表皮に含まれる脂質のバリア形成における役割

Roles of Epidermal Lipids in Barrier Formation

内田 良一

株式会社ファーマフーズ

〒615-8245

京都市西京区御陵大原 1-49

Yoshikazu UCHIDA

Pharma Foods International Co., Ltd.

1-49 Goryo-Ohara, Nishikyo-ku, Kyoto 615-8245, Japan

論文要旨：皮膚の最外層を覆う表皮は、紫外線、乾燥、化学物質や病原微生物などの外界からの刺激を直接受けている。これら外界の影響を軽減し、正常な生体機能を維持するため、表皮は、複数種の防御（バリア）機能を備えている。表皮は機能的と性状的に異なる基底層、有棘層、顆粒層および角層の計四層から構成されるが、角層に殆どのバリア機能が集約されている。脂質は、角層の細胞間で表皮透過バリアを形成している。特に、他の組織に類をみない多様な分子種からなるセラミドは、バリア形成に必須な脂質となっている。また、セラミドの代謝産物は、セラミドと同様に表皮透過バリアの形成に関与するだけでなく、有核の表皮層（基底層、有棘層、顆粒層）において、情報伝達物質として、抗菌ペプチドの産生を調節し、抗菌バリアの形成に寄与している。

Abstract: The epidermis is continuously exposed to deleterious external stimuli, such as ultraviolet irradiation, dryness, mechanical stress, xenotoxic chemicals and microbial pathogens, and it deploys multiple barriers to protect internal tissues as well as the skin from these insults to maintain normal cellular functions. The epidermis consists of four layers - stratum basale, stratum spinosum, stratum granulosum and enucleated stratum corneum. The stratum corneum deploys most barriers, and it is the lipids in the stratum corneum that play a critical role in forming the epidermal permeability barrier. In particular, in the stratum corneum, ceramide is the lipid, made up of heterogeneous molecules not reported in other tissues, that is essential for barrier formation. Ceramide metabolites also contribute to formation of a competent permeability barrier formation. Additionally, these ceramide metabolites in the nucleated layers of the epidermis serve as modulator lipids in the formation of the antimicrobial barrier through increasing antimicrobial peptide production.

Key words: skin, epidermis, barrier, lipids, ceramide

1 緒言

生体の最大臓器（重量にして約16%）の皮膚は、表皮、真皮と皮下組織（脂肪組織、皮脂腺、爪、汗腺と毛組織）から構成される複合組織である。皮膚の最外層を覆う表皮は、外界からの刺激を直接受ける組織であることから、化学的、物理的および機械的な刺激に対する防御（バリア）機能を備えて、正常な生体の機能を維持している。表皮は機能的と性状的に異なる基底層、有棘層、顆粒層および角層の計四層から構成されるが、角層に殆どのバ

リア機能が集約されている。脂質は、表皮透過バリアの形成に重要な役割を負うとともに、情報伝達物質として、皮膚の細胞の増殖と分化調節や免疫バリアの形成に寄与している。本総説では、陸棲哺乳動物の表皮の脂質を対象にして、そのバリア形成への役割を概説する。

2 表皮

表皮は、皮内側より、基底層、有棘層、顆粒層、角層の4つの層に分類される。表皮に含まれる細胞の95%以上を占める、ケラチノサイトは基底層で分裂し、分化により、有棘細胞、顆粒細胞、ついで、核が分解（脱核）し、角質細胞となる。分化の過程で、構造的、代謝的、

連絡者：内田 良一
E-mail : y-uchida@pharmafoods.co.jp

成分的に性状が変わる。角層には、脂質、タンパク質分解酵素が含まれ、脂質やタンパク質が分解されるが、新たな生合成は起きていない。表皮透過バリアは、ケラチノサイトにより形成される。ケラチノサイト以外にメラノサイトと免疫系細胞（ランゲルハンス細胞、メルケル細胞、樹状細胞）が含まれる。メラノサイトはメラニン合成し、紫外線から生体を保護する役割を負っている。免疫系細胞は、外来異物の排除に寄与している。

3 表皮のバリア

正常な生体機能の維持には、一定な生体内環境が必要である。これに対して、生体外環境は、地域、時間、季節、天候などの諸条件で大きな変動を示す。以下に解説のように表皮は、少なくとも7つのバリアを形成し、これら外環境の影響を軽減し、生体内環境を一定に維持している。

3・1 表皮透過バリア

外来の異物（化学物質、タンパク質、脂質、炭水化物および微生物）の生体内への侵入を防ぐと同時に生体内成分の漏出を防いでいる。角層の細胞間に形成された脂質ラメラ構造物が表皮透過バリアの役割を負っている。さらに、有棘層と顆粒層の細胞間隙に形成されたタイトジャンクションも物質の侵入と漏出を防いでいる。角層のラメラ構造物は生体外に向かって細胞の上下（apical）に形成されているのに対して、タイトジャンクションは細胞の左右（lateral）に存在する。表皮透過バリアは陸棲と水棲では異なり、また、陸棲の中でも、哺乳類、鳥類と爬虫類では異なる。動物に限らず、植物の外皮（Cuticle）もバリア機能を担っている¹⁾。動物と植物のいずれの表皮透過バリアも脂質がバリアの中心的な役割を負っている。植物はワックスエステルとアルカン（炭化水素）がバリア脂質となる。これに対して、陸棲哺乳動物の場合、セラミド、コレステロールと遊離脂肪酸が主要な脂質成分となりバリアを形成している。

3・2 抗酸化バリア

アスコルビン酸（ビタミンC）、 α トコフェロール/ β トコフェロール（ビタミンE）、グルタチオンなどの抗酸化成分が、角層に含まれている。角層以外の表皮層においては、これらに加えてスーパーオキシドディスムターゼ（SOD）が、酵素的に過酸化物の分解に寄与している。

3・3 物理的バリア

動物の細胞は、脂質二重層膜に覆われているが、角層のケラチノサイト（角層細胞）は、タンパク質が架橋した角化不溶性膜で覆われている²⁾。角化不溶性膜は1% Sodium Lauryl Sulphate (SLS) と β -メルカプタエタノー

ルやジチオスレイトールなどの還元試薬溶液中で、加熱処理しても、可溶化しない。化学的に、また、物理的に堅牢な構造を保ち、機械的・化学的な刺激から皮膚を保護している。

3・4 紫外線バリア

角層に含まれるフィラグリンがタンパク質分解酵素により分解され産生されたヒスチジンから、ヒスチナーゼにより、ウロカニン酸が生成される。ウロカニン酸は、紫外線吸収作用をもち、皮膚を紫外線から防御している。紫外線照射を受けるとトランス型からシス型に変化する。ウロカニン酸以外に、紫外線吸収作用は、弱いものの他のタンパク質成分も紫外線を吸収し、紫外線バリアの形成に寄与している。また、メラノサイトが産生するメラニンも紫外線から皮膚を保護している。

3・5 化学的バリア

角層以外の表皮層には、肝臓や腎臓と同様に、酸化・還元酵素と抱合体合成酵素³⁾が含まれ、化学物質を代謝する機能を備えている。

3・6 抗菌バリア

表皮透過バリアは、微生物の侵入を防いでいる。さらに、ケラチノサイトは、抗菌ペプチドを産生し、微生物の浸潤と増殖を抑制している。抗菌ペプチドは、細菌、真菌、植物および動物と進化的に保存され産生される自然免疫成分の重要な因子として微生物感染から宿主細胞を防御している。哺乳動物では、リンパ球、好中球、単球やマクロファージなどの免疫系細胞に加えて、表皮を含めた上皮系細胞で抗菌ペプチドが産生されている。抗菌ペプチドは、陽イオン性あるいは陰イオン電荷に富むペプチドで生体成分と親和性を持ち、細胞膜に結合あるいは融合し、膜に小孔を作る。その結果、細胞内成分の漏出と細胞外成分の侵入により細胞機能を低下させる^{4, 5)}。ある種の抗菌ペプチドは細胞内に取り込まれた後、宿主の核酸やタンパク質に結合して代謝機能に障害を与える⁵⁾。したがって、抗菌ペプチドは菌株（ある種の真菌・ウイルスにも作用を示す）を問わない広域の抗菌スペクトルを示す。さらに、特定の代謝過程を阻害する作用機構による抗生物質や抗菌剤と違い、抗菌ペプチド耐性菌の発生頻度は低い。

3・7 免疫バリア

角層以外の表皮層は、異物を認識しそれを排除する免疫機能を備えている。抗原の認識と免疫系の活性化に関与するランゲルハンス細胞やガンマデルタ（ $\gamma\delta$ ）T細胞に加えて、毛包周囲に存在する制御性（レギュラトリー）T細胞は過度な炎症反応を抑制する⁶⁾。さらに、ケラチノサイトは、刺激に応答してさまざまなサイトカインを産生・放出することにより免疫反応の抑制あるいは活性

化に関与している。

以下に解説するように、脂質は表皮透過バリアと抗菌バリアの形成に直接的に寄与している。

4 透過バリアの形成に関わる脂質の生成

基底細胞、有棘細胞と顆粒細胞の細胞膜成分の脂質は、他の組織の細胞と同様に、リン脂質、コレステロールおよびスフィンゴ脂質が主要な脂質成分となっている。分化後期の顆粒細胞では、コレステロールと多様な分子種からなるセラミドの産生が高まる。産生されたセラミドの殆どは、スフィンゴミエリンとグルコシルセラミドに変換され層板顆粒(4・3セラミド合成 参照)に蓄積される。角層においては、セラミド、遊離脂肪酸とコレステロールが主要な脂質成分であり、表皮の顆粒層、有棘層および基底層を含めた他の動物細胞と著しく異なった脂質組成となる。以下に表皮透過バリアを形成する主要な脂質成分のセラミド、遊離脂肪酸とコレステロールの生成過程を概説する。

4・1 コレステロール合成

コレステロールは、食事から摂取されるとともに、肝臓で合成される。食事由来のコレステロールは、腸管で吸収された後、リポタンパク質粒子のカイロミクロンに取り込まれて、肝臓に移送される。肝臓において、合成されたコレステロールとともに Low-density lipoprotein (LDL) に取り込まれ体内を循環する。ケラチノサイトは、膜に LDL 受容体を発現し、コレステロールを細胞に取り込むが、ケラチノサイトもコレステロールを産生し、細胞の膜と表皮透過バリアの形成に寄与している。

コレステロールの合成は、アセチルコエンザイム A (アセチル-CoA) アセチルトランスフェラーゼによる、アセチル-CoA からのアセトアセチル-CoA 生成を出発として開始される。次いで 3-ヒドロキシ-3-メチルグルタミル-Coエンザイム A (HMG-CoA) 合成酵素により、HMG-CoA が合成される。HMG-CoA は、HMG-CoA 還元酵素により、メバロン酸に還元される。この還元段階が、コレステロール合成の律速段階となる。次いで、9段階の反応を経てコレステロールが合成される。高コレステロール症の治療薬として、HMG-CoA 還元酵素阻害剤が開発されている。HMG-CoA 還元酵素阻害剤を塗布したマウスのバリア能は低下する⁷⁾。これに対して、HMG-CoA 還元酵素阻害剤の服用による副作用として、表皮透過バリア障害は報告されていない。したがって、血液循環で表皮に輸送され、ケラチノサイトに取り込まれたコレステロールに比べ、表皮で合成されるコレステロールが角層の主要な構成成分となると考えられる。合成されたコレステロールの一部は脂肪酸エステル化され

コレステロールエステルに、あるいは、硫酸化され、コレステロール硫酸となる。

4・2 脂肪酸合成

炭素鎖長が、16 までの脂肪酸は、脂肪酸合成酵素により生合成され、それより長鎖の脂肪酸は、脂肪酸鎖延長酵素により産生される。脂肪酸合成酵素は、アシルキャリアタンパク質 (ACP) が結合した β -ケトアシル ACP 合成酵素、 β -ケトアシル ACP 還元酵素、3-ヒドロキシアシル ACP 脱水素酵素とエノイル ACP 還元酵素の 4 つの酵素から構成される複合体である。脂肪酸合成は β -ケトアシル-ACP 合成酵素によるアセチル ACP とマロニル ACP との縮合反応により開始される。生成したアセトアセチル ACP は、 β -ケトアシル ACP 還元酵素により、3-ヒドロキシブチリル ACP に還元され、次いで、3-ヒドロキシアシル ACP 脱水素酵素によりクロトニル ACP となる。さらに、クロトニル ACP は、エノイル ACP 還元酵素でブチル ACP となる。この 4 段階の反応が繰り返され、炭素鎖長 16 までの脂肪酸が合成される。

脂肪酸鎖延長酵素系は、脂肪酸合成と同様に 4 つの酵素系によるが、基質は、ACP と結合せず CoA と結合している。ELOVL (Elongation of very long chain FAs protein) (β -ケトアシル CoA 合成酵素) により、鎖延長反応が開始する。脂肪酸の鎖長と飽和度の違いによる基質特異性がある 7 種類のアイソザイムの ELOVL が哺乳動物で同定されている⁸⁻¹⁰⁾。表皮は、全てのアイソザイムを発現している。ELOVL1 は 24 より長鎖の炭素鎖長脂肪酸を合成し、その脂肪酸が ELOVL4 の基質となり、炭素鎖長 26 以上の極長鎖脂肪酸を合成される¹¹⁾。極長鎖の脂肪酸を構成成分とするセラミドは、表皮の物質透過バリアの構成成分の 1 つである。特に、極長鎖脂肪酸は、バリア形成に必須な ω -ヒドロキシアシルセラミドの酸アミド結合型脂肪酸として利用されている¹²⁾。ELOVL1 欠損と ELOVL4 酵素活性を失った変異 ELOVL4 遺伝子を導入 (ホモ型)、あるいは ELOVL4 を欠損したトランスジェニックマウスは、過剰な水分蒸散と、その結果起きる体温低下により、生後数時間で死ぬ¹³⁾。しかし、これら 2 つ以外の ELOVL は、基質特異性が重複していることから、単独の ELOVL 変異、欠損による機能異常は、皮膚で観察されていない。

非水酸化脂肪酸に加えて、皮膚は、 α または ω 位置が水酸化された脂肪酸を合成する。特に、 ω -ヒドロキシ脂肪酸は、分化した表皮のケラチノサイトで産生され、他の組織の細胞で合成されていない。チトクローム P450 (CYP) の 4 型の CYP4F22 が、極長鎖脂肪酸 CoA を基質として極長鎖脂肪酸の ω 位を水酸化す

る¹⁴⁾。生成された極長鎖 ω 水酸化基脂肪酸の殆どは、 ω ヒドロキシアシルセラミドと、そのグルコース配糖体、 ω ヒドロキシアシルグルコシルセラミドの合成に使われる。

4・3 セラミド合成

顆粒層で、セラミド産生が高まる。量的だけでなく、12分子種からなる他の組織に類を見ない多様な分子種のセラミドが産生されることが、分化の後期の表皮ケラチノサイトの特徴である。セラミドは、*De novo*とSalvage経路により産生される。

4・3・1 *De novo* セラミド合成

De novo セラミド合成は、セリンパルミトイル CoA 転移酵素による L-セリンとパルミトイル CoA の縮合で始まり、この過程がセラミド合成の律速段階となる。この縮合反応で生成した 3-ケトスフィンガニン¹⁵⁾は、3-ケトスフィンガニン還元酵素でスフィンガニン（ジヒドロスフィンゴシン）となり、次いで、セラミド合成酵素でアミノ基に脂肪酸が結合し、ジヒドロセラミドとなる。哺乳動物において、脂肪酸鎖長に基質特異性がある6種のアイソザイムのセラミド合成酵素が見出され、表皮はすべてのアイソザイムを含んでいる。殆どのジヒドロセラミドは、飽和化酵素（desaturase [DES]）1あるいは2で、各々、スフィンゴシンとフィトスフィンゴシン（4-ヒドロキシスフィンガニン）となる。また、表皮には、6-ヒドロキシスフィンゴシン型のセラミドが含まれているが、6-ヒドロキシ化の酵素は明らかにされていない。

ω -ヒドロキシセラミドは、 ω 水酸化基極長鎖脂肪酸とスフィンゴシン塩基を基質として、セラミド合成酵素3により合成される。 ω -ヒドロキシアシルセラミドを生成する。次いで、 ω 位水酸基が脂肪酸（正常な皮膚では殆どがリノール酸）でアシル化され、 ω -O-アシルセラミドが生成される。アシル化に利用される脂肪酸は、トリグリセリドから、CGI-58というタンパク質により活性化されたトリグリセリドリパーゼにより加水分解され生成する^{15, 16)}。トリグリセリドから生成したリノール酸は、Patatin like phospholipase domain containing 1により、 ω -O-ヒドロキシセラミドの ω 位水酸基にエステル結合化され¹⁷⁻¹⁹⁾、 ω -O-アシルセラミドの構成成分となる。

小胞体で合成されたセラミドの殆どは、スフィンゴミエリン合成酵素とグルコシルセラミド合成酵素により、各々、スフィンゴミエリンとグルコシルセラミドとなり、細胞膜と細胞内小器官の膜形成に利用される。一部のスフィンゴミエリンとグルコシルセラミドは、分化後期のケラチノサイトに含まれる層板顆粒（ラメラ顆粒、ラメラボディ）に輸送される。グルコシルセラミドは

ABCA12（a sub family of ATP-binding cassette transporter）により輸送されると考えられている²⁰⁾。層板顆粒には、これらスフィンゴ脂質以外に、コレステロール、グリセリン脂質やタンパク質あるいは脂質加水分解酵素も含まれる。これらの成分はバリア形成や角層細胞の剥離に関与する。層板顆粒の内容物が、細胞内で分解されたり、あるいは、内容成分が細胞内に放出されたりはしないと考えられる。したがって、層板顆粒は角層に必要な成分を格納し、角層に届けることを役割とした細胞内小器官と言えよう。層板顆粒は、顆粒層から角層に移行する際、角層側の細胞膜に融合し、内容物を角層の細胞間に放出する。層板顆粒は、透過型電子顕微鏡観察で卵形の構造物として観察される²¹⁾。一方、クライオ走査型電子顕微鏡により、層板顆粒は細胞質から、細胞膜につながる環状細網構造物として観察されている²²⁾。三次元電子顕微鏡観察により、環状細網構造物が確認されている²³⁾。層板顆粒は表皮以外に肺胞に分布し、肺サーファクタントを貯留している。肺サーファクタントはホスファチジルコリン（80-90%）とホスファチジルグリセロール（5-10%）を含有し、表皮の層板顆粒と内容物は違っている²⁴⁾。

4・3・2 Salvage（スフィンゴシン塩基リサイクル）経路によるセラミドの合成

層板顆粒以外に分布するグルコシルセラミドとスフィンゴミエリンは、細胞内で β -グルコセレブロシダーゼとスフィンゴミエリナーゼにより、セラミドに代謝される。一部のセラミドは、セラミダーゼにより、脂肪酸とスフィンゴシン塩基に加水分解され、再度、セラミド合成酵素によりセラミドとなる。以下に解説するように5つのセラミダーゼのアイソザイムが哺乳動物で明らかにされ、ケラチノサイトはすべてのアイソザイムを含む。各々のアイソザイムは、異なった至適 pH を持つ。酸性セラミダーゼ、中性セラミダーゼ、アルカリ性セラミダーゼ1、アルカリ性セラミダーゼ2、フィトスフィンゴシン型のセラミドを分解するアルカリ性セラミダーゼ3である。アルカリ性セラミダーゼ1は表皮に特異的に発現する。酸性セラミダーゼとアルカリ性セラミダーゼ1は、ケラチノサイトの分化により発現が高まる^{25, 26)}。一方、アルカリ性セラミダーゼ3は分化により低下し、中性セラミダーゼ、アルカリ性セラミダーゼ1とアルカリ性セラミダーゼ2は分化で変動しない^{25, 26)}。

グルコシルセラミドとスフィンゴミエリンから生成したセラミドがセラミダーゼにより分解され産生したスフィンゴシン塩基と多様な分子種の脂肪酸を原料として、当初の*De novo*合成で生成されなかった分子種の合成も可能となる²⁷⁾。著者はこの経路を“セラミド分子

Fig. 2 多様な分子から構成されるバリアセラミド

シグナーゼ (12R-LOX), または, リポキシゲナーゼ3により過酸化体となる³⁰⁾。2) この酸化体が酵素的に角化不溶性膜に結合する。トランスグルタミナーゼIが, ω-ヒドロキシセラミドの角化不溶性膜への結合に関与する酵素であると報告されている³¹⁾。しかし, トランスグルタミナーゼI遺伝子の変異し, 酵素活性が痕跡程度のラメラ魚鱗癬の患者角層においてもCLEは形成されている³²⁾。したがって, トランスグルタミナーゼI以外の酵素も結合型セラミドの形成に関与していると考えられる。次いで, 3) β-グルコシセラブレロシダーゼにより, 糖鎖が切断され, 角化不溶性膜-O-セラミドとなる。一部の角化不溶性膜-O-セラミドは, さらにセラミダーゼにより, セラミド部分が加水分解され, 角化不溶性膜-O-極長鎖脂肪酸となる。

角層に含まれる計12種のセラミドのすべての分子種は, グルコシルセラミドから産生され, 2種がスフィンゴミエリン (NS, AS) から産生される (Fig. 1)^{21, 22)}。

5 表皮透過バリアの構造物

コレステロール, 遊離脂肪酸とセラミドが主要脂質となり, 角層の細胞間でラメラ (多層) 膜構造物を形成する。これら脂質のモル比率は1:1:1である。セラミドの分子量がコレステロールあるいは脂肪酸に比べて大き

いため, セラミドの重量比は全体の50%を占めている³³⁾。これら主要脂質でラメラ膜構造物は形成されるが, それ以外にもスフィンゴシン塩基がラメラ構造物の形成に関与していると考えられる²⁹⁾。また, 未解明の脂質や疎水性のペプチドも膜構造物成分として含まれている可能性がある。

電子顕微鏡観察で角層の微細構造を可視化することが出来る。還元オスミウム染色とルテニウム染色切片の透過型電子顕微鏡下で層板顆粒, 同顆粒の細胞膜への融合と, 角層細胞間への放出と角層ラメラ構造帯を含めた表皮の構造を観察することが出来る³⁴⁾。また, 走査電子顕微鏡で皮膚を含め構造物の表面形状の観察ができる³⁵⁾。角層のテープ剥離を組み合わせた走査電子顕微鏡観察により, 違った深度の角層の表面形状が把握される³⁵⁾。さらに, 未固定で含水状態の皮膚に急速凍結切断法 (クライオ-走査電子顕微鏡) を用いると, 皮膚の横断面の観察が可能となる³⁵⁾。走査電子顕微鏡の場合, ラメラ構造の観察は出来ないものの, 未固定, 未脱水試料を用いるため, 水の局在を含め, より生体に近い状態の微細構造の観察が可能である。

X線回析法, 中性子線回析法, フーリエ変換赤外線解析 (FT-IR) および示差熱解析により, さらに, 詳細な角層のラメラ構造の性状が明らかとなってきた。二次

元的 X 線回析で、ラメラ構造は長周期 (13 nm) と短周期 (6 nm) の二つの層から形成されていることが明らかとなっている³⁶⁾。長周期と短周期以外に、乱れたラメラ構造物の存在が指摘されている³⁷⁾。また、三次元的な X 線解析でラメラ構造物の充填構造が検討され、六方晶 (hexagonal) と斜方晶 (orthorhombic) 状態があることが明らかにされた³⁸⁾。六方晶に比べて、斜方晶は充填密度がより高く、物質透過度が低下する。X 線ビーム速度を低下させた low flux electron X 線回析法から、充填間隔の異なる二種の斜方晶が存在することも解明されている³⁹⁾。さらに、湿度に呼応して、ラメラ構造物が膨潤することから、ラメラ構造物内に水が含まれると考えられている⁴⁰⁾。

6 脂質が原因となり、表皮透過バリア機能に異常がでる皮膚疾患

アトピー性皮膚炎、乾癬や魚鱗癬において、表皮透過バリア機能が低下していることから、それら表皮や角層の脂質組成分析がなされてきた。遺伝性の常染色体劣性先天性魚鱗癬に見られるように特定の脂質分子の合成酵素の遺伝子変異によらない、アトピー性皮膚炎、乾癬、あるいは加齢における、脂質の組成変化の原因は明らかになっていない。また、常染色体劣性先天性魚鱗癬を含めて、特定の脂質合成の欠損が起きた場合、代償的に他の脂質成分の合成も変わる。したがって、形態や機器分析から得られた角層構造の変化の原因を調べるためには、単一の脂質分子種だけでなく角層成分を総合的に検証する必要がある。

媒体を通じて“アトピー性皮膚炎においてセラミドは減少する”との必ずしも正確とはいえない情報が伝わっている。アトピー性皮膚炎は、多様な病因により生じる。一部のアトピー性皮膚炎患者の皮膚において、セラミド／コレステロールの比率が低下^{41, 42)}、セラミド分子種のうち、EOS, NP, NH の低下と NS, AS, AH, AP, ADS の増加が起きている^{41, 43, 44)}。この変化は皮膚炎を発症していない角層で起きているが、皮膚炎を発症した皮膚部位では顕著となる。さらに、短鎖遊離脂肪酸 (18 以下) と短鎖セラミド (42 以下 [酸アミド結合型脂肪酸とスフィンゴシン塩基の合計]) が増加し、逆に、それらより長鎖の遊離脂肪酸とセラミドが減少する。また、モノ不飽和遊離脂肪酸の増加も明らかにされている⁴³⁻⁴⁶⁾。スフィンゴミエリンの酸アミド結合型脂肪酸を解離するスフィンゴミエリンデアシラーゼ活性が、アトピー性皮膚炎患者表皮で高まることが報告されている^{47, 48)}。スフィンゴミエリンデアシラーゼはグルコシルセラミドの酸アミド結合型脂肪酸も解離するとされている⁴⁷⁾。し

かし、グルコシルセラミド合成酵素欠損マウスにおいてスフィンゴミエリンからの EOS 産生は確認されているものの、通常はスフィンゴミエリンから EOS は産生されない⁴⁹⁾。精製された酵素で、その基質特異性の解明が必要である。したがって、現時点で、同酵素での特定のセラミド分子種組成の変化は説明されない。セラミドの産生減少については、アトピー性皮膚炎で起さる Th2 型の炎症性サイトカインによることが報告されている^{50, 51)}。

7 脂質メディエーター

プロスタノイド、ロイコトリエン、レゾルビン、リゾリン脂質、カンナビノイドなどの脂質は、細胞や組織の機能を調節、影響を与える脂質生物 (生理) 活性を示し、脂質メディエーターと呼称されている。脂質メディエーターは、定常状態で存在していたとしても、少量である。刺激 (酸化ストレス、感染、サイトカイン、キモカイン、ホルモン他) に反応して、細胞の特定の場所 (細胞膜など) で定常状態に比べ、少量ではあるが有意に増加することで生理活性を示す。脂質メディエーターは、3 つに分類されている (Table 1)。

クラス 1 にはプロスタノイド、ロイコトリエンが、クラス 2 にはリゾリン脂質 血小板活性化因子 [PAF]、リゾホスファチジン酸、スフィンゴシン-1-リン酸、が、クラス 3 にはオメガ-3 高度不飽和脂肪酸由来の抗炎症脂質 [レゾルビン] があげられる。脂質メディエーターが、どのような細胞内情報伝達系を経て、特定の生理活性を示すかという事、並びに、生理活性を示す濃度閾値が、細胞、刺激、脂質の種類などにより異なっている。

3 つのクラスの脂質メディエーター以外の脂質も、情報伝達物質として、細胞の機能に影響をあたえる脂質があり、セラミドもその 1 つである。酸化ストレスを受けた細胞において、セラミドの産生が高まる。細胞内で増加したセラミドは、細胞の増殖を抑制する。セラミド量の増加が大きい場合、細胞死が誘導される。著者らは、細胞死を誘導しない程度の紫外線照射、紫外線以外の酸化ストレス (過酸化物質、酸素ラジカル)、あるいは表皮透過バリア機能の低下により、小胞体ストレスが誘導され、その結果、カテリシジン抗菌ペプチドの産生が高まることを見出した。その機構を検討した結果、これらストレスでセラミドの生成が高まり、その代謝産物のスフィンゴシン-1-リン酸増加が脂質メディエーターとして、カテリシジン抗菌ペプチドの転写を高めることを明らかにした⁵²⁻⁵⁴⁾。興味深いことに、同様な経路で産生の高まったセラミドの代謝産物のセラミド-1-リン酸が、全く違った作用機構で、 β -ディフェンシン 2 と β -ディフェンシン 3 が高まることを明らかにした⁵⁵⁾。これら

Table 1 脂質メディエーター

脂質メディエーター	生理活性	皮膚疾患
PGE2	↑細胞増殖, ↑細胞分化 ↑細胞遊走性 ↑メラニン産生 T細胞活性化	接触過敏症 ⁵⁶⁾ , 乾癬 ⁵⁶⁾ , 創傷治癒 ⁵⁷⁾ , メラノーマ以外の皮膚癌 ⁵⁸⁾
15d-PGJ2	↑皮脂合成 ⁵⁹⁾ , 抗炎症 ⁶⁰⁾	ニキビ?, 脂漏症?
エンドカンナビノイド	↓細胞増殖, ↓皮脂合成, 抗炎症 ⁶¹⁾	
スフィンゴシン-1-リン酸	抗炎症 ⁶²⁾ , ↑カテリシジン 抗菌ペプチド産生 ⁵²⁾	アトピー性皮膚炎: ↓スフィンゴシン -1-リン酸濃度 ⁶³⁾
セラミド-1-リン酸	↑ヒト抗菌ペプチドβ-デ フィンシン 2&3 産生	
GM3, GD3, 9-O-acetyl GD3 and GD1b	ケラチノサイト↓増殖 ⁶⁴⁾ , ↑分化 ⁶⁵⁾	

の抗菌ペプチドは、顆粒層以下のケラチノサイトで産生されるが、角層（おそらく細胞間）に移行し、角層の抗菌バリアを形成する。このようにセラミドは、表皮透過バリアの形成に加えて、代謝産物のスフィンゴシン-1-リン酸とセラミド-1-リン酸を通じて、抗菌バリアの形成にも寄与している。

8 おわりに

1970年以降に陸棲哺乳動物の表皮脂質の解析が着手された。角層の脂質が表皮透過バリアの重要な成分であること、また、角層のセラミドの特異性（量と分子種多様性）が明らかになった。さらに、1990年以降に表皮透過バリアが低下しているアトピー性皮膚炎の皮膚でセラミドの分子種組成や総量が低下することが明らかになったこともあり、皮膚の乾燥対策用スキンケア製品にセラミドが配合されるに至った。また、機能性食品素材として、セラミドやスフィンゴ脂質の利用も始まっている。さらに、著者らが明らかにしたように、セラミドの代謝産物は抗菌ペプチド産生を調節するメディエーターとしての役割をも持つ。本総説の前半でまとめたように、皮膚のバリアは、全身の組織・器官の健全性維持にもつながることから、今後、益々、セラミドを含めて脂質成分は、スキンケアを目的として、利用されていくものと考えられる。

文 献

- Samuels L, Kunst L, Jetter R. Sealing plant surfaces: cuticular wax formation by epidermal cells. *Annu. Rev. Plant Biol.* **59**, 683-707 (2008).
- Rice RH, Green H. The cornified envelope of terminally differentiated human epidermal keratinocytes consists of cross-linked protein. *Cell* **11**, 417-422 (1977).
- Oesch F, Fabian E, Oesch-Bartlomowicz B *et al.* Drug-metabolizing enzymes in the skin of man, rat, and pig. *Drug Metab. Rev.* **39**, 659-698 (2007).
- Hall K, Lee TH, Mechler AI *et al.* Real-time measurement of membrane conformational states induced by antimicrobial peptides: balance between recovery and lysis. *Sci. Rep.* **4**, 5479 (2014).
- Brogden KA. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? *Nat. Rev. Microbiol.* **3**, 238-250 (2005).
- Scharschmidt TC, Vasquez KS, Truong HA *et al.* A wave of regulatory T cells into neonatal skin mediates tolerance to commensal microbes. *Immunity* **43**, 1011-1021 (2015).
- Feingold KR, Man MQ, Menon GK *et al.* Cholesterol synthesis is required for cutaneous barrier function in mice. *J. Clin. Invest.* **86**, 1738-1745 (1990).
- Jakobsson A, Westerberg R, Jacobsson A. Fatty acid elongases in mammals: their regulation and roles in metabolism. *Prog. Lipid Res.* **45**, 237-249 (2006).
- Ohno Y, Suto S, Yamanaka M *et al.* ELOVL1 production of C24 acyl-CoAs is linked to C24 sphingolipid synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **107**, 18439-18444 (2010).
- Guillou H, Zadavec D, Martin PG *et al.* The key roles of elongases and desaturases in mammalian fatty acid metabolism: Insights from transgenic mice. *Prog. Lipid Res.* **49**, 186-199 (2010).
- Uchida Y. The role of fatty acid elongation in epidermal structure and function. *Dermatoendocrinol.* **3**, 65-69 (2011).
- Vasireddy V, Uchida Y, Salem N, Jr. *et al.* Loss of functional ELOVL4 depletes very long-chain fatty acids (>=C28) and the unique[omega]-O-acylceramides in skin leading to neonatal death. *Hum. Mol. Genet.* **16**, 471-482 (2007).
- Vasireddy V, Wong P, Ayyagari R. Genetics and molecular pathology of Stargardt-like macular degeneration. *Prog. Retin. Eye Res.* **29**, 191-207 (2010).
- Ohno Y, Nakamichi S, Ohkuni A *et al.* Essential role of

- the cytochrome P450 CYP4F22 in the production of acylceramide, the key lipid for skin permeability barrier formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **112**, 7707-7712 (2015).
- 15) Uchida Y, Cho Y, Moradian S *et al.* Neutral lipid storage leads to acylceramide deficiency, likely contributing to the pathogenesis of Dorfman-Chanarin syndrome. *J. Invest. Dermatol.* **130**, 2497-2499 (2010).
 - 16) Radner FP, Streith IE, Schoiswohl G *et al.* Growth retardation, impaired triacylglycerol catabolism, hepatic steatosis, and lethal skin barrier defect in mice lacking comparative gene identification-58 (CGI-58). *J. Biol. Chem.* **285**, 7300-7311 (2010).
 - 17) Grond S, Eichmann TO, Dubrac S *et al.* PNPLA1 deficiency in mice and humans leads to a defect in the synthesis of Omega-O-acylceramides. *J. Invest. Dermatol.* **137**, 394-402 (2017).
 - 18) Hirabayashi T, Anjo T, Kaneko A *et al.* PNPLA1 has a crucial role in skin barrier function by directing acylceramide biosynthesis. *Nat. Commun.* **8**, 14609 (2017).
 - 19) Ohno Y, Kamiyama N, Nakamichi S *et al.* PNPLA1 is a transacylase essential for the generation of the skin barrier lipid omega-O-acylceramide. *Nat. Commun.* **8**, 14610 (2017).
 - 20) Akiyama M, Sugiyama-Nakagiri Y, Sakai K *et al.* Mutations in lipid transporter ABCA12 in harlequin ichthyosis and functional recovery by corrective gene transfer. *J. Clin. Invest.* **115**, 1777-1784 (2005).
 - 21) Elias PM. Lipid abnormalities and lipid-based repair strategies in atopic dermatitis. *Biochim. Biophys. Acta* **1841**, 323-330 (2014).
 - 22) Ishida-Yamamoto A, Simon M, Kishibe M *et al.* Epidermal lamellar granules transport different cargoes as distinct aggregates. *J. Invest. Dermatol.* **122**, 1137-1144 (2004).
 - 23) den Hollander L, Han H, de Winter M *et al.* Skin lamellar bodies are not discrete vesicles but part of a tubuloreticular network. *Acta Derm. Venereol.* **96**, 303-308 (2016).
 - 24) Schmitz G, Müller G. Structure and function of lamellar bodies, lipid-protein complexes involved in storage and secretion of cellular lipids. *J. Lipid Res.* **32**, 1539-1570 (1991).
 - 25) Houben E, Holleran WM, Yaginuma T *et al.* Differentiation-associated expression of ceramidase isoforms in cultured keratinocytes and epidermis. *J. Lipid Res.* **47**, 1063-1070 (2006).
 - 26) Lin TK, Crumrine D, Ackerman LD *et al.* Cellular changes that accompany shedding of human corneocytes. *J. Invest. Dermatol.* **132**, 2430-2439 (2012).
 - 27) Hamanaka S, Nakazawa S, Yamanaka M *et al.* Glucosylceramide accumulates preferentially in lamellar bodies in differentiated keratinocytes. *Br. J. Dermatol.* **152**, 426-434 (2005).
 - 28) Masukawa Y, Narita H, Shimizu E *et al.* Characterization of overall ceramide species in human stratum corneum. *J. Lipid Res.* **49**, 1466-1476 (2008).
 - 29) Loiseau N, Obata Y, Moradian S *et al.* Altered sphingoid base profiles predict compromised membrane structure and permeability in atopic dermatitis. *J. Dermatol. Sci.* **72**, 296-303 (2013).
 - 30) Zheng Y, Yin H, Boeglin WE *et al.* Lipoxygenases mediate the effect of essential fatty acid in skin barrier formation: a proposed role in releasing omega-hydroxyceramide for construction of the corneocyte lipid envelope. *J. Biol. Chem.* **286**, 24046-24056 (2011).
 - 31) Nemes Z, Marekov LN, Fésüs L *et al.* A novel function for transglutaminase 1: attachment of long-chain omega-hydroxyceramides to involucrin by ester bond formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 8402-8407 (1999).
 - 32) Elias PM, Schmuth M, Uchida Y *et al.* Basis for the permeability barrier abnormality in lamellar ichthyosis. *Exp. Dermatol.* **11**, 248-256 (2002).
 - 33) Man MM, Feingold KR, Thornfeldt CR *et al.* Optimization of physiological lipid mixtures for barrier repair. *J. Invest. Dermatol.* **106**, 1096-1101 (1996).
 - 34) Menon GK, Grayson S, Elias PM. Ionic calcium reservoirs in mammalian epidermis: ultrastructural localization by ion-capture cytochemistry. *J. Invest. Dermatol.* **84**, 508-512 (1985).
 - 35) Fatouros DG, Groenink HW, de Graaff AM *et al.* Visualization studies of human skin in vitro/in vivo under the influence of an electrical field. *Eur. J. Pharm. Sci.* **29**, 160-170 (2006).
 - 36) Charalambopoulou GC, Steriotis TA, Mitropoulos AC *et al.* Investigation of water sorption on porcine stratum corneum by very small angle neutron scattering. *J. Invest. Dermatol.* **110**, 988-990 (1998).
 - 37) Hatta I. Skin bioscience structure and function of stratum corneum. *J. Adhesion Soc. Jpn.* **52**, 145-151 (2016).
 - 38) Bouwstra JA, Honeywell-Nguyen PL, Gooris GS *et al.* Structure of the skin barrier and its modulation by vesicular formulations. *Prog. Lipid Res.* **42**, 1-36, (2003).
 - 39) Nakazawa H, Imai T, Hatta I *et al.* Low-flux electron diffraction study for the intercellular lipid organization on a human corneocyte. *Biochim. Biophys. Acta* **1828**, 1424-1431 (2013).
 - 40) Nakazawa H, Ohta N, Hatta I. A possible regulation mechanism of water content in human stratum corneum via intercellular lipid matrix. *Chem. Phys. Lipids* **165**, 238-243 (2012).
 - 41) Di Nardo A, Wertz P, Giannetti A *et al.* Ceramide and cholesterol composition of the skin of patients with atopic dermatitis. *Acta Derm. Venereol.* **78**, 27-30 (1998).
 - 42) Angelova-Fischer I, Mannheimer AC, Hinder A *et al.* Distinct barrier integrity phenotypes in filaggrin-related atopic eczema following sequential tape stripping and lipid profiling. *Exp. Dermatol.* **20**, 351-356 (2011).
 - 43) Imokawa G, Abe A, Jin K *et al.* Decreased level of ceramides in stratum corneum of atopic dermatitis: an

- etiologic factor in atopic dry skin? *J. Invest. Dermatol.* **96**, 523-526 (1991).
- 44) Bleck O, Abeck D, Ring J *et al.* Two ceramide subfractions detectable in Cer (AS) position by HPTLC in skin surface lipids of non-lesional skin of atopic eczema. *J. Invest. Dermatol.* **113**, 894-900 (1999).
 - 45) Janssens M, van Smeden J, Gooris GS *et al.* Increase in short-chain ceramides correlates with an altered lipid organization and decreased barrier function in atopic eczema patients. *J. Lipid Res.* **53**, 2755-2766 (2012).
 - 46) Thakoersing VS, van Smeden J, Mulder AA *et al.* Increased presence of monounsaturated fatty acids in the stratum corneum of human skin equivalents. *J. Invest. Dermatol.* **133**, 59-67 (2013).
 - 47) Higuchi K, Hara J, Okamoto R *et al.* The skin of atopic dermatitis patients contains a novel enzyme, glucosylceramide sphingomyelin deacylase, which cleaves the N-acyl linkage of sphingomyelin and glucosylceramide. *Biochem. J.* **350 Pt 3**, 747-756 (2000).
 - 48) Hara J, Higuchi K, Okamoto R *et al.* High-expression of sphingomyelin deacylase is an important determinant of ceramide deficiency leading to barrier disruption in atopic dermatitis. *J. Invest. Dermatol.* **115**, 406-413 (2000).
 - 49) Amen N, Mathow D, Rabionet M *et al.* Differentiation of epidermal keratinocytes is dependent on glucosylceramide: ceramide processing. *Hum. Mol. Genet.* **22**, 4164-4179 (2013).
 - 50) Sawada E, Yoshida N, Sugiura A *et al.* Th1 cytokines accentuate but Th2 cytokines attenuate ceramide production in the stratum corneum of human epidermal equivalents: an implication for the disrupted barrier mechanism in atopic dermatitis. *J. Dermatol. Sci.* **68**, 25-35 (2012).
 - 51) Hatano Y, Terashi H, Arakawa S *et al.* Interleukin-4 suppresses the enhancement of ceramide synthesis and cutaneous permeability barrier functions induced by tumor necrosis factor- α and interferon- γ in human epidermis. *J. Invest. Dermatol.* **124**, 786-792 (2005).
 - 52) Park K, Elias PM, Shin KO *et al.* A novel role of a lipid species, sphingosine-1-phosphate, in epithelial innate immunity. *Mol. Cell Biol.* **33**, 752-762 (2013).
 - 53) Park K, Ikushiro H, Seo HS *et al.* ER stress stimulates production of the key antimicrobial peptide, cathelicidin, by forming a previously unidentified intracellular S1P signaling complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **113**, E1334-1342 (2016).
 - 54) Park K, Elias PM, Oda Y *et al.* Regulation of Cathelicidin Antimicrobial Peptide Expression by an Endoplasmic Reticulum (ER) Stress Signaling, Vitamin D Receptor-independent Pathway. *J. Biol. Chem.* **286**, 34121-34130 (2011).
 - 55) Kim YI, Park K, Kim JY *et al.* An endoplasmic reticulum stress-initiated sphingolipid metabolite, ceramide-1-phosphate, regulates epithelial innate immunity by stimulating beta-defensin production. *Mol. Cell Biol.* **34**, 4368-4378 (2014).
 - 56) Kawahara K, Hohjoh H, Inazumi T *et al.* Prostaglandin E2-induced inflammation: Relevance of prostaglandin E receptors. *Biochim. Biophys. Acta* **1851**, 414-421 (2015).
 - 57) Su WH, Cheng MH, Lee WL *et al.* Nonsteroidal anti-inflammatory drugs for wounds: pain relief or excessive scar formation? *Mediators Inflamm.* **2010**, 413238 (2010).
 - 58) Rundhaug JE, Simper MS, Surh I *et al.* The role of the EP receptors for prostaglandin E2 in skin and skin cancer. *Cancer Metastasis Rev.* **30**, 465-480 (2011).
 - 59) Iwata C, Akimoto N, Sato T *et al.* Augmentation of lipogenesis by 15-deoxy-Delta12,14-prostaglandin J2 in hamster sebaceous glands: identification of cytochrome P-450-mediated 15-deoxy-Delta12,14-prostaglandin J2 production. *J. Invest. Dermatol.* **125**, 865-872 (2005).
 - 60) Garcia-Bueno B, Madrigal JL, Lizasoain I *et al.* The anti-inflammatory prostaglandin 15d-PGJ2 decreases oxidative/nitrosative mediators in brain after acute stress in rats. *Psychopharmacology (Berl)* **180**, 513-522 (2005).
 - 61) Biro T, Toth BI, Hasko G *et al.* The endocannabinoid system of the skin in health and disease: novel perspectives and therapeutic opportunities. *Trends Pharmacol. Sci.* **30**, 411-420 (2009).
 - 62) Reines I, Kietzmann M, Mischke R *et al.* Topical application of sphingosine-1-phosphate and FTY720 attenuate allergic contact dermatitis reaction through inhibition of dendritic cell migration. *J. Invest. Dermatol.* **129**, 1954-1962 (2009).
 - 63) Baumer W, Rossbach K, Mischke R *et al.* Decreased concentration and enhanced metabolism of sphingosine-1-phosphate in lesional skin of dogs with atopic dermatitis: disturbed sphingosine-1-phosphate homeostasis in atopic dermatitis. *J. Invest. Dermatol.* **131**, 266-268 (2011).
 - 64) Paller AS, Arnsmeier SL, Alvarez-Franco M *et al.* Ganglioside GM3 inhibits the proliferation of cultured keratinocytes. *J. Invest. Dermatol.* **100**, 841-845 (1993).
 - 65) Paller AS, Arnsmeier SL, Fisher GJ *et al.* Ganglioside GT1b induces keratinocyte differentiation without activating protein kinase C. *Exp. Cell Res.* **217**, 118-124 (1995).