

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：31305

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461692

研究課題名(和文)皮膚炎症、皮膚発癌、白内障、及び乾癬におけるPLC- $\text{PKC}\mu$ 経路の役割解析

研究課題名(英文) Role of PLC epsilon-PKC myu pathway in skin inflammation, skin cancer, cataract, and psoriasis vulgaris.

研究代表者

岡 昌宏 (OKA, Masahiro)

東北医科薬科大学・医学部・教授

研究者番号：30252761

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：ホスホリパーゼC 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 がプロテインキナーゼCの $\mu$ 分子種(PKC $\mu$ )を活性化させることを確認した後、PKC $\mu$ 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 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 の作用はPKC $\mu$ を介さないと考えられた。

研究成果の概要(英文)：Phospholipase C (PLC) epsilon is a phosphoinositide-specific PLC regulated by small GTPases including Ras and Rap. In order to investigate the role of PLC epsilon in the skin, we created transgenic mice over expressing PLC epsilon in epidermal keratinocytes. The resulting transgenic mice spontaneously developed skin inflammation like psoriasis vulgaris as characterized by formation of adherent silvery scales, acanthosis, parakeratosis, and infiltration of neutrophils in the epidermis, and aberrant infiltration of immune cells such as T cells and dendritic cells. After observing that protein kinase C  $\mu$  (PKC $\mu$ ) is activated after activation of PLC epsilon, we created transgenic mice overexpressing PKC $\mu$  in epidermal keratinocytes (K5-PKC $\mu$ -TG). However, the K5-PKC $\mu$ -TG did not show skin changes seen in psoriasis vulgaris. These results indicate that overexpression of PLC epsilon induces psoriasis-like skin changes but these changes are not mediated by PKC $\mu$ .

研究分野：皮膚科学

キーワード：尋常性乾癬 ホスホリパーゼC プロテインキナーゼC $\mu$  マウス 皮膚 紫外線発がん 創傷治癒

## 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 PL と細胞内情報伝達分子 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 $\epsilon$ ノックアウト(KO)マウスを用いて皮膚における PLC $\epsilon$ の役割を検討し、

- (1) PLC KO マウスでは紫外線皮膚炎症が减弱し、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 発現が减弱するためであること
- (2) PLC 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 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 $\epsilon$ 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 -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だし、PLC が乾癬発症に関与する可能性を考えた。

一方最近、PLC $\epsilon$ は PKC の  $\mu$  分子種 (PKC $\mu$ ) 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 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 -PKC $\mu$  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結果を基に、皮膚炎症、皮膚発癌、白内障、及び乾癬における PLC -PKC $\mu$  経路の役割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 -PKC $\mu$  経路の役割解析

PKC $\mu$  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 -PKC $\mu$  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 -PKC $\mu$  経路の役割解析

PLC 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 $\mu$  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 -PKC $\mu$  経路の役割解析

PLC 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 $\mu$  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 -PKC $\mu$  経路の役割解析

PKC $\mu$  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 $\mu$ -TG マウス) を作成して PKC $\mu$  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、PKC $\mu$  の発現を解析し、ヒト乾癬での PLC -PKC $\mu$  経路の重要性を検証する。

## 4. 研究成果

ホスホリパーゼ C 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 がプロテインキナーゼ C の  $\mu$  分子種 (PKC $\mu$ ) を活性化させることを確認した後、PKC $\mu$  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 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 の作用は PKC $\mu$  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 15 件)

1. Danno, S., Kubouchi, K., Mehruba, M., Abe, M., Natsume, R., Sakimura, K., Eguchi,

S., Oka, M., Hirashima, M., Yasuda, H., Mukai, H. PKN2 is essential for mouse embryonic development and proliferation of mouse fibroblasts. *Genes Cells* 査読有 222 巻、2017、220-236  
DOI: 10.1111/gtc.12470

2. Nakajima, N., Fukumoto, T., Kozaru, T., Sakaguchi, M., Norose, K., Oka, M. Rosai-Dorfman disease and uveitis. *Eur. J. Dermatol.* in press

3. 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- $\beta$ . *J. Dermatol.* 査読有 in press

4. 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.* 査読有 in press  
DOI: 10.1111/1346-8138.13819

5. 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.* 査読有 in press  
DOI: 10.1111/1346-8138.13799.

6. 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.* 査読有 27 巻、2017、177-178  
DOI: 10.1684/ejd.2016.2925

7. 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.* 査読有 44 巻、2017、e105-e106  
DOI: 10.1111/1346-8138.13718

8. 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.* 査読有 27 巻、2017、85-86

DOI: 10.1684/ejd.2016.2885

9. 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.* 査読有 27 巻、2017、64-65  
DOI: 10.1684/ejd.2016.2902

10. 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 21 巻、2016、185-199  
DOI: 10.1111/gtc.12330

11. Jimbo, H., Oka, M., Fukumoto, T., Yoshioka, A., Miki, Y., Sakaguchi, M., Ogura, K., Nishigori, C. Telangiectatic lichen sclerosis on the cheek successfully treated with topical tacrolimus. *Eur. J. Dermatol.* 査読有 26 巻、2016、321-322  
DOI: 10.1684/ejd.2016.2769

12. Nagano, T., Oka, M., Horikawa, T., Nishigori, C., Kotera, M. Single, blue nevus-like localized argyria. *J. Dermatol.* 査読有 43 巻、2016、1359-1360  
DOI: 10.1111/1346-8138.13387

13. Yahiro, C., Oka, M., Fukunaga, A., Fukumoto, T., Sakaguchi, M., Takahashi, Y., Komori, T., Ueda, T., Nishigori, C. Mucosal lichen sclerosis/lichen planus overlap syndrome with cutaneous lesions of lichen sclerosis. *Eur. J. Dermatol.* 査読有 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.* 査読有 43 巻、2016、701-705  
DOI: 10.1111/1346-8138.13232

15. Taguchi, K., Oka, M., Bito, T., Nishigori, C. Acute generalized exanthematous pustulosis induced by *Mycoplasma pneumoniae* infection. *J. Dermatol.* 査読有 43 巻、2016、113-114  
DOI: 10.1111/1346-8138.13151

〔学会発表〕(計 4 件)

(1) 岡 昌宏、壊疽性膿皮症、乾癬、悪性黒色腫に関する IL-8 の役割、日本皮膚科学会東北六県合同地方会学術大会 第 374 回例会、2016 年 7 月 9 日、仙台サンプラザ(宮城県・仙台市)

(2) 岡 昌宏、良性腫瘍の意外な側面、Kobe Dermatology Conference、2016 年 9 月 16 日、ANA クラウンプラザホテル(兵庫県・神戸市)

(3) 坂口正展、両側上下眼瞼の浮腫性紅斑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、宮城県建設産業会館(宮城県・仙台市)

(4) 岩崎 哲史、ホルボールエステルによるメラノーマ増殖抑制機構の解析、第 27 回日本色素細胞学会学術大会、2016 年 11 月 13 日、岐阜大学サテライトキャンパス(岐阜県・岐阜市)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.tohoku-mpu.ac.jp>

## 6 . 研究組織

### (1) 研究代表者

岡 昌宏 (OKA, Masahiro)  
東北医科薬科大学・医学部・教授  
研究者番号：30252761