retinoic acid and glucocorticoids, *Cell Growth & Differentiation*, 7 : 1751-1759, 1996.
  - 19) Agarwal C et al : CCAAT/enhancer-binding proteins. A role in regulation of human involucrin promoter response to phorbol ester, *J Biol Chem*, 274 : 6190-6194, 1999.
  - 20) Welter JF et al : Regulation of human involucrin promoter activity by POU domain proteins, *J Biol Chem*, 271 : 14727-14733, 1996.
  - 21) 山本明美ほか : Elafin/SKALP/trappin-2 と炎症性皮膚疾患, *MB Derma*, 22 : 43-47, 1999.
  - 22) Takahashi H et al : Decreased  $\beta$  2-adrenergic receptor-mRNA and loricrin-mRNA, and increased involucrin-mRNA transcripts in psoriatic epidermis : analysis by reverse transcription-polymerase chain reaction, *Br J Dermatol*, 134 : 1065-1069, 1996.
  - 23) Ishida-Yamamoto A et al : Differences in involucrin immunolabeling within cornified cell envelopes in normal and psoriatic epidermis, *J Invest Dermatol*, 104 : 391-395, 1995.
  - 24) Schroeder WT et al : Type I keratinocyte transglutaminase : expression in human skin and psoriasis, *J Invest Dermatol*, 99 : 27-34, 1992.
  - 25) Iizuka H et al : Psoriasis, involucrin, and protein kinase C, *Int J Dermatol*, 32 : 333-338, 1993.
  - 26) Ishida-Yamamoto A et al : Immunoelectron microscopic analysis of cornified cell envelope formation in normal and psoriatic epidermis, *J Histochem Cytochem*, 44 : 167-175, 1996.
  - 27) Chang A et al : Elastase-inhibiting activity in scaling skin disorders, *Acta Derm Venereol*, 70 : 147-151, 1990.
  - 28) Kuijpers ALA et al : Extremely low levels of epidermal skin-derived antileucoprotease/elafin in a patient with impetigo herpetiformis, *Br J Dermatol*, 137 : 123-129, 1997.
  - 29) Kuijpers ALA et al : Skin-derived antileucoprotease(SKALP) is decreased in pustular forms of psoriasis. A clue to the pathogenesis of pustular formation?, *Arch Dermatol Res*, 288 : 641-647, 1996.
  - 30) Kuijpers ALA et al : SKALP/elafin gene polymorphisms are not associated with pustular forms of psoriasis, *Clinical Genetics*, 54 : 96-101, 1998.
  - 31) 中根 宏ほか : 乾癬病巣部における elafin の局在, 第 335 回日本皮膚科学会北海道地方会抄録, p 19, 1998.