

100 206 2

# 辺縁帯形成における cystatinA 架橋メカニズムとその役割

(研究課題番号：13670860)

平成13年度～平成15年度研究補助金（基盤研究（C））

—研究報告書—

平成17年3月

研究代表者 高橋 英俊  
(旭川医科大学皮膚科)

## はしがき

辺縁帯は表皮角化細胞が形成する強靱な細胞膜裏打ち構造であり、transglutaminaseの活性化により急速に形成される。この辺縁帯の構成成分の一つがcysteine proteinase inhibitorであるcystatin Aである。正常表皮ではloricrinが主体でありcystatin A自体は強く発現はしていない。一方、細胞増殖が亢進している乾癬表皮ではcystatin Aを含めた他の構成成分が強発現しており、辺縁帯そのものの組成も正常と異なっていることが推察されている。今回我々の研究はcystatin Aの架橋部位の決定とともに乾癬表皮における異常発現メカニズムを細胞内情報伝達の観点から検討し、乾癬における病態解析を試みた。本研究中に同じ角化異常症である日本人ダイエー病患者の遺伝子解析を行い、遺伝子異常を同定、機能異常についても解析できたので報告する。

## 研究組織

研究代表者：高橋英俊（旭川医科大学皮膚科）

研究分担者：真鍋公（旭川医科大学皮膚科）

## 研究経費

	直接経費	間接経費	合計
平成13年度	1,100	0	1,100
平成14年度	1,000	0	1,000
平成15年度	1,300	0	1,300
総計	3,400	0	3,400

## 結果及び考案

合成 cystatin A を用いて架橋の有無を検討したところ、transglutaminase により架橋されることが明らかとなった。次に、cystatin A 遺伝子内のグルタミン、リジン塩基を他の塩基に置換させた合成 cystatin A を用いて同様に検討したところ、44 アミノ酸残基のリジンが架橋に重要であることが確認された。さらにヒト表皮を用いて検討したが HPLC の故障のため 研究年度内に確認には至らなかった。現在得られた結果をもとに論文作成中である。

上記解析と平行して cystatin A の発現調節について検討したところ、発現には MAP kinase および転写因子である AP-2 が重要な役割を果たしていることが明らかとなった (2, 4)。cystatin A が高発現している乾癬表皮について MAP kinase および AP-2 の発現について検討したところ、cystatin A 発現パターンと類似しており、乾癬表皮における MAP kinase および AP-2 の発現異常が乾癬表皮における cystatin A 発現を引き起こしているもとと考え (5)、また、これら因子を調節することで乾癬表皮をコントロールできるものと推察される。今日、乾癬の治療に活性型ビタミン D3 剤が使用される。我々は活性型ビタミン D3 剤の MAP kinase への影響を検討したところ、活性型ビタミン D3 は MAP kinase 活性を抑制し、さらには cystatin A 発現を抑制することが明らかとなった (6)。

乾癬の治療に患部への紫外線照射が有効である。このメカニズムについて cystatin A と同じく乾癬においてみられるケラチン発現異常に着目して検討した。紫外線は乾癬に異常増殖を誘導する EGF-EGF 受容体を調節することで正常のケラチン発現を誘導することが明らかとなった (3)。

最後に、本解析中に cystatin A と同じく表皮の分化誘導に重要な役割を担っている細胞内カルシウムポンプの遺伝子異常が角化異常症である Darier's 病の原因であることが報告された。我々は5例の日本人患者について遺伝子解析を行い新しい遺伝子異常を発見した (1, 7)。現在、その遺伝子異常と機能との関わりについて検討している。

## 研究発表

1. Takahashi H, Atsuta Y, Sato K, Ishida-Yamamoto A, Suzuki H, Iizuka H: Novel mutation of ATP2A2 gene Japanese patients of Darier's disease. *J Dermatol Sci* 26:167-175, 2001
2. Takahashi H, Honma M, Ishida-Yamamoto A, Namikawa K, Kiyama H, Iizuka H: Expression of human cystatin A by keratinocytes is positively regulated via the Ras/MEKK1/MKK7/JNK signal transduction pathway but negatively regulated via the Ras/Raf-1/MEK/ERK pathway. *J Biol Chem* 276:36632-36638, 2001
3. Kinouchi M, Takahashi H, Itoh Yasuo, Ishida-Yamamoto A, Iizuka H: Ultraviolet B irradiation increase keratin 5 and keratin 14 expression through epidermal growth factor receptor of SV40-transformed human keratinocytes. *Arch Dermatol Res* 293: 634-641, 2002
4. Oyama N, Takahashi H, Tojo M, Iwatsuki K, Iizuka H, Nakamura K, Homma Y, Kaneko F: Different properties of three isoforms ( $\alpha$ ,  $\beta$ , and  $\gamma$ ) of transcription factor AP-2 in the expression of human keratinocytes genes. *Arch Dermatol Res* 294: 273-280, 2002
5. Takahashi H, Ibe M, Nakamura S, Ishida-Yamamoto A, Hashimoto Y, Iizuka H: Extracellular regulated kinase and c-Jun N-terminal kinase are activated in psoriatic involved epidermis. *J Dermatol Sci* 30: 94-99, 2002
6. Takahashi H, Ibe M, Honma M, Ishida-Yamamoto A, Hashimoto Y, Iizuka H: 1,25-dihydroxyvitamin D3 increase human cystatin A expression by inhibiting the Raf-1/MEK/ERK signaling pathway. *Arch Dermatol Res* 295: 80-87, 2003
7. Wada T, Shirakata Y, Takahashi H, Murakami S, Iizuka H, Suzuki H, Hashimoto K: A Japanese case of segmental Darier's disease caused by mosaicism for the ATP2A2 mutation. *Br J Dermatol* 149: 185-188, 2003