

ケラチン生物学とその皮膚科学への応用

新潟大学医学部皮膚科学教室

伊藤雅章

Keratin Biology and its Application to Dermatology

Masaaki ITO

*Department of Dermatology,
Niigata University School of Medicine*

Recent advances in keratin biology were summarized and the usefulness of keratin staining and keratin electrophoresis in dermatology was introduced.

Anti-hair keratin monoclonal antibodies were produced against human hair keratin filament proteins by mouse hybridoma method. Some of the antibodies showed immunohistochemical reactivities limited within hair tissue and others cross-reacted with hair tissue and other epithelia. The innermost cell layer of the outer root sheath in anagen hair follicle was immunohistochemically and ultrastructurally found to be a unique layer showing own cell differentiation. When these monoclonal antibodies and anti-soft keratin monoclonal antibodies were applied on immunohistochemical surveys of various kinds of skin epithelial tumors, the tumors were classified into several types based on their keratin expression. The keratin staining was also useful to investigate the keratinization disorder in a congenital bullous disease. As well as keratins, keratin-related substances such as keratohyalin and trichohyalin may be important for further studies in keratin biology.

Key words: keratin, SDS gel electrophoresis, monoclonal antibodies, immunohistochemistry, cell differentiation

ケラチン, SDS ゲル電気泳動, 単クローン抗体, 免疫組織化学, 細胞分化

はじめに

ケラチン (keratin) とは, 従来, 「角質」ないし「角化した上皮組織」を意味していた。また, 微細構造的に

は, ケラチン線維というと, それら角化した細胞の細胞質内に充満する線維を指している。近年, このケラチン線維を構成する蛋白が生化学的に抽出され, しかも同様の蛋白が角化性上皮に限らず, 非角化性上皮細胞にも存

Reprint requests to: Masaaki ITO,
Department of Dermatology,
Niigata University School of Medicine,
1 Asahimachi-dori, Niigata 951, JAPAN.

別刷請求先: 〒951 新潟市旭町通1番町
新潟大学医学部皮膚科学教室

伊藤雅章

在し、やはり細胞内線維を形成していることが判明し、この広く上皮に存在する蛋白をケラチンと呼んでいる。ケラチンと類似する線維として、筋細胞にはデスミン (desmin)、間葉系細胞にはビメンチン (vimentin)、神経細胞にはニューロフィラメント (neurofilament)、神経膠細胞にはグリア線維酸性蛋白 (glial fibrillary acidic protein) が存在し、いずれもそれぞれの細胞の骨格線維の1つを形成している。これら線維は、径が約 10 nm で、他の骨格線維である微細線維 (microfilament) の径 6 nm と微小管 (microtubule) の径 24 nm の中間であることから、中間径線維 (intermediate filament) と総称されている。最近、核内に存在しているラミン (lamin) も中間径線維の1つとされている¹⁾²⁾。

I. ケラチンの生化学的、免疫学的性状

中間径線維の蛋白は、分子量が約 40 KD~70 KD のポリペプチドからなる。ただし、ニューロフィラメントのそれは 105 KD~150 KD である。いずれの中間径線維のポリペプチドも共通した構造の rod domain を有しているが、N末端とC末端の構造が異なり、その違いにより互いに生化学的、免疫学的差が生じる²⁾。このうち、とくにケラチンは、その構成するポリペプチドの種類が多く、他の線維に比べ、最も複雑な性状を示す分子である。一般の上皮のケラチンはソフトケラチンと呼ばれ、その分子を構成するポリペプチドは、等電点電気泳動と SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動による二次元電気泳動で19種に分類され、各上皮に特異的なポリペプチドが存在している³⁾。さらに、等電点の相異により、これらのポリペプチドは酸性のタイプIと塩基性のタイプIIの2つのグループに分けられ、その各タイプに属する1つずつの計2つのポリペプチドが1本のケラチン線維を形成すると考えられている²⁾。その場合、タイプIIのポリペプチドはタイプIのものより分子量がほぼ 8 KD 大きいという原則がある⁴⁾。これらソフトケラチンに対し、毛、爪および舌 (糸状乳頭部) の上皮のケラチンはハードケラチンと呼ばれ、二次元電気泳動^{5)~7)}では8~10のポリペプチドに分離される。これもタイプIとタイプIIに分けられるが、後述のごとく、生化学的あるいは免疫学的に特異である。

以上より、ケラチンは上皮細胞に広く分布し、類似した生化学的性状を有する線維蛋白のファミリーであると言える。さらに免疫学的にも、一部共通した抗原性を有し、他の中間径線維と区別されるが、近年の単クローン抗体作製の技術の進歩と普及により、種々の抗ケラチン単クローン抗体が作製され、各上皮のケラチンが免疫学

的に分類されるようになってきた。各上皮に対する免疫組織化学的反応性から、ケラチンポリペプチドは大まかに全上皮型、単層上皮型、重層上皮型および特殊型に分けられる¹⁾。

II. 皮膚上皮におけるケラチン発現

皮膚上皮組織として、表皮、脂腺、汗腺、爪および毛組織がある。脂腺以下は、胎生期に表皮より発生し、皮膚付属器と総称されるが、それぞれ、特異な構造と機能を有している。これらの分化した各皮膚上皮におけるケラチンも、生化学的、免疫学的にその性状が次第に解明されつつある。

表皮細胞のケラチンのポリペプチドパターンは、基底層、有棘層、顆粒層、さらに角層と分化するにつれ、次第に変化することが知られていた⁸⁾。近年の二次元電気泳動により、基底層はケラチンポリペプチド CK 5 と CK 14 を、また、有棘層以上は CK 1 と CK 10 を発現しているとみられている⁹⁾。さらに、これらのポリペプチドを個別に認識する抗ケラチン単クローン抗体を用いた免疫組織化学法により、基底層と有棘層以上を染め分けられる⁴⁾。これらより、表皮のケラチン分化はつぎのように考えられる。すなわち、基底層で分裂し、有棘層に移行した表皮細胞のケラチンは分子構造が変化して分子量が増加し、その抗原性も変化するとみられる。角化後は、抗ケラチン抗体に対する細胞の抗原性が減弱ないし消失することが多い。

汗腺は、分泌部、真皮内汗管、表皮内ないし毛包上皮内汗管に分けられる。このうち、分泌部の分泌細胞は、他の汗腺細胞と異なり、単層上皮型ケラチンを有し、他臓器の単層上皮細胞とともに、抗単層上皮型ケラチン単クローン抗体で特異的に染色される¹⁰⁾。これは、エックリン、アポクリンのいずれの汗腺でも同様である。汗管のケラチンは、表皮や毛包上皮のそれに近く、主として重層上皮型とみられるが、単層上皮型 CK 19 を認識する抗ケラチン単クローン抗体 A53-B/A2 が導管部に陽性となる。汗腺分泌部の筋上皮細胞は、汗管と類似のケラチンを発現するが、筋細胞の中間径線維であるデスミンを有してはいない。単層上皮型ケラチンは、皮膚組織では、上述の汗腺分泌細胞の他には、表皮や毛包上皮の基底層に分布するメルケル細胞に含有されるのみである¹¹⁾。メルケル細胞は、胞体内に神経分泌顆粒を持ち、末梢神経終末に接し、触覚を司る細胞であるが、デスモゾームで周囲の基底細胞と接合し、神経由来と表皮由来の2つの説がある。ただし、中間径線維としては、ケラチンを持つが、ニューロフィラメントは有していない¹¹⁾

(表 1).

毛ケラチンは、毛髪由来のケラチンを意味し、上述のごとく、ハードケラチンの1つである。毛や爪では、cystine/cysteine 含量が多く、毛ケラチンと爪ケラチンは、アルキル化後、抽出される¹²⁾。それらのポリペプチドの電気泳動パターンは、互いに¹³⁾、また、表皮ケラチンのそれとも異なっている¹⁴⁾。しかしながら、免疫学的には、毛ケラチンと他のケラチンが交叉反応を示すという報告¹⁵⁾と示さないとする報告¹⁴⁾があったが、これらは、いずれも、多クローン抗体によるものであった。我々は、この毛ケラチンの免疫学的性状を明らかにするために、抗毛ケラチン単クローン抗体を作製した。方法の詳細な記載は、既に報告した¹⁶⁾⁻¹⁸⁾。簡単に紹介すると、ヒト毛髪を尿素、2-メルカプトエタノールにより可溶化し、ヨード酢酸でアルキル化後、酢酸緩衝液で透析し、沈澱として毛ケラチン線維蛋白を得た。これを抗原とし、マウスハイブリドーマ法により、単クローン抗体を作製した。特異抗体を産生するハイブリドーマクローンの選別と産生される抗体のサブクラスの決定には ELISA 法を用いた。有用な単クローン抗体5種を HKN-2, 4, 5, 6 および 7 と名付けた¹⁶⁾⁻¹⁸⁾。毛ケラチンの二次元電気泳動後のイムノプロット法で、HKN-2, 6 と 7 はタイプ I とタイプ II の両グループのポリペプチド群と反

応するが、HKN-4 と 5 はタイプ II と反応し、タイプ I とは反応しない¹⁹⁾。一方、表皮ケラチンに対しては、HKN-5, 6 および 7 は全く反応しないが、HKN-2 はタイプ I の CK 10 (56.5 KD) と CK 11 (56 KD) と反応し、また、HKN-4 はタイプ II の CK 1 (68 KD) と反応する(未発表)。正常ヒト組織の免疫組織化学法で、HKN-5, 6, 7 は毛組織に特異的で HKN-6, 7 はヒト成長期毛組織の内毛根鞘以内の細胞層とのみ反応し、HKN-

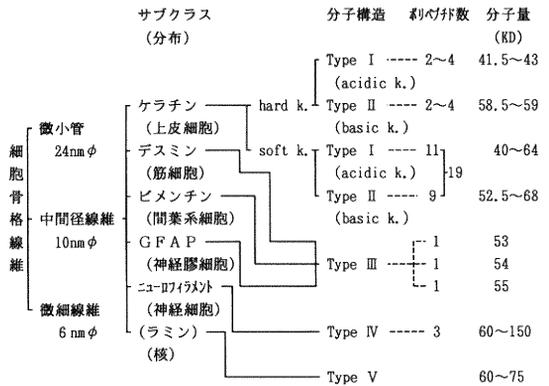


図 1 中間径線維のサブクラスと分子構造

GFAP: glial fibrillary acidic protein
k: keratin

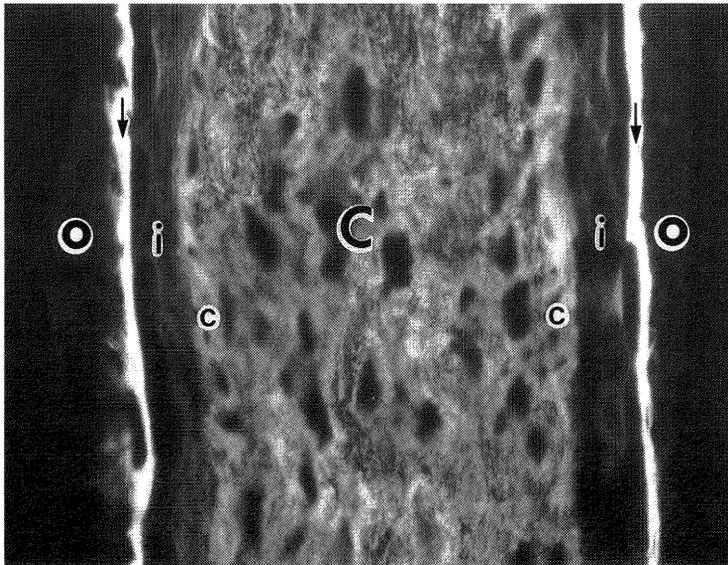


図 2 抗毛ケラチン単クローン抗体 HKN-5 による正常ヒト毛組織角化帯の蛍光免疫染色

c: 毛小皮, C: 毛皮質, i: 内毛根鞘, o: 外毛根鞘, 矢印: 外毛根鞘最内層細胞層

5. は、これに加えて、外毛根鞘最内層細胞と反応する(図2)。その他の外毛根鞘細胞は、HKN-5, 6, 7のいずれも陰性である。HKN-2は、表皮基底細胞と汗腺分泌細胞を除く、種々の皮膚上皮に反応するが、他臓器の上皮細胞には反応しない。HKN-4は、ほぼすべての皮膚上皮と他臓器の上皮にも反応する。ただし、毛母細胞はいずれの抗体でも陰性である¹⁶⁾⁻¹⁸⁾。

種々の抗ケラチン単クローン抗体の正常ヒト組織における反応性を表1にまとめた。

III. 外毛根鞘最内層細胞層の細胞分化とケラチンの意義

上述の抗毛ケラチン単クローン抗体の反応性の差より、ヒト成長期毛組織の外毛根鞘最内層細胞層が、細胞分化上、他の細胞層から区別される特異な1層であることが示唆される。実際に、ヒト成長期毛包を形態学的に観察する²⁰⁾と、外毛根鞘最内層細胞はすでに毛球部より扁平な1層の細胞層を形成し、その外層の不整な細胞形態を示す外毛根鞘細胞と明らかに区別される。下部毛包の外毛根鞘最内層細胞のヘンレ層側の細胞質に、毛軸を取り巻くように横走するケラチン線維が集簇する。この細胞は、毛峽部に至り、僅かなケラトヒアリン顆粒を産生し、他の外毛根鞘細胞に先んじて角化し、独自の分化を示す。マウス、ラット、モルモットなどの動物の成長期毛組織を観察しても、ヒトの場合と同様に、外毛根鞘最内層細胞層が存在することが確認されている²¹⁾²²⁾。このように免疫学的に特異なケラチン線維が微細構造的にも独特な出現パターンや分布を示すことは、本線維が細

胞骨格線維として、細胞の機能に応じた細胞形態の維持に重要な役割を演じることを推測させる。

IV. ケラチン生物学の皮膚科学への応用

(1) 毛組織各層のケラチン発現

抗毛ケラチン単クローン抗体による毛組織各層のケラチン分化の検討は上述のごとくであるが、最近の種々のソフトケラチンに対する単クローン抗体による免疫組織化学法により、その所見は複雑化している。単クローン抗体 K_a19.2 は毛皮質に反応し、これは毛ケラチンの微量成分である H_a が CK 19 と免疫学的に交叉するためとされ、また、毛髄と毛小皮は、毛ケラチンとともに、CK 7, CK 10 および CK 19 を発現するとされている⁶⁾。最近、タイプ I 毛ケラチンの H_a1 と H_a4 の cDNA クローンの塩基配列が明らかにされ、その2つのポリペプチドのアミノ酸配列の差は nonherical C-terminal にあり、さらに、この H_a1 の特異部分を認識する単クローン抗体は毛皮質に反応するが、毛小皮には反応せず、両者に反応する抗タイプ I 毛ケラチン単クローン抗体と対比される²³⁾という。

内毛根鞘は CK 6 と CK 16 を発現している⁶⁾というが、抗毛ケラチン単クローン抗体 HNK-6, 7 は毛幹と内毛根鞘のみを認識し、内毛根鞘は毛ケラチンも発現していると言える。一方、外毛根鞘のケラチン発現はより複雑である。上述のごとく、外毛根鞘最内層細胞層は HKN-5 陽性で、他の外毛根鞘細胞と明瞭に区別されるが、毛球上部のレベルで CK 14 および CK 8, CK 18 を発現するという報告⁶⁾がある。ただし、CK 8 と CK

表1 抗中間径線維抗体による正常ヒト皮膚上皮組織の免疫組織化学

皮膚上皮組織	抗体	抗ケラチン MoAb						A53-	抗 VM	抗 NF
		RKSE60‡	抗毛ケラチン MoAb				CK7†			
			HKN-2‡	HKN-4	HKN-5	HKN-6				
表皮	表皮角化細胞	+	+	+	-	-	-	-	-	-
皮	メルケル細胞	-	-	+	-	-	+	-	+	-
毛組	角化帯：毛幹・IRS	-	+	+	+	+	-	-	-	-
	外毛根鞘最内層細胞	-	+	+	+	-	-	-	-	-
織	その他の外毛根鞘細胞	-	+	+	-	-	-	-	-	-
脂腺	腺葉細胞	+	+	+	-	-	-	-	-	-
汗腺	導管	+	+	+	-	-	-	-	+	-
	筋上皮細胞	-	+	+	-	-	-	-	+	-
	分泌細胞	-	-	+	-	-	+	+	+	-

MoAb: 単クローン抗体 PoAb: 多クローン抗体 IRS: 内毛根鞘 VM: ビメンチン
 NF: ニューロフィラメント † 抗単層上皮型ケラチン MoAb ‡ 抗重層上皮型ケラチン MoAb
 +: 免疫組織反応陽性 -: 免疫組織反応陰性 * 基底細胞を除き陽性

18 は毛組織には全くみられないという報告²⁴⁾もある。外毛根鞘最内層細胞層を除く外毛根鞘について、従来、二次元電気泳動により CK 1, CK 10, CK 5 と CK 14 の存在が示されていた³⁾が、外毛根鞘の細胞分化は複雑でレベルによりかなりの相異があるとみられる。

(2) 皮膚上皮性腫瘍のケラチン発現

各種の抗ケラチン単クローン抗体を用いて、種々の皮膚上皮性腫瘍を免疫組織化学法で検索し、興味ある結果を得ている。老人性疣贅やボーエン病の腫瘍細胞は、HKN-2, 4 陽性であり、また、重層上皮型ケラチン CK 10 を認識するが毛組織には反応しない RKSE 60 にも陽性を示すが、HKN-5, 6, 7 には陰性である。これらは表皮型ケラチンを発現していると言える。ところが、基底細胞上皮腫は HKN-2 と HKN-4 にすべての腫瘍細胞が陽性を示し、HKN-2 陰性の正常表皮基底細胞とはかなり異なるケラチンを発現する。さらに、部分的あ

るいは全体的に HKN-5 陽性所見がみられ (図 3), また、HKN-6, 7 は陰性である。基底細胞上皮腫のケラチンの染色パターンは、正常毛組織の外毛根鞘に類似し、毛包型と言える。ただし、有棘細胞癌や外毛根鞘腫でも同様の染色所見が得られる。一方、毛母腫 (石灰化上皮腫) は、HKN-2, 4, 5, 6, 7 のすべての抗体に対して同様の陽性所見を示し、正常毛組織の毛皮質に類似したケラチンを有し、まさに毛皮質に分化する腫瘍とみられる²⁵⁾。また、稀には表皮内上皮腫でも、毛母腫とは染色態度が異なるが、表皮内の腫瘍細胞がすべての抗毛ケラチン単クローン抗体に陽性を示すことがあり、これを *intraepidermal pilar epithelioma* と名付けた²⁶⁾ (表 2)。

皮膚粘液癌、ページェット病やメルケル細胞癌の腫瘍細胞は、HKN-4 陽性であるが、HKN-2, 5, 6, 7 では陰性である。これらの腫瘍のケラチンは、単層上皮

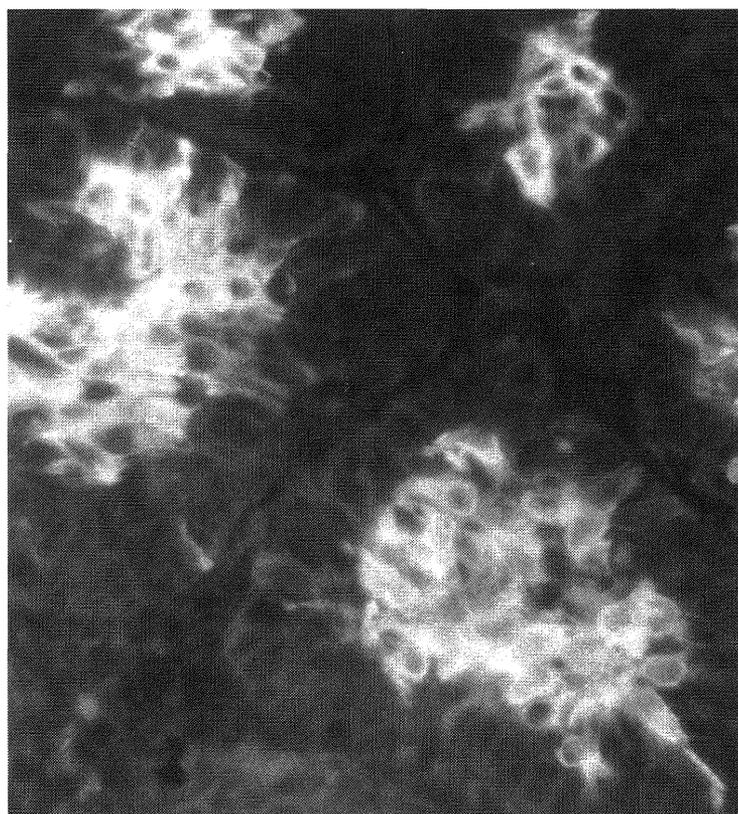


図 3 抗毛ケラチン単クローン抗体 HKN-5 による基底細胞上皮腫の蛍光免疫染色
各腫瘍細胞巣の中央部に陽性所見をみる。

表2 抗中間径線維抗体による皮膚上皮性腫瘍の免疫組織化学

皮膚上皮性腫瘍	抗体	抗ケラチン抗体					A53-	抗 VM	抗 NF	
		RKSE60 †	抗毛ケラチン MoAb							
		HKN-2 †	HKN-4	HKN-5	HKN-6	RGE53 †	CK7 †	B/A2 †	-MoAb	-PoAb
表皮・毛組織系	脂漏性角化症	+*	+*	+	-	-	-	-	-	-
	ボーエン病	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	有棘細胞癌	+§	+	+	+§	-	-	-	-	-
	基底細胞上皮腫	-☆	+	+	+§	-	-	-	-	-
	PFT	NE	+	+	+§	-	-	-	-	-
	外毛根鞘性嚢腫	+§	+	+	+§	-	-	-	-	-
	毛包癌：未分化部	-	+	+	-	-	-	-	+	-
	毛母腫	+§	+*	+*	+*	+*	-	-	-	-
	IPE	NE	+*	+	+*	+*	-	-	-	-
汗腺系	エクリン汗孔腫(癌)	+§	+§	+	-☆	-	-	-☆	-	-
	エクリン汗管癌	+§	+§	+	+§	-	-	-	-	-
	澄明細胞汗腺腫	+§	+(§)	+	+§	-	+§	+§	+§	-
	いわゆる皮膚混合腫瘍	+§	+§	+	+§	-	+§	+§	+§	+§
	乳頭状エクリン腺腫	+§	+§	+	-	-	+§	+§	+§	-
	エクリン分泌部癌	-	+§	+	-	-	+§	+§	+§	-
	皮膚粘液癌	-	-	+	-	-	+	+	-	-
他	乳房外 Paget 病	-	-	+	-	-	+	+	+	-
	Merkel 細胞癌	-	-	+	-	-	+	-	-	+

IPE : intraepidermal pilar epithelioma PFT : premalignant fibroepithelial tumor

MoAb : 単クローン抗体 PoAb : 多クローン抗体 NF : ニューロフィラメント VM : ビメンチン

†抗単層上皮型ケラチンMoAb ‡抗重層上皮型ケラチンMoAb

+ : 免疫組織反応陽性 - : 免疫組織反応陰性 *基底細胞を除き陽性 §部分的陽性

☆ごく一部に陽性となることあり NE : 未検索

型であり、それぞれ、正常の汗腺分泌細胞とメルケル細胞のケラチンに類似している²⁷⁾⁻²⁹⁾。ただし、メルケル細胞癌ではケラチンとともにニューロフィラメントを発現するものもある。また、澄明細胞汗腺腫³⁰⁾やいわゆる皮膚混合腫瘍³⁰⁾³¹⁾でも管腔構造部に単層上皮型ケラチンの発現をみるが、他の部分は重層上皮型で、一部はHKN-5陽性である。さらに、いわゆる皮膚混合腫瘍の一部の腫瘍細胞はビメンチン陽性となる(表2)。

表2に各種の皮膚上皮性腫瘍のケラチン染色の結果をまとめるごとく、これらの腫瘍は、ケラチン発現上、幾つかのグループに分けられる。その分類は従来の病理組織診断にかなり一致するものの、多少異なる部分もあり、また、本染色により初めて確認される知見もある。各種抗ケラチン単クローン抗体による免疫組織化学は、皮膚上皮性腫瘍の分化を検索する上で、極めて有用であると考えられる³⁰⁾³²⁾⁻³⁴⁾。

(3) 表皮分化異常におけるケラチン発現

HKN-4が表皮全層に、HKN-2が有棘層以上に反応し、また、基底細胞上皮腫由来のケラチンに対して作製された抗ケラチン単クローン抗体 BKN-1が表皮では基底細胞のみに反応する³⁵⁾ことから、これらの組み合わせにより、表皮のケラチン分化の異常が検討できる。たとえば、表皮基底細胞の細胞融解により水疱を生じる先天性表皮水疱症のKoebner型の1例では、微細構造的に表皮基底細胞のケラチン線維の減少を認め、また、ケラチン染色では、BKN-1が有棘層下層に陽性、さらにHKN-4が有棘層以上に陽性となった³⁶⁾。このことから、本症では、表皮細胞のケラチン線維形成に遅れがあり、その基底細胞が骨格線維としてのケラチン線維の十分量を含有していないために、わずかな外力で細胞破壊を惹起してしまうとみられる³⁶⁾。本症の表皮細胞培養でもケラチンの異常が示されている³⁷⁾。

(4) その他

表皮由来の培養細胞の研究や皮膚アミロイドーシスの研究にも、抗ケラチン抗体が応用される。また、抗毛ケラチン単クローン抗体は、やや反応パターンがヒトの場合と異なるものの、マウスの毛組織にも反応すること³⁸⁾から、動物を用いた毛周期や毛発生の研究にも有用である³⁹⁾。

V. ケラチン生物学の今後

表皮顆粒層にみられるケラトヒアリン顆粒は、表皮細胞の細胞質内の遊離リポソームで作られる高電子密度の物質で、光顕的には好塩基性に染色される。この物質は細胞質に浮遊するが、すぐにケラチン線維に付着し融合する⁴⁰⁾。生化学的に、この物質にはプロフィラグリンと呼ばれる蛋白が含まれ、表皮細胞の角化に際して、これが脱リン酸化を受けて分子量 8.6 KD~49 KD のフィラグリン (filaggrin) になる⁴¹⁾⁴²⁾。このフィラグリンはケラチン線維を凝集させる作用⁴¹⁾⁴²⁾があり、これにより角化細胞の細胞質のケラチン線維が密な走行を示し、いわゆるケラチンパターンを形成するとみられる。一方、内毛根鞘のトリコヒアリン顆粒もケラトヒアリン顆粒と同様に線維間物質としての機能を有するとみられるが、光顕的にはエオジンに好染する。トリコヒアリン物質は、分子量22万で、lysine, glutamine と arginine に富み、arginine 部分が酵素による posttranslational modification を受け、citrulline-rich protein となり、さらにトランスグルタミナーゼの作用により lysine と glutamine が結合し、この分子が重合する⁴³⁾と考えられている。

これらのケラトヒアリン物質やトリコヒアリン物質は一種のケラチン線維関連物質であり、ケラチン線維の機能に重要な役割を演じているとみられる。免疫学的にも、単クローン抗体で検討されている⁴³⁾。しかしながら、従来このような顆粒を産生しないとされていた毛皮質にも、電顕的には小さな顆粒が同様に産生され、毛皮質トリコヒアリン顆粒と名付けられている⁴⁴⁾。この顆粒の生化学的性状はまったく不明である。一方、前述の毛ケラチンの抽出時に得られる high sulphur 分画も線維間物質の一種とみられ⁷⁾、二次元電気泳動では、酸性と塩基性の2つのグループに分けられ⁷⁾、たとえば、ある捻転毛の症例では酸性分画に泳動異常を認めている⁴⁵⁾。これらの物質と毛皮質トリコヒアリン顆粒との関連が興味ある問題であるが、今後、これらの線維関連物質に関する研究がケラチン生物学の重要なテーマとなろう。

ま と め

ケラチン研究の最近の知見を述べ、とくに抗毛ケラチン単クローン抗体の作製と各種の抗ケラチン抗体の応用について紹介した。正常毛組織での外毛根鞘最内層細胞層の発見や皮膚上皮性腫瘍の分化の検討、また、先天性表皮水疱症の病因の解明など、ケラチン生物学の皮膚科領域への応用は、すでに多くの成果をもたらしている。今後の種々の研究に貢献するものと思われる。

ここに紹介した抗毛ケラチン単クローン抗体や毛ケラチン二次元電気泳動の研究は、当教室の田沢敏男、伊藤 薫、風間 隆、清水直也、勝海 薫、高橋美千代、藤原 浩、諸君との共同研究によるものである。本稿は、第430回新潟医学会における特別講演の要旨をまとめたものである。ここに、当日の集会幹事の方々に、また、座長の労をお取りいただいた本学の解剖学第三教室教授、藤田恒夫先生に感謝いたします。

参 考 文 献

- 1) 北島康雄：中間径フィラメントの基礎と腫瘍診断，臨皮，43：217~225，1989。
- 2) Steinert, P.M. and Roop, D.R.: Molecular and cellular biology of intermediate filaments, Ann. Rev. Biochem., 57: 593~625, 1988.
- 3) Moll, R., Franke, W.W., Schiller, D.L., Geiger, B. and Krepler, R.: The catalog of human cytokeratins: Patterns of expression in normal human epithelia, tumors and cultured cells, Cell, 31: 11~24, 1982.
- 4) Sun, T.-T., Eichner, R., Nelson, W.G., Tseng, S.C.G., Weiss, R.A., Jarvinen, M. and Woodcock-Mitchell, J.: Keratin classes: Molecular markers for different types of epithelial differentiation, J. Invest. Dermatol., 81(suppl.): 109s~115s, 1983.
- 5) Heid, H.W., Werner, E. and Franke, W.W.: The complement of native α -keratin polypeptides of hair-forming cells, a subset of eight polypeptides that differ from epithelial cytokeratins, Differentiation, 32: 101~119, 1986.
- 6) Heid, H.W., Moll, I. and Franke, W.W.: Patterns of expression of trichocytic and epithelial

- cytokeratins in mammalian tissues, I, human and bovine hair follicles, *Differentiation*, **37**: 137~157, 1988.
- 7) **Katsuumi, K., Ito, M., Kazama, T. and Sato, Y.**: Two-dimensional electrophoretic analysis of human hair keratins, especially hair matrix proteins, *Arch Dermatol Res*, **281**: 495~501, 1989.
 - 8) **Fuchs, E. and Green, H.**: Changes in keratin gene expression during terminal differentiation of the keratinocyte, *Cell*, **19**: 1033~1042, 1980.
 - 9) **Staquet, M.J., Haftek, M., Cordier, G. and Thivolet, J.**: Keratin filament composition of human epidermal spinous and granular cell fractions selected by flow cytometric sorting, *Arch. Dermatol. Res.*, **279**: 273~275, 1987.
 - 10) **Ramaekers, F., Huysmans, A., Moesker, O., Kant, A., Jap, P., Herman, C. and Vooijis, P.**: Monoclonal antibody to keratin filaments, specific for glandular epithelia and their tumors: Use in surgical pathology, *Lab. Invest.*, **49**: 353~361, 1983.
 - 11) **Saurat, J.-H., Didierjean, L., Skalli, O., Siegenthaler, G. and Gabiani, G.**: The intermediate filament proteins of rabbit normal epidermal Merkel cells are cytokeratins, *J. Invest. Dermatol.*, **83**: 431~435, 1984.
 - 12) **Gillespie, J.M.**: The structural proteins of hair: Isolation, characterization, and regulation of biosynthesis. In "Bio-chemistry and Physiology of the Skin," vol.1 (Ed. Goldsmith, L.A.) Oxford University Press, New York, p.475~510, 1983.
 - 13) **Marshall, R.C.**: Characterization of the proteins of human hair and nail by electrophoresis, *J. Invest. Dermatol.*, **80**: 519~524, 1983.
 - 14) **Baden, H.P., McGivray, N., Lee, L.D., Baden, L. and Kubilus, J.**: Comparison of stratum corneum and hair fibrous proteins, *J. Invest. Dermatol.*, **75**: 311~315, 1980.
 - 15) **Weber, K. and Osborn, M.**: Antibodies against merokeratin from sheep wool decorate cytokeratin filaments in non-keratinizing epithelial cells, *Eur. J. Cell Biol.*, **23**: 110~114, 1980.
 - 16) **Tazawa, T., Ito, M., Ito, K., Shimizu, N. and Sato, Y.**: Antihair keratin monoclonal antibody (HKN-2), *J.Dermatol.*, **12**: 313~317, 1985.
 - 17) **Ito, M., Tazawa, T., Ito, K., Shimizu, N., Katsuumi, K. and Sato, Y.**: Immunological characteristics and histological distribution of hair fibrous proteins studied with anti-hair keratin monoclonal antibodies, HKN-2, HKN-4, and HKN-6, *J. Histochem. Cytochem.*, **34**: 269~275, 1986.
 - 18) **Ito, M., Tazawa, T., Shimizu, N., Ito, K., Katsuumi, K., Sato, Y. and Hashimoto, K.**: Cell differentiation in human anagen hair and hair follicles studied with anti-hair keratin monoclonal antibodies, *J. Invest. Dermatol.*, **86**: 563~569, 1986.
 - 19) **Ito, M.**: The morphology and cell biology of the hair apparatus: recent advances, *Acta. Med. Biol.*, **38**: 51~67, 1990.
 - 20) **Ito, M.**: The innermost cell layer of the outer root sheath in anagen hair follicle: Light and electron microscopic study, *Arch. Dermatol. Res.*, **279**: 112~119, 1986.
 - 21) **Ito, M.**: Electron microscopic study on cell differentiation in anagen hair follicle in mice, *J. Invest. Dermatol.*, **90**: 65~72, 1988.
 - 22) 伊藤雅章, 奥田長三郎, 佐藤良夫: 動物の成長期毛包における外毛根鞘最内層細胞層の微細構造的研 究, *日皮会誌*, **97**: 1239~1246, 1987.
 - 23) **Bertolino, A.P., Checkla, D.M., Heitner, S., Freedberg, I.M., Yu, D.**: Differential expression of type I hair keratins, *J. Invest. Dermatol.*, **94**: 297~303, 1990.
 - 24) **Imcke, E., Gollnick, H., Orfanos, C.E.**: Vorkommen und Verteilung von Zytokeratinen und Filaggrin in humanen Anagenfollikeln, *Hautarzt*, **39**: 680~683, 1988.
 - 25) **Shimizu, N., Ito, M., Tazawa, T. and Sato, Y.**: Immunohistochemical study on keratin expression in certain cutaneous epithelial neoplasms, basal cell carcinoma, pilomatricoma, and seborrheic keratosis, *Am. J. Dermatopathol.*, **11**: 534~540, 1989.
 - 26) **Ito, M., Tazawa, T., Shimizu, N., Saito, A., Sato, Y. and Nonaka, I.**: Intraepidermal pilar epithelioma. A new dermatopathologic interpr-

- etation of a skin tumor, *J. Am. Acad. Dermatol.*, **18**: 123~132, 1988.
- 27) **Tazawa, T., Ito, M., Okuda, C. and Sato, Y.:** Immunohistochemical demonstration of simple epithelia-type keratin intermediate filament in a case of Merkel cell carcinoma, *Arch. Dermatol.*, **123**: 489~492, 1987.
- 28) 田沢敏男, 藤原 浩, 清水直也, 伊藤雅章, 佐藤良夫: Merkel 細胞癌, 乳房外 Paget 病, 有棘細胞癌の中間径フィラメントの免疫学的比較, *Skin Cancer*, **3**: 196~200, 1988.
- 29) **Tazawa, T., Ito, M., Fujiwara, H., Shimizu, N. and Sato, Y.:** Immunologic characteristics of keratins in extramammary Paget's disease, *Arch. Dermatol.*, **124**: 1063~1068, 1988.
- 30) 伊藤雅章, 田沢敏男: 抗ケラチンモノクローナル抗体の付属器腫瘍診断への応用, *臨皮*, **43**: 604~609, 1989.
- 31) 竹之内辰也, 田沢敏男, 藤原 浩, 清水直也, 伊藤雅章, 佐藤良夫: いわゆる皮膚混合腫瘍, 組織学的, 酵素および免疫組織化学的, 電顕的検討, *臨皮*, **44**: 665~670, 1990.
- 32) 伊藤雅章: 良性皮膚上皮性腫瘍の抗毛ケラチン単クローン抗体による免疫組織化学的検討, *皮膚科MOOK*, No.13, 皮膚の良性腫瘍, 広根孝衛編. 金原出版, 東京, p.77~86, 1988.
- 33) 伊藤雅章, 田沢敏男: モノクローナル抗体による皮膚上皮性腫瘍の診断, *現代皮膚科学大系*, 年刊版'89-B, 中山書店, 東京, p.98~109, 1989.
- 34) 伊藤雅章, 田沢敏男, 手塚匡哉, 伊藤 薫: 皮膚癌診断への免疫組織化学の応用と問題点: ケラチン染色・CEA 染色, *Skin Cancer*, **5**: 31~38, 1990.
- 35) **Shimizu, N., Ito, M., Tazawa, T., Katsuami, K. and Sato, Y.:** Anti-keratin monoclonal antibody against basal cell epithelioma keratin, *BKN-1, J. Dermatol.*, **14**: 359~363, 1987.
- 36) **Ito, M., Okuda, C., Shimizu, N., Tazawa, T. and Sato, Y.:** Epidermolysis bullosa simplex (Koebner) is a keratin disorder, ultrastructural and immunohistochemical study, *Arch. Dermatol.*, **127**: 367~372, 1991.
- 37) **Kitajima, Y., Inoue, S. and Yaoita, H.:** Abnormal organization of keratin intermediate filaments in cultured keratinocytes of epidermolysis bullosa simplex, *Arch. Dermatol. Res.*, **281**: 5~10, 1989.
- 38) **Takahashi, M., Ito, M., Tazawa, T., Shimizu, N. and Sato, Y.:** Immunohistochemical study on mouse anagen hair tissue using anti-hair keratin monoclonal antibodies, *Proc. Jpn. Soc. Invest. Dermatol.*, **12**: 116~117, 1988.
- 39) 高橋美千代: 抗毛ケラチン単クローン抗体を用いたラット毛発生の免疫組織化学的検討, *日皮会誌*, **100**: 839~851, 1990.
- 40) 橋本 健: 皮膚の電顕のみかた, 金原出版, 東京, 1979.
- 41) **Dale, B.A. and Ling, S.Y.:** Immunologic cross-reaction of stratum corneum basic protein and a keratohyalin granule protein, *J. Invest. Dermatol.*, **72**: 257~261, 1979.
- 42) **Fleckman, P., Dale, B.A. and Holbrook, K.A.:** Profilaggrin, a high-molecular-weight precursor of filaggrin in human epidermis and cultured keratinocytes, *J. Invest. Dermatol.*, **85**: 507~512, 1985.
- 43) **Rothnagel, J. and Roger, G.E.:** Trichohyalin, an intermediate filament-associated protein of the hair follicle, *J Cell Biol*, **102**: 1419~1429, 1986.
- 44) **Ito, M. and Hashimoto, K.:** Trichohyaline granules in hair cortex, *J. Invest. Dermatol.*, **79**: 392~398, 1982.
- 45) 勝海 薫, 伊藤雅章: 捻転毛 (pili torti) の1例: 毛ケラチン蛋白の二次元ポリアクリルアミドゲル電気泳動による分析, *西日皮*, **54**: 303~307, 1992.