



## Decreased expression of suprabasin induces aberrant differentiation and apoptosis of epidermal keratinocytes: Possible role for atopic dermatitis

|       |                                                                                                                |
|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| メタデータ | 言語: Japanese<br>出版者: 浜松医科大学<br>公開日: 2020-04-06<br>キーワード (Ja):<br>キーワード (En):<br>作成者: 青島, 正浩<br>メールアドレス:<br>所属: |
| URL   | <a href="http://hdl.handle.net/10271/00003695">http://hdl.handle.net/10271/00003695</a>                        |

博士（医学） 青島 正浩

## 論文題目

Decreased expression of suprabasin induces aberrant differentiation and apoptosis of epidermal keratinocytes: Possible role for atopic dermatitis

（スプラバシンの発現低下は表皮角化細胞の異常な分化とアポトーシスを誘導する：アトピー性皮膚炎におけるその役割）

## 論文の内容の要旨

### 〔はじめに〕

スプラバシンは表皮や上部消化管などの様々な上皮組織に発現するタンパク質である。スプラバシンは腫瘍形成に関わると報告されており、上皮および非上皮系腫瘍の新規腫瘍性タンパク質でもある。このタンパク質は細胞増殖に関与し、血管新生を誘導する。一方、スプラバシンはトランスグルタミナーゼ 2、3 の基質であり、表皮の角化の過程に関与すると考えられるが、正常表皮角化におけるその機能の詳細は不明である。我々がヒトの角層サンプルをプロテオーム解析し約 440 種類のタンパク質を同定、定量化したところ、アトピー性皮膚炎患者では健常人と比較しスプラバシンの発現量が減少しているという暫定的な結果を得た。しかしながらアトピー性皮膚炎病態におけるスプラバシンの役割は未だその大半が明らかではない。

この研究の目的はスプラバシンの表皮角化細胞における機能を評価し、アトピー性皮膚炎におけるその役割を明らかにすることである。

### 〔材料ならびに方法〕

テープストリッピング法により採取したヒトの角層をプロテオーム解析し、スプラバシンの角層内発現量を測定した。ヒトから採取した皮膚組織を用い、表皮に発現するスプラバシンを免疫組織化学的に評価した。また、血清中のスプラバシン濃度を ELISA 法により測定した。これら結果をアトピー性皮膚炎患者と健常人間で比較検討した。次に shRNA レンチウイルスパーティクルを用い表皮角化細胞のスプラバシン発現をノックダウンした。この細胞を用いて 3 次元皮膚モデルを作製し、その構造を光学顕微鏡、電子顕微鏡にて観察し、正常 3 次元皮膚モデルと比較した。また RT-PCR 法により、このモデルのスプラバシンおよびインボルクリン、クラウディン-1、カルパイン-1 の mRNA 発現量を測定した。さらに正常 3 次元皮膚モデルに IL-4、IL-13 を添加し、スプラバシンの発現量を免疫染色および RT-PCR 法で評価した。IL-4、IL-13 の存在／非存在下における正常 3 次元皮膚モデルとスプラバシンノックダウン 3 次元皮膚モデルの形態学的変化について検討した。最後に、MTT アッセイを用いてスプラバシンのリコンビナントタンパク質を添加した場合の培養表皮角化細胞の細胞増殖能を評価した。本研究は浜松医科大学の臨床研究倫理委員会(14-126、14-127、17-188)、組換え DNA 実験安全委員会(26-27)の承認を得て実施した。

### 〔結果〕

角層プロテオーム解析、免疫組織化学的検討により健常人よりもアトピー性

皮膚炎患者において表皮におけるスプラバシン発現は減少していた。アトピー性皮膚炎患者の血清スプラバシン濃度は有意に低く ( $68.5 \pm 17.6\%$  control、 $P < 0.01$ )、その傾向は特に内因性アトピー性皮膚炎患者にて顕著であった(外因性アトピー性皮膚炎:  $161.8 \pm 41.5$  pg/ml、内因性アトピー性皮膚炎:  $112.0 \pm 13.7$  pg/ml、 $P < 0.05$ )。スプラバシンノックダウン 3 次元皮膚モデルの光学顕微鏡、電子顕微鏡による観察では角層と顆粒層の形成不全がみられ、表皮角化細胞のアポトーシスが認められた。このモデルの mRNA 発現量については、スプラバシンは大きく抑制されていたが、インボルクリン、クラウディン-1、カルパイン-1 は減少しなかった。正常 3 次元皮膚モデルに Th2 サイトカインである IL-4 と IL-13 を添加したところ形態に変化はみられず、スプラバシン発現量にも変化はみられなかった。一方、スプラバシンノックダウン 3 次元皮膚モデルへの IL-4 と IL-13 添加実験では表皮角化細胞のアポトーシスが増加し、表皮真皮境界部に裂隙が形成された。さらにスプラバシンのリコンビナントタンパク質の添加により培養表皮角化細胞の増殖能が有意に亢進した( $119.2 \pm 4.2\%$  control、 $P < 0.05$ )。

#### [考察]

Th2 サイトカインは表皮角化細胞におけるスプラバシンの発現には影響を与えないが、スプラバシン発現抑制によって誘導されるアポトーシスを促進させる。これは Th2 サイトカインによって発現が直接抑制されるフィラグリンの場合とは異なる。アトピー性皮膚炎患者、特に内因性では血清スプラバシン濃度が低い、スプラバシンの欠乏が内因性アトピー性皮膚炎を引き起こすかどうかについては今後の課題である。スプラバシンには抗アポトーシス作用がある。アトピー性皮膚炎においてその発現が低下していれば、Th2 サイトカインの刺激により表皮のアポトーシスが誘導されやすい状態となる。

#### [結論]

スプラバシンは正常な表皮形成に寄与している。Th2 サイトカインはスプラバシン欠乏によるアポトーシスを促進させる。スプラバシンには抗アポトーシス作用があり、その欠乏はアトピー性皮膚炎の病態に関与していることが示唆される。