

(51)

氏名(生年月日) ^{アリ}有 ^{カワ}川 ^{ジュン}順 ^コ子
 本 籍
 学位の種類 博士(医学)
 学位授与の番号 乙第2193号
 学位授与の日付 平成15年1月17日
 学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当(博士の学位論文提出者)
 学位論文題目 **Decreased levels of sphingosine, a natural anti-microbial agent, may be associated with vulnerability of the stratum corneum from patients with atopic dermatitis to colonization by *Staphylococcus aureus***
 (アトピー性皮膚炎患者角層の黄色ブドウ球菌のコロナイゼーションへのセラミド分解酵素セラミダーゼとその代謝生成物スフィンゴシンの役割に関する研究)
 論文審査委員 (主査) 教授 川島 眞
 (副査) 教授 内山 竹彦, 小林 慎雄

論文内容の要旨

〔目的〕

アトピー性皮膚炎(AD)患者表皮では、黄色ブドウ球菌(黄ブ菌)が健常人に比べ高率に検出されることはよく知られている。しかし細菌に対する防御機構が破綻する機序は、角質細胞間脂質セラミド減少によるバリア機能の低下も一因と考えられるが十分には明らかにされていない。セラミドから脂肪酸とともに分解され生成されるスフィンゴシン(Sph)は、*in vivo*では黄ブ菌に対し抗菌力を有することが報告され、健常人皮膚の細菌防御に何らかの役割を果たしている可能性が示唆されている。

そこでAD患者角層における黄ブ菌の菌数を半定量的に測定し、同部位での酸性セラミダーゼ(CDase)活性の変化と、その代謝生成物で天然抗菌スフィンゴ脂質であるSphの変動を解析し、AD患者角層における細菌への防御機構について検討した。

〔対象および方法〕

1. AD患者角層の黄ブ菌の定量: 健常人前腕屈側部とAD患者の前腕屈側部の皮疹部、無疹部に平板培地(栄研)を密着させ、培養しコロニー数をカウントした。

2. 菌採取を行った部位より、ニチパンのPPSテープで角層を剥離し、脂質を抽出後、¹⁴Cでラベルした無

水酢酸と化学反応させ、無水酢酸のアセチル基がSphのアミノ基に反応して、標識されたパルミトイルSphすなわちセラミドに変換させたものを薄層クロマトグラフィーで分離した。生成したパルミトイルSphの放射活性をBAS2000を用いて測定し、あらかじめ作製したスタンダードカーブよりSphの定量を行った。

3. ¹⁴Cで標識されたパルミトイルSphを基質として用い、トリトンX 0.1%とCaCl₂ 20nM含有の酢酸緩衝液(pH4.7および8.0)中で角層抽出液を酵素反応させ、遊離してくるラベルされた脂肪酸を脂質分配法で分離し、その放射活性を液体シンチレーションカウンターで測定し、CDase水解活性とした。

〔結果〕

Sph量はAD患者角層の皮疹部および無疹部において、健常人と比較して有意に減少していた。Sph量の減少は、同じ検体で行った角層上層に存在する黄ブ菌を含む細菌数の増加に伴い更に顕著な減少がみられた。また、セラミドからSphを生成する酵素であるCDase活性については、アルカリCDase活性はAD患者と健常人で有意差がなかったのに対し、酸性CDase活性はAD患者で有意に減少していた。さらに、Sph量とAD患者角層上層での酸性CDase ($r=0.65, p<0.01$)、セラミド ($r=0.70, p=0.01$)との間には

ともに正の相関がみられた。

〔考察〕

以上の結果から、AD患者の皮膚での細菌の定着しやすさが、抗菌作用をもつSph量の減少と、その基質であるセラミドの減少、および代謝酵素である酸性

CDaseの減少に起因することが示唆された。

〔結論〕

角層Sphは黄ブ菌のコロナイゼーションに対する防御機構の一要素として働いている可能性が示唆された。

論文審査の要旨

本論文では、アトピー性皮膚炎（AD）患者角層における黄色ブドウ球菌（黄ブ菌）の菌数を半定量的に測定し、同部位での酸性セラミダーゼ（CDase）活性、セラミドの代謝生成物スフィンゴシン（Sph）の変動を解析し、AD患者角層における細菌に対する防御機構破綻の機序につき検討している。

その結果、Sph量はAD患者角層において健常人と比較し減少しており、その減少は同部に存在する黄ブ菌数の増加と逆相関していた。酸性CDase活性はAD患者で有意に減少していた。Sph量と酸性CDaseおよびセラミドとの間にはともに正の相関がみられた。

以上より、AD患者皮膚での細菌のコロナイゼーションはSph量の減少と、その基質であるセラミドの減少、および代謝酵素の酸性CDaseの減少が起因することが示唆された。Sphが細菌に対する防御機構の一要素であることを解明した点で、学術的価値の高い論文と考える。

主論文公表誌

Decreased levels of sphingosine, a natural antimicrobial agent, may be associated with vulnerability of the stratum corneum from patients with atopic dermatitis to colonization by *Staphylococcus aureus* (アトピー性皮膚炎患者角層の黄色ブドウ球菌のコロナイゼーションへのセラミド分解酵素セラミダーゼとその代謝生成物スフィンゴシンの役割に関する研究)

Journal of Investigative Dermatology Vol119 No2 433-439 頁 (2002年8月発行) Arikawa J, Ishibashi M, Kawashima M, Takagi Y, Ichikawa M, Imokawa G

副論文公表誌

- 1) Tumoral calcinosis: a case report with an electron microscopic study (Tumoral calcinosis: 1例報告と電顕的検討). Eur J Dermatol 10 (1):52-54 (2000)有川順子, 水嶋淳一, 檜垣祐子, 乃木田俊

辰, 川島 眞

- 2) うつ病を合併したシクロスポリン内服療法を行った成人のアトピー性皮膚炎の1例. 日皮アレルギー会誌 7: 172-176 (1999) 有川順子, 檜垣祐子, 神田憲子, 川島 眞, 川本恭子, 加茂登志子
- 3) ヒアレイン 0.1% 点眼剤に含まれるεアミノカプロン酸による接触皮膚炎の1例. 日皮アレルギー会誌 8: 130-133 (2000) 有川順子, 水嶋淳一, 林伸和, 川島 眞
- 4) アトピー性皮膚炎患者の嗜癢的搔破行動の自覚と症状改善につながるスクラッチ日記の有用性. 臨皮 55 (7): 471-477 (2001) 有川順子, 檜垣祐子, 川島 眞
- 5) アトピー性皮膚炎患者 (AD) の眼圧の変動—顔面へのステロイド外用療法との関連—. 日皮会誌 112 (8): 1107-1110 (2002) 有川順子, 檜垣祐子, 高村悦子, 川島 眞