

(書式12)

氏名	あさの まさゆき 浅野 雅之
学位の種類	博士(医学)
学位授与年月日	平成27年3月25日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科(博士課程)医科学専攻
学位論文題目	皮膚表皮角化細胞における鉄関連分子の解析
論文審査委員	主査 教授 相場 節也 教授 中澤 徹 教授 一ノ瀬 正和

## 論文内容要旨

皮膚の最外層は表皮と呼ばれ、角化細胞が層状に積み重なった構造をしている。表皮では外側に向かうにつれて鉄濃度が減少することがこれまで知られていたが、この鉄濃度減少を説明できる鉄代謝に関わる分子の発現、機能についてはあまり知られていなかった。そこで私は、現在までに他の臓器で知られている鉄代謝に関わる分子の表皮内での蛋白局在ならびに mRNA 発現を、免疫組織染色とレーザーマイクロダイセクションの手法を用いて *in vivo* に検討した。続いて培養表皮角化細胞をカルシウムにより分化させることで、さらにこれら鉄代謝関連分子の表皮分化に伴う蛋白および mRNA 発現と細胞内鉄量の変動について *in vitro* で検討した。これらの一連の実験により、表皮細胞は未分化な状態では鉄を細胞内に取り込むための蛋白が強く発現しているが、分化に伴ってこれらの蛋白発現が消失し、逆に鉄を細胞外に排出するための蛋白発現が強くなることが分かった。私は、全身の鉄代謝に重要な働きを有するフェロポーチンと呼ばれる細胞内鉄を細胞外に放出するトランスポーターが、ヒト表皮でも培養ヒト表皮角化細胞でも分化とともに発現が増強し、その発現とともに細胞内鉄量が減少していることを見出した。そこで、この細胞内鉄量の減少がフェロポーチンによる作用であるかを確認するため、フェロポーチン特異的 siRNA とフェロポーチンの特異的な分解を誘導するヘプシジンを用いて、表皮角化細胞におけるフェロポーチンの鉄排出トランスポーターとしての機能を検証した。フェロポーチン蛋白の減少が細胞内鉄量の増加をもたらしたことから、実際に表皮角化細胞でフェロポーチンが鉄排出トランスポーターとして機能することが確認された。最後に、炎症性皮膚疾患である尋常性乾癬やアトピー性皮膚炎病変部の表皮上層における鉄排出蛋白の役割を検討した。これらの疾患では、健常表皮上層での鉄量と比較して鉄量が多いことが報告されている。私はこれらの皮膚疾患での鉄排出蛋白発現低下を疑い、免疫組織学的に検討を行った。その結果、これらの疾患病変部表皮ではフェロポーチン、HO-1 (Hemoxygenase-1) 蛋白の発現が低下していることが分かった。今回の私の研究により、表皮では鉄関連分子が分化による秩序的な発現制御を受け、表皮上層へ向かうにつれて生じる鉄の減少勾配を能動的に生み出している可能性が明らかになった。

## 審査結果の要旨

博士論文題目 .....皮膚表皮角化細胞における鉄関連分子の解析.....

所属専攻・分野名 .....医科学専攻 .....皮膚科学分野 分野.....

氏名 .....浅野 雅之.....

鉄はヒトにとって必須の微量金属元素の一つであり、その代謝ならびに調節は重要な問題である。皮膚の最外層は表皮と呼ばれ、角化細胞が層状に積み重なった構造をしているが、この表皮では外側に向かうにつれて鉄濃度が減少することが多くの研究で示されてきた。基底層での分裂によって生み出された表皮角化細胞は、その後分裂することなく外側に向かって移動、脱落する。そのため、この鉄量の減少には表皮角化細胞の分化とともに生じる、能動的な細胞内から細胞外への鉄の輸送が関与していると考えられる。しかし、この現象を説明できる表皮での鉄関連分子の発現分布ならびに、発現制御についてはこれまであまり知られていなかった。本研究は皮膚表皮角化細胞における鉄関連分子の解析を目的としている。

本研究では、第一に表皮鉄の粒子線励起 X 線(PIXE)による測定、第二に鉄取り込み蛋白(DMT1: Divalent metal transporter 1、トランスフェリンレセプター)、鉄排出蛋白(フェロポーチン)、鉄輸送蛋白(トランスフェリン)、鉄貯蔵蛋白(フェリチン重鎖)、ヘム分解酵素(HO-1: Hemeoxygenase-1)、鉄酸化酵素(セルロプラスミン、ヘファセチン)、鉄関連分子翻訳制御因子(ACO1: Aconitase 1, IREB2: Iron-responsive element binding protein 2)の表皮内における蛋白発現と mRNA 発現の検討、第三にトランスフェリンレセプター、フェロポーチン、トランスフェリン、ACO1、IREB2 の、培養表皮角化細胞における分化に伴う蛋白発現、mRNA 発現、細胞内鉄量変化の解析、第四にフェロポーチンに対する siRNA ならびにヘプシジン阻害による機能の検証、第五に炎症性皮膚疾患表皮における、フェロポーチン、HO-1、HO-2 (Hemeoxygenase-2)蛋白の発現の検討、がなされている。

結果は以下の通りにまとめられる。ヒト健常表皮では、DMT1 トランスフェリンレセプター、トランスフェリン、フェリチン重鎖、セルロプラスミン、ヘファセチン、ACO1、IREB2 蛋白は表皮下層でのみ発現し、フェロポーチン、HO-1 蛋白は表皮上層でのみ発現した。ヒト健常表皮では、トランスフェリン、フェリチン重鎖、HO-1、セルロプラスミン、ヘファスチン、ACO1 mRNA 発現は蛋白発現と一致するのに対して、DMT1、トランスフェリンレセプター、フェロポーチン、IREB1 mRNA 発現は、蛋白発現と一致しなかった。培養表皮角化細胞では、トランスフェリンレセプターと IREB2 蛋白は分化誘導により経時的に減少し、フェロポーチン蛋白は経時的に増加した。培養表皮角化細胞では、トランスフェリンレセプター、フェロポーチン mRNA の発現は蛋白発現と一致するが、トランスフェリン、ACO1、IREB2 mRNA と蛋白発現との間には解離がみ

られた。培養表皮角化細胞では、分化誘導 6 日目に細胞内鉄量の減少がみられ、siRNA およびヘプシジンでフェロポーチン蛋白を減少させると表皮細胞内鉄量が増加した。乾癬病変部表皮ではフェロポーチン蛋白発現低下が、アトピー性皮膚炎病変部表皮ではフェロポーチン、HO-1 蛋白発現低下、ビリルビン産生の消失がみられた。

本研究の結果は、分化した表皮角化細胞はフェロポーチンを介して細胞内の鉄を細胞外へ輸送し、能動的に細胞内鉄量を減少させていることを示している。このような表皮角化細胞における鉄制御は、表皮上層の細胞を酸化ストレスから保護したり、皮膚に付着する細菌の増殖抑制に寄与していると考えられる。また表皮におけるフェロポーチンの機能的発現は、落屑として失われる鉄を再回収する表皮内鉄リサイクリングシステムの存在や、皮膚が全身的な鉄貯蔵量に反応して、落屑を介して鉄を排出する臓器として機能する可能性を示唆している。

本研究は、これまで知られていなかった皮膚における鉄の能動的な代謝制御システムを明らかにし、皮膚に対する酸化ストレスや細菌感染からの防御などに臨床貢献出来る可能性も示しており、皮膚科学の発展に貢献するところが大きい。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。