

2015年度 博士論文要旨

皮膚表皮の角化とsyntaxin-4との関わり

～アンタゴニストによる制御～

関西学院大学大学院理工学研究科

生命科学専攻 平井研究室 葛野菜々子

生体の表面に位置する皮膚表皮は、外界からの異物侵入を防ぐと共に体内からの過度な水分蒸散を防ぐバリア機能を発揮している。このためには、表皮中の表皮細胞が正常に角化することにより、最適な厚さの角質層を維持することが重要である。この角化の過程では、インボルクリン (involucrin) やロリクリン (loricrin) がトランスグルタミナーゼ 1 (transglutaminase-1 ; TGase-1) により細胞膜内側に架橋された不溶性の膜であるコーニファイドセルエンベロープ (cornified cell envelope ; CCE) が形成される。以前、細胞内で小胞輸送を媒介するt-SNAREタンパク質ファミリーの1つであり、皮膚では真皮の線維芽細胞に発現しているシンタキシン 2 (syntaxin-2 (別名epimorphin)) が細胞外刺激により細胞の内側から外へ分泌され、表皮角化細胞の角化を抑制することが報告されている。今回、epimorphinと同じsyntaxinファミリータンパク質のうち表皮角化細胞に発現しているsyntaxin-4 が細胞の外へと提示されることが明らかになった。さらに初代表皮角化細胞を用いた実験から角化のステップで起こる細胞内カルシウム濃度上昇に伴い細胞外提示が促進された。そしてこの細胞外に提示されたsyntaxin-4 の活性はCCE形成を促進するという、細胞外epimorphinとは全く逆の活性であった。細胞外syntaxin-4の活性中心を明らかにするために変異体を作製しその活性を調べた。細胞外epimorphinの活性中心がヘリックスb (helix b) 後方6アミノ酸であることをもとに予想した細胞外syntaxin-4の角化における推定活性中心領域「AIEPQK」(アミノ酸103-108)を欠損さ

せたもの、推定活性中心領域を細胞外epimorphinの活性中心領域に置き換えたもの、推定活性中心領域の前にグリシンを 4 個挿入したものは、CCE形成において、細胞外syntaxin-4 の活性を發揮しなかったことから細胞外syntaxin-4 の角化における活性中心はhelix b後方6アミノ酸「AIEPQK」であることが明らかになった。さらにepimorphinの活性中心をもとに作製した活性阻害環状ペプチドを模倣することで、細胞外syntaxin-4 の活性阻害環状ペプチド (ST4n1) を作製した。ST4n1 は細胞外syntaxin-4 が促進するCCE形成および、表皮角化細胞を多層化させた培養系において細胞外syntaxin-4 が誘発する角質肥厚やTGase-1 の異常発現を抑制した。加えて、ST4n1 はテープストリッピングにより誘発される表皮・角質肥厚をも抑制した。これらの結果は、表皮・角質肥厚を誘発する原因の一つがsyntaxin-4 の細胞外への提示であり、ST4n1 がこの異常を治癒させる能力を有することを示唆している。