

皮膚バリアを調節する新しい脂質メカニズム

山本 圭

はじめに

生命体の最小単位である細胞は両親媒性の脂質分子を活用して脂質二重膜を作り、外界との壁を構築している。カビ、細菌から高等動物に至るまで脂質二重膜は存在し、壁に囲まれた空間の中で、生命体の維持と複製が営まれている。栄養学的に脂質は炭水化物と比較して同じ重量当たり2倍以上のエネルギーを有している。脂質は疎水性のため細胞内でも水を弾き、相互に疎水結合し体積を小さくする性質をもつことから、エネルギーの貯蔵庫としては理想的である。さらに、細胞機能を制御するために脂溶性分子は細胞の内外でシグナル分子として重要な役割を果たしている。このような脂質の「生体膜成分」「効率の良いエネルギー貯蔵庫」「シグナル伝達」としての機能は、脂質の三大機能と提唱されてきたが、最近、脂質の第四の機能として「バリア機能」が提唱されている。古くからバリア機能は、皮膚バリア機能にセラミドが寄与すること、肺胞内のサーファクタント脂質が肺胞の虚脱と病原体や異物の侵入を防ぐこと、中枢神経系に存在する糖脂質やプラズマローゲンが神経伝達における絶縁効果の機能をもつこと、が示されている。近年、各々の脂質分子には細胞局所において固有のバリア機能を持つことが明らかとなり、バリア機能は脂質の第四番目の機能として、その地位を築きつつある。本稿では皮膚バリアに焦点をあて、最近の知見を紹介する。

皮膚バリア

体表を覆う皮膚は生体と外界を隔てる組織であり、物理的なバリア機能として水分の損失を防ぎ有害な環境物質や微生物の侵入を防ぐためだけでなく、感染に対する免疫防御機能の場でもある^{1,2)}(図1)。皮膚の最外層に位置する表皮は主に分化段階の異なる表皮角化細胞(ケラチノサイト)によって構成されており、内側から基底層、有棘層、顆粒層、角質層の4層からなる。表皮の内側にある真皮は真皮線維芽細胞から産生されるコラーゲンなどの細胞外基質によって構成されている。さらに真皮線維芽細胞は、ケラチノサイトとの間で成長因子やサイトカインを介して相互作用し、皮膚の恒常性維持に寄与している。体毛や爪はケラチノサイトが特殊な様式の

分化をすることにより形成される皮膚付属器官である。また、表皮の樹状細胞やマクロファージは表皮の免疫学的バリアにおいて鍵となる細胞である。

皮膚の恒常性を考えるうえで脂質は非常に重要な生体成分である。角質層の細胞間隙には、主にセラミド、コレステロール、遊離脂肪酸からなる脂質の多層構造体(脂質ラメラ)が存在し、この多層構造体が皮膚バリアにおいてもっとも重要な役割を果たしている。通常皮膚は角質層の脂肪酸量により弱酸性に保たれ、細菌増殖が抑制されている。さらに、中性の至適pHを持つ多くの表皮プロテアーゼは、弱酸性条件下の健全な皮膚では活性が抑制され、皮膚バリアの破壊が阻止されている。必須脂肪酸の栄養不足は表皮および毛包の異常を引き起こし、高度不飽和脂肪酸(PUFA)またはリゾリン脂質に由来する脂質代謝異常は、脱毛、表皮過形成、皮膚炎、がんなどの皮膚疾患に影響を及ぼす^{3,4)}。ケラチノサイトは分化と増殖を繰り返し、このサイクルが壊れると皮膚バリアが乱れ、難治性疾患に代表される褥瘡、糖尿病性潰瘍、乾癬やアトピー性皮膚炎などの皮膚疾患につながる¹⁻⁴⁾。

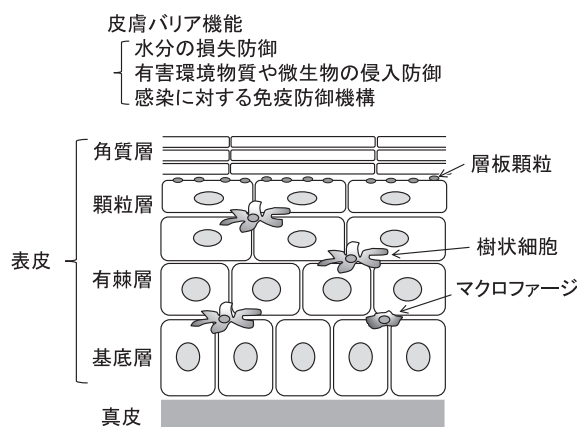


図1. 表皮の構造。体表を覆う皮膚は生体と外界を隔てる組織であり、物理的なバリア機能として水分の損失を防ぎ有害な環境物質や微生物の侵入を防ぐためのだけでなく、感染に対する免疫防御機能の場でもある。皮膚の最外層に位置する表皮は主に分化段階の異なる表皮角化細胞(ケラチノサイト)によって構成されており、内側から基底層、有棘層、顆粒層、角質層の4層からなる。脂質ラメラ前駆体が貯蔵された層板顆粒は有棘層上部から顆粒層にかけて産生され、顆粒層と角質層の境界面で細胞外に放出される。また表皮の樹状細胞やマクロファージは表皮の免疫学的バリアにおいて鍵となる細胞である。

アシルセラミド

表皮は、基底層から角質層までの4層構造で構成されており、脂質ラメラ前駆体が貯蔵された層板顆粒は有棘層上部から顆粒層にかけて産生され、顆粒層と角質層の境界面で細胞外へ放出される。層板顆粒のグルコシルアシルセラミドは放出後、アシルセラミドとなって脂質ラメラの構成成分となる^{5,6)}。セラミドは生体膜脂質であるスフィンゴ脂質の骨格であり、長鎖塩基と脂肪酸がアミド結合した構造をもつ。一般的な組織ではセラミドの脂肪酸鎖長は炭素数が16から24であるのに対し、角質脂質ラメラのセラミドの炭素数は最大36であり、その中でも炭素数30を超えるセラミド構成脂肪酸は ω 末端がリノール酸によるアシル化を受ける。このような特殊な構造をもつセラミドはアシルセラミドと呼ばれ、脂質ラメラの一部となる。また、アシルセラミドの一部はリノール酸部分が遊離した後に角質細胞の周辺タンパク質と共有結合し、結合型セラミドとなる。これらのセラミドが皮膚バリアを構築している^{5,6)}。角質層の中でもっとも豊富なPUFAであるリノール酸は、角質化脂質層のアシルセラミドの形成に必須であり、必須脂肪酸欠乏症では魚鱗癬症状がみられる^{7,8)}。

皮膚バリアはアシルセラミドにより構築されていることから、アシルセラミド産生経路に関わる酵素の欠損は先天性魚鱗癬の原因となる⁹⁾。先天性魚鱗癬はその症状から、尋常性魚鱗癬、X連鎖性劣性魚鱗癬、常染色体劣勢先天性魚鱗癬原因遺伝子 (autosomal recessive congenital ichthyosis: ARCI)、ケラチン症性魚鱗癬などが含まれる。このうち、ARCIの原因遺伝子にはアシルセラミドや結合型セラミドに関連するタンパク質をコードする遺伝子が多く存在する。たとえば、ARCI原因遺伝子の *CERS3*, *CYP4F22*, *PNPLA1* はそれぞれアシルセラミド産生経路のセラミド合成酵素、脂肪酸 ω 水酸化酵素、 ω 水酸化セラミドアシラーゼをコードしている。また、*ALOXB12*, *ALOX3* はそれぞれ12R-リポキシゲナーゼ (LOX) と eLOX-3 をコードする⁸⁾。これらのLOXはアシルセラミドのリノール酸部分を水酸化およびエポキシ化することでリノール酸部分の加水分解を誘発し、結合型セラミド産生に至るのだが、*ALOXB12* および *ALOX3* 遺伝子変異をもつARCI患者では結合型セラミドが損なわれている。

PNPLA (patatin-like phospholipase domain-containing) ファミリーは patatin ドメインをもつ脂質代謝酵素の一群であり、哺乳類には9種のアイソザイムが存在する。PNPLA ファミリーは Ca^{2+} 非依存性ホスホリパーゼ A_2 (iPLA₂) ファミリーに分類されるが、厳密な意味でホスホ

リパーゼ A_2 (PLA₂) 活性をもつものは PNPLA8 (iPLA₂ β) と PNPLA9 (iPLA₂ γ) のみである^{10,11)}。PNPLA2 と PNPLA3 はリン脂質ではなく、中性脂質の代謝に関わる。PNPLA2 は ATGL (adipose triacylglycerol lipase) の別名で、脂肪分解に必須のトリグリセリド (TG) リパーゼであり¹²⁾、PNPLA3 の遺伝子多型は非アルコール性脂肪肝炎疾患の重大な危険因子である¹³⁾。PNPLA4 や PNPLA5 は、PNPLA2 や PNPLA3 との構造上の類似性からも中性脂質の代謝に関わると予想されるが、正確な機能は不明である。PNPLA6 と PNPLA7 は、リゾホスファチジルコリンから脂肪酸とグリセロホスホコリンを遊離するリゾホスホリパーゼである¹⁴⁾。このように、PNPLA ファミリーはさまざまな機能を示す報告があるが、PNPLA1 は ARCI 原因遺伝子として知られていたものの、その機能、活性、基質などは不明であった。これまで ARCI を引き起こす PNPLA1 変異として二つのミスセンス変異と一つのナンセンス変異が報告されており、これらの変異タンパク質はいずれも精製タンパク質および細胞を用いた *in vitro* の系において活性が低下および消失する¹⁵⁾。一方、*Pnpl1* 欠損マウスは皮膚バリアが著しく損なわれ、角質の脂質ラメラ構造が喪失し、生後24時間以内に死亡する¹⁶⁾。この表現型は、アシルセラミドの代謝に関わる遺伝子群の遺伝子欠損マウスで共通にみられる特徴である。*Pnpl1* 欠損マウスの表皮ではアシルセラミド産生不全となっており、PNPLA1 の基質である ω 水酸化セラミドが蓄積するとともに、結合型セラミドがほぼ完全に失われる。さらに、*Pnpl1* 欠損マウスでは表皮の分化にも障害を生じており、人為的にアシルセラミドを加えるとこの分化異常が回復される。このように PNPLA1 がアシルセラミド産生と密接に関連すること、この酵素の機能不全はバリア機能に起因する重篤な病態に関連する。PNPLA1 は広義の PLA₂ ファミリーに属しているながら、リノール酸の転移を触媒すること、グリセロリン脂質ではなくスフィンゴ脂質の代謝に関わる点において異質な酵素である。

脂肪酸代謝産物

遊離のリノール酸は細胞内で伸長・不飽和化され、アラキドン酸に代謝される。また、食事からはアラキドン酸のみならずエイコサペンタエン酸 (EPA) やドコサヘキサエン酸 (DHA) が供給される。これらのPUFAは細胞膜リン脂質に取り込まれ、PLA₂ の作用により遊離され、さらにさまざまな脂質代謝酵素の作用により生理活性脂質に代謝される。アラキドン酸をプロスタグランジン (PG) 類に代謝するシクロオキシゲナーゼ-2 (COX-2)

やPGE₂受容体の過剰発現マウスは皮膚バリア異常を伴う表皮肥厚を生じる¹⁷⁾。しかしながら、PG類はケラチノサイトのみではなく免疫細胞にも影響を与えるためケラチノサイトへの直接的な作用とは必ずしもいえない。PG類の一つである12-ヒドロキシヘプタデカエン酸(12-HHT)の受容体であるBLT2は表皮角化細胞に発現し、BLT2遺伝子欠損マウスでは表皮バリアに乱れが生じ創傷治癒が遅れる¹⁸⁾。

リゾリン脂質

PLA₂反応により、リン脂質から不飽和脂肪酸と同時にリゾリン脂質が遊離される。分泌性PLA₂(sPLA₂)の一つであるsPLA₂-IIFはケラチノサイトに局在しており、本酵素の遺伝子欠損マウスの角質は機械刺激に対して脆弱で皮膚バリア機能に異常が認められ、表皮pHは弱酸性から中性に偏っている。一方、sPLA₂-IIF過剰発現マウスでは乾癬様の皮膚異常が認められる。sPLA₂-IIFはケラチノサイトの細胞間隙に分泌され、同時に分泌されるプラズマローゲンを加水分解し、リゾプラズマローゲン(P-LPE)が産生される。このP-LPEはケラチノサイトの増殖と活性化を促進し、表皮肥厚と炎症を増悪させる。乾癬はTh17応答を介する表皮肥厚性疾患である。乾癬モデルを施行したsPLA₂-IIF欠損マウスでは野生型と比較して表皮の肥厚およびケラチノサイトの活性化が抑制され、病態が有意に改善する。この実験系においてsPLA₂-IIF欠損マウスの皮膚にP-LPEを外用塗布

すると表現型がレスキューされる。一方、sPLA₂-IIF欠損ケラチノサイトにTh17サイトカインのIL-22を添加すると細胞の活性化がほぼ完全に消失するが、P-LPEの添加により細胞の活性化が回復する。したがって、sPLA₂-IIFにより産生されるP-LPEはケラチノサイトに作用して皮膚バリア機能を制御する新規脂質メディエーター分子であり、乾癬などの表皮肥厚性疾患のバイオマーカーとなる可能性を示唆している¹⁹⁾(図2)。

皮膚バリアに影響を与えるリンパ組織由来の脂質

抗原暴露により誘発される接触性皮膚炎は典型的なIV型アレルギー(遅延型過敏症)であり、細胞性免疫を主体とした獲得免疫応答(Th1応答)である¹⁾。ハプテンなどの抗原の暴露を受けたケラチノサイトはTNF α やIL-1 β などの炎症性サイトカインを産生する。その時、活性化した表皮樹状細胞(ランゲルハンス細胞)や真皮樹状細胞は抗原を取り込んで所属リンパ節へと遊走し、ナイーブT細胞に抗原情報を提示してメモリーT細胞へと分化させる(感作相)。再び抗原暴露を受けると、ケラチノサイトではケモカインが誘導され、メモリーT細胞を速やかに皮膚局所に遊走させ、このT細胞はIFN- γ などのTh1サイトカインを産生して炎症を誘導する(惹起相)。この一連の皮膚免疫応答にはPGやロイコトリエンなどの複数のアラキドン酸代謝産物の関与が知られている。また、前述のケラチノサイトに局在するsPLA₂-IIFの遺伝子欠損マウスに接触性皮膚炎を施行すると、病態が改善する¹⁹⁾。

sPLA₂の一つであるsPLA₂-IIDはリンパ組織の樹状細胞に高発現し、 ω 3脂肪酸代謝物に由来する抗炎症性脂質メディエーターを構成的に動員して獲得免疫応答にブレーキをかける²⁰⁾。このため、sPLA₂-IID欠損マウスではリンパ節炎症(急性炎症)、接触性皮膚炎(Th1応答)、乾癬(Th17応答)の各炎症病態が増悪する一方、抗腫瘍免疫が増強されるため皮膚癌が改善する^{20,21)}。おそらく、 ω 3脂肪酸代謝物動員酵素としてのsPLA₂-IIDの免疫抑制作用は病態に応じてケラチノサイトに作用し、その結果、皮膚バリア機能を調節することで体に良い方向にも悪い方向にも作用し得ることが示唆されている。

おわりに

本稿では、皮膚バリア形成における脂質の重要性について最近の知見を交えて紹介した。生命体を構築維持するためには皮膚バリアは必要不可欠であり、皮膚バリアが破綻すると異物の侵入を許し、ケラチノサイトから駆動される炎症や免疫のシグナルにより皮膚病態が惹起さ

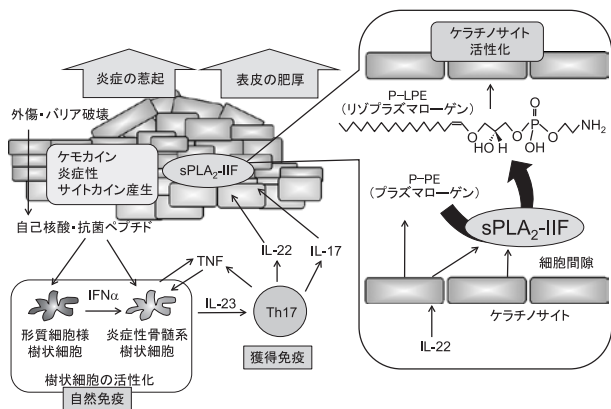


図2. sPLA₂-IIFの作用機序。乾癬はTh17応答を介する表皮肥厚性疾患である。マウスにイミキモドを繰り返し外用することにより乾癬様の皮疹を生じる。乾癬で増加するTh17サイトカイン(IL-22)により発現誘導されたsPLA₂-IIF(IIF)は、ケラチノサイトから細胞間隙に分泌されたプラズマローゲン型ホスファチジルエタノールアミン(プラズマローゲン、P-PE)をプラズマローゲン型リゾホスファチジルエタノールアミン(リゾプラズマローゲン、P-LPE)に変換する。P-LPEはケラチノサイトに作用してケラチノサイトを活性化し、表皮の肥厚および炎症を増悪させる。

れる。一方、表皮に局在する樹状細胞から産生される脂質もケラチノサイトに作用して皮膚バリアを制御する機能を有している。すなわち表皮では、ケラチノサイトだけではなく表皮に局在する複数の細胞が協調して皮膚バリア機能を制御しているといえよう。

「学際的脂質創生研究部会」では、これまで哺乳類由来の脂質代謝酵素を扱ってきた筆者にとって、思いもよらぬ基質特異性をもった微生物由来の酵素と出会うことになった。先述のように筆者は新規生理活性物質P-LPEが乾癬を惹起すると報告したが¹⁹⁾、本研究部会を通して、P-LPEを優先的に加水分解する放線菌由来リゾホスホリパーゼD²²⁾の外用塗布により乾癬が改善することを見いだした（投稿準備中）。このように、微生物の中には想像をはるかに超える有用な酵素や生理活性物質を持つものがあり、将来ヒトに役立つものが発見される可能性を秘めている。

文 献

- 1) Kabashima, K. *et al.*: *Nat. Rev. Immunol.*, **19**, 19 (2019).
- 2) Dainichi, T. *et al.*: *Nat. Immunol.*, **19**, 1286 (2019).
- 3) Radner, F. P. *et al.*: *Biochim. Biophys. Acta*, **1841**, 409 (2014).
- 4) Fluhr, J. W. *et al.*: *J. Invest. Dermatol.*, **117**, 44 (2001).
- 5) Breiden, B. and Sandhoff, K.: *Biochim. Biophys. Acta*, **1841**, 441 (2014).
- 6) Kihara, A.: *Prog. Lipid Res.*, **63**, 50 (2016).
- 7) Bouwstra, J. A. *et al.*: *J. Invest. Dermatol.*, **118**, 606 (2002).
- 8) Zheng, Y. *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **286**, 24046 (2011).
- 9) Akiyama, M.: *J. Dermatol. Sci.*, **88**, 3 (2017).
- 10) Turk, J. *et al.*: *Biochim. Biophys. Acta*, **1864**, 846 (2019).
- 11) Hara, S. *et al.*: *Biochim. Biophys. Acta*, **1864**, 861 (2019).
- 12) Schreiber, R. *et al.*: *Biochim. Biophys. Acta*, **1864**, 880 (2019).
- 13) Pingitore, P. and Romeo, S.: *Biochim. Biophys. Acta*, **1864**, 900 (2019).
- 14) Richardson, R. J. *et al.*: *Adv. Neurotoxicol.*, **4**, 1 (2020).
- 15) Ohno, Y. *et al.*: *Nat. Commun.*, **8**, 14610 (2017).
- 16) Hirabayashi, T. *et al.*: *Nat. Commun.*, **8**, 14609 (2017).
- 17) Neufang, G. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 7629 (2001).
- 18) Liu, M. *et al.*: *J. Exp. Med.*, **211**, 1063 (2014).
- 19) Yamamoto, K. *et al.*: *J. Exp. Med.*, **212**, 1901 (2015).
- 20) Miki, Y. *et al.*: *J. Exp. Med.*, **210**, 1217 (2013).
- 21) Miki, Y. *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **291**, 15588 (2016).
- 22) Matsumoto, Y. *et al.*: *FEBS Open Bio.*, **6**, 1113 (2016).