

アトピー性皮膚炎と表皮角化細胞産生カリクレイン関連ペプチダーゼ

森実 真

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 皮膚科学

キーワード：アトピー性皮膚炎，カリクレイン関連ペプチダーゼ，表皮バリア機能

Atopic dermatitis and kallikrein-related peptidases

Shin Morizane

Department of Dermatology, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

はじめに

アトピー性皮膚炎 (AD, atopic dermatitis) は慢性の湿疹病態を主体とするアレルギー皮膚疾患である。遺伝的素因を背景に環境因子などが加わることで発症する多因子疾患と考えられており, Th2 サイトカインを主体とするアレルギー性の炎症反応と表皮角化細胞層におけるバリア機能異常を二大要素とする¹⁾。2006年に Palmer らが表皮のバリア関連蛋白であるフィラグリンの遺伝子変異が AD 発症の重要な因子であると報告して以来, 表皮バリア機能異常が発症の initial event と考えられるようになってきた²⁾。しかしながら, 本邦の AD 患者におけるフィラグリン遺伝子変異陽性率は約3割であり, 必ずしも高率ではないこと, また, フィラグリン遺伝子変異を有する人全てが AD を発症するわけではないことから, フィラグリン遺伝子以外にも発症要因が存在すると考えられている³⁾。本稿では我々が注目する表皮角化細胞産生カリクレイン関連ペプチダーゼと AD との関連性について述べる。

表皮角化細胞産生カリクレイン関連ペプチダーゼ

キニノーゲンからブラジキニンを放出する能力を有するプロテアーゼが1930年に報告され, それはギリシャ語の「臍臓」を意味する「kallikreas」に由来する「カリクレイン (kallikrein)」と名付けられた⁴⁾。この物質は現在, 組織カリクレイン1 (KLK1) として知られている。その後, 主に肝臓で産生される血漿カリクレイン (KLKB1) が, 血液中を循環する別のカリクレインとして発見された⁵⁾。現在, 15種類の組織カリクレインが報告されており, KLK1 以外の残りの14カリクレインは, カリクレイン関連ペプチダーゼ (KLK2-KLK15) と呼ばれる⁶⁾。KLK1-KLK15は, 第19染色体の長腕に遺伝子集団を形成し (KLKB1は染色体4q34-35に位置する)⁶⁾, それぞれ5つのエクソンを持ち, mRNA に転写される。KLKs はN末端にシグナルペプチドを有するプレプロタンパク質として産生される⁶⁾。シグナルペプチドは細胞外への分泌の間に除去され, プロペプチドは自己触媒か他の KLKs またはエンドペプチダーゼによって細胞外で除去される⁶⁾。

表皮角化細胞に特異的なセリンプロテアーゼは, 表皮角質層のバリア形成に影響を及ぼす。特に, KLK5 (トリプシン様セリンプロテアーゼ) や KLK7 (キモトリプシン様セリンプロテアーゼ) は, 表皮角化細胞

平成30年9月3日受理

〒700-8558 岡山市北区鹿田町2-5-1

電話：086-235-7282 FAX：086-235-7283

E-mail：zanemori@cc.okayama-u.ac.jp

◆プロフィール◆



平成12年 岡山大学医学部卒業
 平成12年 倉敷中央病院 研修医
 平成14年 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科入学
 平成17年 国家公務員共済組合連合会呉共済病院 皮膚科 医員
 平成17年 岡山大学医学部・歯学部附属病院 皮膚科 医員
 平成19年 米国カリフォルニア大学サンディエゴ校医学部 皮膚科学講座 博士研究員
 平成21年 岡山大学病院 皮膚科 医員
 平成21年 岡山大学病院 皮膚科 助教
 平成30年 岡山大学病院 皮膚科 講師
 平成30年 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 皮膚科学 教授

が産生するセリンプロテアーゼとして以前より知られている⁷⁾。これらのKLKsは、デスマグレイン1 (DSG1)、デスマコリン1 (DSC1)、およびコルネオデスマシン (CDSN) のような細胞接着分子を基質として正常皮膚における角層の剥離を促進すると考えられている(図1)⁷⁾。KLKsはまた、皮膚においてIL-1 β を活性化する⁸⁻¹⁰⁾。pHの上昇はセリンプロテアーゼ活性を増強し、角質層のpHはAD病変部で増加していることが報告されている^{1,11,12)}。

一方、KLKsが異常活性化されたモデルマウス(KLKs阻害因子であるリンパ上皮 Kazal 型関連阻害因子 (LEKTI) を欠損したマウス)では、フィラグリンの分解が加速し、表皮バリア機能低下および湿疹性炎症が誘発される¹³⁾。LEKTIをコードする *SPINK5* の

機能喪失型変異は、ネザートン症候群の患者に見出され¹⁴⁾、これらの患者がAD様症状および高IgE血症を発症するのは興味深い。*SPINK5*のSNPであるp.K420Eは、ADの病因と関連することが報告されているが、すべての患者においてではない¹⁵⁾。Fortugnoらはこのvariantがセリンプロテアーゼ阻害因子機能を低下させ、角層剥離が促進されることを示した¹⁶⁾。さらに、KLKsがAD病変部において過剰に発現されることが報告されている¹⁷⁾。以上から、過剰なKLKsの発現は正常な表皮バリア機能を崩壊させ、ADの抗原となりうる外来物質が表皮内に容易に侵入し、Th2サイトカインを主体とするアレルギー性皮膚炎を誘導すると考えられる(図2)。

皮膚において、8種類のKLKs (KLK5, KLK6,

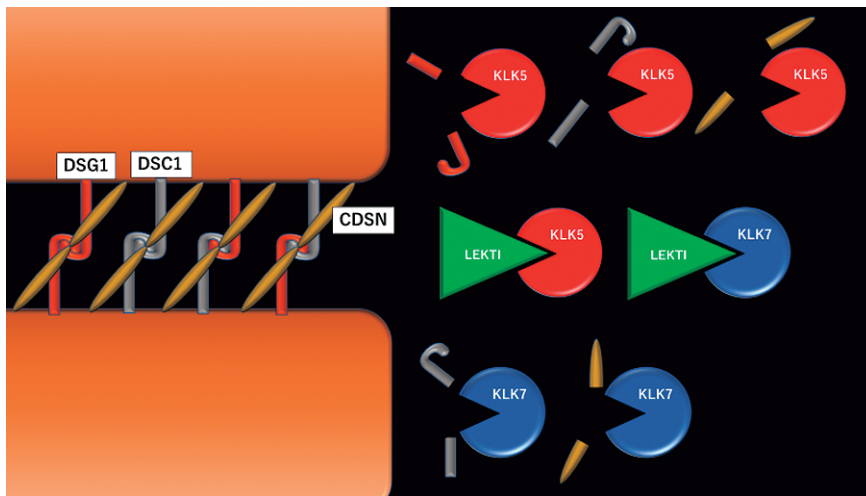


図1 正常皮膚におけるKLKsの役割(文献19より転載許諾を得て引用)

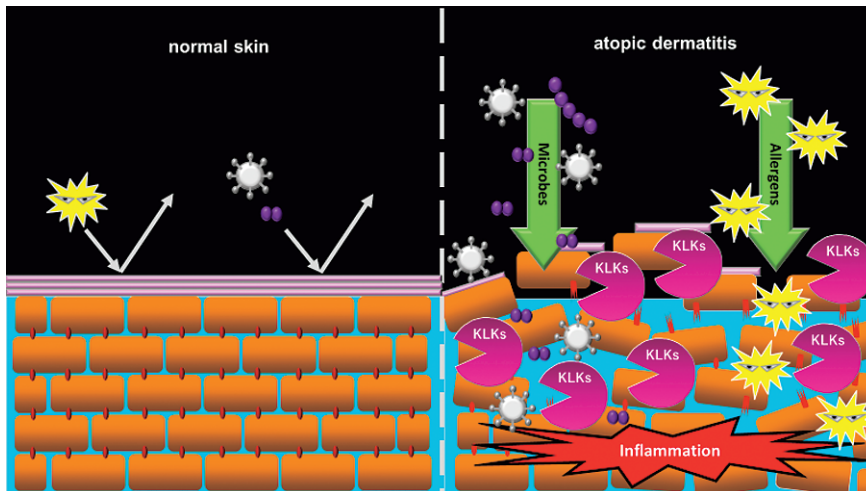


図2 アトピー性皮膚炎におけるKLKsの関与(文献19より転載許諾を得て引用)

KLK7, KLK8, KLK10, KLK11, KLK13, および KLK14) のタンパク質レベルでの発現が確認されており¹⁸⁾, これ以降はこれらのプロテアーゼと AD との関連性に焦点を当てる。

KLK5 と AD

KLK5 は、表皮における主要なトリプシン様セリンプロテアーゼであり、1999年に角質層トリプシン酵素 (SCTE, stratum corneum tryptic enzyme) として最初に報告され、クローニングされた²⁰⁾。KLK5 は、DSG1, DSC1 および CDSN を切断することで、角層の剥離を導く (図 1)⁷⁾。KLK5 は、表皮で発現されるセリンプロテアーゼであるエラスターゼ-2 を活性化することにより、(プロ)フィラグリンのプロセシングに間接的に関与している²¹⁾。最近、ラメラ顆粒だけでなくケラトヒアリン顆粒にも KLK5 が局在しており、プロフィラグリンのプロセシングに直接関与している可能性も指摘されている²²⁾。さらに、KLK5 は抗菌ペプチド LL-37 を活性化する²³⁾。KLK5 は、KLK5 自身および KLK14 によって活性化される²⁴⁾。

KLK5 の発現は AD 病変部で増加し、トリプシン様セリンプロテアーゼ活性も病変部において増強され、これは表皮バリア機能を低下させると考えられている^{17,25)}。転写因子である specificity protein 1 (Sp1) の発現は AD 病変部において有意に減少しており、培養表皮角化細胞における Sp1 遺伝子サイレンシングは KLK5 発現を増加させるため、Sp1 発現低下が AD において KLK5 を増加させるという可能性が示唆されている²⁶⁾。IL-4 は、培養表皮角化細胞において Sp1 mRNA の発現を抑制することが報告されているが、同細胞における KLK5 の発現に直接的な影響を与えなかった^{27,28)}。AD 病変部における KLK5 の発現増加の詳細な機構を明らかにするために、今後更なる解析が必要である。

さらに KLK5 は、プロテアーゼ活性化受容体 2 (PAR, protease-activated receptor 2) を介して Th2 環境を作り出す胸腺間質性リンパ球新生因子 (TSLP, thymic stromal lymphopoietin) の発現を誘導する²⁹⁾。また、皮膚 pH の上昇は PAR2 に対する KLK5 活性を増強する¹²⁾。一方、Zhu らは持続的な KLK5 活性化が PAR2 活性非依存性に AD 様皮膚変化を誘導することを報告した³⁰⁾。

ヒト KLK5 を過剰発現するトランスジェニックマ

ウスは重度の炎症および掻痒を伴うアレルギー性皮膚炎を呈する³¹⁾。加えて、KLK5 は AD のマウスモデルにおける内因性起痒物質であるとも報告されている³²⁾。

KLK7 と AD

KLK ファミリーの中で KLK7 は表皮で発現している唯一のキモトリプシン様セリンプロテアーゼであり、1991年に角質層キモトリプシン酵素 (SCCE, stratum corneum chymotryptic enzyme) として初めて報告され、1994年にクローニングされた^{33,34)}。KLK7 は DSC1 および CDSN を切断することで角層の剥離を導く (図 1)⁷⁾。AD 病変部で観察される角質層中の pH の上昇は、KLK7 活性を増強する^{1,11)}。また、KLK7 は KLK5 によって活性化される²⁴⁾。

KLK7 の発現は AD 病変部で増加し、キモトリプシン様セリンプロテアーゼ活性も病変部において増強され、これは KLK5 の場合と同様に表皮バリア機能を低下させると考えられる^{17,25)}。一方、KLK7 の発現は増強されているが、AD 病変部からテープ剥離した表皮角化細胞の酵素活性は上昇していないという報告もある³⁵⁾。培養表皮角化細胞における転写因子 Sp1 の遺伝子サイレンシングは KLK7 の発現も増強する²⁶⁾。また、Th2 サイトカイン IL-4 および IL-13 は、KLK7 の発現および AD 病変部におけるキモトリプシン様セリンプロテアーゼ活性を増加させる²⁸⁾。さらに、AD 患者の血清中の KLK7 タンパク質レベルは、血清中の IL-4 レベルと有意に相関する²⁸⁾。KLK7 は抗菌ペプチド LL-37 を分解する能力を持ち²³⁾、AD 病変部では LL-37 の発現レベルの低下が報告されている。ヒト KLK7 を過剰発現するトランスジェニックマウスは AD に類似した慢性掻痒皮膚炎を発症する³⁶⁾。

KLK7 における 3'-UTR AACC の insertion は、AD 患者において高頻度にみられ、mRNA 発現増加に関与することが報告されている^{37,38)}。しかしながら、フランスのコホート研究ではこの variant と AD との有意な関連性が認められなかった³⁹⁾。

その他の KLKs と AD

KLK6, KLK8, KLK10, KLK11, KLK13 および KLK14 はトリプシン様セリンプロテアーゼであり、これらの発現は AD 病変部において増加している^{17,18,40)}。

KLK6, KLK8 および KLK14 は KLK5 によって活性化される^{24,41,42)}。表皮角化細胞における KLK10 と

KLK13の活性化の機構は十分に研究されていない。
KLK11はKLK8によって活性化される⁴²⁾。

KLK5と同様に、KLK6とKLK14はPAR2を活性化する⁴³⁾。培養表皮角化細胞における転写因子Sp1の遺伝子サイレンシングはKLK6、KLK8およびKLK10の発現も増加させる²⁶⁾。また、近年黄色ブドウ球菌はKLK6、KLK13およびKLK14の発現を誘導し、DSG1とフィラグリンの分解を促進することでADの病態に関与している可能性が報告された⁴⁴⁾。

おわりに

本稿では、ADの病態形成におけるKLKsの関与を概説した。多くのKLKsはAD病変部において発現が増強されており、表皮バリア機能を低下させることによって病態形成に関与している可能性がある。KLKsの発現制御機構や病態形成への関与を解明するためには今後更なる解析が必要であり、それはADの新しい治療薬および予防薬の開発へと発展する可能性がある。

文 献

- 1) Cork MJ, Robinson DA, Vasilopoulos Y, Ferguson A, Moustafa M, et al.: New perspectives on epidermal barrier dysfunction in atopic dermatitis: gene-environment interactions. *J Allergy Clin Immunol* (2006) 118, 3-21; quiz 22-23.
- 2) Palmer CN, Irvine AD, Terron-Kwiatkowski A, Zhao Y, Liao H, et al.: Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis. *Nat Genet* (2006) 38, 441-446.
- 3) Mcaleer MA, Irvine AD: The multifunctional role of filaggrin in allergic skin disease. *J Allergy Clin Immunol* (2013) 131, 280-291.
- 4) Kraut H, Frey E, Werle E: Der Nachweis eines Kreislaufhormon in der pankreasdruse. *Hoppe-Seyler Z Physiol Chem* (1930) 189, 97-106.
- 5) Yousef GM, Diamandis EP: The new human tissue kallikrein gene family: structure, function, and association to disease. *Endocr Rev* (2001) 22, 184-204.
- 6) Kalinska M, Meyer-Hoffert U, Kantyka T, Potempa J: Kallikreins - The melting pot of activity and function. *Biochimie* (2016) 122, 270-282.
- 7) Caubet C, Jonca N, Brattsand M, Guerrin M, Bernard D, et al.: Degradation of corneodesmosome proteins by two serine proteases of the kallikrein family, SCTE/KLK5/hK5 and SCCE/KLK7/hK7. *J Invest Dermatol* (2004) 122, 1235-1244.
- 8) Nylander-Lundqvist E, Back O, Egelrud T: IL-1 beta activation in human epidermis. *J Immunol* (1996) 157, 1699-1704.
- 9) Yao C, Karabasil MR, Purwanti N, Li X, Akamatsu T, et al.: Tissue kallikrein mK13 is a candidate processing enzyme for the precursor of interleukin-1beta in the submandibular gland of mice. *J Biol Chem* (2006) 281, 7968-7976.
- 10) Nylander-Lundqvist E, Egelrud T: Formation of active IL-1 beta from pro-IL-1 beta catalyzed by stratum corneum chymotryptic enzyme in vitro. *Acta Derm Venereol* (1997) 77, 203-206.
- 11) Rippke F, Schreiner V, Doering T, Maibach HI: Stratum corneum pH in atopic dermatitis: impact on skin barrier function and colonization with *Staphylococcus Aureus*. *Am J Clin Dermatol* (2004) 5, 217-223.
- 12) Jang H, Matsuda A, Jung K, Karasawa K, Matsuda K, et al.: Skin pH is the Master Switch of Kallikrein 5-Mediated Skin Barrier Destruction in a Murine Atopic Dermatitis Model. *J Invest Dermatol* (2016) 136, 127-135.
- 13) Descargues P, Deraison C, Bonnart C, Kreft M, Kishibe M, et al.: Spink5-deficient mice mimic Netherton syndrome through degradation of desmoglein 1 by epidermal protease hyperactivity. *Nat Genet* (2005) 37, 56-65.
- 14) Chavanas S, Bodemer C, Rochat A, Hamel-Teillac D, Ali M, et al.: Mutations in SPINK5, encoding a serine protease inhibitor, cause Netherton syndrome. *Nat Genet* (2000) 25, 141-142.
- 15) Hovnanian A: Netherton syndrome: skin inflammation and allergy by loss of protease inhibition. *Cell Tissue Res* (2013) 351, 289-300.
- 16) Fortugno P, Furio L, Teson M, Berretti M, El Hachem M, et al.: The 420K LEKTI variant alters LEKTI proteolytic activation and results in protease deregulation: implications for atopic dermatitis. *Hum Mol Genet* (2012) 21, 4187-4200.
- 17) Komatsu N, Saijoh K, Kuk C, Liu AC, Khan S, et al.: Human tissue kallikrein expression in the stratum corneum and serum of atopic dermatitis patients. *Exp Dermatol* (2007) 16, 513-519.
- 18) Komatsu N, Saijoh K, Sidiropoulos M, Tsai B, Levesque MA, et al.: Quantification of human tissue kallikreins in the stratum corneum: dependence on age and gender. *J Invest Dermatol* (2005) 125, 1182-1189.
- 19) Morizane S: The role of kallikrein-related peptidases in atopic dermatitis. *Acta Med Okayama* (2019) 73, 1-6.
- 20) Brattsand M, Egelrud T: Purification, molecular cloning, and expression of a human stratum corneum trypsin-like serine protease with possible function in desquamation. *J Biol Chem* (1999) 274, 30033-30040.
- 21) Bonnart C, Deraison C, Lacroix M, Uchida Y, Besson C, et al.: Elastase 2 is expressed in human and mouse epidermis and impairs skin barrier function in Netherton syndrome through filaggrin and lipid misprocessing. *J Clin Invest*

- (2010) 120, 871-882.
- 22) Sakabe J, Yamamoto M, Hirakawa S, Motoyama A, Ohta I, et al.: Kallikrein-related peptidase 5 functions in proteolytic processing of profilaggrin in cultured human keratinocytes. *J Biol Chem* (2013) 288, 17179-17189.
- 23) Yamasaki K, Schaubert J, Coda A, Lin H, Dorschner RA, et al.: Kallikrein-mediated proteolysis regulates the antimicrobial effects of cathelicidins in skin. *FASEB J* (2006) 20, 2068-2080.
- 24) Eissa A, Diamandis EP: Human tissue kallikreins as promiscuous modulators of homeostatic skin barrier functions. *Biol Chem* (2008) 389, 669-680.
- 25) Voegeli R, Rawlings AV, Breternitz M, Doppler S, Schreier T, et al.: Increased stratum corneum serine protease activity in acute eczematous atopic skin. *Br J Dermatol* (2009) 161, 70-77.
- 26) Bin L, Kim BE, Hall CF, Leach SM, Leung DY: Inhibition of transcription factor specificity protein 1 alters the gene expression profile of keratinocytes leading to upregulation of kallikrein-related peptidases and thymic stromal lymphopoietin. *J Invest Dermatol* (2011) 131, 2213-2222.
- 27) Kamata Y, Yamamoto M, Kawakami F, Tsuboi R, Takeda A, et al.: Bleomycin hydrolase is regulated biphasically in a differentiation- and cytokine-dependent manner: relevance to atopic dermatitis. *J Biol Chem* (2011) 286, 8204-8212.
- 28) Morizane S, Yamasaki K, Kajita A, Ikeda K, Zhan M, et al.: TH2 cytokines increase kallikrein 7 expression and function in patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* (2012) 130, 259-261. e1.
- 29) Briot A, Deraison C, Lacroix M, Bonnart C, Robin A, et al.: Kallikrein 5 induces atopic dermatitis-like lesions through PAR2-mediated thymic stromal lymphopoietin expression in Netherton syndrome. *J Exp Med* (2009) 206, 1135-1147.
- 30) Zhu Y, Underwood J, Macmillan D, Shariff L, O'shaughnessy R, et al.: Persistent kallikrein 5 activation induces atopic dermatitis-like skin architecture independent of PAR2 activity. *J Allergy Clin Immunol* (2017) 140, 1310-1322. e5.
- 31) Furio L, De Veer S, Jaillet M, Briot A, Robin A, et al.: Transgenic kallikrein 5 mice reproduce major cutaneous and systemic hallmarks of Netherton syndrome. *J Exp Med* (2014) 211, 499-513.
- 32) Andoh T, Tsujii K, Kuraishi Y: Increase in pruritogenic kallikrein 5 in the skin of NC mice with chronic dermatitis. *Exp Dermatol* (2015) 24, 978-980.
- 33) Lundstrom A, Egelrud T: Stratum corneum chymotryptic enzyme: a proteinase which may be generally present in the stratum corneum and with a possible involvement in desquamation. *Acta Derm Venereol* (1991) 71, 471-474.
- 34) Hansson L, Stromqvist M, Backman A, Wallbrandt P, Carlstein A, et al.: Cloning, expression, and characterization of stratum corneum chymotryptic enzyme. A skin-specific human serine proteinase. *J Biol Chem* (1994) 269, 19420-19426.
- 35) Igawa S, Kishibe M, Minami-Hori M, Honma M, Tsujimura H, et al.: Incomplete KLK7 Secretion and Upregulated LEKTI Expression Underlie Hyperkeratotic Stratum Corneum in Atopic Dermatitis. *J Invest Dermatol* (2017) 137, 449-456.
- 36) Hansson L, Backman A, Ny A, Edlund M, Ekholm E, et al.: Epidermal overexpression of stratum corneum chymotryptic enzyme in mice: a model for chronic itchy dermatitis. *J Invest Dermatol* (2002) 118, 444-449.
- 37) Vasilopoulos Y, Cork MJ, Murphy R, Williams HC, Robinson DA, et al.: Genetic association between an AACC insertion in the 3'UTR of the stratum corneum chymotryptic enzyme gene and atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* (2004) 123, 62-66.
- 38) Vasilopoulos Y, Sharaf N, Di Giovine F, Simon M, Cork MJ, et al.: The 3'-UTR AACCins5874 in the stratum corneum chymotryptic enzyme gene (SCCE/KLK7), associated with atopic dermatitis; causes an increased mRNA expression without altering its stability. *J Dermatol Sci* (2011) 61, 131-133.
- 39) Hubiche T, Ged C, Benard A, Leaute-Labreze C, Mcelreavey K, et al.: Analysis of SPINK 5, KLK 7 and FLG genotypes in a French atopic dermatitis cohort. *Acta Derm Venereol* (2007) 87, 499-505.
- 40) Komatsu N, Saijoh K, Toyama T, Ohka R, Otsuki N, et al.: Multiple tissue kallikrein mRNA and protein expression in normal skin and skin diseases. *Br J Dermatol* (2005) 153, 274-281.
- 41) Blaber SI, Yoon H, Scarisbrick IA, Juliano MA, Blaber M: The autolytic regulation of human kallikrein-related peptidase 6. *Biochemistry* (2007) 46, 5209-5217.
- 42) Eissa A, Amodeo V, Smith CR, Diamandis EP: Kallikrein-related peptidase-8 (KLK8) is an active serine protease in human epidermis and sweat and is involved in a skin barrier proteolytic cascade. *J Biol Chem* (2011) 286, 687-706.
- 43) Oikonomopoulou K, Hansen KK, Saifeddine M, Vergnolle N, Tea I, et al.: Kallikrein-mediated cell signalling: targeting proteinase-activated receptors (PARs). *Biol Chem* (2006) 387, 817-824.
- 44) Williams MR, Nakatsuji T, Sanford JA, Vrbanac AF, Gallo RL: Staphylococcus aureus Induces Increased Serine Protease Activity in Keratinocytes. *J Invest Dermatol* (2017) 137, 377-384.