

みにれびゅう

表皮におけるイノシトールリン脂質代謝の役割*

金丸 佳織, 中村 由和, 深見 希代子

1. はじめに

皮膚は、外界と体内を物理的に遮断し、外部のさまざまな刺激から体内を守るバリアとして働く重要な組織である。皮膚の最外層に位置する表皮は主に分化段階の異なるケラチノサイトによって構成された基底層、有棘層、顆粒層、角層からなる重層構造をなしており、ケラチノサイトの増殖、分化の厳密な制御によってその構造が維持されている。また、ケラチノサイトは多様なサイトカインや抗菌ペプチドを産生することで、外部からの異物侵入に対する免疫学的なバリアとしても機能している。ケラチノサイトの増殖、分化やサイトカイン産生はさまざまな細胞内情報伝達因子により調節を受けており、こうした制御の破綻は皮膚炎症などの疾患を引き起こす。細胞膜構成脂質の一種であるイノシトールリン脂質やその代謝を担う酵素類は特にケラチノサイトの分化、増殖やサイトカイン産生に重要な役割を担っている。(イノシトールリン脂質はグリセロール骨格の3位にイノシトール環を持つリン脂質でありイノシトール環の3, 4, 5位の水酸基が可逆的なリン酸化を受け8種類のリン脂質が生成される。) これらのリン脂質はそれぞれ異なる標的タンパク質を介し、さまざまな生理機能を示す。本稿ではイノシトールリン脂質の分解や相互変換を担う酵素やそのエフェクターの表皮における役割について紹介したい。

2. ケラチノサイトの増殖分化制御におけるイノシトールリン脂質代謝の役割

1) ホスファチジルイノシトール 3, 4, 5-三リン酸 (PIP₃) 代謝酵素, エフェクター

イノシトールリン脂質のイノシトール環の3位をリン酸

化する酵素であるホスファチジルイノシトール 3-キナーゼ (PI3K) やその下流で活性化される Akt はケラチノサイトの増殖、分化を制御している。成体マウス皮膚で過剰な Akt の活性化を引き起こすと、ケラチノサイトの過増殖が観察されることが報告されている¹⁾。また、PI3K によりリン酸化されたイノシトール環の3位のリン酸基を脱リン酸化する酵素である PTEN もケラチノサイトの増殖制御に関わっている。ケラチノサイト特異的な PTEN ノックアウト (KO) マウスの表皮ケラチノサイトは過増殖を示し自然発症的な腫瘍を形成する。さらに、紫外線やγ線により誘導されるアポトーシスが抑制されることが明らかにされている²⁾。これらの報告より、PI3K/Akt 経路の活性化はケラチノサイトの増殖や生存に働くと考えられる。一方、PI3K はケラチノサイトの分化においても重要な役割を担っている。PI3K/Akt 経路はケラチノサイトの分化時に活性化しており、培養ケラチノサイトに活性化型 Akt を導入した際には分化が誘導される。また PI3K 阻害剤処理により培養ケラチノサイトの分化が抑制される。これらの結果から、PI3K/Akt 経路がケラチノサイト分化を誘導する働きを持つことがうかがえる³⁾。実際に Akt1/2 のダブル KO マウスの表皮では細胞増殖、細胞分化の両方の抑制が観察されており⁴⁾、PI3K/Akt シグナルは細胞の増殖と分化といった一見、相反する二つの現象をともに促進する役割を持つと考えられる。一般に、PI3K/Akt 経路の活性化は細胞増殖と同時に生存を正に制御していると考えられるため、初期分化を開始し、細胞周期が停止したケラチノサイトでは PI3K/Akt 経路の活性化は細胞増殖ではなく細胞生存のみを促進するものと考えられる。PI3K/Akt 経路の阻害によりケラチノサイトの分化が抑制され、アポトーシスが誘導されるとの報告もあり⁵⁾、PI3K/Akt 経路の活性化は分化過程でのケラチノサイトの細胞死を抑制することにより分化の進行を助けられていると考えられる。また PI3K はケラチノサイト分化時に形成されるアドヘレンスジャンクションで PIP₃ を産生しケラチノサイトの分化を促進することも報告されており、これについては後述する。

2) ホスファチジルイノシトール 4, 5-二リン酸 (PIP₂) 代謝酵素, エフェクター

ホスホリパーゼ C (PLC) は細胞膜の PIP₂ の加水分解に

東京薬科大学生命科学部ゲノム病態医科学研究室(〒192-0392 東京都八王子市堀之内 1432-1)

The role of the phosphoinositide metabolism in epidermis
Kaori Kanemaru, Yoshikazu Nakamura and Kiyoko Fukami (Laboratory of Genome and Biosignals, Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences, 1432-1 Horinouchi, Hachioji-city, 192-0392 Tokyo, Japan)

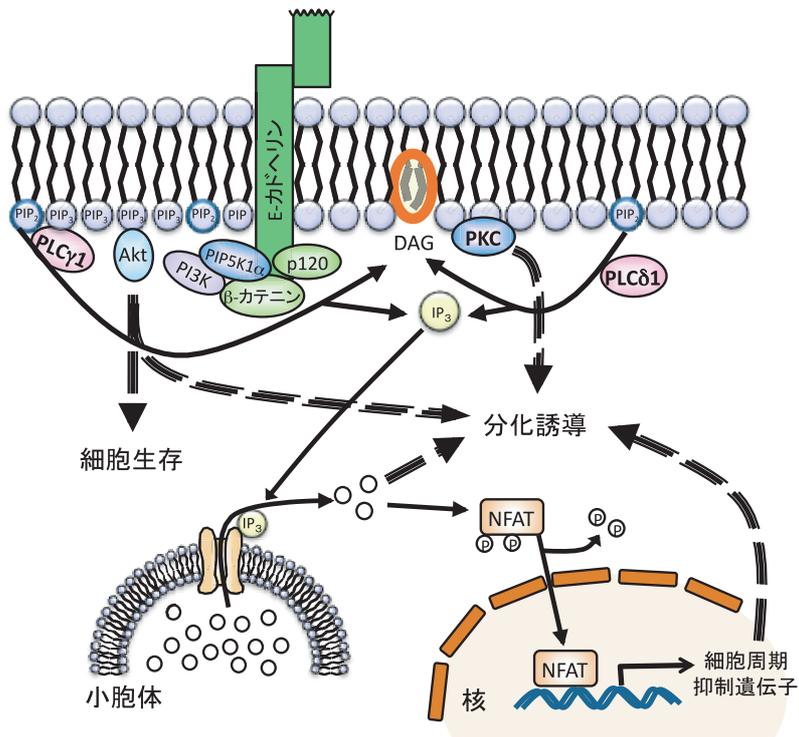


図1 ケラチノサイトの増殖分化制御におけるイノシトールリン脂質代謝の役割

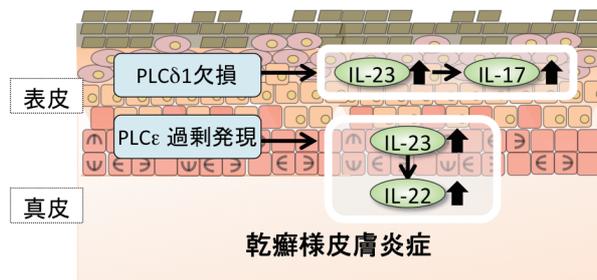


図2 PLCδ1 および PLCε によるケラチノサイトのサイトカイン産生

表皮における PLCδ1 の欠損は表皮からの IL-23, IL-17 の過剰産生を介し、乾癬様皮膚炎症を誘導する。また、表皮での PLCε の過剰発現は IL-23, IL-22 の過剰産生を介し、乾癬様皮膚炎症を誘導する。

より、イノシトール1,4,5-三リン酸とジアシルグリセロールを産生し細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) 増加やプロテインキナーゼC (PKC) の活性化を引き起こす酵素である。 $[Ca^{2+}]_i$ 上昇や PKC の活性化はケラチノサイトの分化時に必須な現象であるため、これらの上流で働く PLC はケラチノサイトの増殖分化制御に深く関わっている。PLCγ1 はケラチノサイトに豊富に存在している PLC アイソザイムである。ケラチノサイトでは細胞外 Ca^{2+} の濃度を上昇させることにより $[Ca^{2+}]_i$ 上昇を介し分化が誘導されるが、PLCγ1 を発現抑制したケラチノサイトでは細胞外 Ca^{2+} 濃度上昇に応答した $[Ca^{2+}]_i$ 上昇が抑制され、ケラチ

ノサイトの分化が阻害される⁶⁾。PLCγ1 は PIP₃ と結合することで細胞膜へリクルートされ活性化される。ケラチノサイトは細胞外 Ca^{2+} 濃度上昇により接着が増強され、E-カドヘリン/β-カテニン/p120 カテニン複合体が細胞膜に存在するようになる。PI3Kp85a サブユニットはこの複合体と結合することで活性化され PIP₃ が生成する。産生された PIP₃ により PLCγ1 が細胞膜へリクルートされ活性化し、セカンドメッセンジャーの産生を介して $[Ca^{2+}]_i$ を上昇させ、ケラチノサイトの分化を誘導する (図1)⁷⁾。また、注目すべきは、こうした細胞接着部位に PI3K と PLCγ1 両者の基質となる PIP₂ を産生する酵素である PIP5K1α もリク

ルートされ活性化されることである。PIP5K1 α は細胞外Ca²⁺濃度上昇によるPI3KやPLC γ 1の活性化に必要であり、PIP5K1 α の発現抑制によりこれらのシグナルやケラチノサイトの分化が抑制されることが報告されている(図1)⁸⁾。

ケラチノサイトにはPLC γ 1のほかにも複数のPLCアイソザイムが発現している。ケラチノサイトに存在するPLCの一つであるPLC δ 1をケラチノサイト特異的に欠損したマウスの表皮では全PLC活性の9割以上が消失することから、PLC δ 1は主な表皮のPLC活性を担うPLCアイソザイムであり、[Ca²⁺]_iの上昇に関与することが示唆される。実際に我々はPLC δ 1のKOマウス由来初代培養ケラチノサイトでは刺激時の[Ca²⁺]_i上昇が持続しないこと、持続的な[Ca²⁺]_i上昇により活性化されるT細胞核内因子(NFAT)の活性が低下していることを見いだしている。さらに、PLCのもう一つの下流シグナルであるPKCの活性低下も観察された(図1)⁹⁾。NFATやPKCの活性化はケラチノサイトの分化を誘導するため、PLC δ 1の欠損はこれらのシグナルを抑制することによりケラチノサイトの分化を抑制していると考えられる。最近、我々はPLC δ 1の欠損がケラチノサイトの分化に影響を与え表皮バリア機能に異常を来すことも見いだしている(発表準備中)。

毛は毛包に存在するケラチノサイトが特殊な様式の分化をすることで作られる構造である。PLCアイソザイムの一つであるPLC δ 1のKOマウスはケラチノサイトの毛への分化に異常がみられ外見上無毛となる。転写因子Foxn1が点変異により機能欠損しているヌードマウスでは、Foxn1標的遺伝子である毛の構成ケラチンの発現が減少し、毛の形成が正常に行われない。興味深いことにヌードマウスの皮膚ではPLC δ 1の発現低下が認められ¹⁰⁾、また実際、Foxn1がPLC δ 1の発現を転写レベルで誘導することが報告されている。PLC δ 1KOマウスでも毛の構成ケラチンの発現減少が観察されることから、PLC δ 1がFoxn1下流に位置し、毛の構成ケラチンの発現や毛の形成に必須であることが判明している。

3. ケラチノサイトのサイトカイン産生や皮膚炎症におけるイノシトールリン脂質代謝の役割

ケラチノサイトはサイトカイン産生能を持っており、ケラチノサイトによるサイトカイン産生異常は各種皮膚炎を引き起こす。PLC δ 1KOマウスは自然発生的な皮膚炎症を示し、皮膚において白血球の浸潤や炎症性サイトカインの発現増加が観察される¹¹⁾。また、我々は最近ケラチノサイト特異的なPLC δ 1KOマウスでも炎症性サイトカイン増加を介した皮膚炎症が観察され、逆にケラチノサイト特異的にPLC δ 1の発現を回復させたPLC δ 1KOマウスではこれ

らの異常がみられないことから、PLC δ 1が炎症惹起の抑制に関与している可能性を見いだしている¹²⁾。ケラチノサイト特異的なPLC δ 1KOマウスが示す皮膚炎症はインターロイキン(IL)-17、IL-23の過剰産生等、ヒト乾癬皮膚で観察される特徴と多くの類似点がみられる(図2)。実際にヒト乾癬患者表皮においてPLC δ 1の発現低下も観察されており、PLC δ 1がヒト乾癬の発症に抑制的な働きを担っている可能性が考えられる。また、ケラチノサイト特異的なPLC δ 1KOマウスではIL-17依存的に接触性過敏症誘導に対する感受性が亢進することも報告している。

PLC δ 1とは対照的に、PLC ϵ のKOマウスでは、皮膚炎症が抑制されること、接触性過敏症誘導に対する感受性が低下することが報告されている。接触性過敏症抑制のメカニズムとしてPLC ϵ を欠損した皮膚線維芽細胞やケラチノサイトでは炎症性サイトカイン産生が抑制されることが示されている¹³⁾。またPLC ϵ KOマウスではTPA処理時の皮膚炎症惹起が抑制され、それに伴う表皮ケラチノサイトの細胞増殖亢進、表皮過形成も抑制される¹⁴⁾。さらに、PLC ϵ KOマウスでは紫外線により誘導される急性皮膚炎症反応が抑制されていることも報告されている¹⁵⁾。一方、表皮ケラチノサイト特異的にPLC ϵ を過剰発現したマウスでは炎症性サイトカインIL-23、IL-22の産生増加がみられヒト尋常性乾癬と一部類似した皮膚炎症が観察されることが報告されている(図2)¹⁶⁾。

4. おわりに

さまざまなイノシトールリン脂質代謝酵素がケラチノサイトの分化、増殖、炎症に関与していることが判明している。PIP₂を基質とし、セカンドメッセンジャーを産生するという同じ反応を担うにも関わらず、PLC δ 1がケラチノサイト由来の炎症反応を抑制しているのに対しPLC ϵ は炎症反応に必要であるというまったく逆の生理機能を持つことは興味深い事実である。一つのイノシトールリン脂質代謝酵素の異常は基質と生成物のみならず、イノシトールリン脂質代謝系全体の調和を乱し、ケラチノサイトの機能異常の原因となる可能性も考えられる。したがって、代謝産物も含めイノシトールリン脂質の空間的動態や量の変化を包括的に検討するというアプローチも今後、重要になってくると思われる。ケラチノサイトの増殖、分化、炎症反応の異常はアトピー性皮膚炎、乾癬などの各種皮膚疾患に深く関与するため、イノシトールリン脂質代謝系はこれらの皮膚疾患の新たな治療標的となる可能性もあり、今後の研究の進展が期待されることである。

1) Murayama, K., Kimura, T., Tarutani, M., Tomooka, M., Hayashi, R., Okabe, M., Nishida, K., Itami, S., Katayama, I., &

- Nakano, T. (2007) *Oncogene*, 26, 4882-4888.
- 2) Suzuki, A., Itami, S., Ohishi, M., Hamada, K., Inoue, T., Komazawa, N., Senoo, H., Sasaki, T., Takeda, J., Manabe, M., Mak, T.W., & Nakano, T. (2003) *Cancer Res.*, 63, 674-681.
 - 3) Janes, S.M., Ofstad, T.A., Campbell, D.H., Watt, F.M., & Prowse, D.M. (2004) *J. Cell. Sci.*, 117, 4157-4168.
 - 4) Peng, X.D., Xu, P. Z., Chen, M.L., Hahn-Windgassen, A., Skeen, J., Jacobs, J., Sundararajan, D., Chen, W.S., Crawford, S.E., Coleman, K.G., & Hay, N. (2003) *Genes Dev.*, 17, 1352-1365.
 - 5) Calautti, E., Li, J., Saoncella, S., Brissette, J.L., & Goetinck, P. F. (2005) *J. Biol. Chem.*, 280, 32856-32865.
 - 6) Xie, Z. & Bikle, D.D. (1999) *J. Biol. Chem.*, 274, 20421-20424.
 - 7) Xie, Z. & Bikle, D.D. (2007) *J. Biol. Chem.*, 282, 8695-8703.
 - 8) Xie, Z., Chang, S.M., Pennypacker, S.D., Liao, E.Y., & Bikle, D.D. (2009) *Mol. Biol. Cell.*, 20, 1695-1704.
 - 9) Nakamura, Y., Fukami, K., Yu, H., Takenaka, K., Kataoka, Y., Shirakata, Y., Nishikawa, S., Hashimoto, K., Yoshida, N., & Takenawa, T. (2003) *EMBO J.*, 22, 2981-2991.
 - 10) Nakamura, Y., Ichinohe, M., Hirata, M., Matsuura, H., Fujiwara, T., Igarashi, T., Nakahara, M., Yamaguchi, H., Yasugi, S., Takenawa, T., & Fukami, K. (2008) *FASEB J.*, 22, 841-849.
 - 11) Ichinohe, M., Nakamura, Y., Sai, K., Nakahara, M., Yamaguchi, H., & Fukami, K. (2007) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 356, 912-918.
 - 12) Kanemaru, K., Nakamura, Y., Sato, K., Kojima, R., Takahashi, S., Yamaguchi, M., Ichinohe, M., Kiyonari, H., Shioi G., Kabashima, K., Nakahigashi, K., Asagiri, M., Jamora, C., Yamaguchi, H., & Fukami, K. (2012) *Nat. Commun.*, 3, 963.
 - 13) Hu, L., Edamatsu, H., Takenaka, N., Ikuta, S., & Kataoka, T. (2010) *J. Immunol.*, 184, 993-1002.
 - 14) Ikuta, S., Edamatsu, H., Li, M., Hu, L., & Kataoka, T. (2008) *Cancer Res.*, 68, 64-72.
 - 15) Oka, M., Edamatsu, H., Kunisada, M., Hu, L., Takenaka, N., Sakaguchi, M., Kataoka, T., & Nishigori, C. (2011) *Lab. Invest.*, 91, 711-718.
 - 16) Takenaka, N., Edamatsu, H., Suzuki, N., Saito, H., Inoue, Y., Oka, M., Hu, L., & Kataoka, T. (2011) *Eur. J. Immunol.*, 41, 202-213.

著者寸描

●金丸 佳織 (かねまる かおり)



東京薬科大学大学院生命科学研究科生命科学専攻博士課程3年。修士(生命科学)。

■略歴 1986年神奈川県に生る。2009年東京薬科大学生命科学部分子生命科学科卒業。11年同大学大学院生命科学研究科生命科学専攻修士課程修了。同年より同大学院生命科学研究科博士課程在籍。11年より

日本学術振興会特別研究員(DC1)。

■研究テーマと抱負 イノシトールリン脂質代謝酵素, PLC δ 1の皮膚における機能解析をテーマに研究を行っています。将来的には皮膚の疾患との関わりについて新たな知見を見いだせるような研究をしていきたい。

■趣味 切り絵, 読書, 音楽鑑賞。