

詳細版

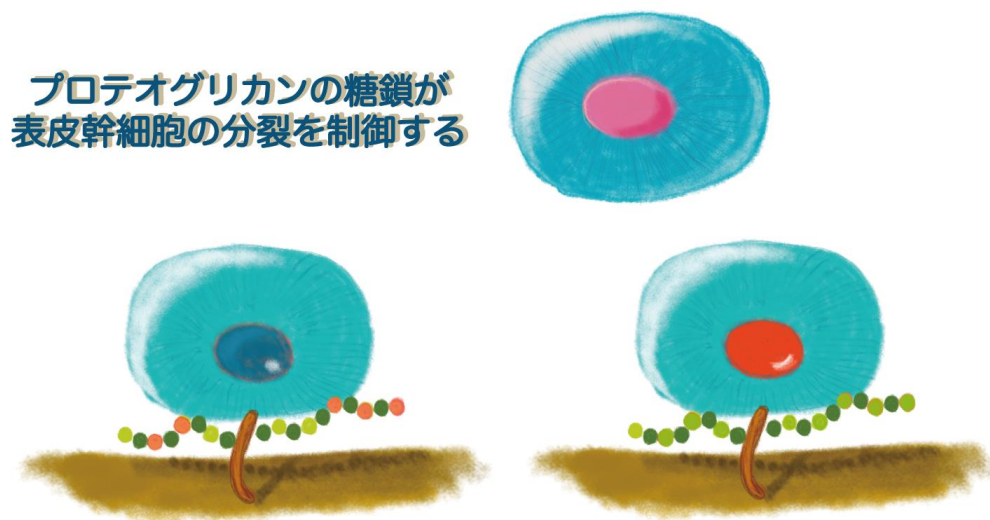
乾癬を発症しやすい皮膚に隠された異常の原因を解明 プロテオグリカンに含まれる糖鎖の異常が乾癬発症の危険因子だった！

神戸薬科大学 生化学研究室の北澤和之研究員、灘中里美准教授、北川裕之教授らは、名古屋大学大学院医学系研究科 門松健治教授との共同研究で、皮膚のプロテオグリカンに含まれる糖鎖構造の異常が、皮膚の肥厚とバリア機能の低下を引き起こし、乾癬発症の危険因子となっていることを明らかにしました。

本研究成果の要旨とポイント

- ・乾癬は皮膚の活発な新陳代謝（ターンオーバー）により皮膚（主に有棘層と角質層）が厚くなることを特徴とする皮膚疾患ですが、ターンオーバーの異常な亢進の原因は完全には解明されていません。
- ・乾癬は免疫異常に基づく炎症性の病態を示しますが、誰もが発症するわけではありません。乾癬の素因をつくる潜在的な皮膚の弱さ（脆弱性）に関わる疾患感受性因子が存在すると考えられています。
- ・本研究では、プロテオグリカンに含まれる糖鎖の合成に関わる Chst3 と呼ばれる糖鎖合成酵素の発現低下が、皮膚の細胞を生み出す表皮幹細胞の増殖を亢進させることで、皮膚を肥厚させていることを明らかにしました。
- ・糖鎖構造の異常により引き起こされた表皮幹細胞の増殖亢進は、正常な糖鎖の添加により正常レベルに回復することが明らかになりました。
- ・糖鎖構造の異常により厚くなった皮膚では、バリア機能が低下し、水分の蒸散量が増え（潤い不足の肌）、アレルギー、有害な物質、細菌などが侵入しやすい脆弱な状態になっており、薬剤で乾癬を誘発すると、より早期に症状が現れることが明らかになりました。
- ・これらの結果から、乾癬を発症しやすい皮膚に隠された異常が、プロテオグリカンの糖鎖構造の異常による表皮細胞の性質変化である可能性が示されました。

現在、乾癬の根本的な治療法はありません。本研究結果は、糖鎖を指標として乾癬を発症しやすい人を診断し、発症する前の肌に正常な糖鎖を補うことで乾癬の発症を防ぐ予防医学へつながる可能性を示しています。本研究成果は、日本時間 2021 年 1 月 25 日午後 7 時に国際学術誌「Communications Biology」のオンライン版に公開されます。



乾癬

皮膚の活発な新陳代謝により皮膚が厚くなることを特徴とする皮膚疾患
しかし、ターンオーバーの異常な亢進の原因は完全に解明されていなかった

乾癬の病態論

免疫系の異常
による炎症疾患

着眼点の変化

表皮細胞の性質変化
(乾癬の背景をつくる潜在的な皮膚の脆弱性)

研究の狙い

乾癬の素因をつくる
疾患感受性因子は何か？

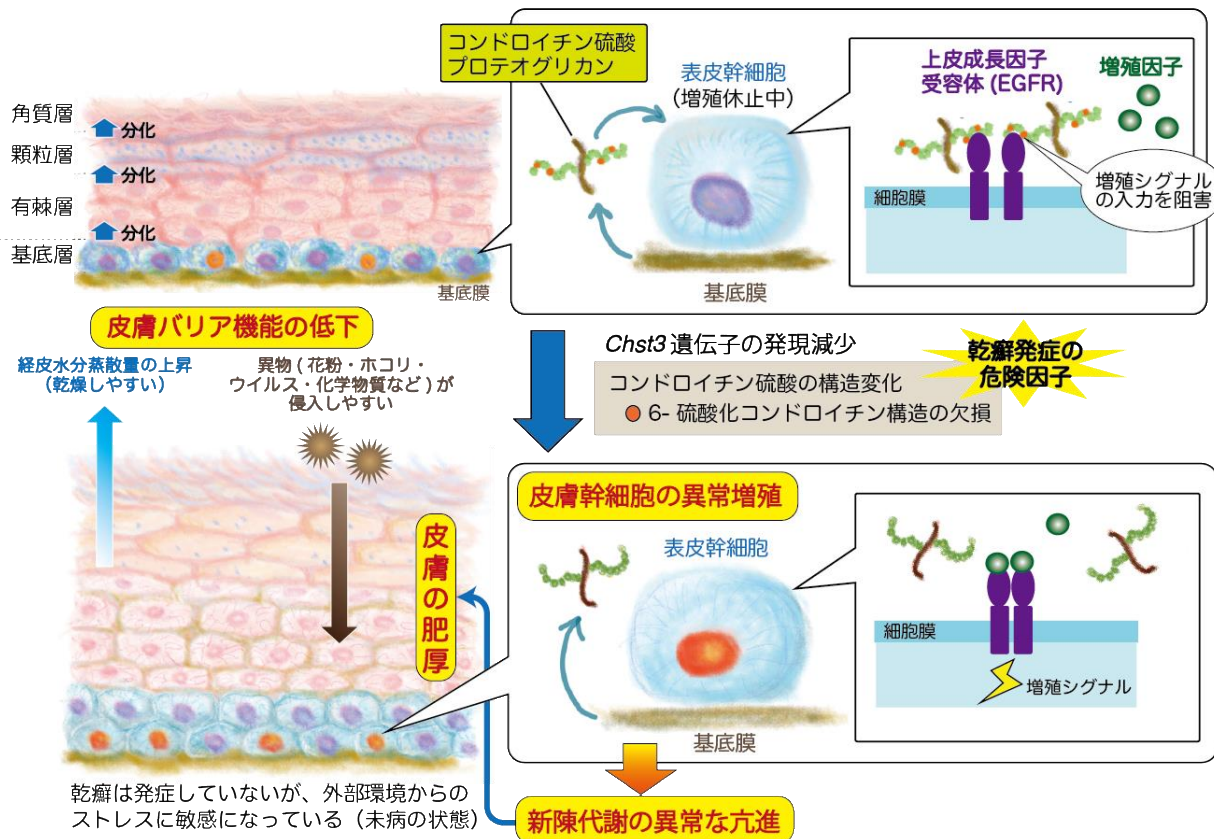


図 1 研究概要

【研究の背景】

皮膚の表層に存在する表皮は、基底層、有棘層、顆粒層、角質層の4層構造になっており(図1)、皮膚の奥底の基底層に存在する表皮幹細胞(基底細胞^{注1})からつくり出されます。基底層で増殖した表皮幹細胞が、分化しながら有棘層、顆粒層を経て角質層へと辿り着き、最終的に垢となって皮膚表面から剥がれ落ちます。これが皮膚のターンオーバーと呼ばれる現象です。健康な皮膚ではおよそ28日の周期でターンオーバーが起き、古くなった細胞から新しい細胞へと入れ替わっています。ターンオーバーが遅くなり、古くなった角質細胞が表面にとどまり続けることも問題ですが、逆にターンオーバーが早くなりすぎても、皮膚のバランスが乱れ、肌トラブルを引き起こします。

乾癬は、皮膚のターンオーバーが早まり、皮膚が厚くなることを特徴とした皮膚疾患です。なんらかの遺伝的要因に環境因子が加わって発症する免疫反応の異常だと考えられていますが、根本的な原因は明らかになっていません。近年、抗炎症作用のあるステロイド外用薬、免疫抑制剤、抗TNF- α 抗体製剤などが有効性を示すことから、免疫あるいは炎症反応の異常が乾癬を引き起こす原因であるという考え方が主流になっています。しかし、免疫あるいは炎症反応は誰でも起こる反応であるにもかかわらず、すべての人が乾癬を発症するわけではありません。乾癬になりやすい弱い肌をもつ人がいると考えられますが、このような肌の性質を決める因子に関しては明らかになっていませんでした(図1)。

最近、中国の研究グループのゲノムワイド関連解析から、乾癬発症の危険因子としてFAM20B遺伝子が報告されました。神戸薬科大学の研究チームの解析から、FAM20Bはプロテオグリカン^{注2})に含まれるコンドロイチン硫酸^{注3})と呼ばれる糖鎖の合成量や硫酸化構造を調節する働きをもつことが明らかになっていました。コン

ドロイチン硫酸は長大な直鎖状多糖で、その構成糖は様々な割合で硫酸化されています。FAM20B の発現低下は 6-硫酸化コンドロチン構造の減少を引き起こします。これらの知見から、6-硫酸化コンドロチン構造の減少が乾癬の発症リスクを増加させるという仮説を立てました。6-硫酸化コンドロチン構造は表皮幹細胞に接する基底膜^{注4)}に豊富に存在します。基底膜は表皮幹細胞の性質を制御することから、神戸薬科大学の研究チームは、6-硫酸化コンドロチン構造の減少が表皮幹細胞の性質を変化させ、乾癬になりやすい弱い肌をつくりだしている可能性を検証することにしました。

【研究成果の概要】

本研究では、6-硫酸化コンドロチン構造の減少が表皮幹細胞の性質を変化させ乾癬を発症しやすい素因をつくる可能性を示しました。6-硫酸化コンドロチン構造は CHST3 によって合成されるため、本研究では *Chst3* 遺伝子を遺伝的に欠損したマウスを用いて実験を行いました。*Chst3* 欠損マウスでは野生型マウスと比べて皮膚の肥厚が認められ (図 2)、この原因が表皮幹細胞の増殖亢進によることが明らかになりました (図 3)。また、細胞増殖の亢進は上皮細胞増殖因子受容体 (EGFR) が関与するシグナル伝達経路の活性化に起因していました。6-硫酸化コンドロチン構造がなくなると、なぜ増殖が活発になるのか？その分子機構を調べた結果、6-硫酸化コンドロチン構造を含む糖鎖は EGFR に結合し、増殖因子の結合をブロックすることで細胞が過剰に増えないようにブレーキをかけていますが、6-硫酸化コンドロチン構造がなくなると抑制が効かなくなり増殖が亢進することが明らかになりました (図 4)。さらに重要なことは、*Chst3* 欠損表皮幹細胞の過剰な増殖は、6-硫酸化コンドロチン構造を含む糖鎖の添加により正常レベルに回復したことです (図 4)。この知見は、6-硫酸化コンドロチン構造を含む糖鎖を用いて乾癬を予防できる可能性を示唆しています。

皮膚は、アレルゲンなどの有害物質や病原菌などの体内への侵入や体内からの水分の蒸発を阻止するバリア^{注5)}としての役割をもちますが、6-硫酸化コンドロチン構造の減少によって厚くなった皮膚のバリア機能を調べた結果、体内からの水分の蒸散量が増加し、トルイジンブルーと呼ばれる色素が浸透しやすくなっていることが明らかになりました (図 5)。6-硫酸化コンドロチン構造の減少した皮膚は、水分不足により乾燥し、外部環境からの刺激に敏感になっているようですが、乾癬を発症しているわけではありません。そこで、薬剤を塗布することで野生型マウスと *Chst3* 欠損マウスに乾癬を実験的に誘発した結果、*Chst3* 欠損マウスでは、より短時間で症状が現れることが明らかになりました (図 6)。なお、6-硫酸化コンドロチン構造は、正常レベルより半減するだけで、皮膚の肥厚やバリア機能の低下が認められることも明らかになりました。

以上の結果から、乾癬の素因をつくる潜在的な皮膚の脆弱性に関わる疾患感受性遺伝子として *Chst3* 遺伝子を同定し、この遺伝子の発現低下による 6-硫酸化コンドロチン構造の減少が表皮幹細胞の過剰な増殖と皮膚のバリア機能の低下を引き起こし、皮膚の脆弱性の原因となっている可能性が示されました。

なお、本研究の一部は JSPS 科研費 JP23110003, JP25293014, JP25460080, JP20H03386, 及び私立大学戦略的研究基盤形成支援事業(2012-2016)の助成を受け行われました。

【研究成果の意義】

健康な大人の皮膚では、ターンオーバーの周期が保たれるよう、表皮幹細胞の増殖がコントロールされています。今回の研究から、基底膜に存在するプロテオグリカンの糖鎖が、表皮幹細胞が過剰に増殖しないようコントロールしていることが明らかになりました。この糖鎖の構造異常が皮膚のターンオーバーを加速させ、乾癬を発症しやすい弱い肌をつくり出していると考えられます。本研究成果は、乾癬の発症機構の解明につながる“皮膚の脆弱性”を生み出すメカニズムの一端を明らかにした点に意義があると考えられます。

現在、乾癬は免疫異常を原因とする炎症疾患として捉えられているため、これを標的とした薬が使われていますが、根本的な治療法は開発されていません。治療は長期に亘るため、薬剤による副作用も懸念されています。本研究により、乾癬になりやすい肌の性質を決めている因子が明らかになったことから、乾癬の新たな予防・治療戦略が創出される可能性が期待されます。

【掲載論文】

雑誌名: Communications Biology (DOI: 10.1038/s42003-020-01618-5)

題目: Chondroitin 6-sulfate represses keratinocyte proliferation in mouse skin, which is associated with psoriasis

著者: Kazuyuki Kitazawa, Satomi Nakanaka, Kenji Kadomatsu, and Hiroshi Kitagawa

URL: <https://doi.org/10.1038/s42003-020-01618-5>

【用語解説】

注1) 基底細胞（表皮幹細胞）

表皮の最も深部に存在する細胞で、表皮を構成する細胞は基底細胞（表皮幹細胞）から生み出されている。基底細胞が2つに分裂すると、一方は基底層に留まり、他方は有棘細胞、顆粒細胞、角質細胞へと分化し、最終的に角質（垢）となって体表から脱落する。基底層に留まっている基底細胞が存在するおかげで、常に新たな細胞が供給され、皮膚の恒常性が維持される。皮膚の元となる基底細胞を健康に保つことが健やかで若々しい皮膚をつくるために重要である。

注2) プロテオグリカン

コアタンパク質にグリコサミノグリカンと呼ばれる硫酸化糖鎖が共有結合した分子で、体の至るところに存在し多彩な機能を発揮する。水和による高い保水作用をもつだけでなく、様々な生理活性分子と相互作用することで細胞の接着、増殖、分化、運動能などを制御し、数多くの生命現象に関わる。皮膚では、ヒアルロン酸、コラーゲンとともに、健やかで若々しい皮膚を保つための機能性成分として注目されている。

注3) コンドロイチン硫酸

グルクロン酸と *N*-アセチルガラクトサミンの二糖ユニットが繰り返された直鎖状のポリマーである。二糖ユニットの様々な位置が硫酸化されることで構造多様性が生み出される。この構造多様性がコンドロイチン硫酸の多彩な機能を支えている。本文では、*N*-アセチルガラクトサミンの6位が硫酸化された二糖ユニットを6-硫酸化コンドロイチン構造と呼んでいる。表皮幹細胞の増殖を抑制する効果は6-硫酸化コンドロイチン構造による。同じコンドロイチン硫酸であっても、硫酸化の位置が異なる4-硫酸化コンドロイチン構造は、表皮幹細胞の増殖抑制作用を示さない。

注4) 基底膜

基底膜にはコラーゲンやプロテオグリカンなどのタンパク質が豊富に含まれ、1枚のシート様構造を形成している。このシート上に表皮幹細胞は存在し、基底膜から制御を受けることで表皮幹細胞の増殖や分化の恒常性が維持される。

注5) 皮膚バリア

進化の過程で、水中から陸地へと生活圏を移すことで、乾燥や有害物質、病原微生物などに体表を曝す危険性が生じた。これらから体を保護するために獲得した機能が皮膚バリアである。バリア機能の低下は、乾癬だけでなくアトピー性皮膚炎などの皮膚疾患とも密接に関わっている。

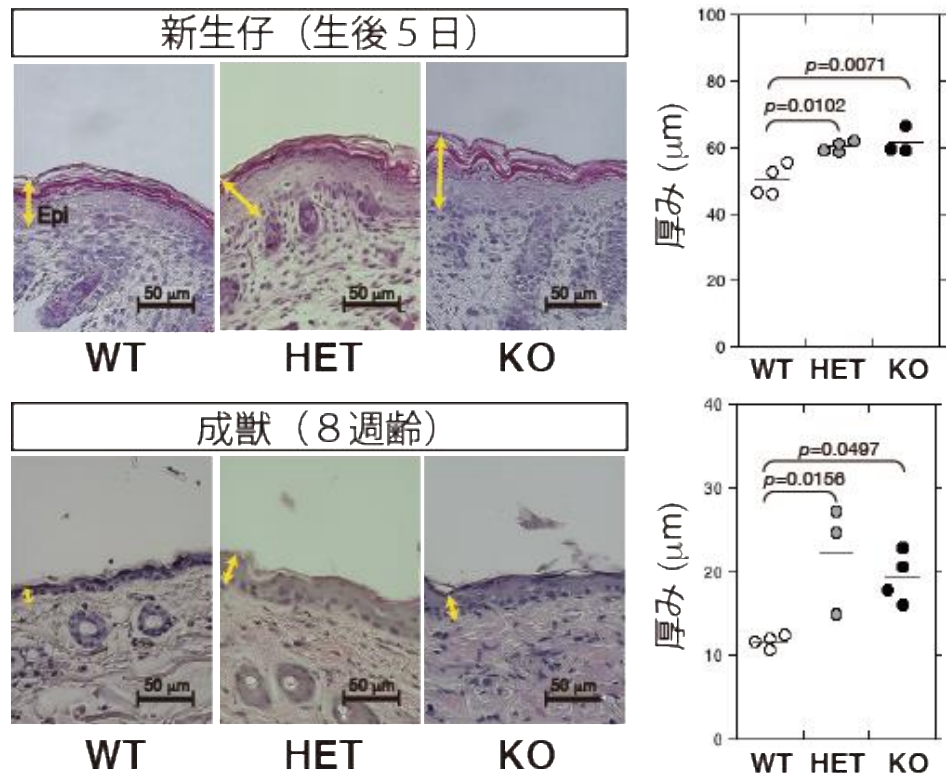


図 2 6-硫酸化コンドロイチンの減少により表皮は肥厚する

WT, 野生型マウス ; HET, ヘテロマウス (6-硫酸化コンドロイチンが半減したマウス) ; KO, ノックアウトマウス (6-硫酸化コンドロイチンが全く存在しないマウス)

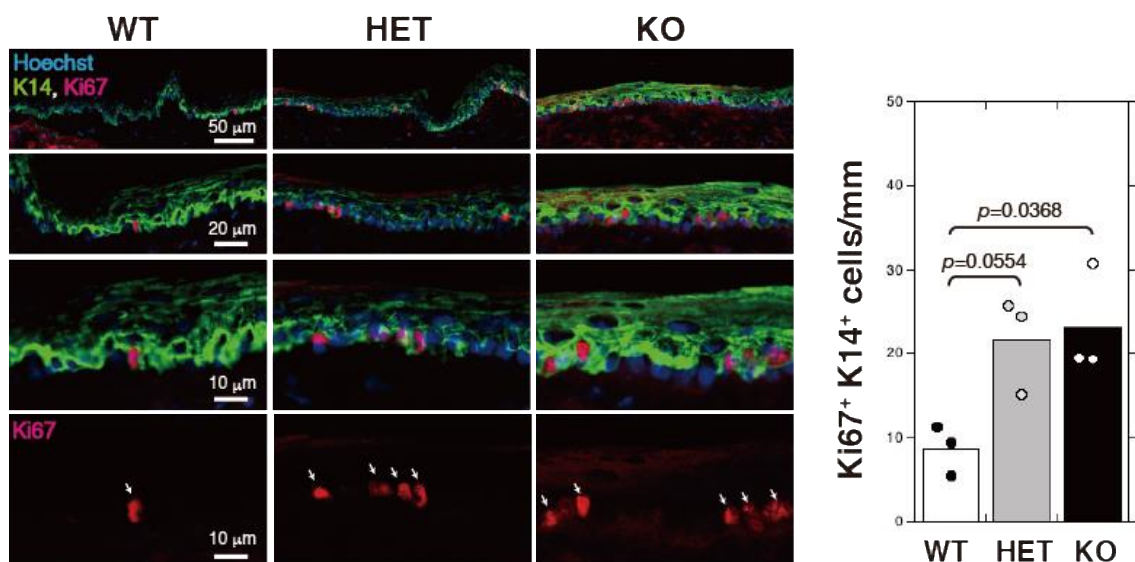


図 3 6-硫酸化コンドロイチンの減少により表皮幹細胞の増殖は亢進する

K14 は表皮幹細胞のマーカー ; Ki67 は増殖中の細胞のマーカー
増殖中の表皮幹細胞 (Ki67⁺K14⁺) の数を計測した。

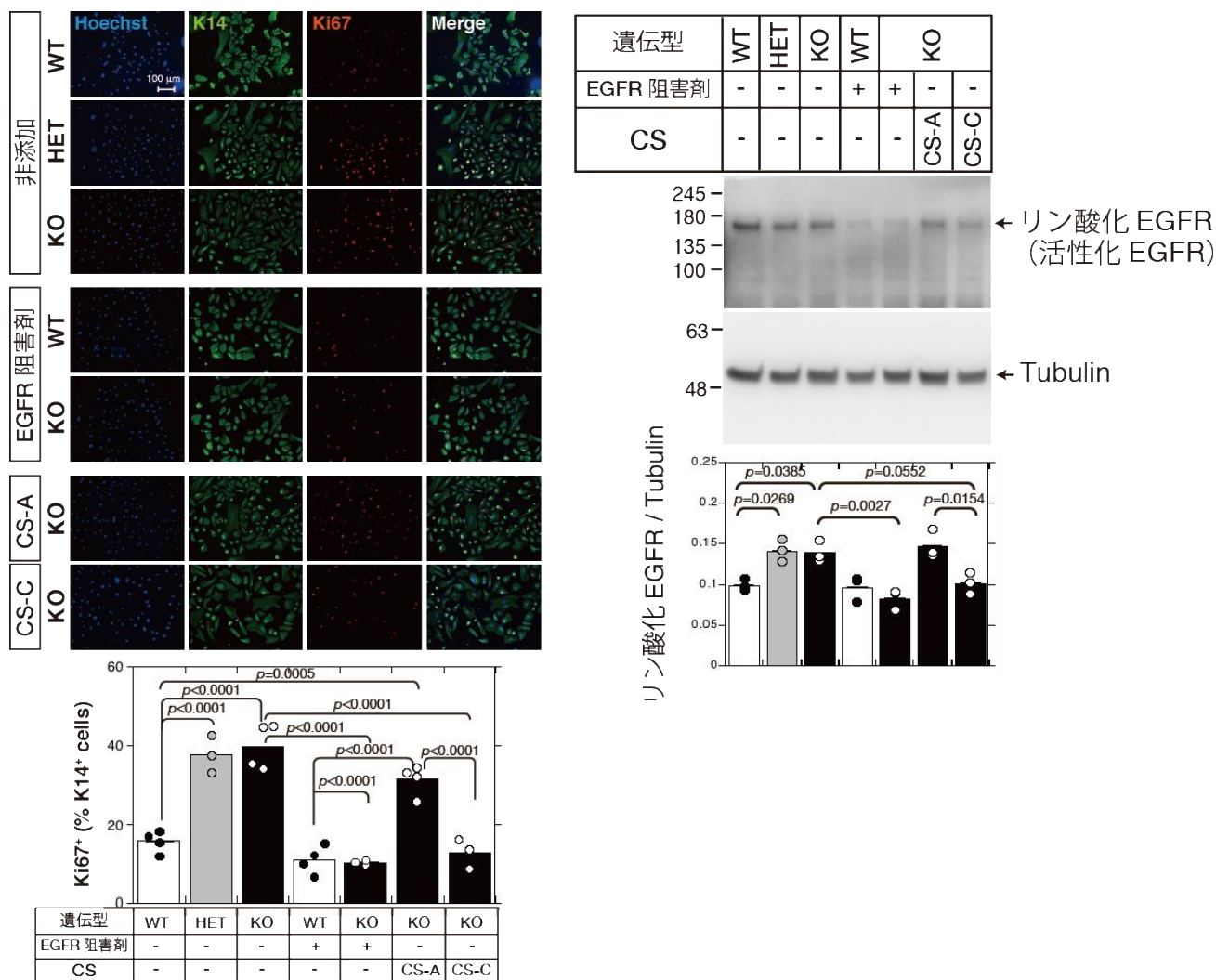


図4 6-硫酸化コンドロイチンの減少により亢進した表皮幹細胞の増殖は EGFR 阻害剤や 6-硫酸化コンドロイチン (CS-C) の添加により正常レベルに回復した

左：K14 陽性表皮幹細胞の増殖を、Ki67 を指標に評価した。ヘテロ、ノックアウト由来表皮幹細胞の増殖は上昇し、EGFR 阻害剤及び CS-C の添加によって元のレベルに戻ったが、CS-A には効果がなかった。CS-A は 4-硫酸化コンドロイチンで、6-硫酸化コンドロイチンと基本骨格は同じだが、硫酸化構造が異なるコンドロイチン硫酸である。

右：細胞増殖に関わる EGFR 経路の活性化状態を EGFR のリン酸化を指標に評価した。ヘテロ、ノックアウト由来表皮幹細胞では、EGFR の活性化が起こり、EGFR 阻害剤及び CS-C の添加によって元のレベルに戻ったが、CS-A では戻らなかった。

トルイジンブルー浸透試験

経表皮水分蒸散量

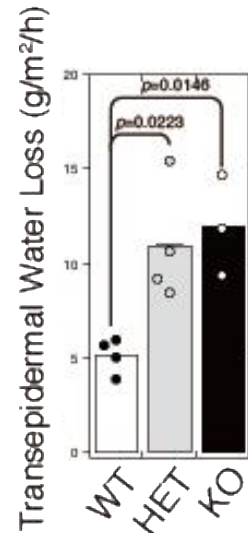


図5 6-硫酸化コンドロイチンが減少した皮膚のバリア機能は低下していた

6-硫酸化コンドロイチン構造が減少したヘテロ、ノックアウトマウスでトルイジンブルー（青紫）の浸透が増加し、体内からの水分の蒸散量が増えていた。

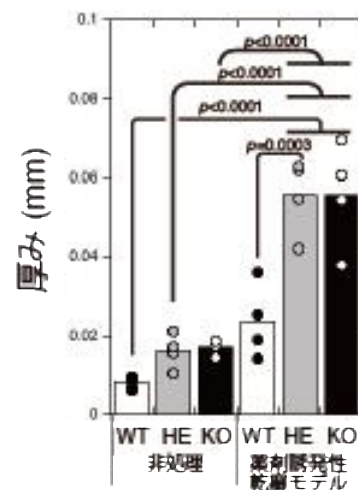
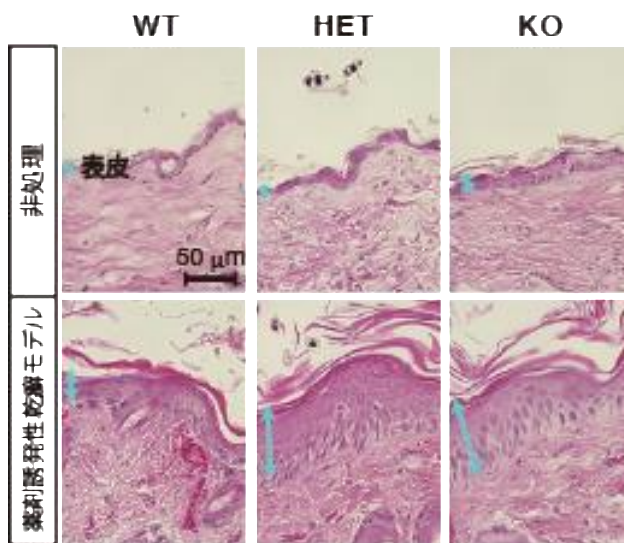


図6 薬剤誘発性乾癬モデルを作製した時、6-硫酸化コンドロイチン構造が減少したヘテロ、ノックアウトマウスでは、より短時間で皮膚の肥厚が認められた

イミキモドと呼ばれる免疫賦活作用をもつ薬剤を用いて実験的に乾癬を誘発した。背側の皮膚にイミキモドを塗布し、3日後の皮膚の厚みを計測した。野生型マウスに比べ、ヘテロ、ノックアウトマウスでは皮膚の厚みが著しく増加することがわかった。