岐阜大学機関リポジトリ
Gifu University Institutional Repository

Title	Interferon-γ Decreases Ceramides with Long-Chain Fatty Acids: Possible Involvement in Atopic Dermatitis and Psoriasis(要約版 (Digest))
Author(s)	太和田, 知里
Report No.(Doctoral Degree)	博士(医学) 甲第950号
Issue Date	2014-03-19
Type	博士論文
Version	none
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/49084

※この資料の著作権は、各資料の著者・学協会・出版社等に帰属します。

学位論文要約
Extended Summary in Lieu of the Full Text of a Doctoral Thesis

甲第　950　号
氏　　　　名：　太和田　知　里
Full Name　　　Chisato Tawada

学位論文題目：　インターフェロンγはセラミドの長鎖脂肪酸を減少する：アトピー性皮膚炎、乾癬への関与の可能性

Thesis Title　Interferon-γ Decreases Ceramides with Long-Chain Fatty Acids: Possible Involvement in Atopic Dermatitis and Psoriasis

学位論文要約：
Summary of Thesis

皮膚は，体内環境と外部環境とを隔てるバリアとして働き，生体の恒常性維持するうえで欠かすことができない重要な役割を果たしている。皮膚バリア機能の低下は，経皮感作やアトピー性皮膚炎（AD）などの皮膚疾患において頻繁に認められ，これらの皮膚疾患の発症または慢性化を引き起こす要因の一つであると考えられている 。セラミド（CER）は皮膚角質層を構成する主要な成分であり，皮膚のバリア機能を発揮するために重要な働きをしている。CERはスフィンゴシンと脂肪酸によって構成され，皮膚角質層には，スフィンゴシン側鎖の化学構造や脂肪酸側鎖の長さが異なるさまざまな種類のCERが存在する。これらのCERはスフィンゴシン側鎖の化学構造の違いによりCER[NH]，CER[NS]， CER[ADS]のように表記される。近年の研究から，皮膚角化層のCER含有量やCERの化学的な構造変化が皮膚バリア機能に大きな影響を及ぼすことが示唆されている。本研究では皮膚角質層を構成するCERの化学的構造変化と各種皮膚疾患との関連性を調べることを目的とし，AD患者,乾癬患者,および健常者の皮膚から採取したCERを用いて，生化学的手法によってその脂肪酸側鎖長の比較解析を行った。その結果，両疾患ともにCERの脂肪酸側鎖について有意な短鎖化が起こっていることを明らかにした。さらに，このような短鎖化を誘導する分子機構を解析したところ，ADや乾癬の病態形成にかかわるサイトカインであるIFN-γの作用により，角化細胞において脂肪酸合成酵素の遺伝子発現が低下することが観察され，IFN-γによって脂肪酸側鎖の短鎖化が起こることが示唆された。 以上の研究成果は，ADおよび乾癬においてバリア機能の低下がおこる仕組みを理解するうえで重要な知見をもたらし，これらの病態が慢性化する理由を解明する糸口となることが期待される。

【対象と方法】
1）AD患者15名，乾癬患者15名，健常者22名の角層をテープストリッピング法で採取した後，CERを抽出した。それぞれのサンプルについてmatrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS)を用いてCERの化学構造解析を行った。
2）ヒト正常表皮細胞を培養し，各種サイトカインで刺激した。それぞれのサイトカイン刺激開始後24時間経過した細胞からTotal RNAを抽出し，定量的PCR法によりELOVL1-7 (elongase of long-chain fatty acid 1-7)とCERS1-6 (ceramide synthase 1-6)の発現量を定量した。
3）3次元培養をおこなった人工皮膚をIFN-γによって刺激した後 CERを抽出し，ion trap/time-of-flight mass spectrometry coupled with high-performance liquid chromatography (LCMS-IT-TOF)によってCER[NS]の長鎖脂肪酸鎖長を分析した。同時に，3次元培養した細胞におけるELOVL1-7，およびCERS1-6の遺伝子発現量変化を定量的PCR法によって解析した。
4）角化細胞をIFN-γ処理することによって誘導されるELOVL4とCERS3の発現減少にかかわる細胞内シグナル伝達経路を検討した。また培養ヒト正常表皮細胞をIFN-γの各種細胞内シグナル伝達分子の阻害剤またはsiRNAで処理し，IFN-γによるELOVL4とCERS3のmRNA減少にかかわる細胞内シグナル伝達経路を検討した。

【結果】
1）AD患者，乾癬患者の皮膚から採取したCERは，健常者に比して脂肪酸側鎖の短鎖化が認められた。具体的にはCER[NH]でAD患者,乾癬患者ともに短鎖化がみられ，CER[ADS]/[NP]とCER[AP]では乾癬患者のみ短鎖化がみられた。
2）培養ヒト正常表皮角化細胞に対する各種サイトカインの作用を調べたところ，IFN-γのみが，

用量依存的，および時間依存的にELOVL4,5およびCERS3,6のmRNA発現量を低下させた。
3）三次元培養皮膚において，IFN-γはCER[NS]を構成する脂肪酸のうち炭素鎖長がより長い長鎖脂肪酸（C22CER〜C26CER）の含有量を濃度依存性に減少させた。同時にIFN-γはELOVL1，6，7およびCERS3，4，6 のmRNA発現量を低下させた。
4）培養ヒト正常表皮角化細胞において，IFN-γによるELOVL4，CERS3のmRNA発現量低下はJAK阻害剤で抑制されたが，STAT-1，STAT-3，IFR-1，Erk，PI3K，JNK，p38MAPK，NFκB，Rap1，PKC，およびSHP1/2をそれぞれ阻害してもその影響は限定的であった。すなわちIFN-γによる脂肪酸側鎖の短鎖化作用はSTAT-independent経路に依存し，JAK-STAT経路を介さないことが示唆された。

【考察】
近年，皮膚免疫疾患の原因や慢性化要因として角層バリア機能低下が注目されており,そのメカニズムの1つとして角層CER量の低下および脂肪酸側鎖の短鎖化が指摘されている。本研究では質量分析解析を行い，ADおよび乾癬患者の皮疹部におけるCER脂肪酸側鎖の短鎖化が起こっていることみとめた。さらに,このような短鎖化の仕組みを解析し，IFN-γがELOVLおよびCERSの発現を低下させることでCERの脂肪酸側鎖の短鎖化を誘導する作用を持つことを見出した。以前の研究からADや乾癬の皮疹部ではIFN-γの発現が増加していることが示されており，本研究の結果から，ADおよび乾癬における皮疹部角層CERの脂肪酸側鎖の短鎖化がIFN-γの作用によっておこることが示唆された。このようなCERの構造変化は角層バリア機能低下をもたらすと考えられることから，本成果は皮膚免疫疾患の慢性化や悪性化の仕組みを理解する上で重要な知見となる。

【結論】
IFN-γは，ヒト角化細胞においてCER合成に関わる酵素の発現を抑制することでCERの脂肪酸側鎖の短鎖化を誘導する。本制御機構はADおよび乾癬患者の皮疹部角層CERの脂肪酸側鎖の短鎖化に関与している可能性が示唆された。

Journal of Investigative Dermatology 134, 712-8 (2014).