



Title	Up-regulation of Loricrin Expression by Cell Adhesion Molecule Nectin-1 through Rap1-ERK Signaling in Keratinocytes
Author(s)	若松, 高太郎
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/48967
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	若 松 高 太 郎
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 1 8 0 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 20 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科生体制御医学専攻
学 位 論 文 名	Up-regulation of Loricrin Expression by Cell Adhesion Molecule Nectin-1 through Rap 1-ERK Signaling in Keratinocytes (角化細胞でのロリクリン発現におけるネクチン-1 の作用機構)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 高 井 義 美 (副査) 教 授 片 山 一 朗 教 授 米 田 悦 啓

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

ネクチンは免疫グロブリンスーパーファミリーに属する細胞間接着分子で、ネクチン-1、-2、-3、-4 の 4 種類のメンバーからなるファミリーを構成している。ネクチンは上皮細胞において E-カドヘリンと協調して、アドヘレンスジャンクション (AJ) とタイトジャンクション (TJ) の形成に重要な役割を果たしている。今回、私どもはネクチン-1 ノックアウトマウスを作製し、ネクチン-1 の表皮における作用機構について検討した。

[方法ならびに成績]

ネクチン-1 ノックアウトマウス表皮の解析

出生直後のネクチン-1 ノックアウトマウスは野生型マウスと比較して、皮膚に光沢と赤みを認めた。しかしながら、皮膚組織では明らかな構造変化は認められなかった。免疫組織染色で、ネクチン-1 の発現は野生型マウスでは基底層から有棘層、顆粒層までに認められたが、ネクチン-1 ノックアウトマウスでは消失していた。ネクチン-2 の発現は両方のマウスで基底層から有棘層、顆粒層まで認められた。ネクチン-3 は両方のマウスで、発現は認められなかった。また、AJ の主要構成分子である E-カドヘリンの発現は両者のマウス間で変化は認められなかった。ネクチンは AJ 形成に重要な役割を果たしているが、ネクチン-1 ノックアウトマウスでの AJ 形成は正常であった。このことは、ネクチン-2 によってネクチン-1 の機能が代償されている可能性があることが示唆される。

表皮を作る角化細胞は基底層、有棘層、顆粒層を経て角質層へと分化をしながら体の外表へと移動し、表皮細胞の最終分化形態である、角質細胞となって体から剥がれる。特に、顆粒層から角質層への分化を終末分化という。終末分化の一つの特徴として周辺帯の形成がある。角化細胞の細胞膜は終末分化で形成される周辺帯によって裏打ちされ、角質細胞膜を強固にしていることが知られている。今回、周辺帯の主要構成タンパク質であり、終末分化マーカーの 1 つであるロリクリンの発現が、ネクチン-1 ノックアウトマウスで減少していることを見出した。有棘層の分化マーカーであるケラチン 10、顆粒層の分化マーカーであるインボルクリンやフィラグリンは両者のマウス間での発現に差を認めなかった。角化細胞は、増殖が亢進すると分化が遅れ、ロリクリンが減少することが知られている。しかし、ネ

クチン-1 ノックアウトマウスの表皮では、細胞増殖マーカーである Ki-67 の染色が基底層で増加していなかった。これらの結果から、ネクチン-1 ノックアウトマウスの表皮には、終末分化の異常があることが示唆された。

さらに、ネクチン-1 ノックアウトマウスから単離した角質細胞は、機械的刺激に対して脆弱であった。このことは、ロリクリンの減少による周辺帯の構造異常を間接的に示唆する。またロリクリンノックアウトマウスもネクチン-1 ノックアウトマウスと同様の皮膚所見を示すことが報告されている。そのような皮膚所見を呈する機序として周辺帯の他の構成分子である SPRRP およびレペチンの発現が顕著に上昇することが原因の一つとして考えられている。実際に、ネクチン-1 ノックアウトマウスにおいても SPRRP およびレペチンの mRNA 量が増加していた。これらの結果から、ネクチン-1 ノックアウトマウスにおいて、ロリクリンの発現が減少しており、ロリクリン以外の周辺帯構成分子の発現が代償性に増加していることがわかった。この代償性の発現上昇によって、角質細胞の構造は保存されているものの、機械的刺激に対して脆弱になっていることがわかった。

初代培養系ネクチン-1 ノックアウトマウス角化細胞の解析

ネクチン-1 ノックアウトマウス表皮の終末分化異常の機構を明らかにする目的に、出生直後のマウス表皮より分離した初代培養角化細胞を用いた。角化細胞は、低カルシウム培養液中では増殖するが、高カルシウム培養液中では増殖は停止して分化が誘導されることが知られている。野生型初代培養角化細胞では、分化を誘導すると Rap1-ERK シグナル伝達経路が活性化して、ロリクリンの発現が上昇する。しかし、ネクチン-1 ノックアウトマウス初代培養角化細胞では、このシグナル伝達経路は活性化せず、ロリクリンの発現上昇は認められなかった。この細胞へヒト型ネクチン-1 をトランスフェクションすると、野生型と同様に分化誘導後の Rap-Raf-MEK-Erk シグナル伝達経路が活性化して、ロリクリンの発現が上昇した。

[総 括]

今回の結果から、ネクチン-1 は表皮の分化にともない、おそらくは角化細胞膜上でトランス結合することによって Rap1-ERK シグナル伝達経路を活性化させ、ロリクリンの発現を調節することによって、表皮の終末分化に関与することが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

ネクチンは免疫グロブリンスーパーファミリーに属する細胞間接着分子で、ネクチン-1、-2、-3、-4 の4種類のメンバーからなるファミリーを構成している。ネクチンは上皮細胞において E-カドヘリンと協調して、アドヘレンスジャンクションとタイトジャンクションの形成に重要な役割を果たしている。本申請者は、本研究において、ネクチン-1 ノックアウトマウスを用いて、ネクチン-1 の表皮における作用機構について検討した。

その結果、ネクチン-1 は表皮の分化に伴い、Rap1-ERK シグナル伝達経路を活性化させ、周辺帯の主要構成タンパクであるロリクリンの発現を調節することによって、表皮の終末分化に関与することが明らかとなった。

本研究は、表皮の分化の分子メカニズムを解明する上で重要であり、実験結果自体の意義だけでなく、今後の研究への発展も期待できる。したがって、博士(医学)の学位授与に値する。