

AMCoR

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

Derma. (1999.04) 22号:43~47.

【皮膚疾患と酵素up date】
Elafin/SKALP/trappin-2と炎症性皮膚疾患

山本明美, 中根 宏, 飯塚 一



◆特集/皮膚疾患と酵素 up date

Elafin/SKALP/trappin-2 と炎症性皮膚疾患

山本明美*1 中根 宏*2 飯塚 一*3

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

Abstract Elafin は正常表皮では発現していないが, 尋常性乾癬などの炎症性疾患の表皮において発現される小さな塩基性ペプチドで, 好中球の蛋白分解酵素の阻害作用を有し, 生体組織の過剰な損傷を防いでいるとともに, 表皮角化細胞のバリア構造である辺縁帯の成分ともなる. Elafin の前駆体 preproelafin はシグナルペプチドをもつため, 細胞間に放出される. これが蛋白分解されて生じる proelafin にはトランスグルタミナーゼの基質ドメインがあり細胞外基質に架橋され, 局所で蛋白分解酵素を阻害する. このドメインがはずれた成熟型 elafin は乾癬患者の血清中, 尿中で検出される. 膿疱性乾癬では elafin が過剰な蛋白分解酵素と複合体を形成して相対的な elafin の不足に陥っている. Elafin はまた, 表皮に対する各種外的障害に対応しても発現が誘導され, 生体防御物質として働いていると思われる.

はじめに

好中球の蛋白分解酵素は結合織や基底膜成分を分解することによって好中球の遊走を容易にし, また遊走先の局所での組織破壊をきたし, 乾癬や炎症性水疱性などの皮膚疾患の病態形成に深く関わっていると考えられている. この蛋白分解酵素の阻害作用をもつ elafin は SKALP (skin-derived antileukoproteinase), ESI (elastase-specific inhibitor), trappin-2 とも呼ばれ, 尋常性乾癬表皮をはじめとして各種上皮で発現し, 生体組織の過剰な損傷を防いでいる¹⁾. また近年, elafin は表皮角化細胞のバリア構造である辺縁帯の成分であることも明らかにされ, その機能の多面性が明らかになった²⁾. Elafin の生理的役割, 病態形成

における意義についてはまだ不明な点が多いが, 以下に現在まで明らかにされた elafin に関する知見, とくに皮膚疾患との関連を中心に解説する.

Elafin の分子構造, 生化学的特徴

Elafin の前駆体 preproelafin は 117 個のアミノ酸からなる 12.3 kDa の蛋白で, 三つの機能ドメインに分けられる (図 1)¹⁾. アミノ末端には 22 個 (25 個との報告もある) のアミノ酸からなる疎水性のシグナルペプチド (prosequence) があり, これに続いて 45 個 (34 個との報告もある) のアミノ酸からなるトランスグルタミナーゼの基質ドメイン (prosequence, cementoin と呼ばれる) があり, カルボキシル末端に 50 個 (57 個との報告もある) のアミノ酸からなるプロテアーゼ阻害作用をなう whey acidic protein (WAP) ドメインがある. Preproelafin は粗面小胞体で翻訳されたのちシグナルペプチドをもつため細胞外へ分泌される³⁾. シグナルペプチドが除かれた 9.9 kDa の proelafin はそのトランスグルタミナーゼ基質ド

*1 Akemi YAMAMOTO, 〒078-8510 旭川市西神楽 4 線 5 号 3-11 旭川医科大学皮膚科学教室, 講師

*2 Hiroshi NAKANE, 同教室, 助手

*3 Hajime IIZUKA, 同教室, 教授

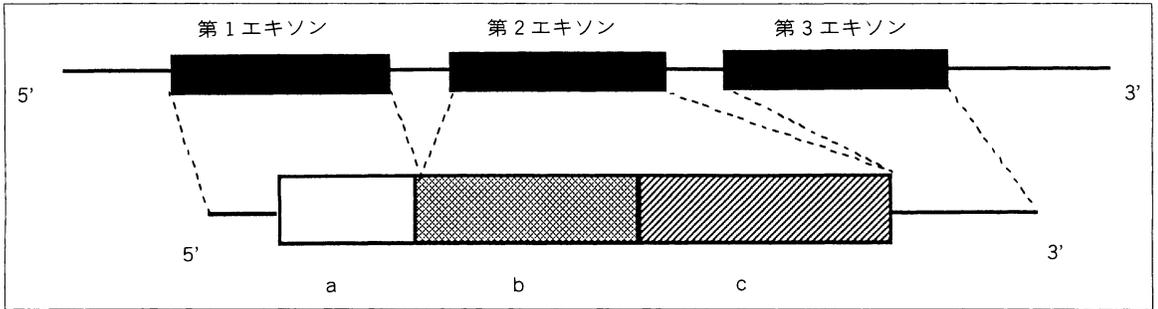


図 1. Elafin の遺伝子(上)と cDNA(下) (文献 1)より改変

a : シグナル配列, b : トランスグルタミナーゼ基質ドメイン, c : 蛋白分解酵素阻害(WAP)ドメイン

メインによりおそらくは細胞外基質に架橋されて immobilized form として存在すると考えられている。Prosequence が除かれた成熟型の elafin はシステイン, グリシン, プロリンに富む, 熱や pH の変化に安定な 6 kDa の塩基性ペプチドで血清, 尿中に存在する。WAP ドメインには蛋白分解酵素阻害剤のなかでよく保存されている 8 個のシステイン残基があり, 分子内で互いに S-S 結合している。これを含む蛋白は four disulfide core protein と呼ばれており, その機能は多岐にわたる。

Elafin は trappin(transglutaminase substrate and WAP motif-containing protein)-2 とも呼ばれ, 相同性のある sodium-potassium ATPase inhibitor-2(trappin-1), trappin-3(pWAP-3), -4, -5 などとともに trappin ファミリーを形成する⁴⁾。これらはいずれもトランスグルタミナーゼの基質モチーフをもつ点, 常に機械的ストレスや, 細菌感染, 炎症による刺激にさらされる上皮組織で発現している点, それぞれ異なる基質特異性を有しつつも, 内在性あるいは外来性の蛋白分解酵素に対する阻害作用を発揮している点で共通している。

Elafin 遺伝子

Elafin 遺伝子は pI 3 と命名されている大きさ約 1.7 kbp の, REST(rapidly evolving seminal vesicle transcribed)遺伝子ファミリーの一員である¹⁾⁵⁾。この遺伝子ファミリーは三つのエクソン

からなる遺伝子であり, 第 1 と第 3 エクソンがよく保存されており, 第 2 エクソンに成熟蛋白の大部分がコードされるという特徴をもつ(図 1)。(これまでのところ elafin 以外のメンバーは全て精囊にその発現が限局している。Elafin が精囊に含まれているかどうかは知られていない。Elafin 遺伝子も含めてこれらはトランスグルタミナーゼの基質蛋白をコードしていることから REST を rapidly evolving substrate for transglutaminase の略語とする案も提唱されている⁵⁾。)Elafin 遺伝子は染色体 20 q 12-q 13 に存在する¹⁾。興味深いことにこの部位にはトランスグルタミナーゼや, トランスグルタミナーゼの基質蛋白である REST 遺伝子ファミリーの他の遺伝子や cystatin の遺伝子座も存在する⁵⁾。

発現調節

Elafin 遺伝子の 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と思われる領域が存在し⁶⁾、このうち AP 1, NF-IL 6 結合部位を除くとプロモーター活性がほとんど失われることが報告されている⁷⁾。

培養角化細胞では血清, EGF, TNF- α , TGF- α , IFN- γ によって発現が誘導されるが, カルシウム濃度増加, 成長因子除去や白血球エラストラーゼによる誘導はみられない^{7)~10)}。レチノイン酸とビタミン D₃ は elafin 発現抑制に働く¹⁰⁾。肺のクラ

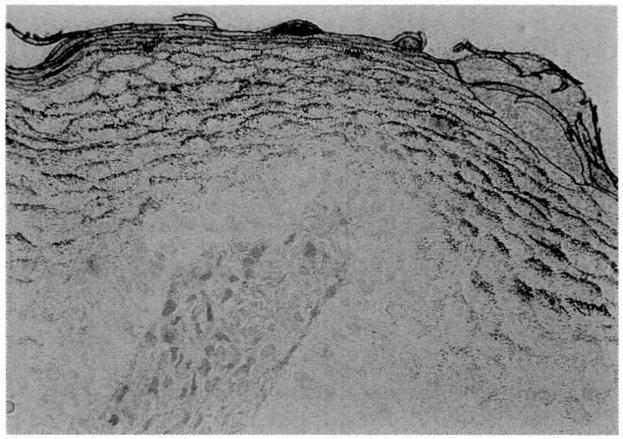


図 2.
尋常性乾癬表皮における elafin の免疫組織染色。表皮上層の細胞の表層側が強く染まって「うろこ状」に見える。

ラ細胞と II 型肺胞細胞の性質を有する cell line では白血球エラスターゼ, IL 1- β , TNF- α により elafin の発現が誘導される¹¹⁾。正常乳腺上皮細胞では構成的に elafin が発現しているが、多くの乳ガン細胞では発現が転写レベルで低下している⁶⁾。細胞周期では S 期において elafin mRNA の低下が起きること、蛋白分解酵素とその阻害剤がサイクリンの分解に関与している例があることから、elafin も細胞周期の回転の抑制作用がある可能性が考えられている⁶⁾。

蛋白分解酵素阻害剤としての elafin

Elafin の基質特異性は高く、セリンプロテアーゼのうち白血球エラスターゼ、糜エラスターゼ、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、他のセリンプロテアーゼであるカテプシン G, トリプシン, キモトリプシン, プラスミンは阻害しない¹⁾。培養表皮細胞においては好中球エラスターゼによる角化細胞の剝離を elafin の添加により防ぐことができると報告されている³⁾。

別の作用機序による elafin の角層剝離抑制作用を示唆する報告もある¹²⁾。Stratum corneum chymotryptic enzyme は角層細胞の生理的剝脱に関与しているキモトリプシン様のセリンエンドペプチダーゼで、角化細胞により産生され、角層細胞間の接着構造を分解する。この酵素の活性を阻害するのは主に antileukoproteinase (secretory leukocyte proteinase inhibitor) であるが、elafin にも弱いながら阻害活性があり、角質細胞

剝離を減少させる働きがあるという。

辺縁帯前駆体蛋白としての elafin

トランスグルタミナーゼは γ -glutamyl- ϵ -lysine 結合によって蛋白のグルタミン残基とリジン残基の間に架橋をつくる酵素で、角質細胞の細胞膜の内側における辺縁帯形成を触媒する。(Pro)elafin は辺縁帯の中間層において、その prosequence 内、WAP ドメイン内のグルタミン残基、リジン残基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とされている⁴⁾¹³⁾¹⁴⁾。しかしこれは、elafin は角化細胞内では層板顆粒を含む小胞内に局在し、その後細胞外へ分泌されるとの報告と矛盾しており³⁾、正確な細胞内動態に関して今後の解明が待たれる。また辺縁帯に架橋された elafin が単なる物理的バリアであるのか、あるいはその状態でも蛋白分解酵素阻害作用を有するのか、もしくはここから成熟 elafin が切り出されて働くのか、elafin の表皮における機能は依然として不明な点が多い。

皮膚疾患と elafin

毛包、舌、脛、咽頭、喉咽蓋、食道、子宮頸部、歯肉、扁桃、声帯などの上皮では正常でも elafin が発現しているが¹⁾、正常表皮では発現していない。しかし胎生期の表皮や尋常性乾癬などの炎症性疾患の表皮においては豊富に発現している。Elafin の mRNA は正常表皮でも弱いながら発現しているとする報告と¹⁵⁾、発現していないとの報

告がある³⁾。

尋常性乾癬での elafin 蛋白は有棘層で発現し、個々の細胞の表層側により密に極性をもって局在し、免疫組織化学では「うろこ状」の特微的染色パターンがみられる(図2)。免疫電顕的に局在をみた報告では、細胞内のゴルジ小体、小胞、および層板顆粒に局在しており、角質細胞間に放出されているという³⁾。尋常性乾癬表皮ではエラスターゼ活性が著しく上昇しており¹⁶⁾、elafin はその抑制に働いていると考えられている。Elafin は乾癬患者の血清中、尿中で検出されその重症度とも相関するという¹⁷⁾。

疱疹状膿痂疹も含めて膿疱性乾癬では表皮内の好中球性の膿疱形成(Kogoj の海綿状膿疱)が特微的で、elafin 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¹⁸⁾¹⁹⁾。これは 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となり、好中球による組織破壊に対応できなくなっている状態としてとらえることができる。免疫組織学的にも膿疱部分の elafin の免疫染色は減弱しており、これは局所的な elafin の飽和によると考えられている¹⁹⁾。蛋白分解酵素阻害剤が膿疱性疾患の治療薬として使えないか、今後の検討が期待される。

Elafin はまた、表皮の損傷後 48 時間以内に創傷縁から創を覆うべく遊走している表皮細胞において発現する²⁰⁾。創面への多核白血球の浸潤をおさえ、また蛋白分解酵素による組織破壊を沈めながら皮膚組織の修復を促しているであろう。表皮角層のテープストリッピングや界面活性剤の塗布により表皮での elafin の発現が誘導される⁸⁾²¹⁾。培養角化細胞においても後者による elafin の発現誘導が起こる¹⁰⁾²¹⁾。このことは表皮バリア機能の障害もしくは角化細胞の一次的細胞障害に対して elafin が緊急動員されることを示唆している。

おわりに

Elafin は皮膚組織に加えられる内的、外的障害

に対応して動員され、皮膚の恒常性を保つために機能しているように思われる。Elafin の異常は肺気腫など他臓器の疾患にも関与していることが報告されており、多くの疾患の病態の解明と有効な治療法の開発のために elafin の機能のさらなる解明が期待される。

文 献

- 1) Molhuizen HOF et al : Structural, biochemical, and cell biological aspects of the serine proteinase inhibitor SKALP/Elafin/ESI, *Biol Chem Hoppe-Seyler*, 376 : 1-7, 1995.
- 2) Ishida-Yamamoto A et al : Structural organization of cornified cell envelopes and alterations in inherited skin disorders, *Exp Dermatol*, 7 : 1-10, 1998.
- 3) Pfundt R et al : Constitutive and inducible expression of SKALP/elafin provides anti-elastase defense in human epithelia, *J Clin Invest*, 98 : 1389-1399, 1996.
- 4) Zeeuwen PLJM et al : Identification and sequence analysis of two new members of the SKALP/elafin and SPAI-2 gene family, Biochemical properties of the transglutaminase substrate motif and suggestions for a new nomenclature, *J Biol Chem*, 272 : 20471-29478, 1997.
- 5) Lundwall A et al : The gene of the protease inhibitor SKALP/elafin is a member of the Rest gene family, *Biochem Biophys Res Commun*, 221 : 323-327, 1996.
- 6) Zhang M et al : Differential expression of elafin in human normal mammary epithelial cells and carcinomas is regulated at the transcriptional level, *Cancer Res*, 55 : 2537-2541, 1995.
- 7) Pfundt R et al : Induction of SKALP/elafin gene expression in cultured human keratinocytes by inflammatory cytokines, *J Invest Dermatol*, 110 : (abst) 538, 1998.
- 8) Alkemade JAC et al : SKALP/elafin is an inducible proteinase inhibitor in human epidermal keratinocytes, *J Cell Sci*, 107 : 2335-2342, 1994.
- 9) van Ruissen F et al : Induction of normal and

- psoriatic phenotypes in submerged keratinocyte cultures, *J Cell Physiol*, 168 : 442-452, 1996.
- 10) Boelsma E et al : Expression of skin-derived antileukoproteinase (SKALP) in reconstructed human epidermis and its value as a marker for skin irritation, *Acta Derm Venereol*, 78 : 107-113, 1998.
 - 11) Sallenave J-M, Shulmann J et al : Regulation of secretory leukocyte proteinase inhibitor (SLPI) and elastase-specific inhibitor (ESI/elafin) in human airway epithelial cells by cytokines and neutrophilic enzymes, *Am J Respir Cell Mol Biol*, 11 : 733-741, 1994.
 - 12) Franzke C-W et al : Antileukoprotease inhibits stratum corneum chymotryptic enzyme, Evidence for a regulative function in desquamation, *J Biol Chem*, 271 : 21886-21890, 1996.
 - 13) Steinert PM et al : The proteins elafin, filaggrin, keratin intermediate filaments, loricrin, and small proline-rich proteins 1 and 2 are isodipeptide cross-linked components of the human epidermal cornified cell envelope, *J Biol Chem*, 270 : 17702-17711, 1995.
 - 14) Steinert PM : A model for the hierarchical structure of the human epidermal cornified cell envelope, *Cell Death and Differentiation*, 2 : 33-40, 1995.
 - 15) Nonomura K et al : Up-regulation of elafin/SKALP gene expression in psoriatic epidermis, *J Invest Dermatol*, 103 : 88-91, 1994.
 - 16) Chang A et al : Elastase-inhibiting activity in scaling skin disorders, *Acta Derm Venereol*, 70 : 147-151, 1990.
 - 17) Alkemade HAC et al : Levels of skin-derived antileukoproteinase (SKALP)/elafin in serum correlate with disease activity during treatment of severe psoriasis with cyclosporin A, *J Invest Dermatol*, 104 : 189-193, 1995.
 - 18) Kuijpers ALA et al : Extremely low levels of epidermal skin-derived antileukoproteinase/elafin in a patient with impetigo herpetiformis, *Br J Dermatol*, 137 : 123-129, 1997.
 - 19) Kuijpers ALA et al : Skin-derived antileukoproteinase (SKALP) is decreased in pustular forms of psoriasis, A clue to the pathogenesis of pustular formation?, *Arch Dermatol Res*, 288 : 641-647, 1996.
 - 20) van Bergen BH et al : Expression of SKALP/elafin during wound healing in human skin, *Arch Dermatol Res*, 288 : 458-462, 1996.
 - 21) van Ruissen F et al : Differential effects of detergents on keratinocyte gene expression, *J Invest Dermatol*, 110 : 358-363, 1998.