慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	表皮バリアの形成・維持機構の解明とバリア構築に関わる新規因子の探索
Sub Title	Molecular mechanisms for the epidermal barrier homeostasis
Author	久保, 亮治(Kubo, Akiharu) 天谷, 雅行(Amagai, Masayuki) 佐々木, 貴史(Sasaki, Takashi)
Publisher	
Publication year	2017
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2016.)
JaLC DOI	
Abstract	皮膚表皮のバリアをうまく保ちながら, バリアを作っている表皮細胞自身はどうやって新陳代謝して入れ替わっているのでしょうか？我々は, この謎を解く鍵が, ひとつひとつの細胞の形にあることが初めて明らかにしました。皮膚の細胞は, ケルビン14面体と呼ばれる, 空間を効率良く埋めるために最適な多面体が平たくなった形をしていました。この形をうまく利用して, 規則的な順序で細胞が入れ替わることにより, 丈夫な皮膚バリアを保ったまま, 次々と古い細胞を垢として捨て, 常に瑞々しい皮膚を保つことができることが, 詳細な顕微鏡観察とコンピュータシミュレーションにより初めて明らかになりました。 In multicellular organisms, cells adopt various shapes, from flattened sheets of endothelium to dendritic neurons, that allow the cells to function effectively. Here, we elucidated the unique shape of cells in the stratified epithelia of the epidermis that allows them to achieve homeostasis of the tight junction (TJ) barrier. Using intimate in vivo 3D imaging, we found that the basic shape of TJ-bearing cells is a flattened Kelvin's tetrakaidecahedron (f-TKD), an optimal shape for filling space. In vivo live imaging further elucidated the dynamic replacement of TJs on the edges of f-TKD cells that enables the TJ-bearing cells to translocate across the TJ barrier. We propose a spatiotemporal orchestration model of f-TKD cell turnover, where in the classic context of "form follows function," cell shape provides a fundamental basis for the barrier homeostasis and physical strength of cornified stratified epithelia.
Notes	研究種目：基盤研究(B)(一般) 研究期間：2014～2016 課題番号：26293259 研究分野：細胞生物学 皮膚科
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_26293259seika

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.

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

平成　２９　年　　５　月　２９　日現在

機関番号：　３２６１２
研究種目：　基盤研究(B)（一般）
研究期間：　2014～2016
課題番号：　２６２９３２５９

研究課題名（和文）表皮バリアの形成・維持機構の解明とバリア構築に関わる新規因子の探索

研究課題名（英文）Molecular mechanisms for the epidermal barrier homeostasis

研究代表者

久保　亮治（Kubo, Akiharu）

慶應義塾大学・医学部・准教授

研究者番号：７０３３５２５６

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　12,700,000円

研究成果の概要（和文）：皮膚表皮のバリアをうまく保ちながら、バリアを作っている表皮細胞自身はどうやって新陳代謝して入れ替わっているのでしょうか？我々は、この謎を解く鍵が、ひとつひとつの細胞の形にあることが初めて明らかにしました。皮膚の細胞は、ケルビン14面体と呼ばれる、空間を効率良く埋めるために最適な多面体が平たくなった形をしていました。この形をうまく利用して、規則的な順序で細胞が入れ替わることにより、丈夫な皮膚バリアを保ったまま、次々と古い細胞を垢として捨て、常に瑞々しい皮膚を保つことができることが、詳細な顕微鏡観察とコンピュータシミュレーションにより初めて明らかになりました。

研究成果の概要（英文）：In multicellular organisms, cells adopt various shapes, from flattened sheets of endothelium to dendritic neurons, that allow the cells to function effectively. Here, we elucidated the unique shape of cells in the stratified epithelia of the epidermis that allows them to achieve homeostasis of the tight junction (TJ) barrier. Using intimate in vivo 3D imaging, we found that the basic shape of TJ-bearing cells is a flattened Kelvin's tetrakaidecahedron (f-TKD), an optimal shape for filling space. In vivo live imaging further elucidated the dynamic replacement of TJs on the edges of f-TKD cells that enables the TJ-bearing cells to translocate across the TJ barrier. We propose a spatiotemporal orchestration model of f-TKD cell turnover, where in the classic context of "form follows function," cell shape provides a fundamental basis for the barrier homeostasis and physical strength of cornified stratified epithelia.

研究分野：　細胞生物学　皮膚科

キーワード：　タイトジャンクション　皮膚バリア　組織恒常性　形と機能　表皮

１．研究開始当初の背景

皮膚の最も大切な機能は、私たちの体の表面を覆い、外の世界から私たちの体を守るバリアとしての機能です。皮膚のバリア機能は主に、皮膚の表面を覆う細胞の層（表皮）が担っています。

表皮の一番外側にある角層は、死んで角化した細胞（角質細胞）が、何層にも重なり強固に結合することによって作られた頑丈なバリアです。角層の内側にはもう一つ、バリアの働きをする構造があります。細胞と細胞の間をぴったりと隙間なくくっつける、密着結合（タイトジャンクション）と呼ばれる構造です。タイトジャンクションは、角層を通り抜けた抗原が、細胞と細胞の隙間を通り抜けて体内に侵入してくるのを防いでいます。これらの皮膚のバリアがうまく働かないと、細菌が体内に侵入して感染症を引き起こしたり、アレルゲンが体内に侵入しやすくなって、アトピー性皮膚炎や喘息、食物アレルギーを引き起こすことが知られています。

表皮の細胞は常に新陳代謝しており、日々新しい細胞が生まれ、古い細胞はどんどん垢となって、はがれ落ちていきます。どうやってバリアを保ったまま、バリア本体を作っている細胞を入れ換えることができるのか？その仕組みは長い間ずっと不明でした。

２．研究の目的

どのようにして、タイトジャンクションのバリアを保ったまま、タイトジャンクションバリア本体を作っている細胞を入れ替えていくことができるのか、皮膚の細胞を新陳代謝して、常に瑞々しい皮膚を保ち続けるしくみを明らかにすることを目的に研究を行いました。

３．研究の方法

細胞が規則正しく配列している、マウスの耳の表皮を研究対象として用いました。マウス皮膚より表皮シートを作成し、表皮細胞の配列と、表皮細胞間に形成されるタイトジャンクションを３次元観察しました。また、タイトジャンクションの裏打ち蛋白であるZO-1に蛍光蛋白Venusを結合させた融合蛋白を、表皮特異的に発現するトランスジェニックマウスを作成し、表皮タイトジャンクションバリアを蛍光蛋白によりライブイメージングすることができるようにしました。また、マウスを麻酔し、耳皮膚をツーフォトン顕微鏡を用いてライブイメージングする系を確立しました。

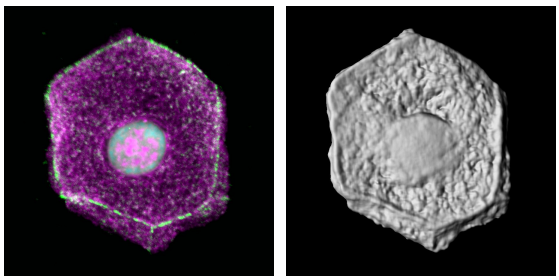
４．研究成果

マウスの耳の皮膚とその細胞をコンフォーカル顕微鏡で観察することで、タイトジャンクションバリアを作っている細胞が、“ケルビンの 14 面体”と呼ばれる特殊な多面体を平たくした形をしており、（図１）に示すように、お互いに組み合わさるように頑丈で規則正しい構造をしていることを発見しました（図２）。さらに、皮膚のタイトジャンクションが光るマウスをツーフォトン顕微鏡で観察することにより、細胞が決まった順番通りに、規則正しく入れ替わって行くことを明らかにしました。

１つ１つの細胞が入れ替わる時、その細胞の周りでだけタイトジャンクションは一時的に２重になり、新しいバリアができてから古いバリアが消えることで、細胞が入れ替わってもバリアは破れない仕組みになっていました（図３）。さらに、規則正しく立体的に配列した細胞たちの間で、お互いの位置とタイミングを合わせながら順序立って細胞が入れ替わることで、皮膚全体のバリアが保たれていることをコンピュータシミュレーションを用いて示しました。皮膚のバリアを保ちながら細胞を新陳代謝させることを可能にする鍵は、ひとつひとつの細胞の形にあることが初めてわかりました。

自然界には物理法則に従って秩序あるパターンが多く現れます。ザクロの実やせっけんの泡にみられる、空間がほぼ同じ大きさの立体（多面体）によって分けられる空間分割は、生物と無生物を問わず、自然界にみられる秩序立った美しいパターンのひとつです。今回発見された、ケルビン 14 面体を応用した細胞の形とその規則正しい配列は、デザインにおける古典的な格言“Form follows function（形態は機能に従う）”の通りに、皮膚が私たちの体を守るバリアとしての役割を果たすために、数理的に最も効率の良いデザインを選択したことを示唆しています。

観察された細胞の形



ケルビン14面体　扁平ケルビン14面体

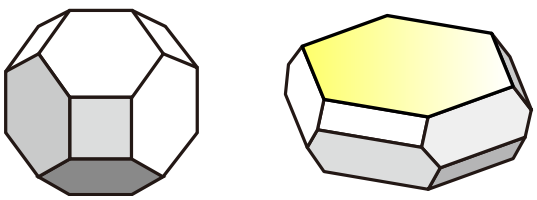


図１　表皮のタイトジャンクションを形成する細胞は扁平なケルビン 14 面体形状を取る。

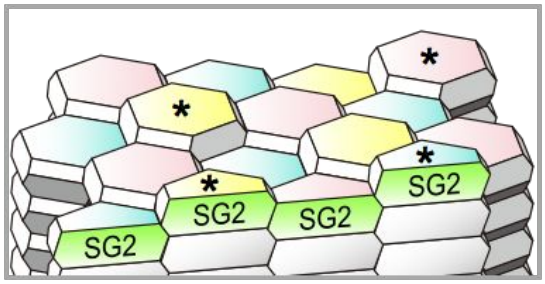


図２　異なる 3 種類の高さの SG2 細胞(黄色、ピンク、水色の細胞）が規則正しく組み合わさることにより、表皮の細胞シートが形成される。局所で周囲の細胞よりも高い位置にある細胞（★印の細胞）が次に分化する細胞である。

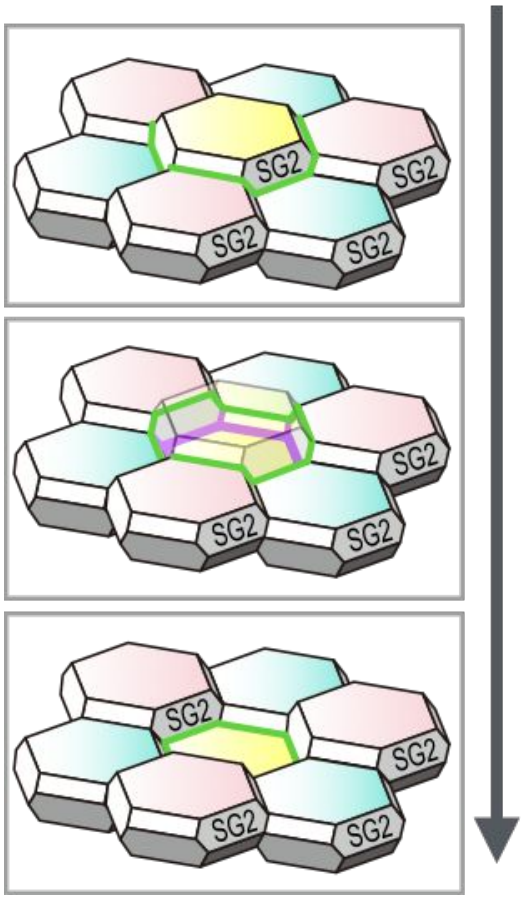


図３　局所で周囲の細胞よりも高い位置にある細胞（★印の細胞）が、一時的に細胞の周囲の TJ バリアを二重にすることにより、TJ バリアの恒常性を保ちながら細胞を入れ替えていくことが可能な仕組みである。

５．主な発表論文等
（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計　2　件）
英語論文（全て査読あり）

1. Yokouchi M, Atsugi T, Logtestijn M, Tanaka R, Kajimura M, Suematsu M, Furuse M, Amagai M, Kubo A. Epidermal cell turnover across tight junctions based on Kelvin's tetrakaidecahedron cell shape ***eLife***. 5 e19593, 2016. DOI: 10.7554/eLife.19593
2. Yokouchi M, Kubo A, Kawasaki H, Yoshida K, Ishii K, Furuse M, Amagai M. Epidermal tight junction barrier function is altered by skin inflammation, but not by filaggrin-deficient stratum corneum. ***J Dermatol Sci***. 77 28-36, 2015. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2014.11.007

〔学会発表〕（計　40　件）
国際学会招待講演

1. Kubo A. Epidermal barrier homeostasis and its breakage in skin diseases. ***The 41st Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology***, **仙台国際センター（宮城県仙台市青葉区）**, 2016.12.9
2. Kubo A. Epidermal cell turnover across tight junctions based on Kelvin's tetrakaidecahedron cell shape. ***2nd International Symposium on 'Autoinflammation breaks Barriers'***, Munster, Germany, 2016.11.21
3. Kubo A. Spatiotemporal orchestration of epidermal cell turnover based on Kelvin's tetrakaidecahedron cell shape. ***CDB International Symposium "Body Surface Tactics"***, **理化学研究所多細胞システム形成研究センター（兵庫県神戸市中央区）**, 2016.11.14
4. Kubo A. Homeostasis and Dysfunction of the Epidermal Barriers. ***12th Meeting of the German-Japanese Society of Dermatology***, **軽井沢プリンスホテル（長野県軽井沢市）**, 2016.10.13
5. Kubo A. Epidermal cell turnover across tight junctions based on Kelvin's tetrakaidecahedron cell shape. ***14th Meeting of the European Epidermal Barrier Research Network.***, Munchen, Germany, 2016.9.8
6. Kubo A. Epidermal barrier homeostasis and its breakage in skin diseases. ***2016 IHEIB (Institute of Human-Environment Interface Biology) Symposium***, Seoul, Korea, 2016.2.20
7. Kubo A. Epidermal barrier homeostasis and its breakage in skin diseases. ***10th Annual Symposium in Institute of Human-Environment Interface Biology***, Seoul, Korea, 2016.2.20
8. Kubo A. Significance of cell shape in the epidermal cell turnover across tight junctions. ***2015 Global Skin Disease Research Consotium Symposium in Tokyo***, **慶應義塾大学(東京都新宿区)**, 2015.12.9
9. Kubo A. Vicious Cycle in Atopic

Dermatitis: Epidermal Barriers, Allergic Sensitization and Inflammation. ***The 44th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology***, **札幌コンベンションセンター（北海道札幌市）**, 2015.11.18

10. Kubo A. Tight junctions, the skin barrier and atopic dermatitis. ***23rd World Congress of Dermatology***, Vancouver, Canada, 2015.6.8-14
11. Kubo A. Tight junction barriers in the skin and skin diseases. ***5th Pan Asian Pacific Skin Barrier Research Annual Symposium***, Tainan, Taiwan, 2014.11.22

国際学会発表

1. Yokouchi M, Atsugi T, Kajimura M, Suematsu M, Furuse M, Amagai M, Kubo A. Cell shape determines the regulatory mechanisms for maintaining tight junction barrier homeostasis in epidermal turnover. ***76th Annual Meeting Society for Investigative Dermatology***, Kierland, Arizona, USA, 2016.5.14
2. Yokouchi M, Kajimura M, Suematsu M, Furuse M, Amagai M, Kubo A. Homeostatic cell turnover mechanisms that maintain tight junction barrier integrity in the epidermis. ***The 6th Annual Congress of Pan AsianPacific Skin Barrier Research Society PAPSBRS***, **岡山コンベンションセンター（岡山県岡山市北区）**, 2015.12.14
3. Yokouchi M, Kajimura M, Suematsu M, Furuse M, Amagai M, Kubo A. Homeostatic cell turnover mechanisms that maintain tight junction barrier integrity in the epidermis. ***The 40 th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology***, **岡山コンベンションセンター（岡山県岡山市北区）**, 2015.12.12
4. Rubsam M, Kubo A, Mertz A, Boggetti B, Goranci G, Dufresne E, Horsley V, Amagai M, Niessen C. Classical cadherins control polarized organization of junctions and cytoskeleton in stratified epithelia. ***The 40 th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology***, **岡山コンベンションセンター（岡山県岡山市北区）**, 2015.12.12
5. Atsugi T, Yokouchi M, Hirabayashi A, Ohyama M, Amagai M, Kubo A. Functional tight junction barriers in sebaceous glands: defects in holocrine secretion in claudin-1 deficient mice. ***The 40 th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology***, **岡山コンベンションセンター（岡山県岡山市北区）**, 2015.12.12
6. Kubo A, Hirano T, Kawasaki H, Yokouchi M, Atsugi T, Amagai M. Epidermis-specific ablation of claudin-1 in adult mice demonstrates a key role of tight junction barrier in the development of atopic dermatitis. ***The 64th Meeting of Japanese Society of Allergology***, **グランドプリンスホテル新高輪（東京都港区）**, 2015.5.27
7. Kubo A, Hirano T, Yokouchi M, Kawasaki H, Atsugi T, Amagai M. Tight junction barrier dysfunction induced by epidermis-specific claudin-1 ablation is sufficient to cause dermatitis in mice ***75th Annual Meeting Society for Investigative Dermatology***, Atlanta, USA, 2015.5.6-9
8. Hirano T, Yokouchi M, Atsugi T, Amagai M, Kubo A. Epidermis-specific ablation of claudin-1 in adult mice demonstrates the essential role of a tight junction barrier in skin homeostasis. ***The 39th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology***, **ホテル阪急エクスポパーク（大阪府吹田市）**, 2014.12.13
9. Ishizaki I, Miyayama T, Sanada N, Kubo A, Setou M. Molecular Analysis of Biological Tissues using Time-of-Flight Secondary Ion Mass Spectrometry (TOF-SIMS) and Gas Cluster Ion Beam (GCIB) sputtering. ***SISS16***, **北海道大学創成科学研究棟５階大会議室（北海道札幌市）**, 2014.5.16
10. Kubo A, Shiohama A, Sasaki T, Nakabayashi K, Kosaki K, Kudoh J, Hata K, Umezawa A, Tokura Y, Ishiko A, Niizeki H, Kabashima K, Mitsuhashi Y, Amagai M. Mutations in SERPINB7, encoding a serine protease inhibitor, cause Nagashima-type palmoplantar keratosis. ***74th Annual Meeting Society for Investigative Dermatology***, New Mexico, USA, 2014.5.10
11. Atsugi T, Yokouchi M, Ohyama M, Amagai M, Kubo A. Tight junction barriers are functionally organized in hair follicles and sebaceous glands. ***74th Annual Meeting Society for Investigative Dermatology***, New Mexico, USA, 2014.5.10

国内学会招待講演

1. **久保亮治. なぜペンギンはしもやけにならないの？** ～生物の環境適応戦略から考える皮膚の発生と多様性～. ***第 40 回日本小児皮膚科学会***, **ANA クラウンプラザホテル広島（広島県広島市）**, 2016.7.2
2. **久保亮治. 皮膚表皮タイトジャンクションバリアの恒常性維持機構の解析. *第 37 回日本炎症再生医学会*, 京都勧業館 みやこめっせ（京都府京都市左京区）,**

2016.6.17

3. 久保亮治. 皮膚タイトジャンクションバリアとアトピー性皮膚炎. ***第 65 回日本アレルギー学会学術大会***, 東京国際フォーラム（東京都千代田区）, 2016.6.17
4. 久保亮治. 皮膚バリア障害の病態 ～遺伝性疾患からアトピー性皮膚炎まで～. ***第115 回日本皮膚科学会総会***, 国立京都国際会館（京都府京都市左京区）, 2016.6.5
5. 久保亮治. アトピー性皮膚炎表皮におけるタイトジャンクションバリアと樹状細胞の解析. ***第 43 回日本臨床免疫学会総会***, 神戸国際会議場（兵庫県神戸市中央区）, 2015.10.23
6. 久保亮治. 皮膚角層バリアの進化と機能. ***第 39 回日本小児皮膚科学会学術大会***, かごしま県民交流センター（鹿児島県鹿児島市）, 2015.7.18-19
7. 久保亮治. 角化重層上皮におけるタイトジャンクションバリアの恒常性を維持した細胞ターンオーバーメカニズム. ***第 67 回日本細胞生物学会大会***, タワーホール船堀（東京都江戸川区）, 2015.6.30-7.2
8. 久保亮治. バリア破綻と皮膚炎がもたらす悪循環 ～アトピー性皮膚炎における経皮感作を考える～. ***第 64 回日本アレルギー学会学術大会***, グランドプリンスホテル新高輪 国際館パミール（東京都港区）, 2015.5.27
9. 久保亮治. 進化と疾患が教えてくれる皮膚バリア構造の「かたち」と機能. ***第 41 回皮膚かたち研究学会***, 石垣記念ホール（東京都港区）, 2014.7.25
10. 久保亮治. 遺伝性皮膚疾患における分子標的治療. ***第 35 回日本炎症・再生医学会***, 万国津梁館（沖縄県名護市）, 2014.7.2
11. 久保亮治. 角層の形成機構と先天性角層バリア破綻疾患. ***第 113 回日本皮膚科学会総会***, 国立京都国際会館（京都市左京区）, 2014.5.31

国内学会発表

1. 厚木徹, 横内麻里子, 平林愛, 大山学, 天谷雅行, 久保亮治. claudin-1 欠損マウスを用いた脂腺タイトジャンクションバリアの解析. ***第 23 回分子皮膚フォーラム***, ホテルグランヴィア大阪（大阪市北区）, 2016.4.15
2. 横内麻里子, 梶村眞弓, 末松誠, 天谷雅行, 久保亮治. タイトジャンクションバリアの恒常性を維持しながら、表皮細胞は如何にターンオーバーするのか. ***第 36 回日本炎症・再生医学会***, 虎ノ門ヒルズフォーラム（東京都港区）, 2015.7.21-22
3. 佐々木貴史, 塩濱愛子, 安田文世, 久保亮治, 川崎洋, 松井毅, 天谷雅行. Tmem79 欠損マウスは黄色ブドウ球菌増殖を伴う部位特異的皮膚炎を自然発症する. ***第 36 回日本炎症・再生医学会***, 虎ノ門ヒルズフォーラム（東京都港区）, 2015.7.21-22
4. 横内麻里子, 吉田和恵, 梶村眞弓, 末松誠, 天谷雅行, 久保亮治. 常にターンオーバーする表皮においてタイトジャンクションバリアの恒常性を維持するメカニズムの解析. ***第 22 回分子皮膚科学フォーラム***, ホテル日航高知旭ロイヤル（高知県高知市）, 2015.4.17-18
5. 平野尚茂, 横内麻理子, 厚木徹, 天谷雅行, 久保亮治. 成体マウスにおける表皮特異的クローディン 1 欠損はタイトジャンクションバリアの漏洩と皮膚炎を引き起こす. ***第 22 回分子皮膚科学フォーラム***, ホテル日航高知旭ロイヤル（高知県高知市）, 2015.4.17-18
6. 川崎洋, 久保亮治, 平野尚茂, 山田健人, 天谷雅行. フィラグリン欠損マウスの角層バリア機能破綻に対する乾燥環境因子の関与. ***第 42 回日本臨床免疫学会総会***, 京王プラザホテル（東京都新宿区）, 2014.9.25-27
7. 塩濱愛子, 佐々木貴史, 久保亮治, 川崎洋, 山田健人, 天谷雅行. 自然発症皮膚炎を起こす Tmem79 KO マウスは層板顆粒の分泌異常を示す. ***第 42 回日本臨床免疫学会総会***, 京王プラザホテル（東京都新宿区）, 2014.9.25-27

〔図書〕（計 4 件）

1. 久保亮治．ランゲルハンス細胞による抗原認識機構．Monthly Book Derma （全日本病院出版会）．245:8-14，2016
2. 久保亮治．皮膚タイトジャンクションバリアとアトピー性皮膚炎．アレルギーの臨床（北隆館／ニュー・サイエンス社）．35:931-935，2015
3. 久保亮治，天谷雅行．表皮バリア不全と経皮感作が招くアレルギー疾患．実験医学（羊土社）．33:563-569，2015
4. 久保亮治．皮膚バリア構造･機能のイメージング手法．感染・炎症・免疫（鳥居薬品）．44:120-130，2014

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

1. Keio Research Highlights 記事
“Sealing the deal on leak-proof cells”
https://research-highlights.keio.ac.j

p/article/82/sealing-the-deal-on-leak-proof-cells
2. Imperial College of London ニュース記事
“New insights into skin cells could explain why our skin doesn't leak”
http://www3.imperial.ac.uk/newsandeventspggrp/imperialcollege/newssummary/news_29-11-2016-11-18-3

６．研究組織

(1)研究代表者
久保　亮治　（KUBO, Akiharu）
慶應義塾大学・医学部・准教授
研究者番号：７０３３５２５６

(2)研究分担者
天谷　雅行　（AMAGAI, Masayuki）
慶應義塾大学・医学部・教授
研究者番号：９０２１２５６３

佐々木　貴史　（SASAKI, Takashi）
慶應義塾大学・医学部・講師
研究者番号：７０３０６８４３