

# AMCoR

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

日本皮膚科学会雑誌 (2007.02) 117巻2号:137～141.

角化症 Cornified cell envelope

山本明美

Cornified cell envelope

山本明美 (旭川医科大学)

Akemi Ishida-Yamamoto

Department of Dermatology, Asahikawa Medical College, Midorigaoka-Higashi

2-1-1-1, Asahikawa, 078-8510, Japan

〒078-8510 緑が丘東2条1丁目 1-1 旭川医科大学医学部皮膚科学講座

はじめに

Cornified cell envelope (CE)は表皮が最終分化の過程でつくる、生体の生存に必須な構造である。この総説では、CEの形成過程、ならびにCEに関連する分子の異常によって生じる疾患を解説する。

## 1. CE 形成過程

CEは角化細胞の終末分化の過程で形成される、極めて強靱な構造物で、さまざまな物理的、化学的障害から生体をまもり、生体からの水分の過剰な喪失を防ぐバリアともなっている(図1)<sup>1,2)</sup>。CEは細胞膜の内側において形成される架橋されたタンパク分子からなる10 nmの厚さの部分と、層板顆粒由来のセラミドが細胞膜を置換した5 nmの厚さの脂質エンベロープ部分からなる。CEは以下に述べる多種の分子が *sulphydryl oxidase* とトランスグルタミナーゼ (TGase) により架橋されて形成される。前者の酵素は *S-S* 結合をつくり、後者は *Nε-(γ-glutamyl) lysine isopeptide* 結合と *N<sup>1</sup>,N<sup>8</sup>-bis(γ-glutamyl) spermidine* 結合をつくる。

CE形成は3つのステップからなる(図2)。(1) **開始段階**。まず有棘細胞上層において細胞内のカルシウム濃度が上昇すると、エンボプラキン、ペリプラキン、インボルクリンが発現する。エンボプラキンとペリプラキンは安定したヘテロダイマーを形成する。これとインボルクリンが細胞膜上で結合する。同時に TGase 1 が発現し、細胞膜上に結合する。細胞内カルシウム濃度のさらなる上昇により TGase 1 はプラキン類のヘテロダイマーとインボルクリンを架橋する。同じ酵素が細胞膜に結合している他のタンパクやデスモゾームのタンパクも架橋し、細胞膜の内面全体を内張りするタンパク分子の架橋したものからなる1分子の厚さの層が形成される。(2) **脂質エンベロープの形成**。顆粒細胞層になると、層板顆粒が顆粒細胞の表層側にセラミドを分泌する。本来の細胞

膜のリン脂質はセラミドによって置換され、これと第1段階で架橋されたタンパク分子、主にインボルクリンが、TGase 1のはたらきによって架橋される。(3)補強段階。細胞質内のTGase 3がロリクリンとsmall praline-rich proteins (SPRs)分子を架橋し、ホモダイマー、テヘロダイマーを形成する。これらを細胞膜上のTGase 1が架橋する。そして、LEP (late envelope protein)などその他の分子が架橋される。

細胞質内のCE構成成分タンパクが細胞膜近傍に移動する機序はこれまで不明であったが、最近、CE成分のひとつであるS100A11は微小管によって細胞辺縁に運ばれると報告された<sup>3)</sup>。

## 2. TGase

TGaseは上述したようにNε-(γ-glutamyl) lysine isopeptide結合とN<sup>1</sup>,N<sup>8</sup>-bis(γ-glutamyl) spermidine結合の形成を触媒するカルシウム依存性の酵素ファミリーであるが、通常前者の結合が主体である。しかし、後者の結合も乾癬などの病的状態では主要となる。ヒトでは9つのTGaseが知られているが、そのうち、TGase 1, TGase 3, TGase 5がCEの形成に関与する<sup>4)</sup>。

TGase 1は106 kDaで、817個のアミノ酸からなる。タンパク分解を受けて、非共有結合により結合する10, 33, 67 kDaの複合体(10/33/67 kDa複合体)となる。上皮と脳で発現するが、表皮では有棘層上層から顆粒層にかけて発現する。N末端部位が、ミリスチン酸もしくはパルミチン酸を介して細胞膜に結合すると高い活性をあらわし、細胞質内で可溶性のときは活性が弱い。この他、タンパクの部分分解によっても活性が変わり、酵素の全長が保たれているプロエンザイムのときは低く、10/33/67 kDa複合体では高い。組み換えロリクリン分子を用いた実験ではTGase 1は主に分子と分子の間に架橋を作って大きな多量体を形成する。

TGase 3は692個のアミノ酸からなる77 kDaのプロエンザイムとして生成された後、30 kDaと47 kDaの2つの断片に切り出され、これらの断片は非共有結合により結合し、酵素活性をもつようになる。TGase 3は表皮顆粒層、毛包の他、脳、小腸、睾丸でも発現する。TGase 1と異なり、ロリクリンの分子内に架橋を作る。

TGase 5遺伝子は13個のexonからなる、33.7 kbの大きさをもつ。TGase 5は720個のアミノ酸からなる、77 kDaで、活性を得るのにタンパク分解を要しない。広範な組織で発現するが、特に表皮の顆粒層で強く発現する。CE構成タンパクである、ロリクリン、インボルクリン、SPRsなどを架橋することが*in vitro*で証明されている。

TGase 1の遺伝子異常によって劣性遺伝性魚鱗癬が、TGase 5の変異では肢端型のpeeling skin syndromeが生じる(後述)。

### 3. CE 前駆体分子

CE の構成成分となる分子が多種存在することの意義と、それぞれの分子の機能はまだ十分には解明されていないが、異なる上皮の物理的あるいは生物学的バリアとしての機能の差が、構成要素の差に反映されている可能性がある。例えば、ロリクリンは正角化をする上皮に特異的であり、SPR3 は皮膚では発現していないが、口腔や食道の上皮に豊富である。

シスタチン A、エラフィン、プラスミノゲンアクチベーターインヒビター2などのタンパク分解酵素阻害分子が CE 成分に含まれる上皮もある。シスタチン A は CE に架橋された後もその生物活性が失われていないとの報告もあり<sup>5)</sup>、CE が生物学的バリアとして機能している可能性が示唆される。

一方、インボルクリン、ロリクリン、SPR などは物理的バリアとしての CE の性質を担っており、これらの構成比の違いが、張力、弾力、柔軟性、剛力、可塑性といった特性を CE に付与すると考えられている。

また、このように多数の分子が CE を構成していることは、このうちいずれかの分子が欠損した場合でも、他の分子がその機能を補完して、重篤な疾患に至らない、という利点につながる。実際に、インボルクリンやロリクリンといった CE の主要な成分の完全欠損動物に大きな障害はみられない<sup>6,7)</sup>。

以下に、CE 成分のうちヒトの皮膚疾患と関係が深いロリクリンについて解説する。他の分子については他の文献<sup>2)</sup>を参照いただきたい。

### 4. ロリクリン

CE の成分のひとつであるロリクリンはグリシン、セリン、システインに富む極めて不溶性の塩基性蛋白である<sup>8)</sup>。ヒトではアミノ酸 315 個からなり分子量は 26kDa である。コンピュータ解析ではオーガナイズされた構造はとらないとされているが、特徴的なドメインを持つ。中央には、グリシンがならんでループ状にとびだした可塑性の高いユニークなドメイン、“グリシンループ”を持ち、両末端ドメインはグルタミンとリジンが豊富である。ロリクリンは正常表皮の CE 質量の 70% をもしめる主成分である。正常表皮では顆粒層最上層で発現している(図3)。免疫電顕で観察するとロリクリンが CE に一致して局在することがわかる(図4)。ロリクリン分子の特殊な変異によって角化異常がおきる(後述)。

### 5. CE 架橋酵素の異常による疾患

#### 1) 劣性遺伝性魚鱗癬

臨床的に heterogeneous な疾患群であるが、本症の患者の多く、特に葉状魚鱗癬の臨床型をとるものの約50%では TGase 1 遺伝子の両アレルに異常があり、この酵素の

活性が消失している<sup>9)</sup>。TGase 1 遺伝子変異症例の場合、コロジオンベビーとして出生し、その後全身が褐色葉状の鱗屑で被われ、眼瞼や口唇の外反、掌蹠の過角化を伴うことがあり、葉状魚鱗癬の臨床型を示すことが多い。しかし、なかには鱗屑が細かく、紅皮症を示し、非水疱型先天性魚鱗癬様紅皮症の臨床型をとった例もある。臨床症状と遺伝子変異のタイプの相関は知られていない。TGase 1 の変異の大部分はアミノ酸の置換か早期停止コドンの出現であるが、プロモーター領域の Sp1 結合サイトの変異による遺伝子の転写活性低下による例が報告されている<sup>10)</sup>。遺伝子治療がマウス皮膚で試みられている<sup>11)</sup>。

Matsuki らは TGase 1 ノックアウトマウスを作成し本症のモデル動物をつくることに成功した<sup>12)</sup>。このマウスはヒトの TGase 1 ノックアウトより重篤で、表皮のバリア機能が破綻しており、生後すぐ死亡する。また、このマウスの表皮をヌードマウスに移植するとすぐに表皮肥厚、角質肥厚がみられるようになり、バリア機能が改善する<sup>13)</sup>。このことから TGase 1 欠損による魚鱗癬患者での角質肥厚もバリア異常を代償するために生じたものであると考えられている。

本症の診断は TG1 の異常を酵素活性、タンパク発現量、遺伝子発現量、変異の同定により確定されるが、非侵襲的なスクリーニング検査として、鱗屑や爪、毛髪などを溶解して光顕的に CE があるかどうかをみることも有用である<sup>14)</sup>。

## 2) Peeling skin syndrome

本症は出生後からの角層の剥離を特徴とする、まれな劣性遺伝性疾患である。電顕的観察で、その剥離は顆粒層と角層との間で生じていることが知られている。主要な病型として、非炎症性の A 型と、炎症性の B 型が区別されている。これら原因遺伝子はまだ不明であるが、これに属さないまれな病型として、肢端型(acral form)が報告されており、最近、このタイプが TGase 5 の homozygous なアミノ酸置換変異 G113C によって生じることが報告された<sup>15)</sup>。この患者では主に手足背側の角層が周期的に、痛みを伴わずに自然に剥離し、紅斑を残す。用手的にも角層を容易に剥離することができる。上記の変異は TGase 5 分子の N 末端ドメインと触媒ドメインとの境界部に起こっており、架橋活性を完全に失わせるものであった。また、TGase 1 の相同の位置のアミノ酸置換によって上述の劣性遺伝性魚鱗癬が生じることもすでに報告されている。

## 3) ロリクリンの変異による角化症

ロリクリンの異常による角化異常症は掌蹠の特徴的な角質肥厚と多様な掌蹠外皮疹を示し、ロリクリン角皮症と総称される<sup>8, 16)</sup>。本症ではロリクリン遺伝子に1塩基の挿入変異があり、誤ったアミノ酸配列をもつ蛋白が発現する。この異常なアミノ酸配列の影響

で、変異ロリクリンは核内に異常凝集し、核の機能を障害するために角化が異常となると推定されている。組織学的には顆粒層肥厚をともなう錯角化と変異ロリクリンの核内異常凝集が見られる。

臨床的には掌蹠の蠟様光沢を有し、蜂の巣状の外観を呈するび慢性の角質肥厚、手指と足趾の絞扼輪の形成が特徴的である。その他の皮疹の特徴によって異なる臨床診断がつけられており、全身性の軽い魚鱗癬を伴う場合は魚鱗癬をともなう「Vohwinkel 症候群」<sup>17)</sup>、紅斑性角化性局面を伴う例では進行性紅斑角皮症<sup>18)</sup>、コロジオンベビーとして生まれ、全身の潮紅、魚鱗癬がみられた例では非水疱型先天性魚鱗癬様紅皮症と診断されていた<sup>19)</sup>。

Suga らはマウスのロリクリン遺伝子に本症患者と同様な1塩基の挿入変異を導入し、本症のモデル動物をつくることに成功した<sup>20)</sup>。このマウスでは足底の角質肥厚、尻尾の付け根の絞扼輪の形成が認められた。さらにマウス変異ロリクリン蛋白の N 末端配列が核移行シグナルとして働くことも示された。

#### 文献

1. Candi E, Schmidt R, Melino G: The cornified envelope: a model of cell death in the skin, *Nature Reviews*, 6:328-340, 2005
2. 山本明美：周辺帯。最新皮膚科学大系 第13巻(玉置邦彦他編)、中山書店、東京、21-33, 2002
3. Broome AM, Eckert RL: Microtubule-dependent redistribution of a cytoplasmic cornified envelope precursor, *J Invest Dermatol*, 122:29-38, 2004
4. Hitomi K: Transglutaminases in skin epidermis, *Eur J Dermatol*, 15:313-319, 2005
5. Takahashi M, Tezuka T, Katsunuma N. Inhibition of growth and cysteine proteinase activity of *Staphylococcus aureus* V8 by phosphorylated cystatin alpha in skin cornified envelope, *FEBS Lett*, 355: 275-278, 1994
6. Koch PJ, de Viragh PA, Scharer E, et al. Lessons from loricrin-deficient mice: compensatory mechanisms maintaining skin barrier function in the absence of a major cornified envelope protein, *J Cell Biol*, 151: 389-400, 2000
7. Djian P, Easley K, Green H. Targeted ablation of the murine involucrin gene. *J Cell Biol*, 151: 381-387, 2000
8. Ishida-Yamamoto A, Takahashi H, Iizuka H: Loricrin and human skin diseases: molecular basis of loricrin keratodermas, *Histol Histopath*, 13:819-826, 1998

9. Akiyama M, Sawamura D, Shimizu H, The clinical spectrum of nonbullous congenital ichthyosiform erythroderma and lamellar ichthyosis, *Clin Exp Dermatol*, 28:235-240, 2003
10. Petit E, Huber M, Rochat A, Bodemer C, Teillac-Hamel D, Muh JP, Revuz J, Barrandon Y, Lathrop M, de Prost Y, Hohl D, Hovnanian A, Three novel point mutations in the keratinocyte transglutaminase (TGK) gene in lamellar ichthyosis: significance for mutant transcript level, TGK immunodetection and activity, *Eur J Hum Genet*, 5:218-228, 1997
11. Choate KA, Khavari PA, Direct cutaneous gene delivery in a human genetic skin disease, *Hum Gene Ther*. 20:1659-1665, 1997
12. Matsuki M, Yamashita F, Ishida-Yamamoto A, 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
13. Kuramoto N, Takizawa T, Takizawa T, Matsuki M, Morioka H, Robinson JM, Yamanishi K, Development of ichthyosiform skin compensates for defective permeability barrier function in mice lacking transglutaminase 1, *J Clin Invest*, 109:243-250, 2002
14. Rice RH, Crumrine D, Uchida Y, Gruber R, Elias PM, Structural changes in epidermal scale and appendages as indicators of defective TGM1 activity, *Arch Dermatol Res*, 297:127-133, 2005
15. Cassidy AJ, van Steensel MA, Steijlen PM, van Geel M, van der Velden J, Morley SM, Terrinoni A, Melino G, Candi E, McLean WH, A homozygous missense mutation in TGM5 abolishes epidermal transglutaminase 5 activity and causes acral peeling skin syndrome, *Am J Hum Genet*, 77:909-917, 2005
16. Ishida-Yamamoto, A: Loricrin keratoderma: a novel disease entity characterized by nuclear accumulation of mutant loricrin, *J Dermatol Sci*, 31: 2-8, 2003
17. Maestrini E, Monaco AP, McGrath JA, et al. A molecular defect in loricrin, the major component of the cornified cell envelope, underlies Vohwinkel's syndrome. *Nature Genet*, 13: 70-77, 1996
18. Ishida-Yamamoto A, McGrath JA et al: The molecular pathology of progressive symmetric erythrokeratoderma: a frameshift mutation in the loricrin gene and perturbations in the cornified cell envelope, *Am J Hum Genet*, 61:581-589, 1997

19. Matsumoto, K, M Muto, S Seki, et al.: Loricrin keratoderma: a cause of congenital ichthyosiform erythroderma and collodion baby. *Br J Dermatol* 145: 657–660,2001
20. Suga Y, Jarnik M, et al: Transgenic mice expressing a mutant form of loricrin reveal the molecular basis of the skin diseases, Vohwinkel syndrome and progressive symmetric erythrokeratoderma, *J Cell Biol*, 151:401–412, 2000

## 図の説明

### 図1

正常表皮の顆粒細胞(G)と角層細胞(C)の電顕像。電子密度の高いCEが顆粒細胞から形成されている(矢印)。d, デスモゾーム。k, ケラトヒアリン顆粒。

### 図2

重層扁平上皮におけるCEの形成過程の模式図。

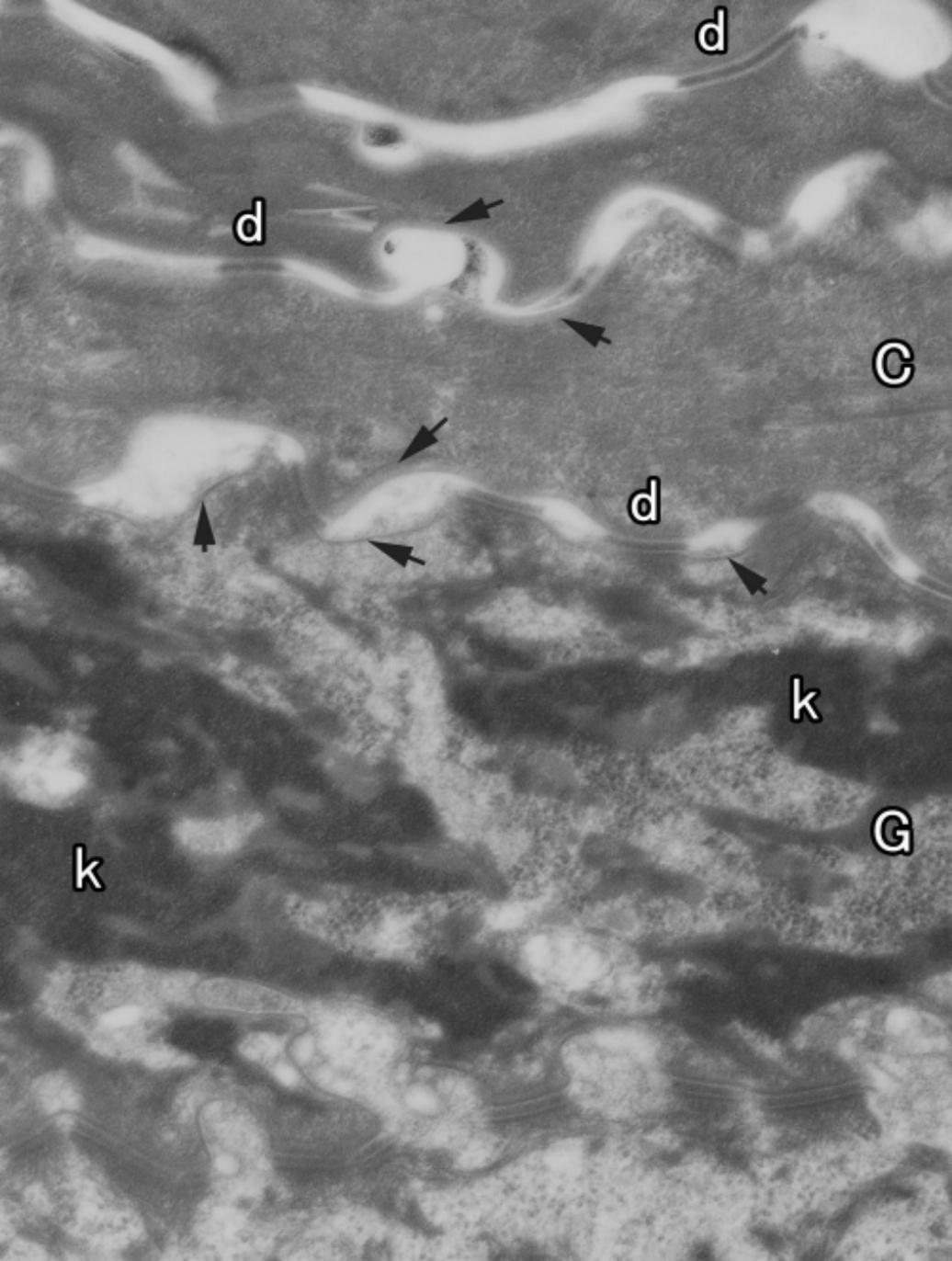
(文献1の図を改変<sup>1)</sup>)

### 図3

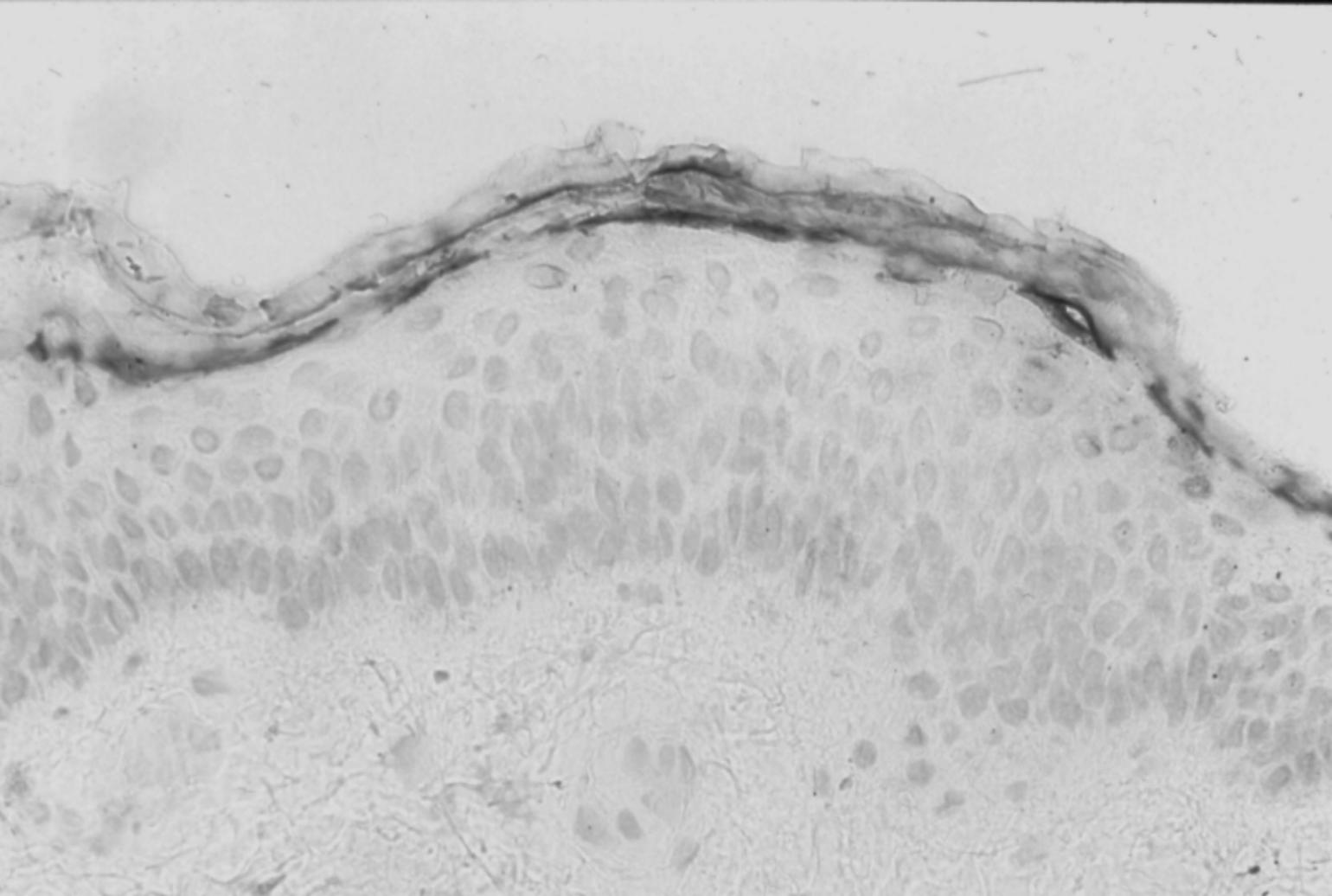
正常ヒト表皮におけるロリクリンの免疫組織染色像。顆粒層最上層が陽性である。

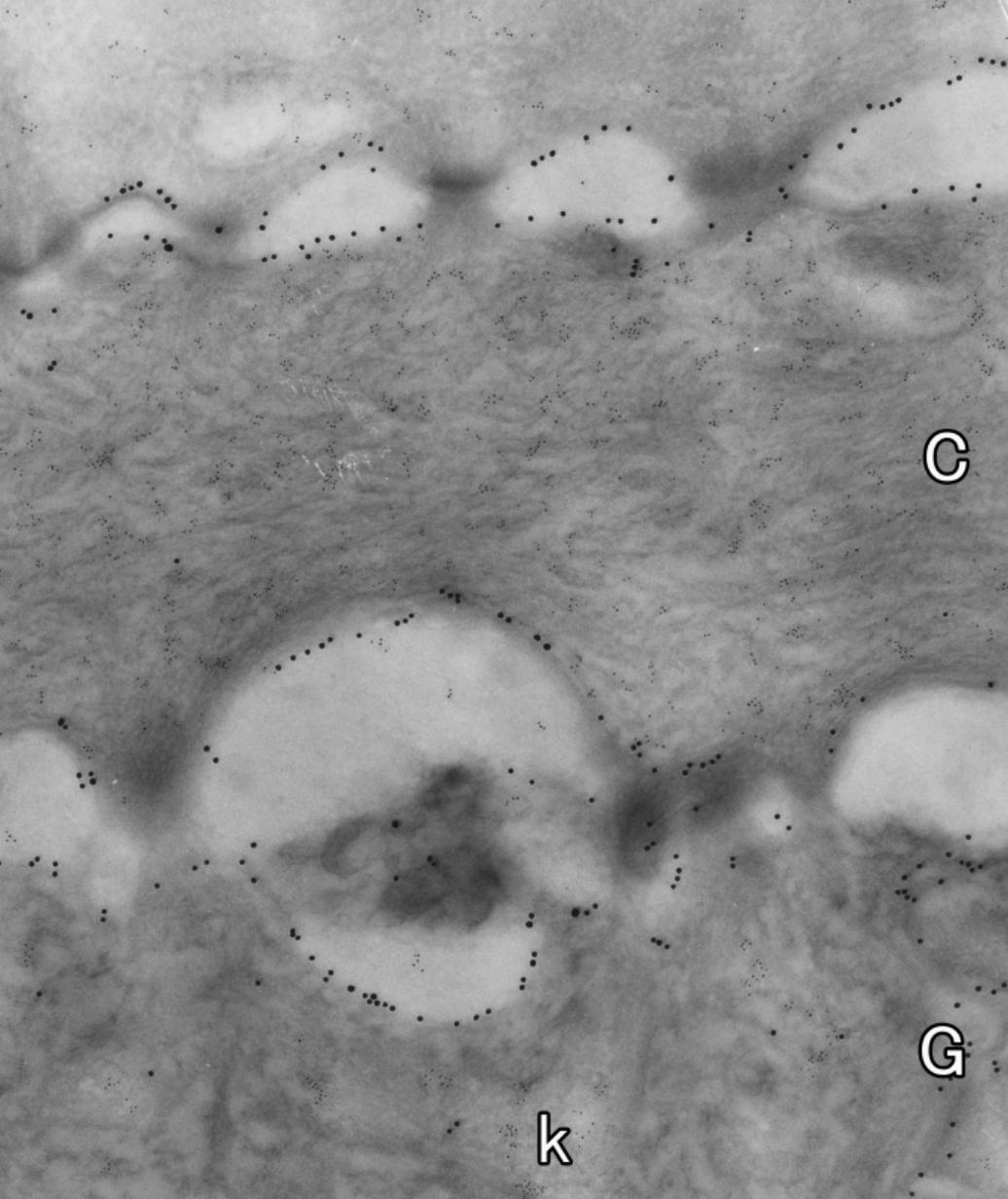
### 図4

正常ヒト表皮の免疫電顕像。ロリクリンは10 nmの、フィラグリンは5 nmのゴールド粒子で標識している。前者は顆粒細胞(G)、角層細胞(C)のCEに一致した標識が見られる。後者はケラトヒアリン顆粒(k)と角層細胞の細胞質に標識が見られる。









C

G

k