

ラジオNIKKEI ■放送 毎週木曜日 21:00~21:15

マルホ皮膚科セミナー

2012年5月24日放送

「第29回日本美容皮膚科学会② 教育講演1

真皮に関する最新の話題」

大分大学 皮膚科

教授 藤原 作平

はじめに

2011年9月10日に下関市の海峽メッセで開催されました第29回日本美容皮膚科学会で「真皮に関する最新の話題」というタイトルで教育講演1を担当させていただきました。本日はその中から、ケロイドとデルマトポーションという真皮成分についての話をしたいと思います。

ケロイドについて

まずケロイドについてですが、ケロイドは、若年から壮年にかけて生じる創傷治癒異常ですが、切除後放射線療法後も再発することがあり、なかなか難治な疾患です。その発症機序はいまだに不明で、これまでにいろいろな研究が行われてきました。今回は発現マイクロアレイ解析という方法で、細胞が産生する分子を分析しました。

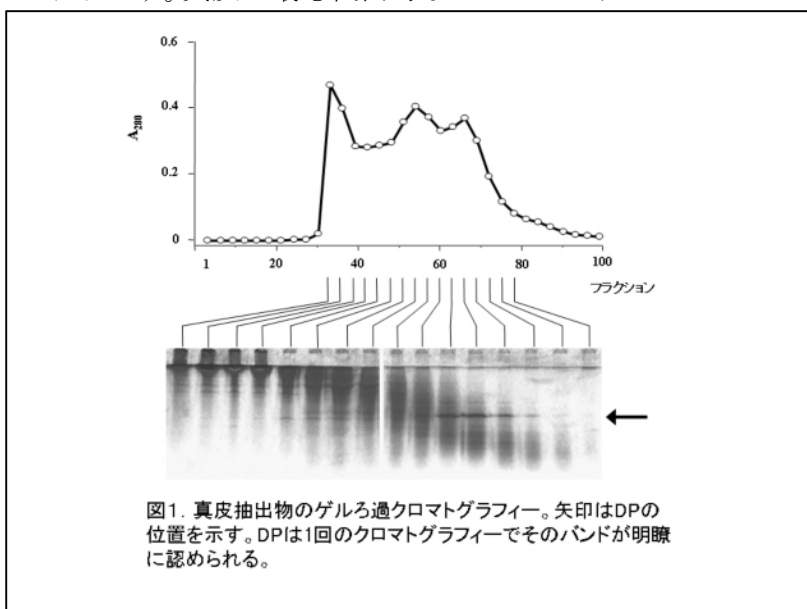
ケロイド患者さんと、非ケロイド患者さんとの皮膚から、細胞培養を行い、RNAを抽出し、発現している遺伝子を調べました。ケロイド線維芽細胞で発現が亢進した遺伝子、発現が低下した遺伝子を、各々239個、242個選びました。接着分子である cadherin 11 および carponin1、transgelin、tropomyosin 2 などの α 平滑筋アクチンとその結合分子の発現が上昇しておりましたので、ケロイドの細胞は、通常の線維芽細胞ではなく、筋線維芽細胞という特殊な細胞に分化していることが示唆されました。興味深いことに、cartilage oligomeric matrix protein (COMP)、ヒアルロン酸プロテオグリカン結合蛋白質(HAPLN1)など軟骨でみられる細胞外マトリックス成分が増加しているにもかかわらず、II型コラーゲンという軟骨特有のコラーゲンが増加しない点については、特定の分化抑制因子が影響していると考えられました。一方細胞増殖因子である TGF- β 1 については、その負の調節因子の減少も増加もみられ、TGF- β 1 の作用方向は正か負か

は推定できませんでした。さらに細胞のアポトーシスについては、それを亢進させるシグナルも抑制するシグナルもともに見られました。

今後の展開として、これらの遺伝子発現が、他のケロイド由来細胞でも、同様に生じているかどうかを、免疫組織化学的に、または核酸を用いた *in situ hybridization* という方法で確認したいと思っています。またケロイド組織では、I型コラーゲンだけでなく、特殊なコラーゲンが産生されている可能性があり、それも分子レベルで確認したいと思っています。いずれにしても、ケロイド線維芽細胞は通常の真皮とは異なる種々の細胞外タンパク質を産生しているようですので、それを司るいわゆる転写因子はどうなっているのか、構成細胞は1種類なのか、それとも複数種類存在するのかといった点について研究をおこなっていきたいと考えております。

デルマトポンチンについて

つぎにデルマトポンチンについてですが、デルマトポンチン (DP) は、183 個のアミノ酸からなる分子量 22 kDa のタンパク質であり、ウシの真皮から初めて単離されました。真皮の低分子タンパク質の中では、比較的多い成分ですが (図 1)、皮膚以外に骨、軟骨、心臓、筋肉、肺などにも発現します。デルマトポンチンを欠損させたマウスの皮膚は、機械的強度が低下して破れやすくなり、電子顕微鏡的には、コラーゲンが変形し、太いコラーゲン線維が観察されます。つまり、デルマトポンチン欠損マウスはヒトのエーラス・ダンロス症候群類似の症状を呈し、皮膚だけでなく角膜の層状構造も乱れることが報告されています。当教室の岡本修講師らは、この分子の機能、特に細胞接着機能、創傷治癒に及ぼす影響を精力的に研究しております。真皮で最も代表的なプロテオグリカンであるデコリンとデルマトポンチンは結合することが知られていました。一方デコリンは先ほどの TGF- β 1 と結合してその生物活性を阻害することから、デルマトポンチンと活性型 TGF- β 1 が結合するかどうかを検討しました。その結果デルマトポンチンは TGF- β 1 と結合し、その生物活性を増強しました。したがって TGF- β 1 の生物活性については、相反する作用を持つ二つの分子、即ちデコリンとデルマトポンチンが共存していることがわかりました。



デルマトポンチンが線維芽細胞の接着能を持つことは以前から知られておりました。岡本らは表皮細胞類似の HaCaT 細胞が線維芽細胞にくらべてはるかに強力にデルマト

ポンチンに接着することを見出し (図2)、デルマトポンチンの細胞膜レセプターは $\alpha 3 \beta 1$ インテグリンとシンデカン1であることを見出しました。

創傷部位には、フィブリンを主成分とするタンパク質の塊が一時的に形成されますが、この構造物を仮マトリックス (provisonal matrix) と呼びます。この仮マトリックスには、フィブロネクチンというタンパク質とともに、デルマトポンチンが存在することがわかりました。デルマトポンチンは血清中にも存在し、仮マトリックスのデルマトポンチンは、周囲の真皮と血清の両方に由来すると考えています。デルマトポンチンはフィブロネクチン、フィブリンと各々結合するとともに、フィブリンとフィブロネクチンの結合を増強しました。

デルマトポンチンはフィブロネクチンのタイプ III リピートと呼ばれる部分で結合しました。線維芽細胞株の一つである HT1080 細胞はフィブリン-フィブロネクチン-デルマトポンチンの3者複合体に接着し、そのレセプターはフィブロネクチンのレセプターである $\alpha 5 \beta 1$ インテグリンでした。この3者に結合した時のHT1080細胞の形態は、フィブリン-フィブロネクチンに結合した場合と比べて、細胞の形が大きく異なりました。この結果デルマトポンチンが存在することによってフィブロネクチンが細胞に利用されやすくなり、デルマトポンチンがフィブロネクチンの構造に何らかの影響を与えているのだろうと考えました。

フィブロネクチンは細胞接着分子として有名ですが、ちょうど2本の松の葉が一方の端でくっついたような構造をしています。この松葉が両足を広げるようにフィブロネクチンが伸展すると、互いに結合し線維を形成することがわかっております。このような状態は、活性化と呼ばれ、細胞接着性が著しく亢進します。そこでデルマトポンチンがフィブロネクチンを活性化するのではないかと考え実験をおこないました。活性化フィブロネクチンは生理的緩衝液中では、溶けずに沈殿するという性質があるため、フィブロネクチンにデルマトポンチンを加えてその溶解性を検討しますと、フィブロネクチンが沈殿し、電子顕微鏡で観察すると線維を形成していることが確認されました (図3)。フィブロネクチンの細胞側のレセプターである $\alpha 5 \beta 1$ インテグリンもフィブロネクチンを活性化しますが、インテグリン以外の生体内分子として、デルマトポンチンはフィブロネクチンを活性化しうる初めての生理的な分子であるということがわかりました。

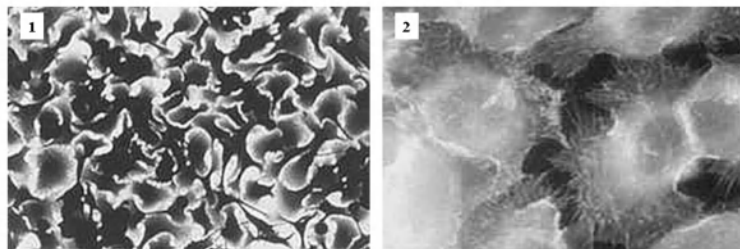
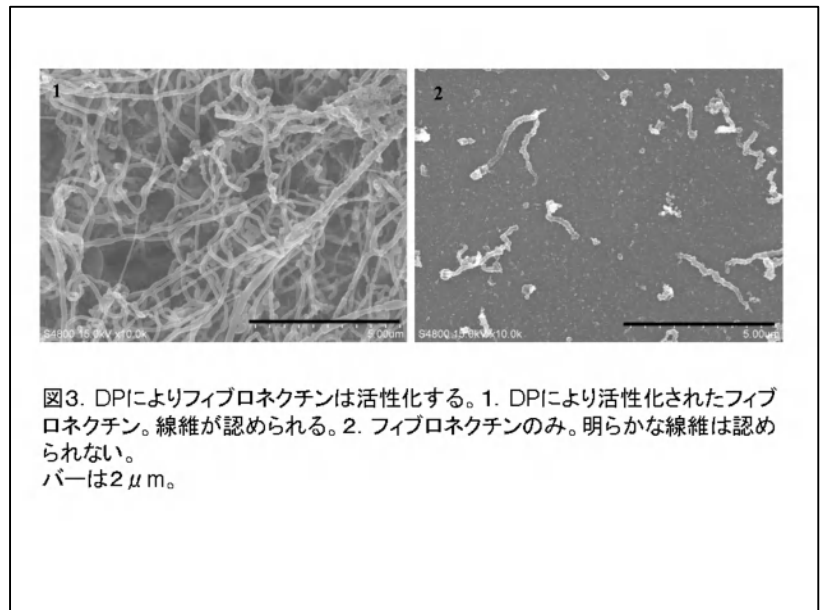


図2. HaCaT細胞はDPIに接着する。1. 細胞染色。DPIに接着したHaCaT細胞は細胞質が伸展する。2. 細胞骨格染色。アクチン線維が明瞭に認められる。

おわりに

実際の創傷治癒過程においては、実験的な心筋梗塞の周囲でデルマトポンチンが強く発現すると報告されています。コラーゲン、デコリン、デルマトポンチンの心筋梗塞周囲での発現の経時変化を追ってみますと、コラーゲンは7日目でその発現が最高となりますが、デコリンやデルマトポンチンは14日目に発現が最高となり以後減少するとされています。特にデルマトポンチン

を発現する細胞は間葉系細胞だけでなく、浸潤したマクロファージにも認められるようです。以上のデータからデルマトポンチンは創傷治癒を促進する機能を担っていると考えられ、今後このペプチドが創傷治癒促進剤として使用できるのではないかと考えております。



文献

1. Okamoto O, Fujiwara S, Abe M, et al.: Dermatopontin interacts with TGF- β 1 and enhances its biological activity, *Biochem J*, **337**: 537-541, 1999.
2. Okamoto O, Hozumi K, Katagiri F, et al.: Dermatopontin promotes epidermal keratinocyte adhesion via α 3 β 1 integrin and a proteoglycan receptor, *Biochemistry*, **49**: 147-155, 2010.
3. Kato A, Okamoto O, Ishikawa K, et al.: Dermatopontin interacts with fibronectin, promotes fibronectin fibril formation, and enhances cell adhesion, *J Biol Chem*, **286**: 14861-14869, 2011.