

表皮における外界への防御メカニズムに関する研究

学位論文内容の要旨

皮膚は外界に接する器官であり、大きく表皮、真皮、皮下組織に分類されるが、なかでも表皮最上層に位置する角層は直接外界に接し、乾燥、ウイルスの進入、機械的刺激、水分蒸散、UV等から生体を防御している。本研究では(1)角層におけるバリアー機能形成の過程、(2)角層の乾燥防御システム、および(3)バリアー機能回復を促進する薬剤の検討、(4)表皮のUV防御メカニズムについて検討を行った。

- (1)角層のバリアー機能は角層間脂質(コレステロール、セラミド、脂肪酸)に依存している。本研究ではバリアー形成における脂質代謝酵素の変動を検証した。その結果、*de novo*のコレステロール生合成酵素であるHMG CoA reductase やスフィンゴシン生合成酵素 SPTase は懐胎過程後期で活性が低下するが、糖の修飾に関与する β -glucocerebrosidase、硫酸の修飾に関与する steroid sulfatase や cholesterol sulfatase 等修飾酵素は懐胎過程後期で活性の亢進が認められた。また、修飾酵素は気層暴露やホルモンによっても活性が亢進し、懐胎期間後期にこれらの酵素活性の増加が角層のバリアー機能を形成することが明らかになった。
- (2) 乾燥環境や湿度変動による皮膚乾燥のメカニズムの解明を行った。その結果、湿度の変動が大きい程、角層水分量や水分保持能が低下して皮膚状態を悪化させた。天然保湿因子 natural moisturizing factors(NMF)は角層の水分保持に重要な働きを担うが、湿度変動によってNMFの主成分であるアミノ酸量の低下やアミノ酸の前駆体であるフィラグリンの発現低下が顕著に生じることが明らかになり、皮膚状態の改善にはフィラグリン発現の亢進が必要であることが明らかになった。
- (3)皮膚症状の改善にはバリアー回復薬剤が不可欠であるが、本研究より特定のマグネシウムイオンや、カルシウム/マグネシウムイオンのモル比が重要であることが明らかになった。
- (4)セルピン squamous cell carcinoma antigen(SCCA)はUVによって表皮上層で顕著にタンパクおよび遺伝子発現が亢進した。そこで、SCCAの過剰発現系およびSCCAノックダウン細胞系を確立し(siSCCA/HaCaT)、UVの影響を解析した結果、SCCAはUV誘導アポトーシスに対する抵抗性を有していることが明らかになった。SCCAと相互作用する因子をAntibody Arrayで探索したところ、活性型JNKとの相互作用が示唆された。JNKは3種のアイソホームが知られているが、その中でJNK1のみがケラチノサイトでUV応答性を有していた。SCCA1はJNK1のリン酸化活性を特異的に阻害し、JNK2-3、p38 α およびERK1/2の活性は阻害しなかった。また、SCCA1はJNK1と相互作用してUV照射後に核移行すること、siSCCA/HaCaTではJNKの基質であるc-Junのリン酸化が増加していることを見出した。さらに、SCCAトランスジェニッ

クマウスはUV照射による棘融解等の皮膚傷害を抑制したことから、SCCAがJNK1活性の阻害を介してUV誘導アポトーシスを抑制し、UVによる皮膚傷害を防御する新しいメカニズムが明らかになった。

学位論文審査の要旨

主査	教授	菊池	九二三
副査	教授	矢澤	道生
副査	教授	坂口	和靖
副査	教授	及川	英秋
副査	教授	畠山	昌則

学位論文題名

表皮における外界への防御メカニズムに関する研究

本研究は、表皮における外界への防御を明らかにしたもので、以下の4点に要約される。

1. 角層のバリアー機能は角層間脂質（コレステロール、セラミド、脂肪酸）に依存している。バリアー形成における脂質代謝酵素の変動を検証した結果、de novoのコレステロール合成律速酵素である HMG CoA reductase やスフィンゴシン合成律速酵素 SPTase は懐胎過程後期で活性が低下するが、糖の修飾に関与する β -glucocerebrosidase、硫酸の修飾に関与する steroid sulfatase や cholesterol sulfatase 等修飾酵素は懐胎過程後期で活性の亢進が認められた。また、修飾酵素は気層暴露やホルモンによっても活性が亢進し、懐胎期間後期にこれらの酵素活性の増加が角層のバリアー機能を形成することが明らかになった。さらにこれらの酵素活性はホルモンや気層暴露によって制御を受けていることが明らかになった。
2. 乾燥環境や湿度変動による皮膚乾燥のメカニズムの解明を行った結果、湿度の変動が大きい程、角層水分量や水分保持能が低下して皮膚状態を悪化させた。天然保湿因子 natural moisturizing factors (NMF) は角層の水分保持に重要な働きを担うが、湿度変動によって NMF の主成分であるアミノ酸量の低下やアミノ酸の前駆体であるフィラグリンの発現低下が顕著に生じることが明らかになり、皮膚状態の改善にはフィラグリン発現の亢進が必要であることが明らかになった。

3. 皮膚症状の改善にはバリアー回復薬剤が不可欠であるが、本研究より特定のマグネシウムイオンや、カルシウム/マグネシウムイオンのモル比が重要であることが明らかになった。
4. セルピン SCCA (squamous cell carcinoma antigen) の機能を解析した。UV 照射によって、表皮上層において SCCA のタンパクおよび遺伝子発現が顕著に亢進した。そこで、SCCA の過剰発現系および SCCA ノックダウン細胞系を確立し (siSCCA/HaCaT)、UV の影響を解析した結果、SCCA は UV 誘導アポトーシスに対する抵抗性を有していることが明らかになった。SCCA と相互作用する因子を Antibody Array で探索したところ、活性型 JNK との相互作用が示唆された。JNK は 3 種のアイソホームが知られているが、その中で JNK1 のみがケラチノサイトで UV 応答性を有していた。SCCA 1 は JNK1 のリン酸化活性を特異的に阻害し、JNK2-3、p38・および ERK1/2 の活性は阻害しなかった。また、SCCA1 は JNK 1 と相互作用して UV 照射後に核移行すること、siSCCA/HaCaT では JNK の基質である c-Jun のリン酸化が増加していることを見出した。さらに、SCCA トランスジェニックマウス (Tg SCCA) を作製し検討した結果、Tg SCCA では UV 照射による棘融解等の皮膚傷害を抑制した。以上の結果より、SCCA が JNK1 活性の阻害を介して UV 誘導アポトーシスを抑制し、UV による皮膚傷害を防御するという新しいメカニズムが明らかにされた。

これを要するに、著者は、表皮における外界への防御機構を解析し、表皮における防御の分子機構に新しい知見を加えた。よって、著者は、北海道大学博士 (理学) の学位を授与させる資格あるものと認める。