

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 5 日現在

機関番号：31305

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K19689

研究課題名(和文) 乾癬、皮膚炎症、皮膚発癌、及び白内障における PLC - PKC μ 経路の役割解析研究課題名(英文) Analysis of PLC β -PKC μ pathway in psoriasis, dermatitis, carcinogenesis, and cataract

研究代表者

坂口 正展 (SAKAGUCHI, Masanobu)

東北医科薬科大学・医学部・講師

研究者番号：30622881

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：PLC β を皮膚角化細胞特異的に強発現するトランスジェニックマウスを作成したところ、同マウスの皮膚には鱗屑、表皮肥厚、不全角化、好中球の表皮内浸潤など尋常性乾癬に類似した臨床的・組織学的変化が生じることを見いだした。In vitro で PLC β がプロテインキナーゼ C の μ 分子種 (PKC μ) を活性化させることを確認した後、PKC μ を皮膚角化細胞特異的に強発現するトランスジェニックマウスを作成したが、同マウスの皮膚には尋常性乾癬に類似した変化が生じなかった。これらの結果から、角化細胞内 PLC β 過剰発現は尋常性乾癬様の皮膚変化を起こすが、この時 PLC β の作用は PKC μ を介さないと考えられた。

研究成果の概要(英文)：We have found K5 - PLC β - transgenic (TG) mouse to express specifically at skin keratinocytes had scales, acanthosis, parakeratosis, infiltration of neutrophils at epidermis. These clinical and histological changes was concordant with psoriasis vulgaris. We confirmed PLC β activated PKC μ in vitro, and then we have created a transgenic mouse (K5 - PKC μ - TG mouse) to express specifically at skin keratinocytes. their skin didn't have the characteristics at like psoriasis vulgaris. From the above, the overexpression of PLC β at keratinocytes cause the change like psoriasis without PKC μ activation.

研究分野：乾癬

キーワード：PLC β プロテインキナーゼ C 皮膚炎症 乾癬

様式 C - 19、F - 19、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我々はこれまで皮膚炎症と皮膚発癌において重要な役割を果たす細胞内情報伝達系の同定を目指し、細胞膜情報変換酵素ホスホリパーゼ (PL) と細胞内情報伝達分子プロテインキナーゼ (PKC) の皮膚における役割を検討してきた。まず PKC が各種 PL 分解産物により活性化されることを見出し、PL と PKC の密接な関係を指摘した。続いて、皮膚炎症や皮膚発癌を惹起する紫外線と腫瘍プロモーター 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) が、表皮構成細胞内の PL と PKC 各分子種 (PKC には 10 種の分子種が存在する) に種々の影響を及ぼすことを見いだしてきた。

最近我々は、PLC ϵ ノックアウト (KO) マウスを用いて皮膚における PLC ϵ の役割を検討し、

- (1) PLC ϵ KO マウスでは紫外線皮膚炎症が減弱し、その原因は紫外線による皮膚の好中球遊走性ケモカイン CXCL1 発現が減弱するためであること
- (2) PLC ϵ KO マウスでは紫外線皮膚発癌が亢進し、その原因は紫外線による角化細胞のアポトーシスが抑制されるためと考えられること
- (3) PLC ϵ KO マウスでは紫外線白内障が著明に抑制されることを見いだした。

さらに、PLC ϵ を角化細胞特異的に強発現するトランスジェニックマウス (K5-PLC ϵ -TG マウス) を作成し、同マウスは尋常性乾癬に類似した臨床的・組織学的変化を自然発症し、STAT3 活性化、サイトカイン発現などの生化学的・免疫学的側面も尋常性乾癬に合致することを見いだし、PLC ϵ が乾癬発症に関与する可能性を考えた。

一方最近、PLC ϵ は PKC の μ 分子種 (PKC μ) を活性化させることが報告され、我々もこれを確認した。

以上の研究結果は、PLC ϵ が皮膚炎症、皮膚発癌、白内障、及び乾癬に重要であることを示すと同時に、PLC ϵ -PKC μ 経路がこれらの病態に関与する重要情報伝達経路であることを示唆する。

2. 研究の目的

本研究ではこれまでの我々の研究を基盤として、乾癬、皮膚炎症、皮膚発癌、及び白内障への PLC ϵ -PKC μ 経路の関与の詳細を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 皮膚炎症における PLC ϵ -PKC μ 経路の役割解析

PKC μ KO マウスにおいても紫外線や腫瘍プロモーター TPA による好中球性皮膚炎症が減弱するかどうかを観察する。また、PLC ϵ -PKC μ 経路によって発現が制御され、かつ好中球性皮膚炎症に重要な役割を果たしている物質を同定する。

(2) 皮膚発癌における PLC ϵ -PKC μ 経路の役割解析

PLC ϵ KO マウスでみられた化学皮膚発癌抑制、及び紫外線皮膚発癌亢進が、PKC μ KO マウスにおいても見られるかを観察するとともに、それぞれの現象が PLC KO マウスの場合と同様の機序で起こっているかを検討する。

(3) 白内障における PLC ϵ -PKC μ 経路の役割解析

PLC ϵ KO マウスでは紫外線による白内障発生が顕著に抑制されるという我々の見いだした現象が、PKC μ KO マウスでも起るか否かを検討する。また、両マウスでの白内障発生抑制が、炎症やアポトーシスによる角膜破壊のためレンズ到達紫外線量が増加することによるのかを検討する。

(4) 乾癬における PLC ϵ -PKC μ 経路の役割解析

PKC μ を角化細胞特異的に強発現するトランスジェニックマウス (K5-PKC μ -TG マウス) を作成して PKC μ が乾癬発症に関与する可能性をみる。また、ヒト乾癬での PLC ϵ 、PKC μ の発現を解析し、ヒト乾癬での PLC ϵ -PKC μ 経路の重要性を検証する。

4. 研究成果

PLC ϵ を皮膚角化細胞特異的に強発現するトランスジェニックマウスを作成したところ、同マウスの皮膚には鱗屑、表皮肥厚、不全角化、好中球の表皮内浸潤など尋常性乾癬に類似した臨床的・組織学的変化が生じることを見いだした。In vitro で PLC ϵ がプロテインキナーゼ C の μ 分子種 (PKC μ) を活性化させることを確認した後、PKC μ を皮膚角化細胞特異的に強発現するトランスジェニックを作成したが、同マウスの皮膚には尋常性乾癬に類似した変化が生じなかった。これらの結果から、角化細胞内 PLC ϵ 過剰発現は尋常性乾癬様の皮膚変化を起こすが、こ

の時 PLC ϵ の作用は PKC μ を介さないと考えられた。

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 14 件)

1. Fukumoto, T., Takai, T., Sakaguchi, M., Oka, M., Nishigori, C. Complete regression of crateriform verruca after partial biopsy: Another type of epithelial crateriform tumor or a subtype of keratoacanthoma? J. Dermatol. 44 巻、2017、1303-1308 査読あり in press. doi: 10.1111/1346-8138.14186.
2. Iwayama, T., Fukumoto, T., Horita, N., Sakaguchi, M., Oka, M., Terashi, H. Granulomatous reaction to permanent eyebrow makeup successfully treated with topical steroids in combination with topical tacrolimus. Eur J Dermatol. 27 巻、2017、652-654 査読あり doi: 10.1684/ejd.2017.3106.
3. Nakajima, N., Fukumoto, T., Kozaru, T., Sakaguchi, M., Norose, K., Oka, M. Rosai-Dorfman disease and uveitis. Eur. J. Dermatol. 27 巻、2017、535-536 査読あり doi: 10.1684/ejd.2017.3075.
4. Sakaguchi, M., Fukumoto, T., Fujishima, F., Fukuda, K., Kozaru, T., Ban, M., Oka, M. Bilateral breast keloids in an elderly woman associated with bilateral breast cancers and high concentration of serum TGF- β J. Dermatol. 44 巻、2017、1303-1308 査読あり doi: 10.1111/1346-8138.13910.
5. Fukumoto, T., Kozaru, T., Sakaguchi, M., Oka, M. Concomitant confluent and reticulated papillomatosis and acanthosis nigricans in an obese girl with insulin resistance successfully treated with oral minocycline: case report and literature review. J. Dermatol. 44 巻、2017、954-958 査読あり in press DOI: 10.1111/1346-8138.13819
6. Oka, M., Sakaguchi, M., Fukumoto, T., Seki, S., Nishigori, C. Rare case of vascular malformations in both skin and brain: Case report and published work review. J. Dermatol. 44 巻、2017、813-817 査読あり doi: 10.1111/1346-8138.13799.
7. Fukumoto, T., Fujiwara, S., Sakaguchi, M., Oka, M., Kiyota, N., Ejima, Y., Nakajima, K., Nishigori, C. Long-term survival of a patient with systemic metastatic melanoma treated with nivolumab followed by vemurafenib, with the development of vitiligo. Eur. J. Dermatol. 査読あり 27 巻、2017、177-178 DOI: 10.1684/ejd.2016.2925
8. Fukumoto, T., Sakaguchi, M., Oka, M., Nishimura, M., Mukohara, T., Nishigori, C. Malignant melanoma with bone marrow involvement diagnosed from hypercalcemia: Development of a neural cell adhesion molecule stain. J. Dermatol. 査読あり 44 巻、2017、e105-e106 DOI: 10.1111/1346-8138.13718
9. Fukumoto, T., Oka, M., Masaki, T., Sakaguchi, M., Fukunaga, A., Norose, K., Sarayama, Y., Imai, H.,

- Nishigori, C. Cutaneous Rosai-Dorfman disease associated with uveitis. *Eur. J. Dermatol.* 査読あり 27 巻、2017、85-86 doi: 10.1684/ejd.2016.2885.
10. Sakaguchi, M., Takeda, T., Kodera, T., Murakami, K., Oka, M. Mixed connective tissue disease with bilateral erythematous palpebral edema and targetoid skin lesions. *Eur. J. Dermatol.* 査読あり 27 巻、2017、64-65 DOI: 10.1684/ejd.2016.2902
 11. Fukumoto, T., Iwasaki, T., Okada, T., Hashimoto, T., Moon, Y., Sakaguchi, M., Fukami, Y., Nishigori, C., Oka, M. High expression of Mcl-1L via the MEK-ERK-phospho-STAT3 (Ser727) pathway protects melanocytes and melanoma from UVB-induced apoptosis. *Genes Cells* 査読あり 21 巻、2016、185-199 DOI: 10.1111/gtc.12330
 12. Jimbo, H., Oka, M., Fukumoto, T., Yoshioka, A., Miki, Y., Sakaguchi, M., Ogura, K., Nishigori, C. Telangiectatic lichen sclerosus on the cheek successfully treated with topical tacrolimus. *Eur. J. Dermatol.* 査読あり 26 巻、2016、321-322 DOI: 10.1684/ejd.2016.2769
 13. Yahiro, C., Oka, M., Fukunaga, A., Fukumoto, T., Sakaguchi, M., Takahashi, Y., Komori, T., Ueda, T., Nishigori, C. Mucosal lichen sclerosus/lichen planus overlap syndrome with cutaneous lesions of lichen sclerosus. *Eur. J. Dermatol.* 査読あり 26 巻、2016、204-205 DOI: 10.1684/ejd.2015.2715
 14. Nakauchi, E., Oka, M., Fukumoto, T., Sakaguchi, M., Nishigori, C. Acquired dermal melanocytosis confined to the palm with a review of published cases of acquired dermal melanocytosis on the hands. *J. Dermatol.* 査読あり 43 巻、2016、701-705 DOI: 10.1111/1346-8138.13232
- 会総会 2017 年 6 月 1 日～3 日、仙台市
2. Iwasaki, T., Yamauchi, M., Liang, Z., Itai, A., Sakaguchi, M., Nagano, T., Kamada, S., Oka. TPA inhibits melanoma growth through inactivation of STAT3 through protein tyrosine phosphatases. 日本研究皮膚科学会 第 41 回年次学術大会 2016 年 12 月 9-11 日、仙台市
 3. 坂口 正展、岡 昌宏、武田 朋樹、小寺 隆雄、村上 一宏 両側上下眼瞼の浮腫と多形滲出性紅斑様皮疹を伴った MCTD の 1 例、宮城・福島・山形 3 県合同地方会学術大会 375 回例会 2016 年 9 月 25 日、仙台市
 4. 福本 毅、藤原 進、坂口 正展、岡 昌宏、錦織 千佳子、清田尚臣、江島泰生 悪性黒色腫で全身多発転移を伴うも Nivolumab と Vemurafenib にて長期生存を得た 1 例、第 109 回近畿皮膚科集談会 2016 年 7 月 10 日、神戸市
 5. 福本 毅、三木 康子、坂口 正展、正木 太郎、福永 淳、岡 昌宏、皿山 泰子、野呂瀬 一美、伊藤 智雄、錦織 千佳子ブドウ膜炎を合併した皮膚 Rosai-Dorfman 病の自験 1 例と同様既報告の比較検討、第 114 回日本皮膚科学会総会 2015 年 5 月 29 日～31 日、横浜市

〔学会発表〕（計 5 件）

1. 坂口 正展、福本 毅、関 紳一郎、岡 昌宏、錦織 千佳子 皮膚と脳に多発性の海綿状血管腫を生じた 1 例と同様症例のまとめ、第 116 回日本皮膚科学

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕
出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6．研究組織

(1)研究代表者

坂口 正展（SAKAGUCHI, Masanobu）
東北医科薬科大学 医学部 講師
研究者番号：30622881