

性ホルモンと性ホルモン結合蛋白による皮膚メラニン産生の検討

大阪大学大学院医学系研究科分子病態医学皮膚科学講座*、独立行政法人国立病院機構大阪医療センター皮膚科・形成外科**

大畑 千佳*、田所 丈嗣**、板見 智*

Sex hormone is known to be associated with the increase of human melanocytes and melanin production. However, the absence of estrogen receptor α , that was cloned in 1986, in melanocytic lesions has been confirmed to date. In 1996, the new subset of estrogen receptor was cloned, and named estrogen receptor β . We studied immunohistochemical staining of estrogen receptor α and β in melanocytic nevi and malignant melanomas, and found that both lesions were stained by estrogen receptor β , but not stained by estrogen receptor α . The normal sebaceous glands and hair follicles were positive for estrogen receptor α and β . Other adnexal structures in the skin were stained by estrogen receptor β , but not stained by estrogen receptor α .

1 緒言

これまでに我々はヒトメラノサイトが男性ホルモン標的細胞であることを明らかにし¹⁾、核内のアンドロゲン受容体を介する経路のみならず、男性ホルモンと性ホルモン結合蛋白が関与する細胞膜シグナル伝達経路によりチロジナーゼ活性が影響を受けることを示してきた²⁾。しかし、男性ホルモンだけでなく、悪性黒色腫や色素性母斑などで、メラノサイトの増殖や色素産生に女性ホルモンが関与していることがよく知られている。妊婦の悪性黒色腫の予後が悪いこと³⁻⁸⁾や、妊婦に生じる悪性黒色腫は妊娠していない女性に生じる悪性黒色腫と比べると、腫瘍厚が大きいこと⁹⁾また、統計学的に男性よりも女性の悪性黒色腫患者の予後がよいこと¹⁰⁾が報告されており、女性で妊娠中に母斑が大きくなったり、母斑の色調が濃くなったこと¹¹⁻¹³⁾も報告されている。生化学的手法を用いてエストロゲン結合タンパクが悪性黒色腫に存在することが報告されたこともあったが、これらの結果は今日では誤りであったことが知られている^{14,15)}。近年、エストロゲンレセプターを用いた免疫組織学的検索の感受性と特異性が高いことから、生化学的検索の代わりに用いられるようになったが、悪性黒色腫や色素性母斑では1986年に発見されたエストロゲンレセプター α は染色されなかった¹⁶⁻²⁰⁾。その後、1996年にエストロゲンレセプター β が発見され、ヒト皮膚で染色されることがわかった²¹⁻²⁴⁾。今回、我々は悪性黒色腫や色

素性母斑でエストロゲンレセプター α と β の発現を調べたので報告する。また、同時に正常皮膚における ER の発現に関しても有益な知見を得たため併せて報告する。

2 実験

1) 対象

1998年から2003年の間に大阪大学皮膚科を受診した色素性母斑の女性17例（1歳から79歳、平均27.2歳）男性11例（5歳から71歳、平均21.3歳）および悪性黒色腫の女性6例（27歳から79歳、平均48.5歳）男性6例（50歳から66歳、平均57歳）を対象とした。悪性黒色腫の女性のうち1例は28歳の妊婦で、妊娠後、腫瘍が増大していた。

2) 方法

パラフィン包埋された皮膚組織を4 μ mに薄切し、DAKO社のChemMate ENVISION キットを用い、用手法で染色を行った。一次抗体として、ER α はDAKO社の1D5を50倍希釈で用い、30分作用させた。ER β はGene Tex社の14C8を200倍希釈で用い、over nightで作用させた。それぞれマイクロウェーブ(600W)30分の熱処理を行った。

3 結果

1) 色素性母斑

男性、女性とも全症例でメラノサイトにおけるER α 染色は陰性であった。また、ER β 染色については全症例の全てのメラノサイトで陽性であった(図1)。年齢、性別による染色程度の違いは認めなかった。

2) 悪性黒色腫

男性、女性とも全症例でメラノサイトにおけるER α 染色は陰性であった。また、ER β 染色については全症例の



The study of melanin production in human skin induced by sex hormone and sex hormone binding protein

Chika Ohata, Taketsugu Tadokoro*, Satoshi Itami

Department of Dermatology, Course of Molecular Medicine, Osaka University Graduate School of Medicine Department of Dermatology and Plastic Surgery, Osaka National Hospital

*

全てのメラノサイトで陽性であった(図2)。妊婦と非妊婦、男性と女性の間に染色程度の差はなかった。

3) 正常皮膚構造

① ER α

脂腺を含む23例中14例(70.0%)で脂腺にER α 陽性細胞が認められた(図3)。これらの14例は9例の女性(1歳から79歳、平均36.3歳)と5例の男性(5歳から71歳、平均37.6歳)であった。脂腺にER α 陽性細胞が認められなかった6例は5例の女性(2歳から70歳、平均23.2歳)と1例の男性(5歳)であった。

毛包を含む28例中5例(17.9%)で毛包にER α 陽性細胞が認められた(図3)。これらの5例は4例の女性(8歳から36歳、平均24.8歳)と1例の男性(5歳)であった。毛包にER α 陽性細胞が認められなかった23例は13例の女性(1歳から79歳、平均32.5歳)と10例の男性(5歳から71歳、平均27.3歳)であった。毛母の乳頭部を含

む全症例(うち2例は女性の頭部)で乳頭部にER α 陽性細胞は認められなかった。

脂腺、毛包以外で皮膚にER α 陽性細胞は認められなかった。

② ER β

脂腺、毛包上皮、表皮細胞、汗腺、神経、血管内皮細胞、血管平滑筋、立毛筋、脂肪細胞、線維芽細胞、顔面の表情筋(骨格筋)を含む全症例でそれぞれの構造にER β 陽性細胞が認められた(図1, 4)。また、毛母の乳頭部を含む9例中4例(44.4%)で乳頭部にER β 陽性細胞が認められた(図4-5)。これらの4例はすべて女性(28歳から70歳、平均48.5歳)であった(うち2例は女性の頭部)。乳頭部にER β 陽性細胞が認められなかった5例は3例の女性(36歳から52歳、平均42歳)と2例の男性(5歳と70歳)で、全て頭部以外の皮膚であった。

4 考察

今回の検討で、色素性母斑と悪性黒色腫はER α を発現していないがER β を発現していることがわかった。エストロゲンは培養メラノサイトに対してメラニン量とチロシナーゼ活性を減少させる一方でメラノサイトそのものの数を増やす作用があること²⁵⁾がわかっていたが、免疫染色学的にメラノサイトがER α で染色されないことから、臨床的にはエストロゲンとメラノサイトの関連性はないとされていた¹⁶⁻²⁰⁾。その後、ER β が発見されたが、色素性母斑と悪性黒色腫に関してER β の発現は調べられていない。今回の我々の検討で初めて免疫組織学的にエストロゲンとメラノサイトの関連性を証明することができた。

ER β の染色程度に関しては色素性母斑と悪性黒色腫の間に差はなかった。よって両者の鑑別にER β は有益ではない。また、細胞形態による染色性の違いもなかった。色

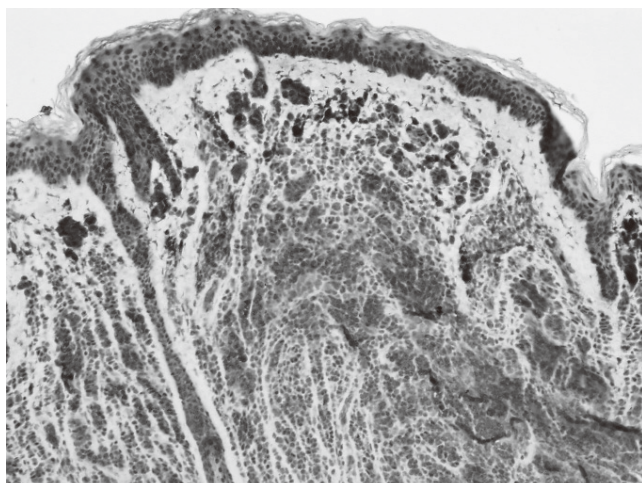


図1 色素性母斑と表皮細胞がER β で染色されている。

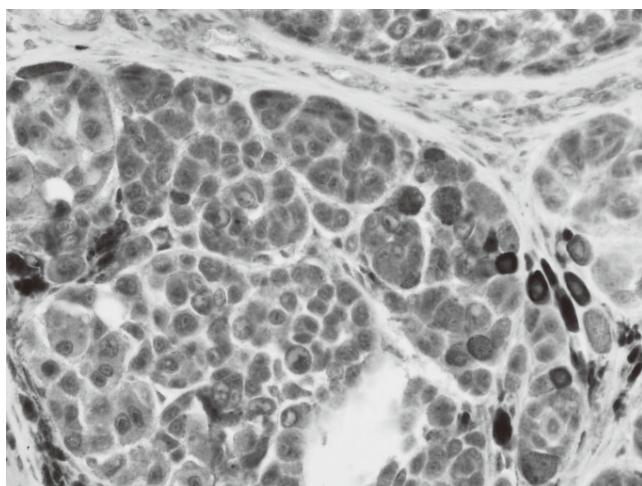


図2 大小不同のある悪性黒色腫の細胞がER β で染色されている。

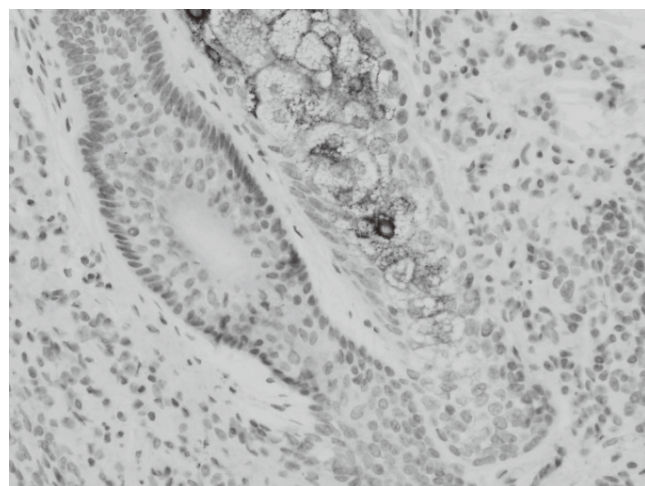


図3 脂腺と毛包がER α で染色されている。

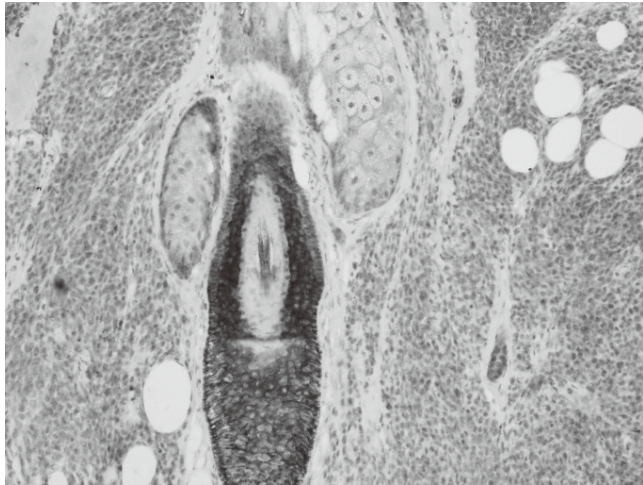


図 4-1 脂腺と毛包が ER β で染色されている。その周囲に ER β で染色された色素性母斑の細胞が見られる。

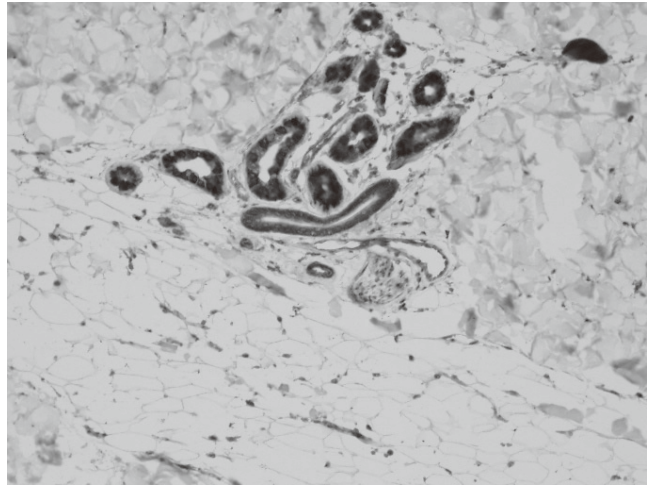


図 4-2 汗腺、神経、血管内皮、線維芽細胞、脂肪細胞が ER β で染色されている。

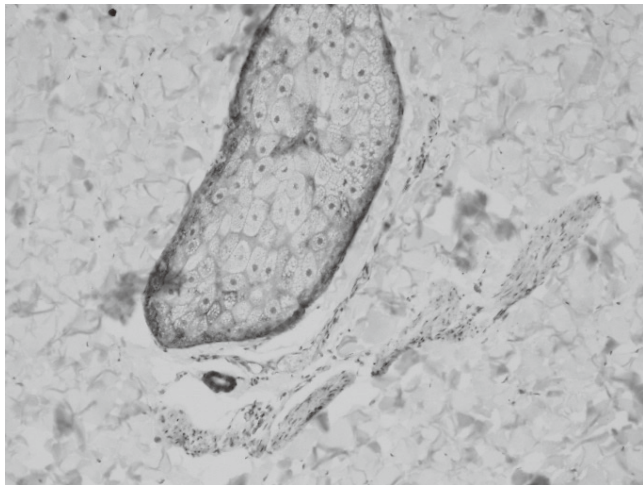


図 4-3 立毛筋、脂腺、血管内皮、線維芽細胞が ER β で染色されている。

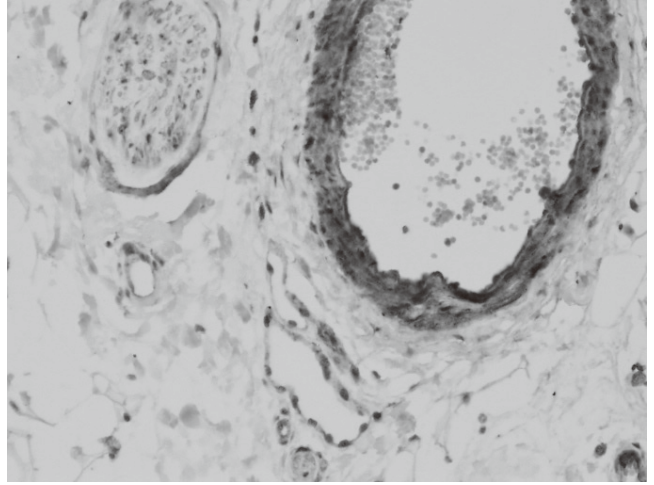


図 4-4 血管壁の平滑筋、神経、血管内皮、線維芽細胞が ER β で染色されている。

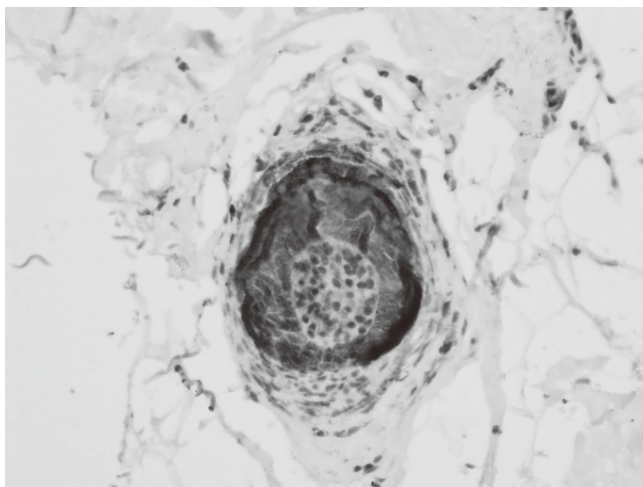


図 4-5 毛母と乳頭部の細胞、線維芽細胞が ER β で染色されている。

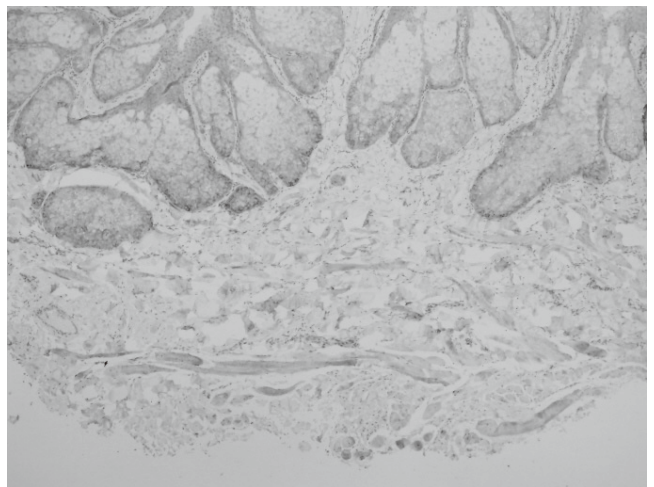


図 4-6 顔面の表情筋（骨格筋）と脂腺が ER β で染色されている。

素性母斑も悪性黒色腫も、ER β の染色程度に関しては男性、女性の間で差はなかった。女性の血中のエストロゲン量に関しては年齢による差があることが知られているが、女性の年齢によるメラノサイトの染色程度に差は認めなかった。更に、妊婦の悪性黒色腫では妊娠後に腫瘍が増大していることから、腫瘍に対するエストロゲンの影響が強く示唆されたが、妊婦の悪性黒色腫でも染色程度は他の症例と同等であった。以上から、メラノサイト中のエストロゲンレセプター量は色素性母斑でも悪性黒色腫でも年齢、性別、妊娠の有無による差がないことがわかった。近年、エストロゲンの作用として、遺伝子転写を直接、間接的に調節するだけでなく、細胞質内のシグナル伝達経路に影響を及ぼし、細胞の生存や他の成長因子の調整に関与する効果があることがわかってきた²⁶⁾。メラノサイトに対するエストロゲンとER β の作用に関してはさらに詳細な検討が必要であろう。

正常皮膚構造のER α とER β の発現については、頭部の皮膚を用いて検討されたものが多い²¹⁻²³⁾。そのため、毛母の乳頭部の細胞という、頭部以外ではあまり見られない部分に関しても調べられており、ER α 陽性細胞^{21, 23)}とER β 陽性細胞²¹⁻²³⁾があることが報告されている。いろいろな部位の皮膚を用いた報告²⁴⁾では、毛母の乳頭部の細胞については検討がなされておらず、おそらく乳頭部の構造がほとんど含まれない症例が多かったためと考えられる。我々の検討では乳頭部の細胞にはER α は染まらなかったが、ER β が染まるものは44.4%あった。頭部皮膚で毛母の乳頭部の細胞を含んでいた症例は2例あったが、2例ともER β が染まっていた。頭髪は他部位の毛髪と比べ、ホルモンの影響を強く受ける部位であるため、頭部の乳頭部でER β が発現しやすいのかもしれない。しかし、頭部以外の皮膚でも乳頭部の細胞が染まっているものもあり、部位による差はあまりない可能性も考えられる。今回の我々の検討では症例数も少ないため、今後症例数を増やして検討が必要であろう。

ER α 陽性細胞は毛包²⁴⁾、脂腺²¹⁻²⁴⁾に存在することが報告されている。我々の検討では70.0%の脂腺と17.9%の毛包にER α 陽性細胞が認められ、これまでの報告とほぼ同様であった。エクリン腺、表皮にもER α 陽性細胞が存在することが報告されているが²⁴⁾、我々の検討ではエクリン腺、表皮でER α は染まらなかった。サンプル数は少ないものの、脂腺も毛包も男女とも染まっており、性差による違いはないものと考えた。

ER β 陽性細胞は脂腺²¹⁻²⁴⁾、毛包²¹⁻²³⁾、表皮^{21, 22, 24)}、エクリン腺^{21, 24)}、血管²²⁾、線維芽細胞²²⁾に存在することが報告されている。我々の検討では脂腺、毛包上皮、表皮細胞、汗腺、血管内皮細胞、血管平滑筋、線維芽細胞に全症例で認められた。我々の結果ではこれら以外にも神経、立

毛筋、脂肪細胞、顔面の表情筋（骨格筋）にもER β が染まることがわかった。すなわち、今回の我々の結果はヒト皮膚を構成する全ての成分においてER β が広範に存在することを証明した。エストロゲンは皮膚厚を高めたり、血管新生を促進することがわかっている²⁷⁾が、我々の結果はこれを裏付け、エストロゲンがER β を介して、ヒト皮膚に大きな影響を及ぼしていることを明らかにした。

(引用文献)

- 1) Tadokoro T, Itami S, Hosokawa K, et al.: Human genital melanocytes as androgen target cells, *J Invest Dermatol*, 109, 513-517, 1997.
- 2) Tadokoro T, Rouzaud F, Itami S, et al.: The inhibitory effect of androgen and sex hormone-binding globulin on the intracellular cAMP level and tyrosinase activity of normal human melanocytes, *Pigment Cell Res*, 16, 190-197, 2003.
- 3) Pack GT, Scharnagel IM. The prognosis for malignant melanoma in the pregnant woman. *Cancer*. 1951; 4: 324-334.
- 4) Byrd BF Jr, McGanity WJ. The effect of pregnancy on the clinical course of malignant melanoma. *South Med J*. 1954; 47: 196-200.
- 5) Conybeare RC. Malignant melanoma and pregnancy: report of 3 cases. *Obstet Gynecol*. 1964; 24: 451-454.
- 6) Riberti C, Marola G, Bertani A. Malignant melanoma: the adverse effect of pregnancy. *Br J Plast Surg*. 1981; 34: 338-339.
- 7) Sutherland CM, Loutfi A, Mather FJ, et al. Effect of pregnancy upon malignant melanoma. *Surg Gynecol Obstet*. 1983; 157: 443-446.
- 8) Pennington DG. Multiple primary melanoma in pregnancy: a case report. *Br J Plast Surg*. 1983; 36: 260-261.
- 9) MacKie RM, Bufalino R, Morabito A, et al. Lack of effect of pregnancy on outcome of melanoma. For the world health organisation melanoma programme. *Lancet*. 1991; 337: 653-655.
- 10) White LP. Studies on melanoma. II. Sex and survival in human melanoma. *N Engl J Med*. 1959; 260: 789-797.
- 11) Ellis DL. Pregnancy and sex steroid hormone effects on nevi of patients with the dysplastic nevus syndrome. *J Am Acad Dermatol*. 1991; 25: 467-482.
- 12) Foucar E, Bentley TJ, Laube DW, et al. A histopathologic evaluation of nevocellular nevi in pregnancy. *Arch Dermatol*. 1985; 121: 350-354.
- 13) Winton GB, Lewis CW. Dermatoses of pregnancy. *J Am*

- Acad Dermatol.* 1982; 6: 977-998.
- 14) Zava DT, Goldhirsch A. Estrogen receptor in malignant melanoma: fact or artefact? *Eur J Cancer Clin Oncol.* 1983; 19: 1151-1159.
 - 15) McCarty KS Jr, Wortman J, Stowers S, et al. Sex steroid receptor analysis in human melanoma. *Cancer.* 1980; 46: 1463-1470.
 - 16) Cohen C, DeRose PB, Campbell WG, et al. Estrogen receptor status in malignant melanoma. *Am J Dermatopathol.* 1990; 12: 562-564.
 - 17) Flowers JL, Seigler HF, McCarty KS Sr, et al. Absence of estrogen receptor in human melanoma as evaluated by a monoclonal antiestrogen receptor antibody. *Arch Dermatol.* 1987; 123: 764-765.
 - 18) Delarue JC, Avril MF, Charpentier P, et al. Estrogen receptors in malignant melanoma. *Arch Dermatol.* 1987; 123: 159-160.
 - 19) Lecavalier MA, From L, Gaid N. Absence of estrogen receptors in dysplastic nevi and malignant melanoma. *J Am Acad Dermatol.* 1990; 23: 242-246.
 - 20) Duncan LM, Travers RL, Koerner FC, et al. Estrogen and progesterone receptor analysis in pregnancy-associated melanoma: absence of immunohistochemically detectable hormone receptors. *Hum Pathol.* 1994; 25: 36-41.
 - 21) Thornton MJ, Taylor AH, Mulligan K, et al. Oestrogen receptor beta is the predominant oestrogen receptor in human scalp skin. *Exp Dermatol.* 2003; 12: 181-190.
 - 22) Thornton MJ, Taylor AH, Mulligan K, et al. The distribution of estrogen receptor beta is distinct to that of estrogen receptor alpha and the androgen receptor in human skin and the pilosebaceous unit. *J Investing Dermatol Symp Proc.* 2003; 8: 100-103.
 - 23) Kwon OS, Han JH, Yoo HG, et al. Expression of androgen receptor, estrogen receptor alpha and beta in the dermal papilla of human hair follicles in vivo. *J Dermatol Sci.* 2004; 36: 176-179.
 - 24) Kariya Y, Moriya T, Suzuki T, et al. Sex steroid hormone receptors in human skin appendage and its neoplasms. *Endocr J.* 2005; 52: 317-325.
 - 25) Jee SH, Lee SY, Chiu HC, et al. Effects of estrogen and estrogen receptor in normal human melanocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 1994; 199: 1407-1412.
 - 26) Hall G, Phillips TJ. Estrogen and skin: the effects of estrogen, menopause, and hormone replacement therapy on the skin. *J Am Acad Dermatol.* 2005; 53: 555-568.
 - 27) Brincat MP. Hormone replacement therapy and the skin. *Maturitas.* 2000; 35: 107-117.