

## 皮膚保護作用を有するセラミドの生理作用発現機構に関する研究

中 畑 則 道、大久保 聡 子

東北大学大学院 薬学研究科

セラミドはスフィンゴミエリンからスフィンゴミエリナーゼによって生合成される脂質成分であり、皮膚を構成する細胞間脂質の中で最も多く存在することが知られている。皮膚は生体を構成する臓器の中で最も大きなものであり、常に変化する外界と接しており、体内の恒常性を維持するためのバリアとして機能している。このバリアの実質的な担い手がセラミドと考えられており、皮膚の表皮細胞を取り囲むようにして存在しラメラ構造という層状の構造をとることが知られている。一方、最近の脂質研究の進展により、セラミドが静的な構造物としてだけでなく、細胞内において、その機能を調節する生理活性を有する物質であることが明らかになってきた。組織全体のバランスを保持するために特定の細胞が積極的に死を迎えるメカニズムであるアポトーシスや、細胞の分化誘導などに、セラミドが関わるということが明らかにされている。したがって、皮膚に存在するセラミドも静的なバリア形成能に加えて、皮膚周辺における細胞間情報伝達を介した、ダイナミックな皮膚構造の維持に関与する可能性が考えられる。すなわち、皮膚機能を維持するためには、血管新生、その循環作用や神経機能の維持も重要な問題となる。そこで本研究では、セラミドの細胞機能に対する作用、とくに神経細胞の機能維持に焦点をあて、神経細胞の再生や機能維持を司る神経栄養因子の生合成および分泌作用について検討を加えるとともに、その生理機構発現のメカニズムの解明を目的とした。

### 【結果および考察】

細胞膜を構成するリン脂質は、その構造体であるばかりではなく、細胞情報伝達系の基質や情報伝達分子として巧みに利用されている。例えば、リン脂質の分解系として、炎症などに関与するアラキドン酸/プロスタグランジン類の生成を担うホスホリパーゼ A<sub>2</sub>、細胞内 Ca<sup>2+</sup>濃度上昇を引き起こすイノシトールリン脂質特異的ホスホリパーゼ C、さらにコリンリン脂質を分解するホスホリパーゼ D やホスホリパーゼ C の活性調節機構などリン脂質を利用する多彩な情報伝達系が知られている。すなわち、生体を形成する物質が、単一の役割を担っているのではなく、複数の機能を有しているものと考えられる。

皮膚に多量に存在するセラミドがその周辺細胞にて生合成されると、他の細胞機能に影響を与える可能性があることから、特に神経機能に影響を与える神経栄養因子の生合成に対するセラミドの作用について検討を加えた。線維芽細胞株 3T3 細胞に外来性の C<sub>2</sub>-セラミドおよび C<sub>6</sub>-セラミドを添加して培養すると、神経モデル細胞である PC-12 を分化させる因子の分泌を促した。スフィンゴミエリナーゼおよびホスファチジルコリン特異的ホスホリパーゼ C を 3T3 細胞に作用させて細胞内セラミドを増加させると、神経栄養因子の生合成・分泌が促進され、それによって PC-12 は分化した。カンナビノイド (CB) 受容体刺激はセラミドの生合成を引き起こすことが

知られているが、3T3 細胞に CB1 および CB2 受容体が発現していることを RT-PCR 法を用いて確認した。内因性 CB 受容体アゴニストである 2-アラキドニルグリセロールは 3T3 細胞に作用して神経栄養因子の合成・分泌を引き起こし、PC-12 細胞を分化させた。スフィンゴミエリナーゼやホスファチジルコリン特異的ホスホリパーゼ C は NGF および IL-6 mRNA の発現を顕著に増大し、その作用はプロテインキナーゼ C 阻害薬の GF109203X によって減弱された。一方、セラミドの細胞内情報伝達系について MAPK のリン酸化を検討したところ、p42/44 MAPK、p38 MAPK および JNK いずれのリン酸化反応も活性化し、その情報伝達の一部には MAPK カスケードの活性化が考えられる。以上の結果より、セラミドには NGF をはじめとする神経栄養因子の生合成・分泌の促進作用があることが明らかになった。このセラミドの作用は、皮膚組織などの末梢における神経機能維持に重要な役割を担っているものと推定され、セラミドは皮膚表皮角層に形成されるラメラ構造の形成とともに、皮膚の神経機能維持をも制御している可能性が示唆された。