

Title	Accumulation of elafin in actinic elastosis of sun-damaged skin : elafin binds to elastin and prevents elastolytic degradation
Sub Title	日光角化症におけるエラフィンの沈着:エラフィンはエラスチンと結合しエラスチン分解を防御する
Author	武藤, 潤
Publisher	慶應医学会
Publication year	2007
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.84, No.4 (2007. 12) ,p.17-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20071202-0017

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Accumulation of Elafin in Actinic Elastosis of Sun-Damaged Skin: Elafin Binds to Elastin and Prevents Elastolytic Degradation

(日光角化症におけるエラフィンの沈着：エラフィンはエラスチンと結合しエラスチン分解を防御する)

武 藤 潤

内容の要旨

エラフィンは分子内にトランスグルタミナーゼの基質となる領域とプロテイナーゼ阻害作用を有する領域とからなる塩基性ペプチドである。現在まで上皮系の細胞のみに発現され、間葉系の細胞には発現されないことが報告されている。好中球の蛋白分解酵素とくにエラスターゼの阻害作用を有し、表皮角化細胞のバリア構造である辺縁帯の成分でもある。

老人の露光部では変性した弾力線維の沈着を真皮上～中層に高率に認め(日光弾力線維症)紫外線の影響による皮膚の老化(photoaging)のひとつとされている。日光弾力線維症を有する皮膚病理検体に抗エラスチン抗体、抗エラフィン抗体で免疫2重染色を施行した。日光角化症10例すべての症例において真皮内の日光弾力線維症を示す部位にエラフィン陽性で、これはエラスチン陽性部と一致していた。日光弾力線維症を伴わない露光部10例および非露光部12例における真皮ではエラフィン陰性であった。

次に線維芽細胞がエラフィンを誘導する可能性を検討した。4才児より採取した線維芽細胞を培養し、IL-1 β 、TNF- α 、TGF- β 、UVA、UVB処理後mRNAを抽出した。エラフィンのプライマーでRT-PCRを施行したところIL-1 β で処理した線維芽細胞と、UVAを照射した線維芽細胞において297bpのエラフィンのバンドを検出した。さらに蛋白レベルでも線維芽細胞のエラフィン誘導を検討した。方法は培養線維芽細胞にIL-1 β 処理、またはUVA、UVBを照射した後、培養上清の蛋白分画を10%三塩化酢酸で濃縮し、SDSサンプルバッファーで溶解後、SDS-PAGEを行い、1次抗体にエラフィン抗体を使用し免疫プロット法を施行した。IL-1 β で処理したものと、UVAを照射した線維芽細胞培養上清で、14kDaのバンドを検出しエラフィンの前駆蛋白と考えられた。したがってIL-1 β 処理またはUVA照射により線維芽細胞でエラフィンが誘導されることが確認された。

またトロポエラスチンとエラフィン0.5 μ gをTGase 1munitで37 $^{\circ}$ C・60分間反応させ、反応物をSDS-PAGE後、免疫プロット法を施行した。エラフィンとトロポエラスチンは、トランスグルタミナーゼを介して架橋結合を形成したため高分子のバンドが検出された。このエラフィン-エラスチン複合体はエラスターゼ消化に抵抗性であった。

以上よりIL-1あるいは紫外線により誘導された線維芽細胞のエラフィンがエラスチンとTGaseを介して結合すること、さらに結合したエラフィンは分子内の蛋白分解酵素阻害作用によりエラスチンの分解を抑制することが考えられた。したがって、日光弾力線維症はエラフィンによるエラスチンの分解抑制のためエラスチンが沈着するものと示唆された。

論文審査の要旨

老人の露光部では変性した弾力線維の沈着を真皮上～中層に高率に認め(日光弾力線維症)紫外線の影響による皮膚の老化(photoaging)のひとつとされている。本研究では、免疫組織学的に日光弾力線維症の部位にエラフィンが存在すること、IL-1 β 処理またはUVA照射により培養線維芽細胞でエラフィンが誘導されること、In vitroでエラフィンとトロポエラスチンがトランスグルタミナーゼを介して架橋結合を形成し、このエラフィン-エラスチン複合体はエラスターゼ消化に抵抗性であることが明らかとされた。

審査では、まずエラスチンとエラフィンが複合体を形成する機構について質問された。エラスチンとエラフィンは共有結合しているが、トランスグルタミナーゼ等の関与について詳細な機構は不明であると回答された。

次に、病理組織学的に日光弾力線維症で変性した弾力線維が塊状に沈着している理由につき議論された。エラフィンがエラスチンへ結合し複合体を形成し、さらにコラーゲンの分解と沈着による修飾が加わる可能性が回答された。さらにMMPと日光弾力線維症との関連について質問がなされ、MMP1、2が日光弾力線維症のエラスチン沈着部に一致して陽性との報告があると回答された。

次に切除した皮膚を用いたex vivoの実験において、非露光部皮膚にUVAを照射すると真皮内でエラスチンに一致してエラフィンが免疫組織学的に陽性に染色されるが、UVBを照射したものでは真皮内でエラフィンが陰性となる理由について質問された。UVBはUVAと比較し波長が短いため皮膚に照射した場合真皮への影響が少ないこと、また本研究で明らかされたようにin vitroの実験系においてUVB照射ではUVA照射と異なり培養線維芽細胞でエラフィンが誘導されないため、と回答された。さらにUVAを照射された線維芽細胞がエラフィンを発現する際に、IL-6の関与が示唆されていることが議論された。

また、今回の研究では検討されていないが、レチノイドのエラフィン発現に対する影響について質問がなされた。論文審査後、培養表皮角化細胞、線維芽細胞をレチノイド(10^{-6} – 10^{-9} M)で処理したところリアルタイムPCRを用いてエラフィン発現が誘導されることを確認した。

最後に、今後の展開として、さらなるエラフィンの機能解析、およびエラスチン関連疾患の病態解明、治療開発を進めていく上で、エラフィン・ノックアウトマウスの作成が重要である旨、議論された。

以上のように、本研究ではなお検討すべき課題はあるものの、線維芽細胞がエラフィンを発現しエラフィンがエラスチンと結合した状態でエラスターゼ作用に抵抗することが明らかにされ、日光弾力線維症の形成にエラフィンが関与する可能性を示唆した点で意義のある研究と評価された。

論文審査担当者 主査 皮膚科学 天谷 雅行
病理学 岡田 保典 形成外科学 中島 龍夫
医化学 末松 誠
学術確認担当者：池田 康夫
審査委員長：岡田 保典

試問日：平成19年6月13日