

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 16 日現在

機関番号：10107

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23791246

研究課題名（和文） 表皮角化細胞および乾癬病変表皮におけるポドプラニン分子の機能解析

研究課題名（英文） Role of podoplanin in epidermal keratinocytes and psoriatic epidermis

研究代表者

本間 大（HONMA MASARU）

旭川医科大学・医学部・講師

研究者番号：50344578

研究成果の概要（和文）：ポドプラニン分子が表皮角化細胞の機能、特に接着能、自己複製能の制御に関与することが示唆された。これは、 $\beta 1$ -インテグリンの発現調節および活性化制御機構によることが明らかとなった。これらの所見は、増殖乾癬表皮における増殖プールの増加と増殖細胞の分化過程への積極的な移行の必要性に合致するものと考えられる。

加えて、有棘細胞癌株における細胞密度依存性のポドプラニン発現誘導機構についても新規に明らかにし、腫瘍進展過程において、この機構が重要な働きを有する可能性を示した。

研究成果の概要（英文）：Our results of epidermal keratinocytes show that podoplanin is associated with the regulatory mechanism of cell adhesion and self-renewal potency. This mechanism reflects both increased proliferating pool and increased transition into differentiation process of keratinocytes in psoriatic epidermis. In addition, we revealed the novel cell density-dependent PDPN-induction mechanism in squamous cell carcinoma cell-lines, which might play an important role in tumor progression process.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	1,500,000	450,000	1,950,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・皮膚科学

キーワード：表皮角化細胞、有棘細胞癌、皮膚癌、幹細胞、分化、角化、浸潤能、遊走能

1. 研究開始当初の背景

尋常性乾癬は難治性皮膚疾患の一つで、生活環境の欧米化に伴い、罹患率も増加傾向にあるといわれ、心血管疾患の危険因子としても注目されている（Gelfand *et al.*, JAMA 2006）。その病態には Th17 細胞を中心とした

免疫系細胞の構成するサイトカインネットワークと、こうしたサイトカインの下流における Stat-3 活性化による表皮角化細胞の増殖促進および分化異常が重要とされる。

一方、ポドプラニンは、腎糸球体 podocyte 特異的に発現する分子としてクローニング

された膜貫通型糖タンパクであるが、現在までに腎のみならず、血小板、悪性腫瘍においても重要な機能を有することが明らかとなっている。ポドプラニンノックアウトマウスの検討では四肢にリンパ浮腫が見られるものの、表皮の分化については特に異常はみられない (Schacht *et al.*, EMBO J 2003)。しかしながら、このマウスは肺胞上皮の低形成の結果、生後すぐに死にいたるため、表皮におけるポドプラニンの機能の詳細はいまだ不明である。また、表皮特異的ポドプラニン-Fc fusion タンパク発現トランスジェニックマウスの検討では表皮に形態的な変化は認めていないが、血液の凝固能亢進が認められている (Cueni *et al.*, Blood 2010)。

近年、ポドプラニンは正常皮膚組織においても発現が確認されており、皮膚での機能も注目されている。我々の検討でも、正常皮膚組織に加え、あらたに再生上皮縁、また乾癬表皮基底層にポドプラニンが強く発現することが明らかとなった。さらに表皮角化細胞において、乾癬病態形成に重要とされる IL-22 によって Stat-3 依存性にポドプラニンの発現が誘導されることが明らかとなった)。乾癬は一般に創傷治癒過程における表皮に例えられ、両者間で共通する発現分子なども多いことから、ポドプラニンがこうした表皮の病的状態において何らかの機能を果たしていることが示唆される。

2. 研究の目的

ポドプラニンはリンパ管マーカーとしてよく知られるが、最近、乾癬表皮や創傷表皮縁の基底細胞層に強く発現することが明らかとなった。本研究においては、尋常性乾癬の病変部におけるポドプラニンの機能について解析をおこない、乾癬患者における特異的な分子マーカー、もしくは新規治療ターゲッ

トとしてのポドプラニンの可能性について検討したい。

3. 研究の方法

アデノウィルスベクターを用いた PDPN ノックイン/ノックダウンによる表皮ケラチノサイトの分化および幹細胞マーカーなどの変化について検討する。また、有棘細胞癌株化細胞においては、特にポドプラニン発現誘導機構について解析をおこなう。

4. 研究成果

アデノウィルスベクターを用いた過剰発現系、および shRNA 導入による発現抑制系の実験結果から、表皮角化細胞におけるポドプラニン分子の機能として、以下の事項が明らかとなった。ポドプラニン分子は表皮角化細胞の接着能を抑制することにより、分化マーカーであるインボルクリンの発現亢進に関与する。また、ポドプラニン分子の過剰発現により、コロニー形成能が低下するのに伴い、3 次元培養表皮の形成も抑制されることから、ポドプラニン分子が表皮基底層の細胞機能に関与することが示唆された。このような接着能、自己複製能の制御については、 $\beta 1$ -インテグリンの発現調節に加え、 $\beta 1$ -インテグリンの活性化制御機構も存在すると考えられる結果が得られている。すなわち、ポドプラニン分子により、 $\beta 1$ -インテグリンの発現量は低下するが、同時に ECM と結合した活性型 $\beta 1$ -インテグリン量も低下しており、ポドプラニン分子が増殖表皮において、基底層から有棘層への角化細胞の移行に関与している可能性が示唆される。

この $\beta 1$ -インテグリンの活性制御機構については CD44 分子が介在する結果が得られている。すなわち CD44 は $\beta 1$ -インテグリンと結

合し、その活性化を促進するが、ポドプラニンの活性化にも同時に関与している。ポドプラニンの発現を shRNA をもちいて抑制するとβ1-インテグリンの活性化と同時にβ1-インテグリンと CD44 の結合が亢進することから、ポドプラニンはβ1-インテグリンとの間で CD44 を競合することによって、β1-インテグリンの活性化に関与すると考えられた。

加えて、有棘細胞癌株における細胞密度依存性のポドプラニン発現誘導機構についても新規に明らかにした。この発現機構においては EGF 受容体および Stat-3 経路を介する細胞内シグナルが重要であり、近年、肺癌、乳癌等に対して、受容体チロシンキナーゼ阻害薬が臨床応用され、一定の効果を得ているが、有棘細胞癌においてはポドプラニン発現に EGF 受容体を介する経路が重要であり、興味深い。有棘細胞癌の浸潤縁では特にポドプラニン分子の発現が亢進し、この部位では同時に Stat-3 活性化も確認できることから、腫瘍進展過程において、この機構が重要な働きを有する可能性を示した。

以上の様に、乾癬表皮、有棘細胞癌病巣におけるポドプラニンの発現調節機構および機能について新規に明らかになったが、こうした皮膚疾患においてポドプラニンが治療ターゲットとして期待できる分子であることが示唆され、今後の研究成果が待たれる。

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 11 件)

1. Honma M, Fujii M, Takahashi H, *et al.* P Podoplanin suppresses cell adhesion by inhibiting β1-integrin function and initiates differentiation of human

epidermal keratinocytes. 2013 *submitted*.

2. Tobisawa S, Honma M, *et al.* Analytical prognostic survey of 105 Japanese cases of cutaneous T-cell lymphoma: clusterin expression as a novel prognostic factor. *J Dermatol Sci* 2013 *in press*
3. Takahashi H, Tsuji H, Honma M, *et al.* Japanese patients with psoriasis and atopic dermatitis show distinct personality profiles. *J Dermatol*. 2013 *in press*.
4. Takahashi H, Tsuji H, Honma M, *et al.* Increased plasma resistin and decreased omentin levels in Japanese patients with psoriasis. *Arch Dermatol Res*. 2013 Jan 5. *in press*
5. Honma M, Fujii M, Iinuma S, *et al.* Podoplanin-expression is inversely correlated with granular layer/filaggrin formation in psoriatic epidermis. *J Dermatol*. 2013 *in press*
6. Fujii M, Honma M, Takahashi H, *et al.* Intercellular contact augments EGF receptor expression to activate STAT3 which increases podoplanin expression in order to promote squamous cell carcinoma motility. *Cell Signal*. 2013 Apr;25(4):760-5.
7. Takahashi H, Tsuji H, Honma M, *et al.* Patients with psoriasis and atopic dermatitis show distinct anxiety profiles. *J Dermatol*. 2012 Mar 6. doi: 10.1111/j.1346-8138.2012.01513.x. [Epub ahead of print] No abstract available.
8. Ishida-Yamamoto A, Kishibe M,

- Murakami M, **Honma M**, *et al.* Tight junction-related multilayered network structures in mammalian epidermis. *PLoS ONE*. 7(2): e31641.
9. **Honma M**, Minami-Hori M, Takahashi H, Iizuka H. Podoplanin Expression in Wound and Psoriatic Epidermis: Regulation by TGF- β and STAT-3 Activating Cytokines, IFN- γ , IL-6, and IL-22. *J Dermatol Sci*. 2012 Feb;65(2):134-40. Epub 2011 Dec 8.
 10. Fujii M, **Honma M**, Takahashi H, *et al.* NF- κ B p50 subunit and Cortactin as differentiation markers between keratoacanthoma and well differentiated squamous cell carcinoma. *Clin Exp Dermatol*. 2011 Oct;36(7):788-92.
 11. Kaneta K, **Honma M**, Kishibe M, Iizuka H. Rho-kinase inhibitor, Y27632, alters expression of perilipin and adipophilin during differentiation of hamster sebocyte. *J Dermatol*. 2012 Jul;39(7):641-4.
- [学会発表] (計 9 件)
1. Fujii M, **Honma M**, Takahashi H, Ishida-Yamamoto A, Iizuka H. Upregulated podoplanin-expression depending on cellular density contributes to increased cell motility of squamous cell carcinoma cells. *International Investigative Dermatology*, 2013 年 5 月, Edinburgh, UK
 2. **Honma M**, Fujii M, Takahashi H Iizuka H. Podoplanin alters β 1-integrin-mediated cell adhesion and initiates terminal differentiation of human epidermal keratinocytes. *International Investigative Dermatology*, 2013 年 5 月, Edinburgh, UK
 3. **本間 大**, 飯塚 一 表皮角化細胞における podoplanin 分子による β 1-integrin 制御機構 第 20 回分子皮膚科学フォーラム、御機構 第 20 回分子皮膚科学フォーラム、2013 年 4 月、東京
 4. **Honma M**, Fujii M, Takahashi H, Iizuka H. Podoplanin alters β 1-integrin-mediated cell adhesion and initiates terminal differentiation in human epidermal keratinocytes (*Concurrent oral session*). 日本研究皮膚科学会第 37 回年次学術大会・総会、2012 年 12 月、那覇
 5. Fujii M, **Honma M**, Takahashi H, Ishida-Yamamoto A, Iizuka H. Upregulated podoplanin-expression depending on cellular density contributes to increased cell motility of squamous cell carcinoma cells (*Concurrent oral session*). 日本研究皮膚科学会第 37 回年次学術大会・総会、2012 年 12 月、那覇
 6. 藤井 瑞恵、**本間 大**、飯塚 一 . Upregulated podoplanin-expression depending on cellular density contributes to increased cell motility of squamous cell carcinoma cells. 第 19 回分子皮膚科学フォーラム、2012 年 4 月、青森
 7. Fujii M, **Honma M**, Takahashi H, Ishida-Yamamoto A, Iizuka H. Podoplanin induces upregulated cell motility through activation of cofiin and matrix metalloproteinase-9 in HaCaT cells. 日本研究皮膚科学会第 36 回年次学術大会・総会、2011 年 12 月、京都

8. 本間 大、飯塚 一. 表皮角化細胞の接着・分化におけるポドプラニン分子の機能、第25回表皮細胞研究会、2011年10月、横浜
9. Furio L, Honma M, Deraison C, Robin A, Tron E, Sans B, Gardini-Fournié E, Igawa S, Murakami M, Prost C, Ishida-Yamamoto A, Hovnanian A. Novel corneodesmosin null mutation and entire gene deletion in two families with inflammatory peeling skin syndrome. 71th Annual Meeting of Society for Investigative Dermatology, 2011年5月, Phoenix, USA

〔図書〕（計0件）

〔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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

本間 大 (HONMA MASARU)
旭川医科大学・医学部・講師
研究者番号：50344578