

Mini Review

Photoaging と弾性線維

多島新吾

防衛医科大学皮膚科

Photoaging and Elastic Fiber

Long-standing UV exposure causes accumulation of degenerated elastic fibers in the dermis. This phenomenon is termed as solar elastosis and considered to be a histological marker of photoaging. The molecular mechanism by which the degenerated elastic fibers accumulate in the dermis by long-standing UV irradiation remains unknown, but three possible theories have been proposed; suppression of elastic fiber degradation (1) by leukocyte elastase inhibitor (elafin), (2) by advanced glycation end product (AGE) modification of elastin molecule, (3) by racemization of aspartic acid residue of elastin molecule. Leukocyte-derived elastase inhibitor (elafin) was found to (1) colocalize with elastic fiber accumulations in the dermis, (2) bind to elastin molecule via transglutaminase *in vitro*, (3) be induced by UVA irradiation, and (4) protect elastin molecule from elastolytic degradation. Abnormal accumulation of elastic fibers in solar elastosis therefore may be a secondary response preventing the elastic fibers from leukocyte elastase attack.

Rec.8/18/2008, Acc.10/14/2008, pp63-65

Shingo Tajima

Department of Dermatology, National Defense Medical College, Saitama, Japan

連絡先:

多島新吾, 防衛医科大学皮膚科, 〒359-8513 埼玉県所沢市並木3-2, Tel: 042-995-1665, Fax: 042-996-5209, e-mail: tajimas@ndmc.ac.jp

Key words elastin, solar elastosis, UV

皮膚の老化にはchronological aging (intrinsic aging)とphoto-induced aging (extrinsic aging)の2種類がある。後者は紫外線照射に暴露される皮膚に特異的な現象である。このphotoagingの組織学的マーカーと考えられる日光弾性線維症(solar elastosis)は老人の露光部に変性した弾性線維の沈着を真皮上～中層に高率に認め紫外線の影響による(図1)。皮膚の老化(photoaging)の一つとされている。なぜ日光弾性線維症でエラスチンが沈着するか、そのメカニズムはよくわかっていない。

一方、皮膚の老徴の一つとしてシワが挙げられる。シワ形成のメカニズムもよくわかっていない¹⁾。しかし、シワ形成

の顕著に出現する皮膚科疾患、皮膚弛緩症、middermal elastolysisでは弾性線維の代謝異常が認められている。このことから、弾性線維代謝異常とシワ形成が密接に関連していることが予想される。

日光弾性線維症に認められるように、一般に局所にエラスチンが沈着するメカニズムとして、(1)エラスチン発現の亢進、(2)エラスチン分解の低下、の2つ(あるいは両者)の可能性が考えられる。(1)の可能性についてはすでにいくつかの報告があり、紫外線照射により線維芽細胞、ケラチノサイトのエラスチン産生が3～4倍亢進することが知られている^{2,3)}。(2)の可能性については、

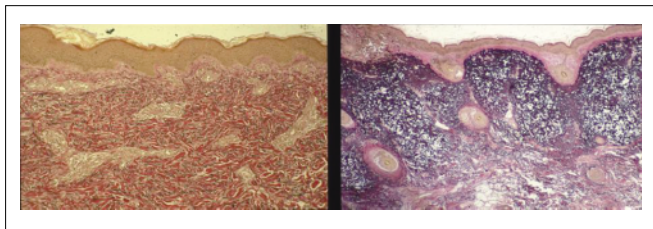


図1 若年者(左)と老人(右)のエラスチカ・ワンギーソン染色(60x)

- ①エラスターゼ阻害剤⁴⁾
- ②エラスチンのAGE化⁵⁾
- ③エラスチンのラセミ化⁶⁾

などの可能性が考えられる。

エラスターゼ阻害剤(エラフィン)の関与について

エラフィンはエラスチンを分解するエラスターゼの阻害剤として培養ケラチノサイトから単離されたタンパクであり、エラスターゼ阻害作用を有する領域とトランスグルタミナーゼの基質となる領域を有する。線維芽細胞のエラフィン発現について検討した結果以下のことが判明した。

1) 抗エラフィン抗体を用いた日光弾性線維症患者皮膚の免疫組織学的検討

エラフィンの抗体で日光弾性線維症の皮膚標本を染色すると沈着したエラスチン線維に一致して陽性に染色される。年齢別の検討では、日光弾性線維症のない9歳の顔面では弾性線維に一致したエラフィンの染色は認めなかった。56歳、79歳の顔面の日光弾性線維症の存在する皮膚では弾性線維に一致してエラフィンの沈着を認めた。32例の正常者の皮膚をエラフィン抗体で染色した結果、日光弾性線維症陽性の症例にエラフィンが陽性であった。

2) UV照射によるエラフィン陽性弾性線維の誘導

8歳正常者の非露光部の皮膚を採取後ただちにUVAとUVBを照射した結果である。UVAを照射すると、照射前ではエラフィンは陽性であった。2重免疫染色で検討すると、UVA照射の陽性像は弾性線維陽性像と一致している。光線過敏症の38歳の背中にUVAを53J/cm²照射後生検してエラフィンとエラスチン抗体の2重染色を行うと両者とも陽性であった。

3) トランスグルタミナーゼを介した、エラスチン-エラフィン複合物形成

エラスチンとエラフィンをトランスグルタミナーゼ存在下で*in vitro*で反応させると、エラスチン-エラフィン反応物がSDS電気泳動で認められる。エラスチン分子と、エラフィン α (トランスグルタミナーゼ基質領域)、エラフィン β (エ

ラスターゼ阻害領域)、トランスグルタミナーゼの4種類のタンパクを種々の組み合わせで反応させ、SDS電気泳動後、ブロッティングして抗エラスチン抗体で検出すると、エラスチン分子、エラフィン α とトランスグルタミナーゼの3種の組み合わせの時のみ、高分子のエラスチン-エラフィン複合物が認められた。また、ブロッティングしたものを抗エラフィン抗体で検出しても同様の結果が得られた。

4) 培養線維芽細胞におけるUV照射、IL-1 β 刺激によるエラフィンの誘導

培養線維芽細胞は、通常ではエラフィンを発現しないが、IL-1 β あるいはUVA照射によりエラフィンを誘導する。培養皮膚線維芽細胞にIL-1 β , TGF β , TNF α , UVA, UVBを処理した時のエラフィンの発現をRT-PCRで検討した。その結果、IL-1 β 処理とUVA照射のみでエラフィンの誘導を認めた。定量的にReal-time PCRを施行すると、UVA照射で最も強くエラフィンが誘導されることがわかった。一般に、UV照射によりIL-1 β が誘導されることが判明しているもので⁹⁾、*in vivo*でのUVによるエラフィンの誘導はIL-1 β を一部介しているのかもしれない。このときの培地を使ってWestern blot法でエラフィタンパクをエラフィン抗体で検討したところ、IL-1 β とUVA照射でエラフィタンパクの誘導を認めた。

5) エラスチン-エラフィン複合物は好中球エラスターゼに対する抵抗性を増す

エラスチンはエラフィンと結合するとエラスターゼ消化に抵抗性を有することを証明した。エラスチンを [³H] でラベルし、エラフィンを結合させた後に好中球エラスターゼで消化して、エラフィンがエラスチンを分解から抑制しているか検討した。positive control (エラフィン非存在下) では0~4時間でエラスターゼによりエラスチンが分解された。しかし、エラフィンとトランスグルタミナーゼ存在下ではエラスチンの分解は抑制され、negative controlと同程度の分解率となった。

以上より紫外線照射により誘導されたエラフィンがエラスチン線維に結合し、その結果エラスチン線維がタンパク分解酵素による分解に抵抗性を有するようになると考えられた。日光弾性線維症のエラスチン沈着は弾性線維の分解を抑えようという生体の防御反応の一つであると考えられた。

エラスチンのAGE化について⁶⁾

advanced glycation end product (AGE) は代謝回転の遅いタンパクが非酵素的糖付加反応(メイラード反応)をうけ、その後複雑な反応を経て生成される最終生成物である。抗AGE抗体を用いた免疫組織学的検討の結果、老人性白内障、糖尿病性腎症、粥状動脈硬化症などでAGEに修飾された物

質が沈着していることが判明している。solar elastosis でも AGE 抗体染色 (AGE の一種であるカルボキシメチルリジン を認識するモノクローナル抗体) で AGE の沈着を認める⁶⁾。さらに日光弾性線維症の皮膚のエラスチン画分に AGE が多く含まれていた⁶⁾ことより、エラスチンが AGE により修飾をうけていると想像される。

一般的に AGE で修飾されたタンパクは各種タンパク分解酵素に抵抗性になること、エラスチンのリジン残基は架橋形成に関わっていることより、日光弾性線維症のエラスチンは極めて不溶性になっている可能性が強く、このため代謝されずに沈着するものと考えられる。

エラスチンのラセミ化について⁷⁾

自然界に存在するタンパクは全て L 型アミノ酸を用いて作られる。ところが本来なら生物に存在しないはずの D 型アミノ酸を含んだタンパクが人体に蓄積することが明らかになってきた。老人性白内障では長期の紫外線照射により水晶体の主要タンパクであるクリスタリンの特定部位のアスパラギン酸 (Asp) 残基が D 型に変換していることが指摘されている。このためクリスタリンの構造に変化が生じ水晶体の透明性が損なわれると考えられている。長期の紫外線により皮膚のエラスチンにも同様に Asp 残基のラセミ化が生じているのではないかと、この仮説に基づき、クリスタリンのラセミ化された Asp 残基周囲のペプチドを合成し、これを抗原として、ラセミ化された Asp 含有ペプチドを認識すると思われるポリクローナル抗体を作製した。その結果、

① 日光弾性線維症のエラスチン沈着部位に陽性所見を認めた⁷⁾

② 日光弾性線維症の皮膚より抽出したエラスチンポリペプチド (Mw 68000) に反応した⁷⁾

以上のことより日光弾性線維症のエラスチンの Asp 残基の一部がラセミ化されている可能性が考えられた。しかし、ラセミ化された Asp 残基の同定は未だ不明である。ラセミ化されたタンパクは構造変化をきたし、分解が低下すると考えられる。

以上まとめると、長期にわたる紫外線照射により、真皮線維芽細胞に (1) エラフィンが誘導されることによりエラスチンとの複合体を形成する。 (2) 活性酸素によりエラスチンに AGE 化が生じる。 (3) エラスチンの Asp 残基にラセミ化が生じるなどいずれもエラスチンに代謝異常が生じて弾性線維の沈着を生じる可能性がある (図2)。3つの代謝異常のうちどれが主要の原因か、あるいはいずれもが重複しているのか、今後の検討が待たれる。

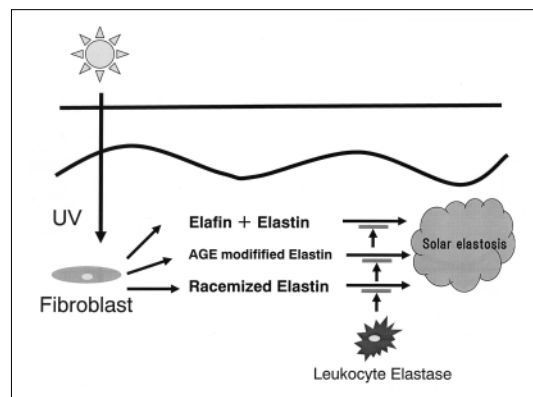


図2 Solar elastosisの発生機構

紫外線 (UV) により誘導されたエラフィンが、あるいは AGE、ラセミ化がエラスチンの分解を抑制するためにエラスチンの沈着が生じると考えられる。

文 献

- 1) Beylot C: Skin aging: clinicopathological features and mechanisms. *Ann Dermatol Venerol*, 135: S157-S161, 2008.
- 2) Bernstein EF, Chen YQ, Tamai K, Shepley KJ, Resnik KS, Zhang H, Tuan R, Mauviel A, Uitto J: Enhanced elastin and fibrillin gene expression in chronically photodamaged skin. *J Invest Dermatol*, 103: 182-186, 1994.
- 3) Starcher B, Pierce R, Hinek A: UVB irradiation stimulates deposition of new elastic fibers by modified epithelial cells surrounding the hair follicle and sebaceous glands in mice. *J Invest Dermatol*, 112: 450-455, 1999.
- 4) Muto J, Kuroda K, Wachi H, Hirose S, Tajima S: Accumulation of elafin in actinic elastosis of sun-damaged skin: elafin binds to elastin and prevents elastolytic degradation. *J Invest Dermatol*, 127: 1358-1366, 2006.
- 5) Skiba B, Neill B, Piva TJ: Gene expression profiles of TNF- α , TACE, furin, IL-1 β and matrilysin in UVA- and UVB-irradiated HaCat cells. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 21: 173-182, 2005.
- 6) Mizutani K, Ono T, Ikeda K, Kayashima K, Horiuchi S: Photo-enhanced modification of human skin elastin in actinic elastosis by N(epsilon)-(carboxymethyl) lysine, one of the glycoxidation products of Maillard reaction. *J Invest Dermatol*, 108: 797-802, 1997.
- 7) Fujii N, Tajima S, Tanaka N, Fujimoto N, Takata T, Shimo-Oka T: The presence of D- β -aspartic acid-containing peptides in elastic fibers of sun-damaged skin: a potent marker for ultraviolet-induced skin aging. *Biochem Biophys Commun Res*, 294: 1047-1051, 2002.