



Title	脂質の組成 / 代謝変化による角化症モデルの病態解析
Author(s)	若林, 雅人
Citation	北海道大学. 博士(生命科学) 甲第13181号
Issue Date	2018-03-22
DOI	10.14943/doctoral.k13181
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/77136
Type	theses (doctoral)
File Information	Masato_Wakabayashi.pdf



[Instructions for use](#)

博士学位論文

脂質の組成／代謝変化による
角化症モデルの病態解析

若林 雅人

北海道大学大学院生命科学院
生命科学専攻 生命医薬科学コース
生化学研究室

2018年3月

目次	
略語	2
序論	3
本論	4
第一章 オルムステッド症候群モデルラット皮膚における 15-リポキシゲナーゼ代謝物の減少	4
第一節 背景	4
第二節 結果	7
第三節 考察	23
実験方法	26
第二章 <i>Sms2</i> 欠損マウスにおけるイミキモド誘発乾癬様皮膚炎の軽減	31
第一節 背景	31
第二節 結果	34
第三節 考察	45
実験方法	48
総括	51
参考論文	106
謝辞	117

略語

CLE	corneocyte lipid envelope
CERS	ceramide synthase
COX	cyclooxygenase
DMEM	Dulbecco's modified Eagle medium
DSS	dextran sulfate sodium
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
EOS	esterified ω -hydroxyacyl-sphingosine
FCS	fetal calf serum
HDoHE	hydrodocosahexaenoic acid
HE	hematoxylin-eosin
HEPE	hydroxyeicosapentaenoic acid
HETE	hydroxyeicosatetraenoic acid
HFD	high fat diet
HPRT	hypoxanthine phosphoribosyltransferase
IL	interleukin
IMQ	imiquimod
LC	liquid chromatography
LOX	lipoxygenase
LPS	lipopolysaccharide
MS	mass spectrometry
ND	Normal diet
NF- κ B	nuclear factor- κ B
OS	Olmsted syndrome
PASI	psoriasis area severity index
SM	sphingomyelin
SMS	sphingomyelin synthase
TEWL	transepidermal water loss
TLR	toll-like receptor
TNF	tumor necrosis factor
TRPV3	transient receptor potential vanilloid subtype 3
WT	wild type

序論

皮膚は体表面を覆って生体の内外を隔てる組織である。皮膚の表皮における透過障壁（皮膚バリア）は体内からの水分や電解質の消失を防ぎ、体外からの微生物、有害物質、アレルゲンなどの侵入に対する防御機能をもつ。表皮は内側から基底層、有棘層、顆粒層、角質層の4層構造からなる。皮膚バリアには角質層の角質細胞内あるいは細胞間に存在する4つの構造体が重要である[1,2]。それらは角質細胞の内側から i) ケラチン/フィラグリンなどの細胞骨格タンパク質、ii) 周辺帯と呼ばれるインボルクリンやロリクリンなどのタンパク質によって裏打ちされた厚い構造体、iii) 周辺帯の周りを脂質によって覆った角質細胞脂質エンベロープ (corneocyte lipid envelope: CLE), iv) 角質細胞間に存在する脂質ラメラと呼ばれる脂質多層構造体である[1-4]。CLE は周辺帯のタンパク質と結合したセラミド（結合型セラミド）が主体であり、脂質ラメラにはセラミド、コレステロール、脂肪酸が多く含まれている[1-3]。

先天性魚鱗癬は乾燥肌、鱗屑、過角化によって特徴づけられ、しばしば紅皮症を伴う遺伝性の角化症である[5,6]。脂質ラメラにはアシルセラミドと呼ばれるセラミド分子種が存在し、皮膚バリア形成に重要な役割を果たしている。アシルセラミド合成 (*CERS3*, *CYP4F22*, *ELOVL4*, *PNPLA1*), 結合型セラミド合成 (*ALOXE3*, *ALOX12B*), 脂質輸送 (*ABCA12*, *SLC27A4*), トリアシルグリセロール代謝 (*ABHD5*) に関わる遺伝子の変異は先天性魚鱗癬や魚鱗癬様の皮膚バリア障害の原因となる[3,5,6]ことから、脂質が皮膚バリア形成において重要であることは明らかである。本研究では、魚鱗癬と同じ角化症に分類されるオルムステッド症候群 (OS ; Online Mendelian Inheritance in Man #614594 ; 第一章) と後天性角化症に分類される乾癬 (第二章) に着目し、脂質の組成/代謝変化の観点から角化症動物モデルの病態を調べることにした。

本論

第一章 オルムステッド症候群モデルラット皮膚における 15-リポキシゲナーゼ代謝物の減少

第一節 背景

OSは手掌, 足底, 口周囲の角化によって特徴づけられる重度の角化症であり, 貧毛と強い痒みを好発する[7]. OSは遺伝性の稀少疾患であり, これまでに73症例しか報告されていない[7]. OSの罹患率は100万分の1に満たないと推定されており, その患者は世界各地で認められ, 女性患者より男性患者の報告例が多い(～63%) [7]. OS症状は出生後の新生児期や幼少期から発症し, 徐々に進行して悪化するが, その臨床所見は患者によってばらつきがある. 白色ワセリンやサリチル酸製剤などを患部に局所塗布し, 皮膚軟化/溶解作用による過角化の対症療法が行われているが, 一時的な症状の軽減に留まり, OS病態に対して特異的な満足のあるいくつかの治療法ではない[7]. OS症例の大部分は孤発性であるが, 異なった遺伝様式をもつ家族性の症例も見つかっている. その遺伝様式は常染色体顕性/潜性遺伝あるいはX連鎖性潜性遺伝である[7]. 近年, 17番染色体上の *TRPV3* (transient receptor potential vanilloid subtype 3) と X染色体上の *MBTPS2* (membrane-bound transcription factor protease, site 2) が OSの原因遺伝子として同定された[8,9]. *TRPV3* は transient receptor potential 陽イオンチャネルファミリーの vanilloid サブファミリーに属する温度感受性の Ca^{2+} チャネルである[10-13]. OS患者で見つかった *TRPV3* 変異 (p.Gly573Ala, p.Gly573Cys, p.Gly573Ser, p.Gln580Pro, p.Leu673Phe, p.Trp692Gly, p.Trp692Cys) の大部分は顕性である[7]. *TRPV3* 変異タンパク質 (p.Gly573Cys, p.Gly573Ser, p.Gln580Pro, p.Trp692Gly) の発現によって細胞内 Ca^{2+} 濃度の増加が生じる[8,14]. また, OS患者において *TRPV3* の潜性変異も同定されている[7,15]. なぜOSがこのような異なった遺伝様式によって引き起こされるのかは未だ分かっていない. OS患者で見つかった *MBTPS2* の変異は潜性である[9,16]. *MBTPS2* は膜タンパク質の特定の膜貫通部位を切断するプロテアーゼであり, コレステロールの恒常性維持や小胞体ストレス応答を制御する膜タンパク質の活性調節に関わる[17]. *MBTPS2* 変異が OSを引き起こす分子機構も不明である.

TRPV3 は主に皮膚の毛包や表皮基底層のケラチノサイトで高発現しており, 脳, 脊髄, 後根神経節でも弱く発現している[11,12]. *TRPV3* は温度上昇によって活性化され, 31–39°Cに活性化閾値がある[10-12]. また, 合成リガンドであるジフェニルボリン酸 2-アミノエチルやメバロン酸経路の中間代謝物であるファルネシルニリン酸によっても活性化される[18,19]. さらにアラキドン酸や他の多価不飽和脂肪酸によっても活性が増強される[20]. 一方, 抗炎症性の脂質メディエーターである 17(*R*)-resolvin D1 によって活性が阻害される[21]. このように

TRPV3 活性は特定の脂質によって制御されており, OS 病態発症と脂質代謝の間に関連がある可能性がある.

WBN/Kob-*Ht* ラット (*Ht* ラット) や DS-*Nh* マウスは自然発生のヘアレスの表現型を示すげっ歯類の系統として選別され, 両系統ともに顕性の *Trpv3* 変異 (*Ht* ラット, p.Gly573Cys ; DS-*Nh* マウス, p.Gly573Ser) をもつ[22]. *Ht* ラット及び DS-*Nh* マウスは通常飼育条件下において痒みを伴った皮膚炎を発症し, 過角化や表皮肥厚といった OS 様の病理所見を示す[23,24]. *Trpv3* p.Gly573Ser のトランスジェニックマウスもまた, 強い痒みと毛の発育障害を伴って皮膚炎を発症する[25]. 一方, *Trpv3* 欠損マウスでは OS 様の症状は観察されず, むしろ薄い角質層, 波打ったひげ, 不規則な毛包が観察されている[26,27]. これら結果は OS 症状が特定の TRPV3 の機能亢進変異 (p.Gly573Cys, p.Gly573Ser) によって発症することを示している.

皮膚バリアは体内からの水分, 電解質の消失及び体外からの微生物, アレルゲン, 有害物質の侵入を防御する機能をもつ. 脂質ラメラと呼ばれる脂質の多層構造体は表皮の最外層である角質層に存在して皮膚バリア形成に必要である[2]. 脂質ラメラの主な成分はセラミド (約 50%), コレステロール (約 25%), 遊離脂肪酸 (約 15%) である[1,3]. セラミドは長鎖塩基と脂肪酸によって構成されるが, 表皮には長鎖塩基と脂肪酸の異なった多様なセラミドクラスが存在する[2,3] (図 1).

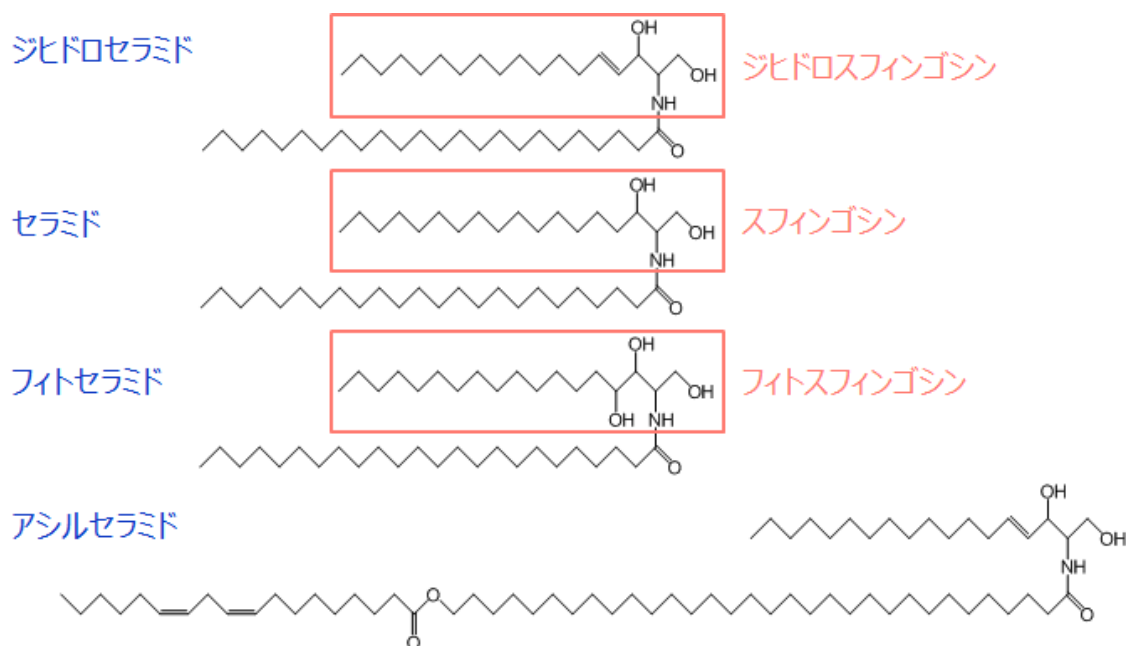


図 1 表皮におけるセラミド分子種の構造.

ジヒドロセラミド, セラミド, フィトセラミド, アシルセラミドの構造を示す.

表皮の長鎖塩基はジヒドロスフィンゴシン，スフィンゴシン，フィトスフィンゴシン，6-ヒドロキシスフィンゴシンであり，脂肪酸は非水酸化脂肪酸，2-ヒドロキシ脂肪酸，エステル化 ω -ヒドロキシ脂肪酸である．これらのうち，エステル化 ω -ヒドロキシ脂肪酸を含有するセラミドをアシルセラミドと呼ぶ．アシルセラミドは炭素数 30-36 の脂肪酸を持ち，その ω 末端はリノール酸によってエステル化されている．アシルセラミドは表皮特異的なセラミドであり，皮膚バリア形成に重要である[2]．アシルセラミド合成に関与する遺伝子（*CERS3*，*CYP4F22*，*ELOVL4*，*PNPLA1*）の遺伝子変異は重度の皮膚バリア障害，鱗屑，過角化を伴う魚鱗癬の原因となる[3,5,6,28]．

皮膚バリア形成における脂質の重要性や TRPV3 に対する脂質による活性制御を考慮すると，脂質代謝の変化が OS 病態に対して寄与している可能性がある．これまでに，OS 患者や OS モデル動物の皮膚組織におけるトランスクリプトームやプロテオミクス解析は報告されているが[14]，リポドミクス解析は実施されていない．そこで，本研究では OS 病態の発症機序を理解する上で必要な基礎的知見となる脂質代謝変化を明らかにするため，野生型（wild type: WT）と *Ht* ラットの包括的な脂質解析を行った．

第二節 結果

Ht ラットの無疹部における白血球の浸潤, 真皮の線維化, 角質層数の増加

OS モデルラット (*Ht* ラット) は *Trpv3* に p.Gly573Cys の変異をもち, 皮疹部においてアトピー性皮膚炎様の症状, *Staphylococcus aureus* 感染の増加, マスト細胞, 好酸球, T リンパ球の浸潤が示されている[22,24]. しかしながら, どのようにしてその変化が引き起こされるかは明らかにされていない. そこで, OS 病態の引き金となる分子変化を理解するため, *Ht* ラット皮膚における組織学的/生化学的な解析を行った. その結果, 過去に報告されたように *Ht* ラット皮疹部のヘマトキシリン/エオジン (hematoxylin-eosin: HE) 染色によって過角化, 錯角化, 表皮肥厚, 顆粒球や単球の浸潤が観察された (図 2) [22,24].

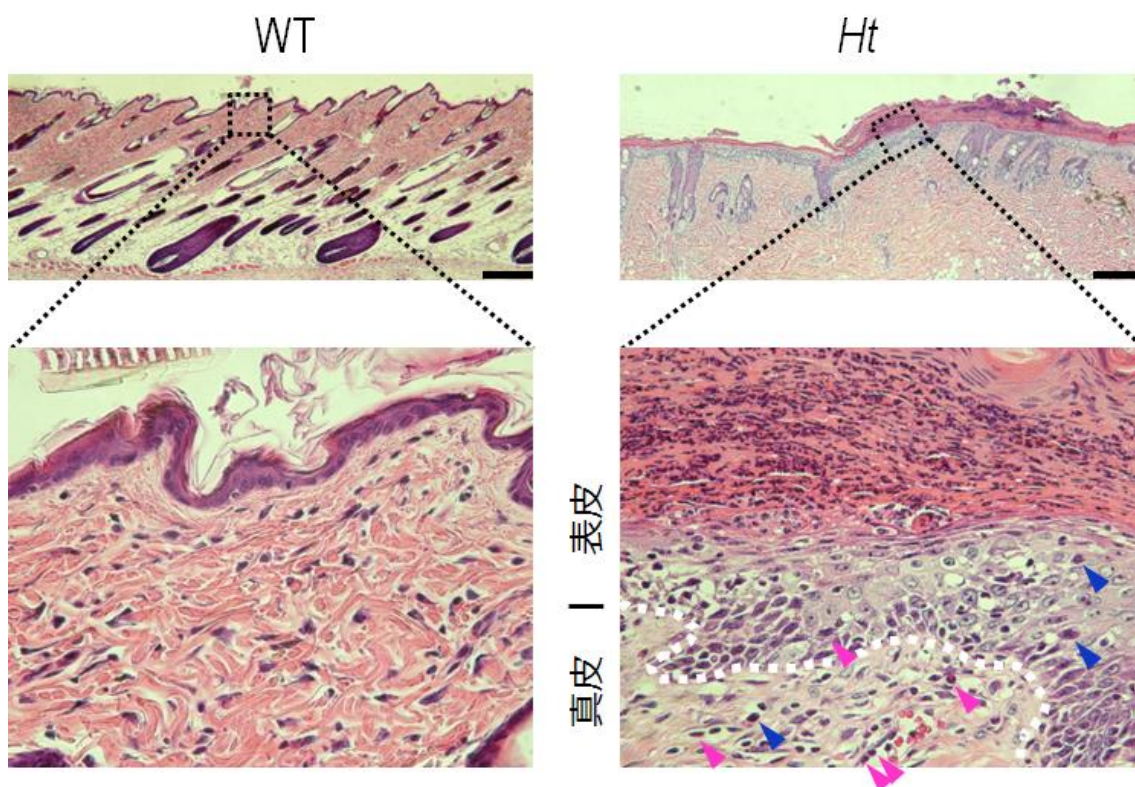


図 2 *Ht* ラット皮疹部における過角化, 錯角化, 表皮肥厚, 白血球細胞の浸潤. 25 週齢の WT ラット無疹部及び *Ht* ラット皮疹部を HE によって染色した. 青色及びピンク色の矢頭はそれぞれ単球及び顆粒球を示している. 白色の点線は表皮と真皮の境界線である. スケールバーは 200 μm .

Ht ラットの無疹部では毛幹の減少や不規則な毛包の位置のような毛に関する変化は観察されたが, 顕著な組織学的な異常は観察されなかった (図 3A). 酸性粘液多糖類を赤紫色に染めるトルイジンブルー染色ではマスト細胞が *Ht* ラット無疹部において WT ラットに比べて有意に多く観察され (WT ラット: 6.3 ±

1.9 cells/field, *Ht* ラット : 13.3 ± 0.9 cells/field), 好酸球顆粒を鮮赤色に染めるルナ染色では好酸球が多く観察された (WT ラット : 1.3 ± 0.3 cells/field, *Ht* ラット : 3.0 ± 0.6 cells/field) (図 3A). 膠原繊維を青く染めるマッソントリクローム染色では, *Ht* ラット無疹部の真皮が WT ラットに比べて濃く染まった (図 3A). これは *Ht* ラット無疹部におけるコラーゲンの増加を示している. コラーゲンの増加はヒドロキシプロリン量が *Ht* ラット無疹部において WT ラットに比べて有意に多いことによっても確認した (図 3B). 好中球浸潤の指標であるミエロペルオキシダーゼ活性も *Ht* ラット無疹部において WT ラットに比べて有意に高かった (図 3C). また, 皮膚試料を電子顕微鏡によって観察すると, 角質層の数がわずかなではあるが *Ht* ラット無疹部において WT ラットに比べて増加した (WT ラット : 4 層, *Ht* ラット : 6 層) (図 3D). このように, *Ht* ラット無疹部では皮疹部の HE 染色像で認められた過角化, 表皮肥厚, 錯角化などの明らかな OS 様の組織学的変化は観察されなかったが, 白血球の浸潤, 真皮における線維化, わずかな角質層数の増加が認められた. よって, *Ht* ラット無疹部では OS 病態の発症につながる前段階にあると考えた.

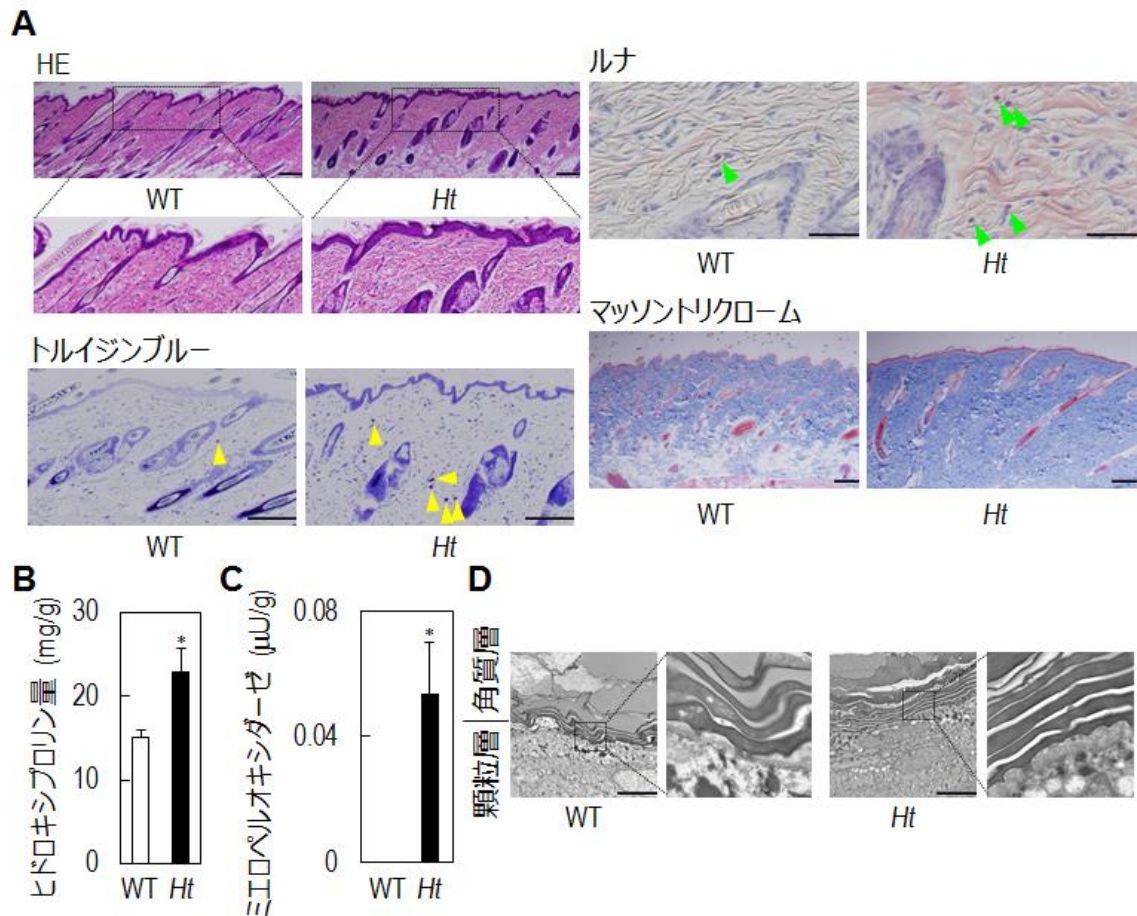


図 3 *Ht* ラット無疹部における白血球の浸潤，線維化の増加，角質層数の増加。
 (A) 25 週齢の WT 及び *Ht* ラット背部無疹部における代表的な像。HE，トルイジンブルー，ルナ，マッソントリクローム染色した組織を観察した。トルイジンブルー及びルナ染色はそれぞれ赤紫色で染まったマスト細胞（黄色矢頭）及び鮮赤色に染まった好酸球（緑色矢頭）の細胞内顆粒を染める。マッソントリクロームはコラーゲンを青色に染める。スケールバーは 200 μm (HE, トルイジンブルー, マッソントリクローム), 50 μm (ルナ)。(B 及び C) 25 週齢の WT 及び *Ht* ラットの背部無疹部におけるヒドロキシプロリン量 (B) 及びミエロペルオキシダーゼ活性 (C)。値は独立した 3 から 4 実験の乾燥重量あたりの平均値 \pm SEM で示した。統計学的有意差は $*P < 0.05$ (Wilcoxon rank sum test) によって示している。(D) 3 週齢の WT 及び *Ht* ラットの背部無疹部における電子顕微鏡観察。スケールバーは 5 μm 。

Ht ラット無疹部における 15-LOX 代謝物の減少

脂質と TRPV3 活性の間に関連があることや皮膚バリアの形成や炎症における脂質の重要性は十分認識されているにもかかわらず、これまでに OS 患者やモデル動物におけるリピドミクス解析は行われておらず、本研究において新たな関連脂質の探索を行った。組織学的／生化学的解析において変化が大きかった皮膚部ではなく、OS 様病態の発症につながる前段階にあると考えられた無疹部を用いる方が病態発症の分子機構を探る上で有用だと考えられたため、本研究では無疹部を用いた。ノンターゲット型及びターゲット型液体クロマトグラフィー／マススペクトロメトリー (LC/MS) 測定を組み合わせる *Ht* ラット皮膚の包括的な脂質解析を行い、脂肪酸、脂肪酸代謝物、グリセロ脂質、スフィンゴ脂質、コレステロール (表 1 及び表 2) から 27 脂質クラス、593 脂質分子種の変動を解析した。それらの脂質分子種の中で、15-リポキシゲナーゼ (15-lipoxygenase: 15-LOX) 代謝物 [15-ヒドロキシエイコサトリエン酸 (15-hydroxyeicosatrienoic acid: 15-HETrE), 15-ヒドロキシエイコサテトラエン酸 (15-hydroxyeicosatetraenoic acid: HETE), 15-オキソエイコサテトラエン酸 (15-oxoeicosatetraenoic acid: 15-oxETE), 17-ヒドロキシドコサヘキサエン酸 (17-hydroxydocosahexaenoic acid: 17-HDoHE)] 及びジヒドロセラミドが *Ht* ラット無疹部において WT ラットに比べて大きく減少した (図 4A)。

ジホモ- γ -リノレン酸、アラキドン酸、ドコサヘキサエン酸のような 15-LOX 代謝物の前駆体 (図 5) も *Ht* ラットにおいて WT ラットに比べて減少していた (図 4B)。WT ラットの皮膚では 15-LOX 代謝物がシクロオキシゲナーゼ (cyclooxygenase: COX) 代謝物、5-LOX 代謝物、12-LOX 代謝物などの他の酸化脂肪酸に比べて多く存在した (図 4C-F)。これら脂肪酸代謝物の中で COX 代謝物であるプロスタグランジン D₂、5-LOX 代謝物 (5-HETE, 5-HEPE, 7-HDoHE)、12-LOX 代謝物 [12-HETE, 12-ヒドロキシエイコサペンタエン酸 (12-hydroxyeicosapentaenoic acid: 12-HEPE), 14-HDoHE] も *Ht* ラットにおいて減少したが、15-LOX 代謝物 (15-HETrE, 15-HETE, 15-oxETE, 15-HEPE, 17-HDoHE) の減少量及び減少率がともに最も顕著であった。

広義のセラミドは長鎖塩基としてジヒドロスフィンゴシンをもつジヒドロセラミド、スフィンゴシンをもつ狭義のセラミド、フィトスフィンゴシンをもつフィトセラミド、アシルセラミドなど数種のセラミドクラスを含む (図 1) [2]。ジヒドロスフィンゴシンは飽和型であるが、スフィンゴシンはトランス二重結合をもつ。フィトスフィンゴシンは C1 位及び C3 位の他に C4 位に追加の水酸基をもち、表皮を含む組織特異的に存在する。ジヒドロセラミド (d18:0/18:0) 及びジヒドロセラミド (d18:0/20:0) は *Ht* ラットにおいて WT ラットに比べて大きく減少していた (図 4G)。これらジヒドロセラミドは毛に多く存在する[29]。

そのため、ジヒドロセラミドの減少は *Ht* ラットにおける貧毛の表現型が反映された結果だと考えられる。それに対してフィトセラミド、狭義のセラミド、アシルセラミドの量の変化は小さかった (図 4G 及び表 2)。以上の脂質解析により、15-LOX 代謝物とジヒドロセラミドの量が *Ht* ラット無疹部において WT ラットに比べて著しく減少した。ジヒドロセラミドの減少は貧毛の表現型によると予想されるため、OS 病態の原因究明には 15-LOX 代謝物に絞ってさらなる解析を行った。

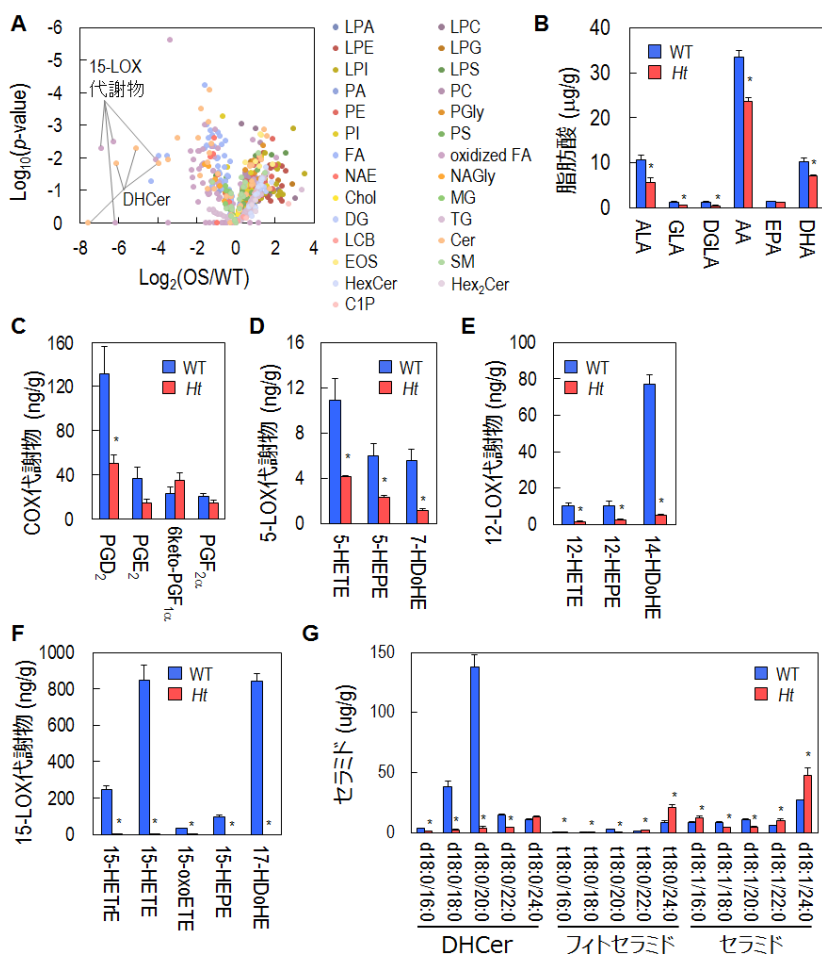


図 4 *Ht* ラット無疹部における 15-LOX 代謝物及びジヒドロセラミドの減少.

(A–G) WT 及び *Ht* ラットの背部無疹部の皮膚から抽出した脂質を LC/MS によって解析した. (A) WT ラットに対する *Ht* ラットの各脂質の相対量と Student's *t*-test の *P* 値によってプロットした. (B–G) WT 及び *Ht* ラットにおける各脂質分子種の皮膚組織中の量. 脂肪酸 (B), シクロオキシゲナーゼ (cyclooxygenase: COX) 代謝物 (C), 5-LOX 代謝物 (D), 12-LOX 代謝物 (E), 15-LOX 代謝物 (F), セラミド (G). グラフの値は独立した 3 実験の平均値 ± SEM で示している. 統計学的有意差は **P* < 0.05 (Wilcoxon rank sum test) によって示している. d18:0/20:0 の表記は C18:0 (鎖長, C18 ; 二重結合なし) と水酸基を二つ (d) もつジヒドロスフィンゴシンと C20:0 の脂肪酸からなるジヒドロセラミドを指す. d18:1 及び t18:0 はそれぞれ, C18 のスフィンゴシン及び C18 のフィトスフィンゴシンを指す. AA, arachidonic acid; ALA, α-linolenic acid; Cer, ceramide; C1P, ceramide 1-phosphate; Chol, cholesterol; DG, diacylglycerol; DGLA, dihomo-γ-linolenic acid; DHA, docosahexaenoic acid; DHCer, dihydroceramide; EPA, eicosapentaenoic acid; FA, fatty acid; GLA, γ-linolenic acid; HEPE, hydroxyeicosapentaenoic acid; HexCer, monohexosylceramide; Hex₂Cer, dihexosylceramide; LCB, long-chain base; LPA, lysophosphatidic acid; LPC, lysophosphatidylcholine; LPE, lysophosphatidylethanolamine; LPG, lysophosphatidylglycerol; LPI, lysophosphatidylinositol; LPS, lysophosphatidylserine; MG, monoacylglycerol; NAE, *N*-acylethanolamine; NAGly, *N*-acylglycine; oxFA, oxidized fatty acid; PA, phosphatidic acid; PC, phosphatidylcholine; PE, phosphatidylethanolamine; PG, prostaglandin; Pgly, phosphatidylglycerol; PI, phosphatidylinositol; PS, phosphatidylserine; SM, sphingomyelin; TG, triacylglycerol.

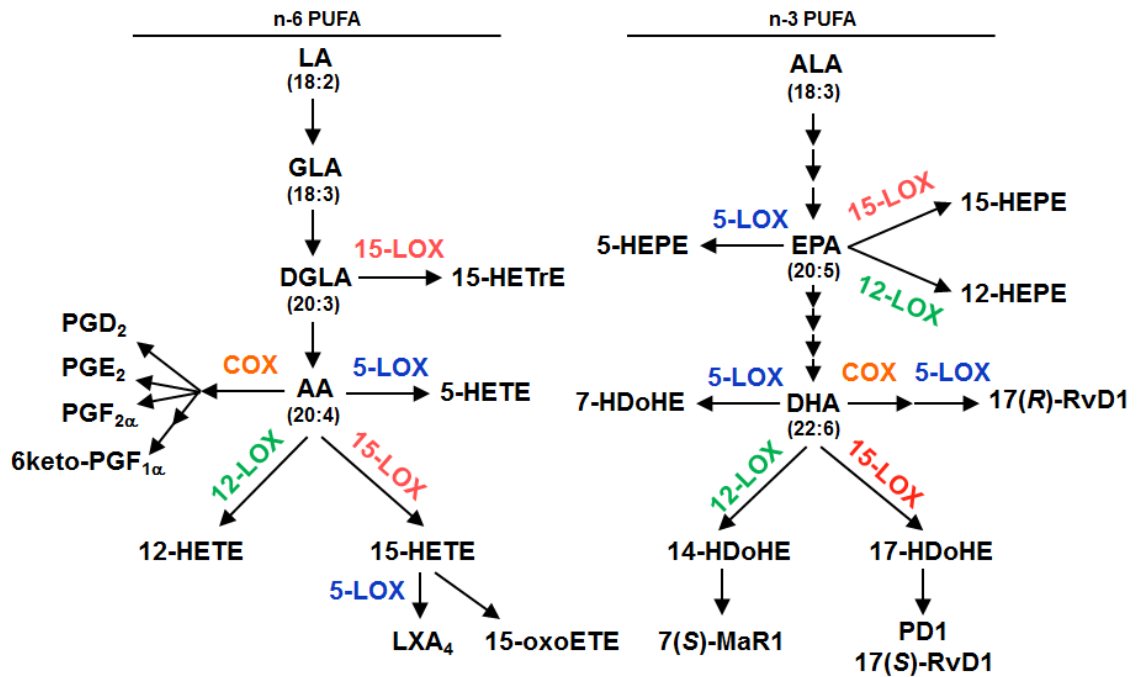


図5 多価不飽和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acid: PUFA) の代謝経路図。
n-6系及びn-3系PUFAの代謝経路図を示している。AA, arachidonic acid; ALA, α-linolenic acid; COX, cyclooxygenase; DGLA, dihomo-γ-linolenic acid; DHA, docosahexaenoic acid; EPA, eicosapentaenoic acid; GLA, γ-linolenic acid; LA, linoleic acid; LT, leukotriene; LX, lipoxin; MaR, maresin; PD, protectin D; PG, prostaglandin; Rv, resolvin.

TRPV3 は表皮の基底層と毛包に発現している [11]. これら組織において 15-LOX 代謝物が産生されているかを調べるため, WT ラット背部の皮膚を上層 (一部毛を含む表皮) 及び下層 (真皮, 皮下組織, 筋層) の二つの部分に分離後, 各層から脂質を抽出し, LC/MS によって解析した. その結果, 検出した 4 種の 15-LOX 代謝物は皮膚の上層に多く存在することが明らかとなった (図 6A). 3 種の 12-LOX 代謝物も上層に多く認められたが, 下層に存在する 12-LOX 代謝物との差はわずかであった (図 6B). さらに, 3 種の 5-LOX 代謝物及び 4 種の COX 代謝物は両層に分布していた (図 6C, D). これらの結果により, 15-LOX 代謝物量の顕著な減少は *Ht* ラット無疹部の表皮における変化であることが示唆された.

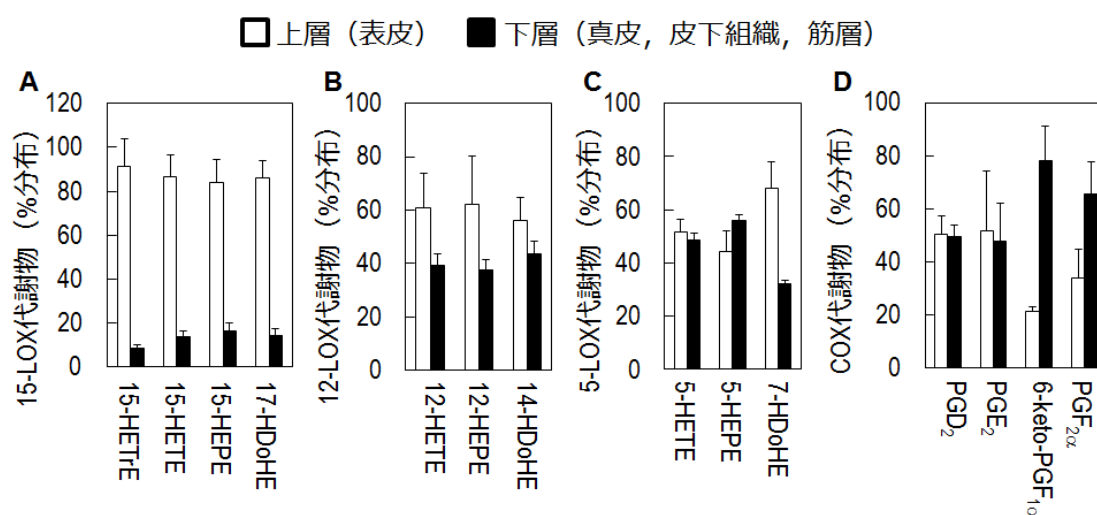


図 6 15-LOX 代謝物は皮膚の上層部で産生される.

WT ラットの毛を刈った背部無疹部を上層 (一部毛を含む表皮) 及び下層 (真皮, 皮下組織, 筋層) に分離して, 脂質を抽出した. (A-D) LC/MS によって測定した 15-LOX (A), 12-LOX (B), 5-LOX (C), COX (D) 代謝物の相対量. グラフの値は独立した 3 実験の平均値 \pm SEM で示している.

OS ラットの脳において 15-LOX 代謝物は変化しない

TRPV3 は皮膚の他に脳でも発現が認められている[12]. そのため, *Trpv3* p.Gly573Cys 変異が脳における 15-LOX 代謝物及びジヒドロセラミドの量に影響するかどうかを調べた. その結果, 15-LOX 代謝物及びジヒドロセラミドの量は WT と *Ht* ラットの脳組織中で同程度であることが明らかとなった (図 7). そのため, TRPV3 活性亢進が脳における脂質代謝に与える影響は小さいと考えられる. 本結果は中枢神経系の異常がほとんど認められない OS 症状と一致する[30]. このように OS 変異の結果として生じた 15-LOX 代謝物とジヒドロセラミドの減少は皮膚に限られている.

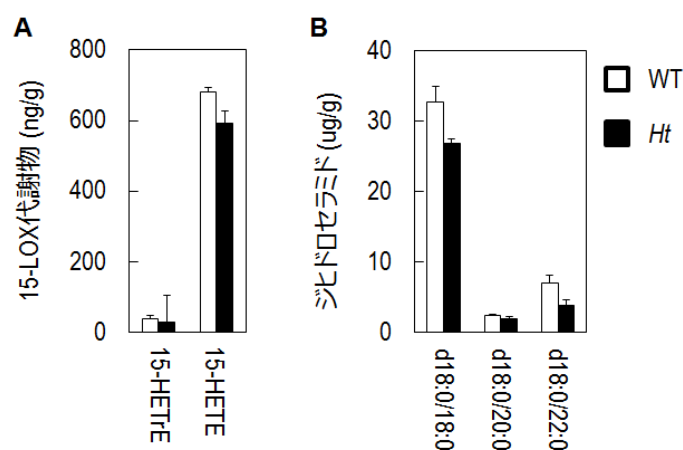


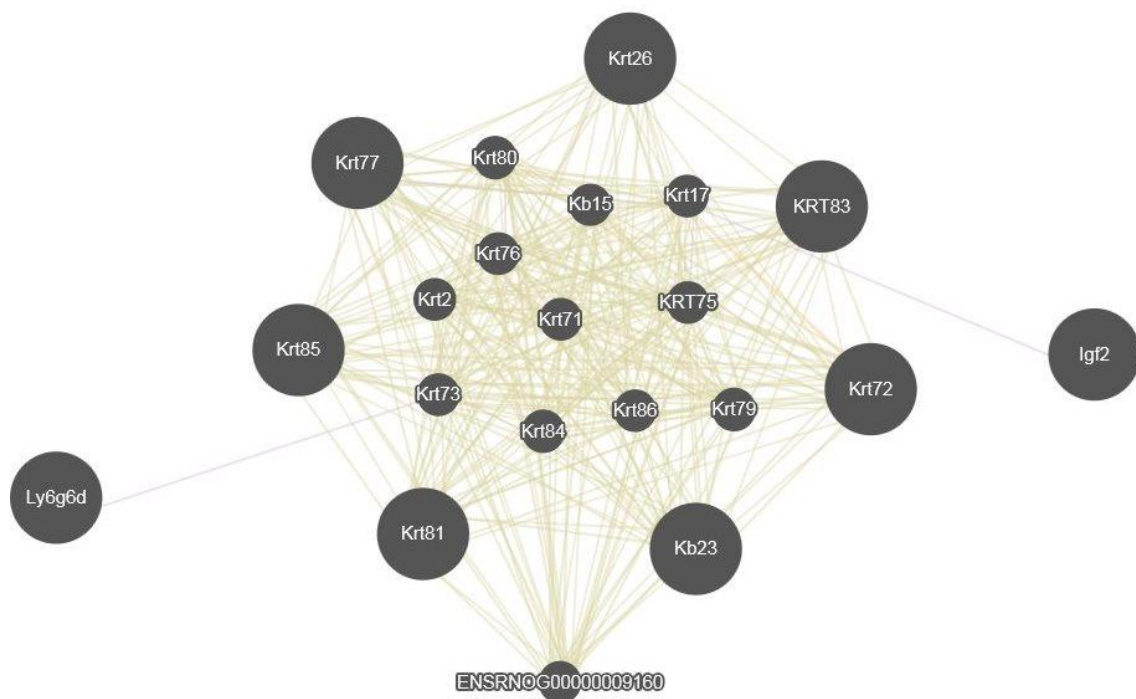
図 7 *Ht* ラットの脳組織における 15-LOX 代謝物及びジヒドロセラミドの量は正常である.

WT 及び *Ht* ラットの脳から脂質を抽出し, LC/MS によって 15-LOX 代謝物 (A) 及びジヒドロセラミド (B) を測定した. グラフの値は独立した 3 実験の平均値 \pm SEM で示している.

Ht ラット皮膚における 15-LOX 遺伝子の発現低下

WT と *Ht* ラット間に生じた脂質プロファイルの違いについての知見を深めるため、無疹部を用いてマイクロアレイによる遺伝子発現解析を行った。遺伝子発現結果を次のように分類した： i) *Ht* ラットにおいて発現が低下した遺伝子（表 3）， ii) *Ht* ラットにおいて発現が増加した遺伝子（表 4）， iii) *Ht* ラットにおいて発現が増加した遺伝子（ $(\log_2 Ht/WT) > 1.5$ ）の中で発現強度の高い遺伝子（表 5）。各カテゴリーにおける上位 30 遺伝子を表 3-5 に示した。細胞骨格や毛幹を構成するケラチンに関連した多数の遺伝子の発現量が *Ht* ラットにおいて WT ラットに比べて減少した（表 3）。この原因として、*Ht* ラットが貧毛であることや *Ht* ラット無疹部の真皮では線維化が亢進しているため、毛幹や細胞骨格に関する遺伝子の発現が低下したと考えられる。カルシウム結合タンパク質をコードする *S100a9*、ケモカインをコードする *Ccl20*, *Cxcl1*, *Cxcl2* の発現量が *Ht* ラットにおいて WT ラットに比べて増加した（表 4）。*S100a9* 及び *S100a8* はホモあるいはヘテロ二量体を形成し、表皮の損傷、炎症、疾患に対応した制御に関与する[31]。*S100a8* の発現量もまた *Ht* ラットにおいて WT ラットに比べて増加した（表 5）。ケモカインの増加は *Ht* ラット無疹部で観察された白血球の浸潤に寄与すると考えられる。さらに、抗菌ペプチド *Defb1*、インターロイキン-36 β （Interleukin-36 β : IL-36 β ）をコードした *Il36b*、脂質代謝に関わる脂肪酸伸長因子 *Elovl3*、2-ヒドロキシアシル CoA リアーゼ *Hacl1*、ワックスエステル合成因子 *Awat1*、イソペンテニルニリン酸異性化酵素 *Idi1* も増加した（表 5）。IL-36 サイトカインファミリーは炎症促進性の腫瘍壊死因子- α （Tumor Necrosis Factor- α : TNF- α ）、IL-6、IL-8 を誘導することで乾癬に関与する[32]。IL-36 β の増加は *Ht* ラットにおける炎症促進に貢献することが予想される。*Elovl3* は C20-CoA の産生を担う[33,34]。*Hacl1* は表皮セラミドに多く含まれる 2-ヒドロキシ脂肪酸の代謝に関与する[2,35]。*Awat1* は皮脂腺から分泌されるワックスエステルの産生を担う[36]。*Idi1* はイソプレノイドの合成に関与する[37]。これら脂質合成を担う酵素の発現は *Ht* ラットにおける角質層数の増加に伴って増加したと考えられる。

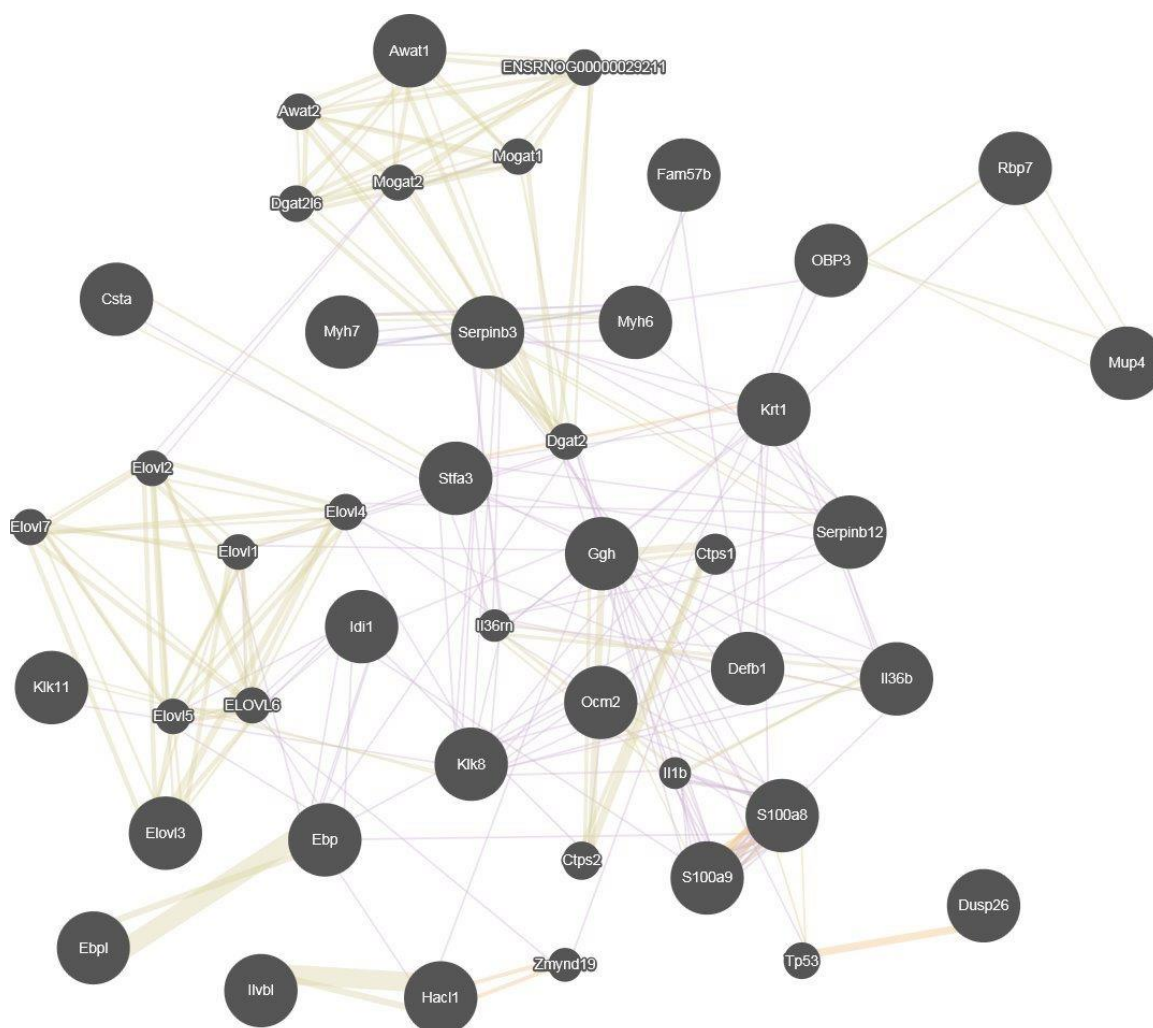
次に *Ht* ラットにおいて発現が変動した遺伝子の機能を予測するため、GeneMANIA (<http://www.genemania.org/>) を用いてマイクロアレイ解析から得た遺伝子リストを解析した[38]。*Ht* ラットにおいて発現が低下した遺伝子リストからは細胞骨格形成（図 8）、*Ht* ラットにおいて発現が増加した遺伝子リストからは白血球の細胞遊走（図 9）、*Ht* ラットにおいて発現が増加した遺伝子の中で発現強度の高い遺伝子リストからは脂質代謝（図 10）に関する機能を持った遺伝子の変動が多いことが示唆された。



Function	FDR	Genes in network	Genes in genome
keratin filament	1.05191E-05	5	21
intermediate filament cytoskeleton	0.000403767	6	97
intermediate filament	0.000519088	5	54

図 8 *Ht* ラットの背部皮膚におけるケラチン及び細胞骨格に関連した遺伝子発現の低下.

マイクロアレイ解析によって発現が *Ht* ラットの無疹部において WT ラットに比べて低下した上位 30 遺伝子 (表 3) に対して GeneMANIA を用いて遺伝子機能を予測した. FDR, false discovery rate.



Function	FDR	Genes in network	Genes in genome
very long-chain fatty acid metabolic process	3.75E-07	6	25
fatty acid biosynthetic process	1.06093E-05	7	89
transferase activity, transferring acyl groups other than amino-acyl groups	1.06093E-05	8	148

図 10 *Ht* ラットの背部皮膚における脂質代謝に関連した遺伝子発現の増加。

マイクロアレイ解析によって発現が *Ht* ラットの無疹部において WT ラットに比べて増加した遺伝子 (>1.5 fold increase, $\log_2 Ht/WT$) の中でも *Ht* ラットで発現強度の高い上位 30 遺伝子 (表 5) に対して GeneMANIA を用いて遺伝子機能を予測した。FDR, false discovery rate.

LOX 代謝物, COX 代謝物, ジヒドロセラミドに関連した遺伝子発現変化を確かめるため, WT 及び *Ht* ラットの無疹部由来の RNA を用いてリアルタイム RT-PCR を行った。 *Alox15* によってコードされたラット 12/15-LOX-1 は 12-LOX 活性及び 15-LOX 活性の両方をもつが, 15-LOX 活性は低いことが知られている [39]。一方, *Alox15b* によってコードされたラット 12/15-LOX-2 は 15-LOX 活性を示す[39]。 *Alox15* 及び *Alox15b* の発現量は *Ht* ラットにおいて WT ラットに比べて, とともに大きく減少していた (図 11)。一方, OS ラット皮膚の 5-LOX, 12-LOX

をコードする *Alox5*, *Alox12b*, *Alox12e* 及び COX-2 をコードする *Ptgs2* は両ラット間において変化がなかった (図 11). このことは 15-LOX 遺伝子の発現量の減少によって 15-LOX 代謝物が減少した (図 4B) ことを示唆している. $\Delta 4$ 不飽和化酵素 DEGS1 はジヒドロセラミド中のジヒドロスフィンゴシン部分の C4 と C5 位置の間にトランス二重結合の導入を触媒し, ジヒドロセラミドからセラミド (狭義) へ変換する [40]. *Degs1* の発現量は *Ht* ラットにおいて 1.6 倍増加したが, この小さな変化はジヒドロセラミドの大きな減少を説明できない (図 4G). セラミド合成酵素 3 (ceramide synthase 3: CERS3) をコードする *Cers3* は C18–C36 の脂肪酸をもつセラミド (広義) を合成し, CERS4 をコードする *Cers4* は C18–22 の脂肪酸をもつセラミド (広義) を合成する [2]. *Cers3* の発現量はわずかに増加したのに対して, *Cers4* の発現量に有意な変化はなかった (図 5). これらの発現量の変化は C16–C22 のジヒドロセラミドの減少 (図 4G) と一致していない. 極長鎖脂肪酸伸長因子 1 (*Elovl1*) は C20-から C26-CoA の合成に関与する [33,41]. *Elovl1* 及びスフィンゴミエリン合成酵素 (sphingomyelin synthase: SMS) をコードした *Sgms1*, *Sgms2* の発現量は両ラット間で変わらなかった. 極長鎖脂肪酸伸長因子 4 (*Elovl4*) は C24-CoA 以上の鎖長をもつ CoA の合成に関与する [33]. *Elovl4* の発現量は *Ht* ラットにおいて WT ラットに比べて増加した (図 11). *Elovl4* の発現増加は C24 の脂肪酸をもつセラミド及びフィトセラミドの増加と一致する (図 4). また, マイクロアレイ結果と一致して *Elovl3*, *Cxcl1*, *Cxcl2*, *Ccl2*, *Il36b* の発現量が *Ht* ラットにおいて WT ラットに比べて増加した. 以上より 15-LOX 遺伝子の発現低下及びケモカイン/サイトカイン遺伝子の発現増加によって, *Ht* ラットにおける白血球の浸潤や 15-LOX 代謝物の減少のような組織学的及び脂質代謝変化が誘発されていることが示唆された.

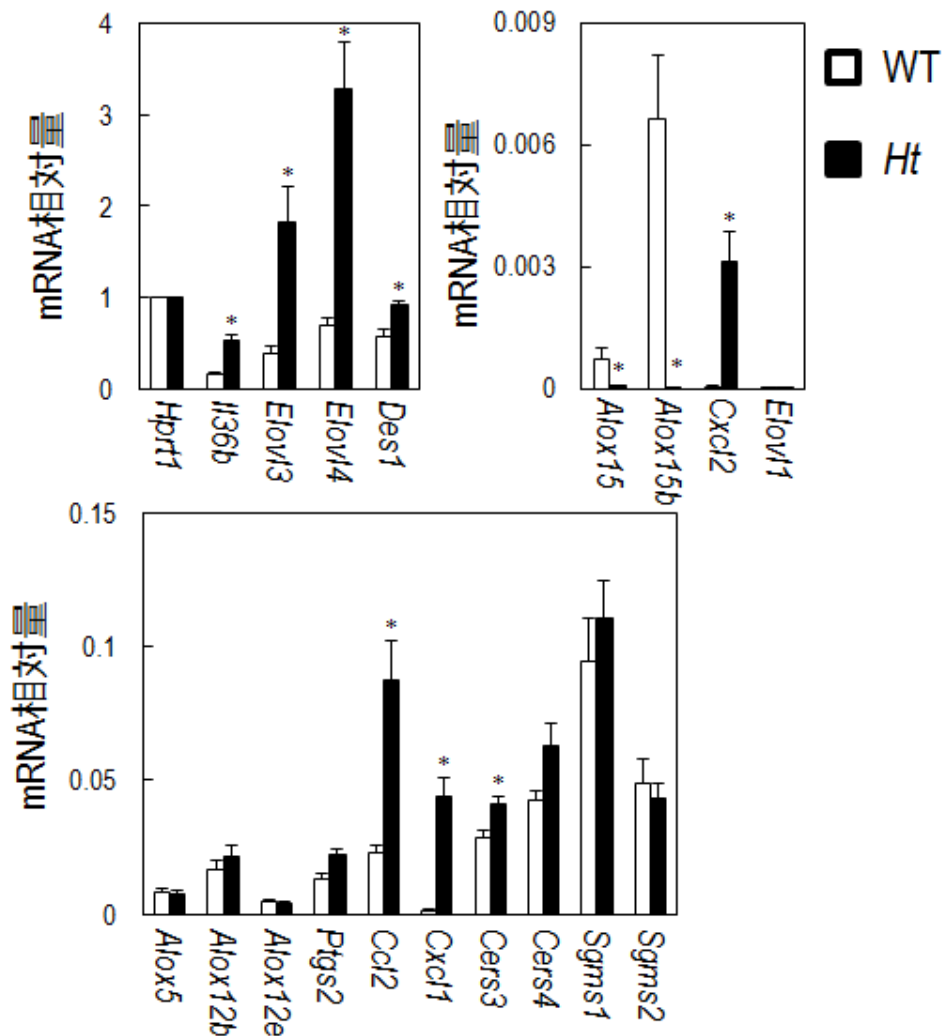


図 11 *Ht* ラット無疹部における 15-LOX 遺伝子発現量の減少。

WT 及び *Ht* ラットにおける背部の無疹部から総 RNA を調製し、ヒポキサンチン-グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (hypoxanthine phosphoribosyltransferase: HPRT) の遺伝子 (*Hprt1*) をコントロールとしてグラフ記載の遺伝子に対する特異的なプライマーを用いてリアルタイム RT-PCR を行った。グラフの値は独立した 3 実験からの *Hprt1* に対する相対的な遺伝子の発現量を平均値 ± SEM で示している。統計学的有意差は $*P < 0.05$ (Wilcoxon rank sum test) によって示している。

次に脳における *Alox15* 及び *Alox15b* の発現量を調べた。 *Alox15* の発現量は *Alox15b* に比べて顕著に高かった(図 12)。そのため、*Alox15* が脳において 15-LOX 代謝物の合成を主に担っていると考えられる。脳における *Alox15b* の発現量は *Ht* ラットにおいて WT ラットに比べて減少したが、*Alox15* は同程度であった。この結果は 15-HETrE 及び 15-HETE といった 15-LOX 代謝物の量が WT 及び *Ht* ラットの脳において同程度であることと矛盾しない(図 7A)。

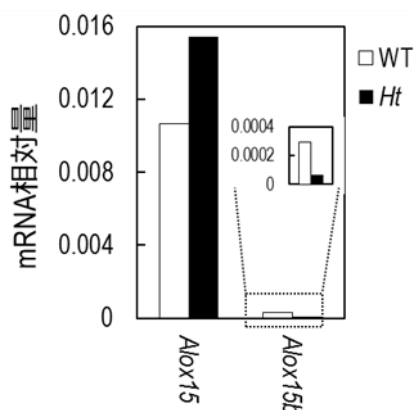


図 12 WT 及び *Ht* ラットの脳における *Alox15* 及び *Alox15b* の遺伝子発現量。

WT 及び *Ht* ラットの脳からトータル RNA を精製し、glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (*Gapdh*) をコントロールとして *Alox15* 及び *Alox15b* に対する特異的なプライマーを用いてリアルタイム RT-PCR を行った。グラフの値は *Gapdh* に対する相対的な遺伝子の発現量を示している。

第三節 考察

OS の根底にある分子機構を理解するため、包括的な脂質解析を行い、OS モデル (*Ht*) 及び WT ラットの無疹部から 27 脂質クラス、593 脂質分子種を検出した。その中でも特に *Ht* ラット無疹部において 15-LOX 代謝物とジヒドロセラミドの量が顕著に減少していることが明らかとなった (図 4)。ジヒドロセラミドは多くの哺乳類の組織では少量しか存在しないが、毛には例外的に多く存在する[29]。ジヒドロセラミド分子種の中で d18:0/20:0 のジヒドロセラミドが *Ht* ラットにおいて大きく減少した (図 4G)。CERS4 は主に d18:0/20:0 ジヒドロセラミドの合成に関与し、*Cers4* 欠損マウスは貧毛の表現型を示す[2,42]。このことから毛の産生や維持における d18:0/20:0 のジヒドロセラミドの重要性が示唆されている。リアルタイム PCR 解析によってジヒドロセラミドからセラミドの変換に関与する *Degs1* の発現は *Ht* ラットにおいてわずかに増加したのに対して、*Cers4* の発現はほとんど変わらなかった (図 11)。*Degs1* の発現のわずかな増加は *Ht* ラットで明らかとなったジヒドロセラミドの大幅な減少を説明できる十分な結果でないと考えられる。むしろ *Ht* ラット無疹部におけるジヒドロセラミドの大幅な減少は貧毛が反映された結果であると思われる (図 3A)。*Ht* ラットにおいて貧毛が引き起こされる機構としては、毛包の外毛根鞘における TRPV3 の活性化が細胞内 Ca^{2+} 濃度を高め、それによってケラチノサイトの増殖が抑えられ、アポトーシスが誘発されるためであると報告されている[43]。

15-LOX は水酸化体へと速やかに還元される脂肪酸ヒドロペルオキシドの産生を触媒する。ジモホ- γ -リノレン酸から 15-HETrE, アラキドン酸から 15-HETE, エイコサペンタエン酸から 15-HEPE, ドコサヘキサエン酸から 17-HDoHE が産生される (図 5)。*Ht* ラット無疹部ではこれら水酸化体がほとんど検出されないことを明らかにした (図 4F)。15-LOX 代謝物の減少はその産生に関与する *Alox15* 及び *Alox15b* の発現低下と一致した (図 11)。ヒトの *ALOX15B* は前立腺、肺、皮膚、角膜で発現している[44]。皮膚において *ALOX15B* は皮脂腺、アポクリン腺、エククリン腺、表皮の基底層で発現している[45]。

アラキドン酸からの 15-LOX 代謝物である 15-HETE はリポキシン A_4 に変換され、ドコサヘキサエン酸からの 15-LOX 代謝物である 17-HDoHE はプロテクチン D1/レゾルビン D1 に変換される (図 5) [46]。リポキシン A_4 、プロテクチン D1、レゾルビン D1 などの脂質メディエーターはすべて抗炎症性活性を有し、炎症収束に関わる[47-49]。リポキシン A_4 は好中球や好酸球の遊走を抑え、単球の遊走やマクロファージの食作用を刺激する[50-53]。プロテクチン D1 及びレゾルビン D1 も好中球の浸潤を阻害し、アポトーシスをした好中球に対するマクロファージの貪食を促進する[47]。そのため、15-LOX 代謝物由来脂質メディエーターの減少によって *Ht* ラット無疹部で観察された好中球や好酸球の浸潤が部分

的に誘発された可能性がある。

Ht ラット無疹部では線維化の指標であるコラーゲン量の増加が観察された (図 3A 及び B)。線維化はアレルギー応答, 持続的な細菌感染, 放射線暴露, 組織の損傷を含む種々の刺激が原因となって誘発される[54]。 *Ht* ラット皮疹部はアトピー性皮膚炎様の症状を示し, *S. aureus* の感染, マスト細胞, 好酸球, T リンパ球の浸潤が増加する[22,24]。 *Ht* ラット無疹部においてもマスト細胞, 好酸球, 好中球のような白血球の浸潤が観察された (図 3A 及び 3C)。そのため, *Ht* ラット無疹部においても炎症による線維化の誘発が考えられる。また, マイクロアレイ解析でも *Ht* ラット無疹部が炎症促進状態にあることが示された。例を挙げるとケモカインをコードした *Ccl20*, *Cxcl1*, *Cxcl2* の発現量が増加していた (表 4)。CXCL1 及び CXCL2 は好中球や内皮細胞の遊走を刺激し, CCL20 は T 及び B 細胞の遊走を促進する[55]。サイトカイン IL-36 β をコードした *Il36b* の発現もまた *Ht* ラット無疹部において WT ラットに比べて増加した (表 4)。IL-36 α , IL-36 β , IL-36 γ を含む IL-36 サイトカインは IL-36 受容体を活性化し, IL36Ra はアンタゴニストとして働く[56]。IL-36 サイトカインは主にケラチノサイトで発現しており, 皮膚の炎症制御に重要である[56]。IL-36 α をケラチノサイトの基底層で発現させたトランスジェニックマウスは表皮肥厚と過角化を伴って乾癬様の皮膚症状を示すと報告されている[57]。

マイクロアレイ解析によって Ca²⁺結合タンパク質をコードした *S100a8* 及び *S100a9* の発現量が *Ht* ラット皮膚において増加していることが明らかとなった (表 4 及び 5)。S100a8 及び S100a9 は S100 タンパク質ファミリーのメンバーであり, ホモ及びヘテロ二量体を形成する[31]。これらは Ca²⁺関連シグナル伝達のメディエーターとして複数の表皮関連疾患の病態に関与してきた[31]。S100a8 及び S100a9 は通常皮膚では発現量が少ないが, 乾癬, 表皮の損傷, 紫外線照射のような病態やストレス下における増加が明らかとなった[58-60]。その増加は炎症促進性サイトカインである IL-1 や TNF- α の刺激に応じてケラチノサイトで起こっている[61]。これらによって S100a8 及び S100a9 の表皮増殖に対する役割が示唆されている[31]。TRPV3 は Ca²⁺チャネルであるため, その機能亢進変異 (p.Gly573Cys, p.Gly573Ser, p.Gln580Pro, p.Trp692Gly) によって OS 患者中では細胞内 Ca²⁺濃度が高くなっている[8,14]。S100a8 及び S100a9 が Ca²⁺結合タンパク質であることを考慮すると, 増加した細胞内 Ca²⁺は炎症促進状態において増加が考えられる S100a8 及び S100a9 を活性化し, OS モデル動物や OS 患者の皮疹部においてケラチノサイトの増殖を促している可能性がある[7,24]。

OS 患者では掌, 踵, 開口周辺部 (口, 鼻, 目, 耳, 生殖器, 肛門) において角化性病変が見られる[7]。一方, *Ht* ラット及び DS-*Nh* マウスでは首, 肩, 側面/口周辺部において皮膚症状が認められている[23,24]。OS 患者とモデル動物の間

で皮膚症状が発症する部位に違いがあるが、細菌感染、白血球の浸潤、痒みのような症状は類似しており、OS 病態を調べる上で OS 動物モデルは有益である。OS モデル動物が一定の温度、湿度、食餌で維持されているのに対し、OS 患者は多様な環境下に存在する。そのため、病態発症部位の違いはこれら環境条件の違いによって生じているのかもしれない。限られた環境で飼育される OS モデル動物と異なり、体への圧力、感染、アレルゲン、食事の種類、温度、湿度を含む多様な刺激によって OS 患者の症状は左右されるかもしれない。

第一章では OS モデルラットの無疹部における包括的な脂質解析によって抗炎症性且つ炎症収束に関わる脂質メディエーターの 15-LOX 代謝物の減少が明らかとなった。さらにマイクロアレイ解析によって複数の炎症促進性のサイトカイン/ケモカインの増加が示された。これらの結果から炎症促進性の状態が OS 病態発症の引き金となる可能性があると考えた (図 13)。本知見から 15-LOX 代謝物やその誘導体が今後 OS 治療の開発に結びつくことが期待される。

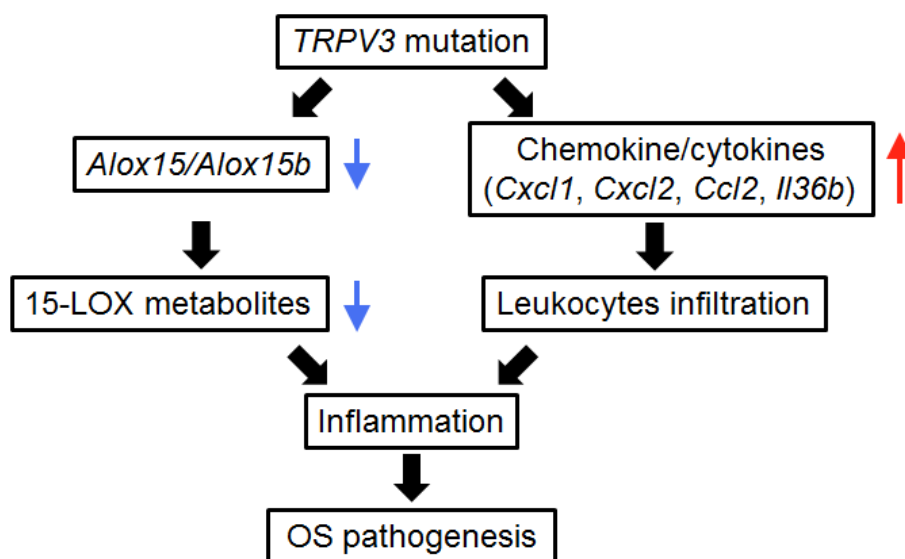


図 13 OS 病態発症のモデル。

TRPV3 の機能亢進によって *Alox15* 及び *Alox15b* の発現が抑制され、15-LOX 代謝物の減少につながる。また、TRPV3 の活性化によって白血球の浸潤に寄与する *Cxcl1*, *Cxcl2*, *Ccl2*, *Il36b* といったケモカイン/サイトカインが増加する。白血球の浸潤と同様に 15-LOX 代謝物の減少も炎症を誘発し、OS 病態発症のトリガーとなる。

実験方法

動物

石川実験動物（埼玉）から WBN/Kob (WT) 及び WBN/Kob-*Ht* (*Ht*; *Trpv3* p.Gly573Cys) ラットを購入し、12 時間ごとの明／暗サイクルの通常飼育環境において ND 摂餌，自由摂水の条件下で飼育した．塩野義製薬動物実験ガイドラインに従って動物実験を実施した．25 週齢の WT 及び *Ht* ラットから皮膚及び脳の組織を採取後，すぐに凍結して解析まで-80°Cに保管した．

組織学的解析

10% 中性ホルマリン溶液（和光純薬，大阪）によって皮膚試料を 2 日間固定した後，パラフィンに包埋した．パラフィン包埋した皮膚を 3–4 μm の厚さで切片を作製して脱パラフィンした後，HE，トルイジンブルー，マッソントリクローム，ルナ染色を行った[41,62]．

ヒドロキシプロリン測定

ヒドロキシプロリンアッセイキット（Quickzyme, Leiden, the Netherlands）を用いて添付のプロトコルに従ってヒドロキシプロリン量を測定した．

ミエロペルオキシダーゼ活性測定

OxiSelect ミエロペルオキシダーゼ塩素化活性測定アッセイキット（Cell Biolabs, San Diego, USA）を用いて添付のプロトコルに従ってミエロペルオキシダーゼ活性を測定した．

透過型電子顕微鏡

3 週齢の WT 及び *Ht* ラットの背部無疹部から採取した試料を 4°C 下で 4% パラホルムアルデヒド及び 2% グルタルアルデヒドを含む 0.1 M カコジル酸緩衝液（pH 7.4）によって固定後，さらに 4°C 下で 0.1% タンニン酸を含む 0.1 M カコジル酸緩衝液（pH 7.4）によって固定した．試料を 0.1 M カコジル酸緩衝液（pH 7.4）によって 4 回洗浄した後，4°C 下で 2% 四酸化オスミウムを含む 0.1 M カコジル酸緩衝液（pH 7.4）によって再度固定した．試料から段階的にエタノール（50%，70%，90%，100%）によって脱水した．その後，試料を酸化プロピレンによって 1 時間で 2 回浸潤させ，続いて試料を取り出して酸化プロピレン／Quetol-812 樹脂（日新 EM，東京，）混液（7:3，v/v）によって 1 時間浸潤させた．一晩酸化プロピレンを揮発させ，試料を用時調製した 100% 樹脂に包埋し，60°C で 48 時間保温した．ウルトラマイクロトーム Ultracut UCT（Leica Microsystems, Wetzlar, Germany）を用いて超薄切片（80 nm）を作製した．切片を銅格子に載

せ、2%酢酸ウラニルによって室温で15分間染色し、蒸留水で洗浄した後、鉛染色液 (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) によって室温で3分間2次染色した。JEM-1400 Plus 透過電子顕微鏡 (日本電子, 東京) を用いて80 kVの加速電圧で顕微鏡観察を行った。VELETA 電荷結合素子カメラ (オリンパス, 東京) によってデジタル画像を取得した。

LC/MSによる脂質解析

皮膚または脳からの脂質抽出は過去に報告された方法を改変して行った [63-65]。8 mm サイズの生検トレパン (カイインダストリーズ, 岐阜) を用いてラット背部から皮膚試料をくり抜いた。毛を刈った皮膚試料をディスパーゼ含有培地 [2,000 U/mL のディスパーゼ (和光純薬) 及び 10% ウシ胎児血清 (FCS: fetal calf serum ; Lonza, Basel, Switzerland) を含むダルベッコ改変イーグル培地 (Dulbecco's modified Eagle's medium: DMEM ; 和光純薬)] に浸し、4°C で16時間静置した後、二つの領域 (上層: 一部毛を含む表皮, 下層: 真皮, 皮下組織, 筋層) に分離した。皮膚または脳試料 (5-50 mg) を凍結乾燥して切り刻んだ後、1 mL のメタノール (脂肪酸, 脂肪酸代謝物, モノアシルグリセロールの抽出用), 1 mL のメタノール/メチル tert-ブチルエーテル/クロロホルム (4:3:3, v/v) (モノアシルグリセロール以外のグリセロ脂質, スフィンゴ脂質, コレステロールの抽出用) に懸濁した。両方の懸濁脂質液には 10 mM ジブチルヒドロキシトルエンと内部標準 (表 6 及び 7) を添加した。ジルコニアビーズを添加した試料を Micro Smash MS-100R (トミー精工, 東京) を用いて勢いよく攪拌して脂質を抽出した後、遠心して上清を回収した。脂質抽出を再度行い、得られた二つの上清を一つに合わせた。穏やかな窒素ガス吹付けによって脂質溶液を乾燥させ、200 µL のメタノール (脂肪酸, 脂肪酸代謝物, モノアシルグリセロール測定用) または 250 µL のクロロホルム/メタノール (1:1, v/v) (モノアシルグリセロール以外のグリセロ脂質, スフィンゴ脂質, コレステロール測定用) に懸濁した。脂質懸濁液 (脂肪酸, 脂肪酸代謝物, モノアシルグリセロール測定用) を MonoSpin C18-AX カラム (ジーエルサイエンス, 東京) に添加した後、脂質をメタノール/ギ酸 (50:1, v/v) によって溶出し、続いて窒素ガスによって乾固し、250 µL のメタノールに再懸濁した。

脂肪酸, モノアシルグリセロールを除くグリセロ脂質, スフィンゴ脂質, コレステロールの測定について、以前の報告に従った [65,66]。その方法は Ultimate 3000 RSLC システム (Thermo Fisher Scientific, Rockford, USA) と Q Exactive plus 四重極/Orbitrap ハイブリッド型質量分析計 (Thermo Fisher Scientific) を用いたノンターゲット型 LC/MS である。二つの送液ユニットを用いて 0.4 mL/min の流速下でグラジエント条件を設定し、ACQUITY UPLC BEH C18 (100 mm × 2.1

mm ; 粒子径, 1.7 μm ; Waters, Milford, USA) カラムによって脂質を分離した. 移動相及びグラジエント条件は以下の通りである. 脂肪酸測定: 移動相 A (超純水/5 mM リン酸溶液/酢酸, 1000:1:1, v/v), 移動相 B (アセトニトリル/イソプロパノール/酢酸, 500:500:1, v/v), 0–43 min (溶出, 25%から 100% B), 43–48 min (洗浄, 100% B), 48–50 min (平衡化, 25% B). モノアシルグリセロール以外のグリセロ脂質, スフィンゴ脂質, コレステロール測定: 移動相 A (超純水/1 M 酢酸アンモニウム溶液/5 mM リン酸溶液/ギ酸, 990:10:1:1, v/v), 移動相 B (アセトニトリル/イソプロパノール/1 M 酢酸アンモニウム溶液/ギ酸, 495:495:10:1, v/v), 0–43 min (溶出, 50%から 100% B), 43–48 min (洗浄, 100% B), 48–50 min (平衡化, 50% B). 脂肪酸, グリセロ脂質のグリセロリン脂質/リゾグリセロリン脂質, スフィンゴ脂質のスフィンゴミエリンをネガティブエレクトロスプレーイオン化モードによって検出したのに対し, グリセロ脂質のトリアシルグリセロール/ジアシルグリセロール, スフィンゴ脂質のセラミド 1-リン酸/モノヘキソシルセラミド/ジヘキソシルセラミド/セラミド/アシルセラミド/長鎖塩基をポジティブエレクトロスプレーイオン化モードによって検出した. コレステロールをポジティブ大気圧化学イオン化モードによって検出した. 各脂質の同定には Xcalibur 3.0 Qual Browser (Thermo Fisher Scientific) 及び Lipid Search ソフトウェア (三井情報, 東京) を用いた[67]. マストランスを 10-ppm の質量幅に設定した. 標的とした脂質を[M-H]⁻イオン(脂肪酸, ホスファチジン酸, ホスファチジルエタノールアミン, ホスファチジルグリセロール, ホスファチジルイノシトール, ホスファチジルセリン, リゾホスファチジン酸, リゾホスファチジルエタノールアミン, リゾホスファチジルグリセロール, リゾホスファチジルイノシトール, リゾホスファチジルセリン), [M+HCOO]⁻イオン (ホスファチジルコリン, リゾホスファチジルコリン, スフィンゴミエリン), [M+NH₄]⁺イオン (トリアシルグリセロール, ジアシルグリセロール), [M+H]⁺ イオン (長鎖塩基, セラミド 1-リン酸, モノヘキソシルセラミド, ジヘキソシルセラミド, アシルセラミド, セラミド), [M-H₂O+H]⁺イオン (コレステロール) として同定した. 表 8 に記載された脂質標品を用いて 5 から 5,000 または 10,000 ng/mL の検量線を作製し, 直線性を示した検量線範囲を定量に使用した. アシルセラミドを除く脂質について, 対応した脂質標品を用いた絶対定量によってあるいは類縁の脂質標品を用いた相対定量によって定量した (表 1). 市販標品が利用できないアシルセラミドについて, 内部標準 (セラミド (d18:1/16:0) -d₃₁) のピークエリアに対する比較によって数値化した (表 2).

脂肪酸代謝物及びモノアシルグリセロールの測定について, 以前の報告に従った[64,65]. その方法は ACQUITY UPLC システム (Waters) 及び API5000 トリプルステージ四重極型質量分析計 (AB SCIEX, Framingham, USA) を用いたタ

ーゲット型 LC/MS/MS である。ACQUITY UPLC BEH C18 (100 mm × 2.1 mm ; 粒子径, 1.7 μm ; Waters) カラムによって脂質を分離後, MS/MS によって検出した。二つの送液ユニットを用いて 0.4 mL/min の流速下でグラジエント条件を設定した。移動相及びグラジエント条件は以下の通りである。移動相 A (超純水/5 mM リン酸溶液/酢酸, 1000:1:1, v/v), 移動相 B (アセトニトリル/イソプロパノール/酢酸, 500:500:1, v/v), 0–15 min (溶出, 25%から 60% B), 15–17.5 min (洗浄, 100% B), 17.5–20 min (平衡化, 25% B)。脂質をネガティブイオン化モード (酸化脂肪酸, *N*-アシルグリシン) 及びポジティブイオン化モード (*N*-アシルエタノールアミン, モノアシルグリセロール) による多重反応モニタリングによって検出した。表 9 に記載された脂質標品を用いて 0.03 から 100 ng/mL の検量線を作製し, 直線性を示した検量線範囲を採用して定量した (表 1)。

マイクロアレイ解析

皮膚試料からの総 RNA を TRIzol 試薬 (Thermo Scientific) によって抽出した後, RNeasy Mini キット (Qiagen, Hilden, Germany) を用いて精製した。シアニン 3-CTP によってラベル化した cRNA の作製は 1 色法用 Low Input Quick Amp ラベル化キット (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) を用いて行った。その方法について, 精製した RNA から逆転写反応を行って 2 本鎖 cDNA を合成した後, T7 RNA ポリメラーゼを用いた転写によってシアニン 3-CTP ラベル化された cRNA を作製した。シアニン 3-CTP ラベル化した cRNA を Gene Expression ハイブリダイゼーションキット (Agilent Technologies) を用いてフラグメント化し, 続いて SurePrint G3 ラット遺伝子発現マイクロアレイ 8x60K バージョン 2.0 (Agilent Technologies) に 65°C で 17 時間ハイブリダイズした。マイクロアレイスライドを洗浄して乾燥させた後, SureScan マイクロアレイスキャナ G2600D (Agilent Technologies) を用いて画像を取得した。マイクロアレイのイメージ画像を Feature Extraction ソフトウェアバージョン 11.5 (Agilent Technologies) によって解析した。遺伝子機能の予測について GeneMANIA (<http://www.genemania.org/>) を用いた [38]。マイクロアレイデータを the Gene Expression Omnibus database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) に受入番号 : GSE84294 で寄託した。

リアルタイム RT-PCR

皮膚試料からの総 RNA を TRIzol 試薬 (Thermo Scientific) によって抽出した後, RNeasy Mini キットを用いて精製した。PrimeScript 逆転写反応キット (タカラバイオ, 滋賀) を用いて精製した RNA を cDNA に変換した。SYBR premix Ex Taq II (Tli RNaseH Plus) (タカラバイオ) 及び遺伝子特異的プライマー (表 10)

を用いて 7500 リアルタイム PCR システム (Thermo Scientific) によってリアルタイム PCR を行った.

統計解析

2つのグループ間の比較を Wilcoxon rank sum test または Student's *t*-test によって行った. SAS v9.4 ソフトウェア (SAS Institute, Cary, NC) を用いて統計解析を行った.

第二章 Sms2 欠損マウスにおけるイミキモド誘発乾癬様皮膚炎の 軽減

第一節 背景

乾癬は皮膚に銀白色の鱗屑を伴う盛り上がった紅斑や落屑を臨床的特徴にもつ炎症性皮膚疾患である[68-70]。ヨーロッパや北米における乾癬の罹患率は約2%と見積もられているが、サモア（0%）や Arctic-Kasach'ye（11.8%）などのように地域差があり、米国では黒人（0.5~0.7%）とその他（1.4~4.6%）において民族差も認められる[68-70]。また、罹患率は男女でほぼ同じであり、1歳（0.12%）から18歳（1.2%）のように年齢に合わせて増加する[70]。乾癬患者の皮疹部では表皮ケラチノサイトの過剰増殖による過角化や錯角化、顆粒層の消失、表皮突起の延長を伴った表皮の肥厚、真皮における血管の拡張や新生、表皮及び真皮における免疫細胞の浸潤が組織学的特徴として観察される[68-70]。乾癬の治療薬として、TNF- α 、IL-12/23、IL-17Aを阻害する生物学的製剤の有効性が示されている[71-73]。そのため、これらサイトカインは乾癬病態進展に重要な役割をもつ。各種疫学研究において中等度及び重度の乾癬患者は肥満、糖尿病、高脂血症のような代謝性疾患及び心筋梗塞のような心血管疾患との間に正の関連をもつことが示されている[74-77]。さらに、肥満を伴う乾癬患者において、食事制限や運動をした介入試験によって体重抑制が乾癬病態における重症度評価の指標の一つである psoriasis area severity index (PASI) スコアの改善に効果的であることが示されている[78]。また、乾癬患者は健常人に比べて血清中のトリグリセリド、コレステロール、低密度リポタンパク質レベルが高い[79]。興味深いことに、重度乾癬患者の皮疹部においてセラミド（狭義）の顕著な増加や一部スフィンゴミエリン分子種の増加、血清中においてセラミドやスフィンゴミエリンの一部分子種の増加が認められている[80]。

イミキモド (Imiquimod: IMQ) は Toll 様受容体 7 (Toll-like receptor 7: TLR7, ヒトでは TLR7/8) に対するアゴニストである[81]。IMQ は乾癬患者の病態を増悪させることや汎用性の高さから、乾癬動物モデル作製に使用されている[82]。レプチン受容体を欠損 (*db/db*) した遺伝性肥満マウス及び高脂肪食 (high fat diet: HFD) を負荷した食餌性肥満マウスでは、IMQ 誘発性の乾癬様皮膚症状が体重増加とともに増悪する[83]。一方、レプチンを欠損 (*ob/ob*) した遺伝性肥満マウスでは、体重は WT マウスに比べて増加するが、IMQ による乾癬様皮膚症状が軽減する[84]。脂質との関係が深い肥満及び高脂血症と乾癬の関連が認識されているが、そのメカニズム詳細は未だ研究途上である。

皮膚の脂質は皮膚バリア機能の維持に不可欠である。脂質ラメラと呼ばれる脂質の多層構造体や CLE を形成する結合型セラミドが表皮の最外層である角質層に存在し、皮膚バリアの形成に必要である[2]。脂質ラメラは主にセラミド約

50%, コレステロール約 25%, 脂肪酸約 15%からなり[1,3], CLE は角質細胞と脂質ラメラをつなぐ足場となることによってバリア構造を維持する機能をもつ[2,4]. アシルセラミドを含む脂質ラメラのセラミドは主にグルコシルセラミド, 一部はスフィンゴミエリンから分解されて産生される[2,3,85]. グルコシルセラミドからセラミドに分解する β -グルコセレブロシダーゼを遺伝的に欠損しているゴーシェ病患者は魚鱗癬様の皮膚症状を示す[86]. β -グルコセレブロシダーゼを欠損しているマウスも魚鱗癬様の乾燥した皮膚症状を示し, 過角化が認められる[86]. 一方, スフィンゴミエリンからセラミドへ分解する酸性スリンゴミエリナーゼを遺伝的に欠損しているニーマンピック病患者は皮膚バリア維持機能の低下を示す[87]. スフィンゴミエリナーゼの阻害剤を塗布したヘアレスマウスも皮膚バリア維持機能の低下を示す[87]. このように, スフィンゴミエリンも皮膚の恒常性維持の一端を担っている.

スフィンゴミエリンは細胞膜を構成するスフィンゴ脂質の中で最も豊富に存在し, SMS によってセラミドから産生される[88,89]. SMS には 2 種類のサブタイプ (SMS1, SMS2) が存在する[88]. SMS1 はゴルジ膜に局在し, 大部分のスフィンゴミエリン合成を担う[88,89]. SMS2 はゴルジ膜と細胞膜に局在しており, 細胞膜におけるスフィンゴミエリン量を維持し, 受容体や細胞接着分子のプラットフォームである脂質マイクロドメインの構成脂質としてのスフィンゴミエリンを供給する[88,90]. 哺乳類には SMS1/2 と相同性を示す SMSr も存在するが, スフィンゴミエリン合成活性は示さない[91]. *Sms1* 欠損マウスは中程度の新生致死率, 体重減少, 脂肪組織量の低下などを示し, *Sms1* 欠損による生体への影響は大きい[92]. 一方, *Sms2* 欠損マウスは明確な表現型の異常を示さない[90,93,94]. ただし, *Sms2* 欠損マウスは WT マウスに比べて HFD 摂取による体重増加, 脂肪肝, 糖代謝悪化の抑制を示す[93,95]. また, 肝特異的 *Sms2* トランスジェニックマウスは HFD 摂取による脂肪肝の悪化を示す[96]. それに対し, HFD を摂取した肝特異的 *Sms2* 欠損マウスは体重増加, 糖代謝, インスリン感受性に変化を示さない[97]. さらに, *Sms2* 欠損マウス由来のマクロファージではリポ多糖 (lipopolysaccharide: LPS) 刺激による核内因子 κ B (nuclear factor- κ B: NF- κ B) の活性化が抑えられている[94]. 最近の報告によると, *Sms2* 欠損マウスでは WT マウスに比べてデキストラン硫酸ナトリウム (dextran sulfate sodium: DSS) によって誘発される大腸炎が抑制されるが, *Sms2* 欠損マウス由来の骨髄を移植した WT マウスではコントロールマウス (WT マウスの由来の骨髄を移植した WT マウス) に比べて大腸炎が抑制されない[98]. さらに, WT マウス由来の骨髄を移植した *Sms2* 欠損マウスにおいて大腸炎が抑制される[98]. DSS 誘発大腸炎モデルでは炎症発症に T 細胞や B 細胞が必要ではないため, これらは T 細胞や B 細胞を除いた *Sms2* 欠損マウスの骨髄由来免疫細胞が大腸炎抑制に対し

て関与しないことを示している。このように組織や細胞における **SMS2** が各モデル動物の表現型に及ぼす影響には差があるが、脂質／糖代謝や炎症への関与は明らかである。

皮膚バリア機能の維持におけるスフィンゴ脂質の重要性及び *Sms2* 欠損が炎症や脂質／糖代謝異常に対して抑制的に働くことを考慮すると、乾癬病態における **SMS2** の関与が予想されるが、これまでに報告されていない。そこで、本研究では *Sms2* 欠損マウスに **IMQ** 誘発乾癬様皮膚炎を発症させ、スフィンゴ脂質代謝の観点から皮膚病態を調べることとした。

第二節 結果

Sms2 欠損マウスにおける IMQ 誘発乾癬様皮膚症状の軽減

Cers3 や *Cers4* を欠損したマウスは皮膚バリア障害や脱毛を示す[42,99]。しかし、皮膚においてセラミド供給源となるスフィンゴミエリンを合成する SMS (*Sms1*, *Sms2*) を欠損したマウスの皮膚症状に関する報告はない。通常飼育条件下において *Sms2* 欠損マウスは明確な皮膚症状を示さない (図 14)。SMS2 は肥満を含む脂質/糖代謝や炎症の調節に関与する[93-98]。乾癬は肥満, 糖尿病, 高脂血症などの代謝性疾患と関連をもつ炎症性皮膚疾患である[74-76,78,79]。しかし, SMS2 と乾癬の関係を調べた報告はない。そこで, SMS2, 乾癬, 肥満の3者間の影響を調べるため, WT 及び *Sms2* 欠損マウスに通常食 (normal diet: ND) 及び HFD を与え, 背部に IMQ を塗布して乾癬様皮膚炎を誘発した。HFD 摂取によって WT マウスの体重が増加したが, 過去の報告と同様に *Sms2* 欠損マウスの体重増加は WT マウスに比べて有意に抑制された (図 15) [93,95,97]。WT 及び *Sms2* 欠損マウスの背部への IMQ 塗布によって乾癬の主症状である紅斑及び表皮肥厚が認められた (図 16A 及び C)。紅斑スコアは WT マウスにおいて IMQ 塗布によって増加し, HFD 摂取によってさらに増悪し, HFD 摂取群の *Sms2* 欠損マウスにおいて WT マウスに比べて有意に抑制された (図 16B)。ND 摂取群の *Sms2* 欠損マウスにおける紅斑スコアは WT マウスに比べて低値を示したが, 有意ではなかった (図 16B)。表皮肥厚は WT マウスにおいて IMQ 塗布によって増加し, HFD 摂取によってさらに増悪し, ND 及び HFD を摂取した *Sms2* 欠損マウスにおいて WT マウスに比べて有意に軽減された (図 16D)。経皮水分蒸散量 (TEWL) は表皮からの水分蒸散量を示す値であり, バリア機能の破綻に伴い上昇することから, 皮膚バリア機能の指標として利用される。TEWL は WT マウスにおいて IMQ 塗布によって増加し, HFD 摂取によってさらに増悪し, HFD 摂取群の *Sms2* 欠損マウスにおいて WT マウスに比べて有意に軽減された (図 16E)。ND 摂取群の *Sms2* 欠損マウスにおける TEWL は WT マウスに比べて低値を示したが, 有意ではなかった (図 16E)。HFD 摂取群では紅斑, 表皮肥厚, TEWL が *Sms2* 欠損マウスにおいて WT マウスに比べて有意に軽減されたが, ND 摂取群では有意な軽減は表皮肥厚のみであった。

背部乾癬モデルでは除毛後の発毛が IMQ の塗布に影響し, 乾癬様皮膚症状のばらつきの要因になっている可能性が否定できないため, 除毛の必要のない耳介に乾癬様皮膚炎を誘発し, *Sms2* 欠損による影響を ND 摂取マウスの耳介浮腫によって評価した。IMQ によって誘発した耳介浮腫は *Sms2* 欠損マウスにおいて WT マウスに比べて IMQ 塗布開始後 4, 6 日後に有意に軽減された (図 16F)。また, IMQ 塗布によって増加した耳介浮腫曲線下面積も *Sms2* 欠損マウスにおいて WT マウスに比べて有意に抑制された (図 16G)。このように, WT マウスの

乾癬様症状は HFD 摂取によって増悪したが, HFD を摂取した *Sms2* 欠損マウスの方が WT マウスよりも軽かった. 同様に, WT マウスの体重は HFD 摂取によって増加したが, HFD を摂取した *Sms2* 欠損マウスの方が WT マウスに比べて体重増加が抑制された. これは乾癬の重症度と肥満の間に正の関連がある報告と一致した[74-76]. しかし, 乾癬様症状は体重差のある HFD 摂取条件だけでなく, 体重差のない ND 摂取条件においても *Sms2* 欠損マウスにおいて軽減された. このことから, SMS2 が肥満以外の要因でも乾癬病態に関与することが示唆された.

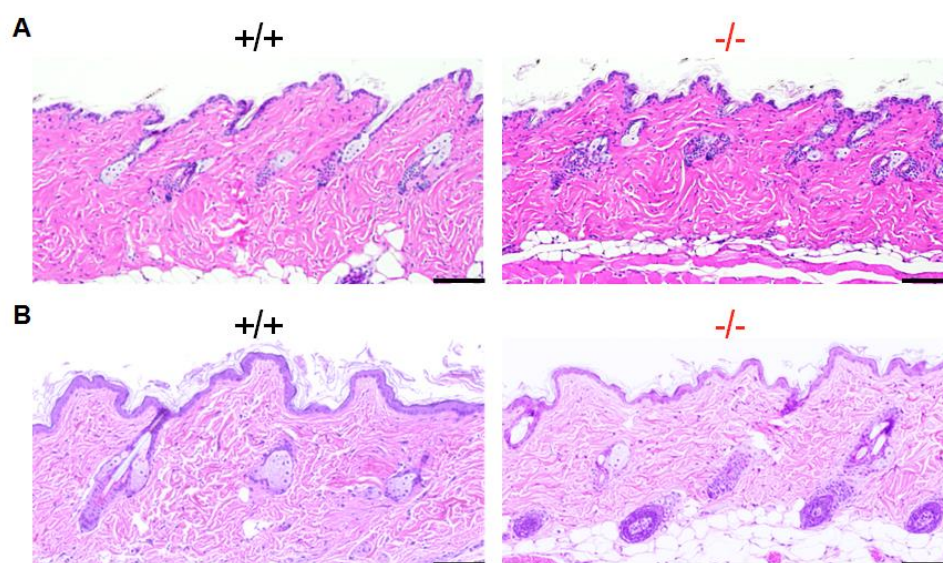


図 14 *Sms2* 欠損マウスは明確な皮膚症状を示さない.

10 週齢 (A) 及び 62–64 週齢 (B) の WT 及び *Sms2* 欠損マウスの背部の皮膚を HE によって染色した. スケールバーは 100 μm .

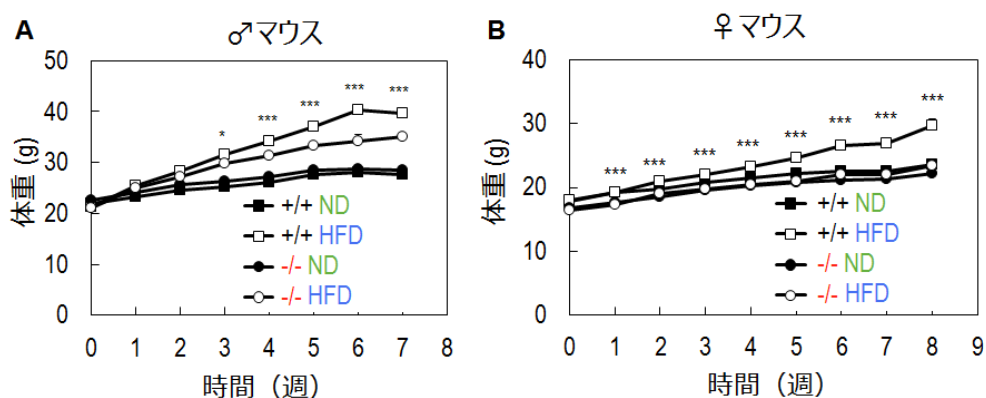


図 15 *Sms2* 欠損マウスは食餌性肥満に対して抵抗性を示す.

(A, B) WT 及び *Sms2* 欠損の雄 (A) 及び雌 (B) マウスに ND 及び HFD を与え, 週 1 回体重を測定した ($n=16-17$, 雄; $n=12-18$, 雌). 値は平均値 \pm SEM として表している. 統計学的な有意差は $*P < 0.05$, $***P < 0.001$ (Tukey-Kramer test) として示している.

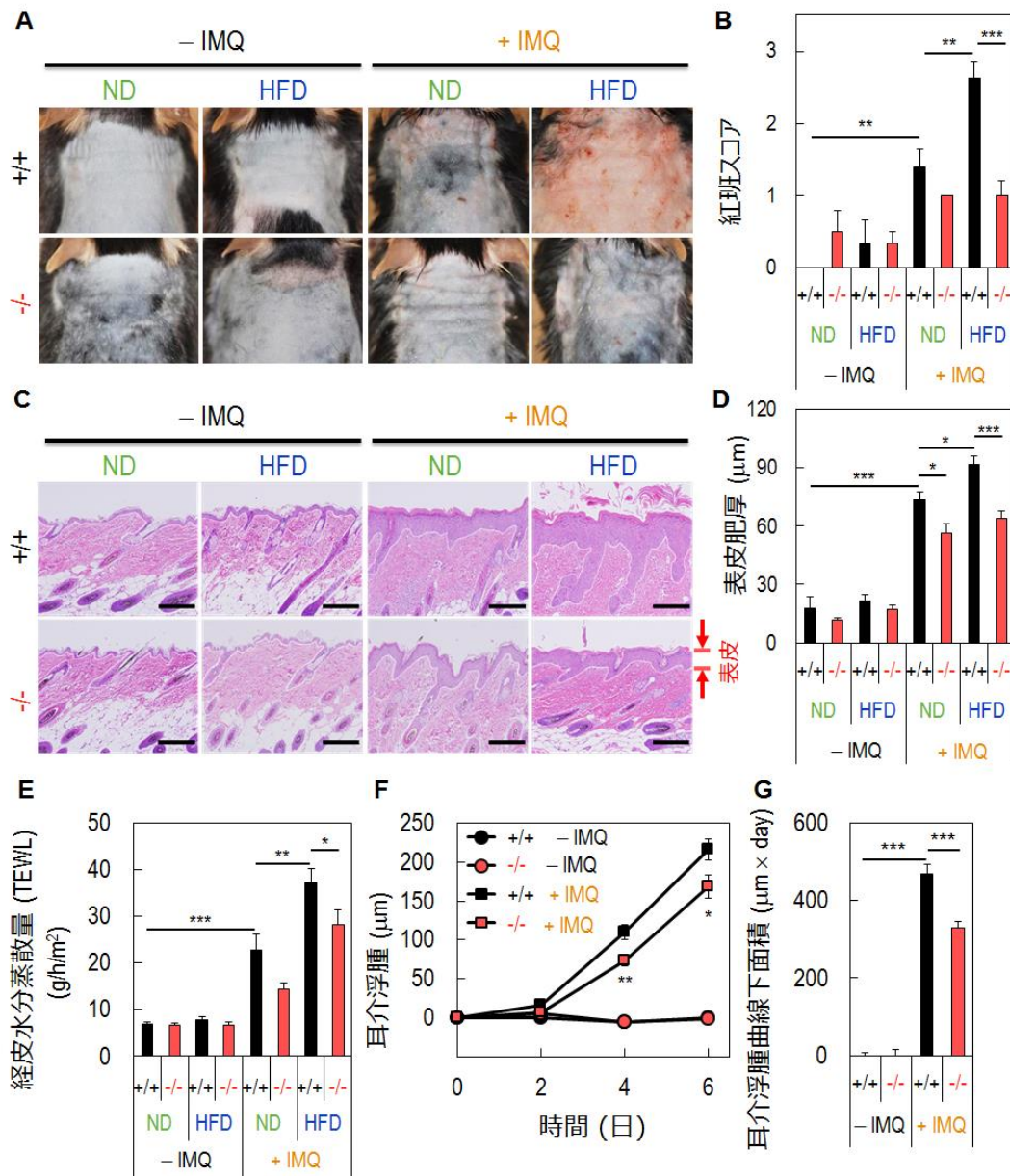


図 16 ND 及び HFD を摂取した *Sms2* 欠損マウスにおける IMQ 誘発乾癬様症状の軽減.

(A-E) ND 及び HFD を与えた WT 及び *Sms2* 欠損マウスの除毛した背部に IMQ クリームを塗布した. WT 及び *Sms2* 欠損マウス背部における代表的な写真 (A, 雄), 紅班スコア (B, $n=3-5$, 雄), 皮膚切片の代表的な HE 染色像 (C, 雄), 表皮肥厚 (D, $n=3-5$, 雄), TEWL (E, $n=6-9$, 雌). (F, G) ND を与えた WT 及び *Sms2* 欠損マウスの耳介に IMQ クリームを塗布した. WT 及び *Sms2* 欠損マウスの耳介浮腫 (F, $n=6-12$, 雌), 耳介浮腫曲線下面積 (G, $n=6-12$, 雌). 耳介浮腫の値は IMQ 塗布前の耳介の厚さと各日の厚さの差を平均値 \pm SEM として表している. 白色のドット線は真皮と表皮の境界線, スケールバー = $100 \mu\text{m}$, 値は平均値 \pm SEM, 統計学的な有意差は $*P < 0.05$, $**P < 0.01$, $***P < 0.001$ (Tukey-Kramer test) として示している.

HFD を摂取した *Sms2* 欠損マウスにおける IMQ 誘発炎症応答の軽減

IMQ によって誘発した乾癬様症状が *Sms2* 欠損マウスにおいて軽減された結果の分子機構を明らかにするため、背部乾癬モデルにおける炎症促進性サイトカインの発現量を調べた。IL-17A, IL-17F, IL-22 を産生する 17 型ヘルパーT (type 17 helper T: Th17) 細胞は乾癬の病態進展に大きく貢献する[69,70,100]。IL-23 は IL-23p19 と IL-12p40 のヘテロ二量体によって形成され、Th17 細胞の増殖や維持に必要である[100,101]。IL-17 は IL-17A から IL-17F まで 6 種のメンバーが存在し、主なメンバーは IL-17A と IL-17F である[72,102,103]。IL-17F は IL-17A に比べて炎症誘導作用が弱い[72,102,103]。IL-17C はケラチノサイトを含む上皮細胞から産生され、乾癬様皮膚炎の促進に関係がある[104,105]。*Il17a*, *Il17c*, IL-23p19 をコードする *Il23a* の発現は WT マウスにおいて IMQ 塗布によって増加し、HFD 摂取によってさらに増加し、HFD 摂取群の *Sms2* 欠損マウスにおいて WT マウスに比べて有意に抑制された (図 17A)。*S100a8* 及び *S100a9* はホモあるいはヘテロ二量体を形成し、乾癬患者の表皮において遺伝子及びタンパク質の発現量が増加する[60,106]。抗菌ペプチドであるβ-ディフェンシン-2 及びβ-ディフェンシン-3 (*Defb3*) も乾癬患者の表皮において遺伝子発現量が増加する[106]。*S100a8* 及び *S100a9* の発現量は *Il17a*, *Il17c*, *Il23a* と同様に WT マウスにおいて IMQ 塗布によって増加し、HFD 摂取によってさらに増加し、HFD 摂取群の *Sms2* 欠損マウスにおいて WT マウスに比べて有意に減少した (図 17A)。*Defb3* の発現量は WT マウスにおいて IMQ 塗布によって増加し、HFD 摂取によってさらに増加したが、HFD 摂取群の *Sms2* 欠損マウスでは WT マウスに比べて有意ではないが低値を示した (図 17A)。IMQ は TLR7 経路と独立してインフラマソームを活性化し、IL-1βの産生を促進すると考えられている[81]。IL-1βの発現量は IMQ 塗布によって増加し、HFD 摂取によってさらに増加し、HFD 摂取群の *Sms2* 欠損マウスにおいて WT マウスに比べて有意に減少した (図 17B)。このように、炎症促進性サイトカインの発現量の変化から、IMQ によって背部に誘発した乾癬様症状に関連した炎症応答は HFD 摂取群の *Sms2* 欠損マウスにおいて有意に抑制されていることが明らかとなった。

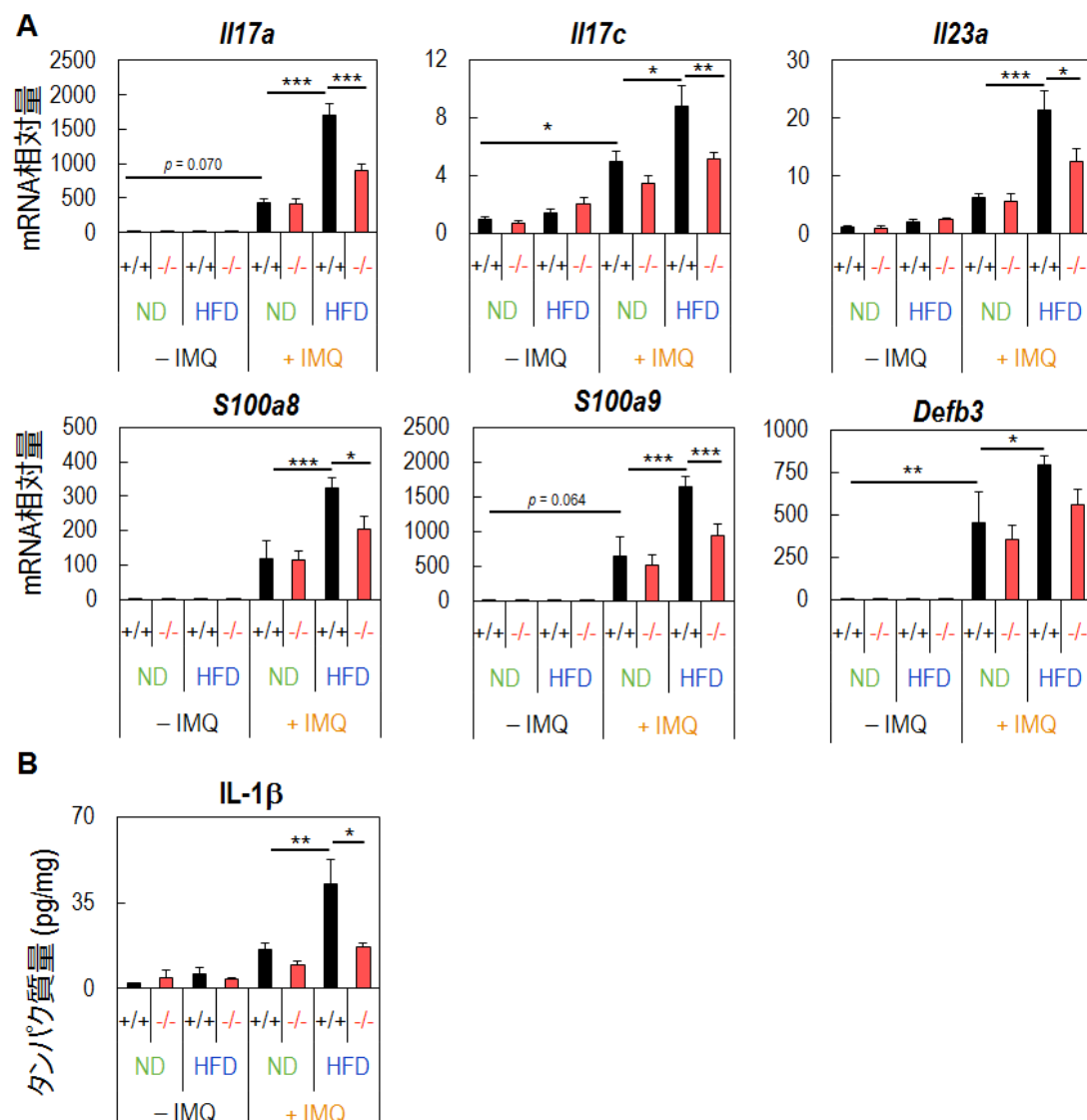


図 17 HFD を摂取した *Sms2* 欠損マウスにおける IMQ 誘発炎症応答の抑制.

ND 及び HFD を与えた WT 及び *Sms2* 欠損マウスの背部皮膚から総 RNA 及び総タンパク質の抽出液を調製後、リアルタイム RT-PCR (A) 及び酵素免疫測定法 (enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA, B) による解析を行った. (A) 値は *Hprt1* に対する各遺伝子の発現量を算出し、ND 摂取 WT マウスの -IMQ 群に対する変化を平均値±SEM として表している (n=6-9, 雌). (B) 値は平均値±SEM として表している (n=3-5, 雄). 統計学的な有意差は* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ (Tukey-Kramer test) として示している.

ND を摂取した *Sms2* 欠損マウスにおける IMQ 誘発炎症応答の抑制

次に、ND を摂取した耳介乾癬モデルにおける炎症性サイトカインの発現を調べた. 抗 IL-17A 抗体のセクキヌマブやイキセキズマブ及び抗 TNF- α 抗体であるインフリキシマブやアダリムマブといった生物学的製剤は乾癬病態に対して有効性が示されている[70-72]. IMQ 塗布によって増加した耳介の IL-17A 及び

TNF- α の量は *Sms2* 欠損マウスにおいて WT マウスに比べて有意に減少した (図 18). IMQ によって背部または耳介に誘発した炎症応答は HFD を摂取した *Sms2* 欠損マウスだけでなく, ND を摂取した *Sms2* 欠損マウスにおいても抑制された. このように, 体重差のある HFD 摂取条件だけでなく, 体重差のない ND 摂取条件においても *Sms2* 欠損マウスにおいて炎症応答が抑制された.

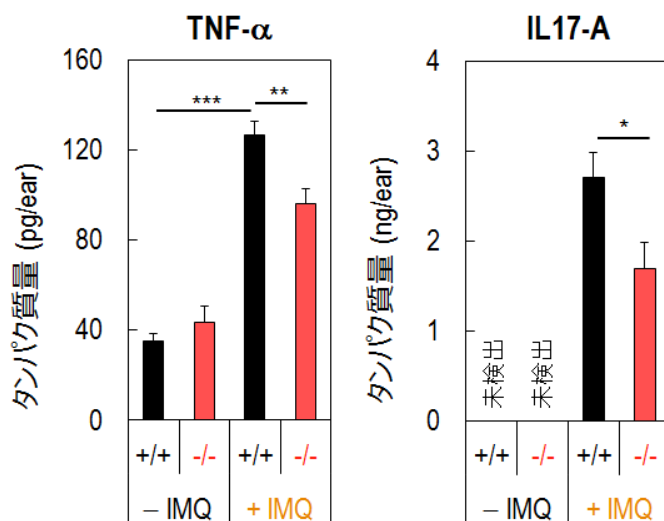


図 18 ND を摂取した *Sms2* 欠損マウスにおける IMQ 誘発炎症応答の抑制.

ND を与えた WT 及び *Sms2* 欠損マウスの耳介から総タンパク質抽出液を調製後, ELISA によって測定した (n=6-12, 雌). 値は平均値 \pm SEM として表している. 統計学的な有意差は* P <0.05, ** P <0.01, *** P <0.001 (2 群間, Student's *t*-test; 4 群間, Tukey-Kramer test) として示している.

Sms2 欠損マウスの血清におけるスフィンゴミエリンの減少

Sms2 欠損によるスフィンゴ脂質への影響を調べるため, HFD 及び ND を与えた背部乾癬モデルにおける表皮及び血清中のアシルセラミド, セラミド, スフィンゴミエリン, モノヘキソシルセラミド (グルコシルセラミド及びガラクトシルセラミド) の量を測定した. アシルセラミドは皮膚バリア形成に重要なセラミドクラスである. 表皮のアシルセラミド量は IMQ 塗布によって増加し, HFD 摂取によってさらに増加し, HFD 摂取群の *Sms2* 欠損マウスにおいて WT マウスに比べて有意に減少した (図 19A). 一方, SMS2 の基質であるセラミド, 産物であるスフィンゴミエリン, モノヘキソシルセラミドの量は表皮において乾癬様症状の悪化と一致して一部増加したが, *Sms2* 欠損による明らかな変化は認められなかった (図 19A). WT マウスでは HFD 摂取群のアシルセラミド及びセラミドが ND 群に比べ, 乾癬様症状の増悪と一致して増加した. 皮膚における SMS の遺伝子発現を調べたところ, *Sms2* の発現量が *Sms1* に比べて低かった (図 20A).

症状悪化に伴いスフィンゴ脂質は増加したが、*Sms2* 欠損によってスフィンゴミエリン量に変化がなかったため、表皮のスフィンゴミエリン合成に対する SMS の寄与は SMS2 より SMS1 の方が優位であると考えられる。

背部乾癬モデルの血清では、IMQ 塗布の有無、ND と HFD の違いに関わらず SMS2 の基質であるセラミド量が *Sms2* 欠損マウスにおいて WT マウスに比べて増加し、産物であるスフィンゴミエリン量が減少した (図 19B)。また、モノヘキソシルセラミド量は *Sms2* 欠損マウスにおいて WT マウスに比べて増加した (図 19B)。モノヘキソシルセラミドの増加は *Sms2* 欠損によってグルコシルセラミド及びガラクトシルセラミドの前駆体でもあるセラミドの蓄積に応じた変化であると考えられる。*Sms2* 欠損マウス血清中のスフィンゴ脂質の変化はこれまでに報告された血漿中の変化と一致した[95,96,107]。肝臓における SMS の遺伝子発現は *Sms2* の発現量が *Sms1* に比べて多かった (図 20B)。このため、血清中のスフィンゴ脂質量の変化は肝臓における脂質合成の影響が大きいと考えられる。

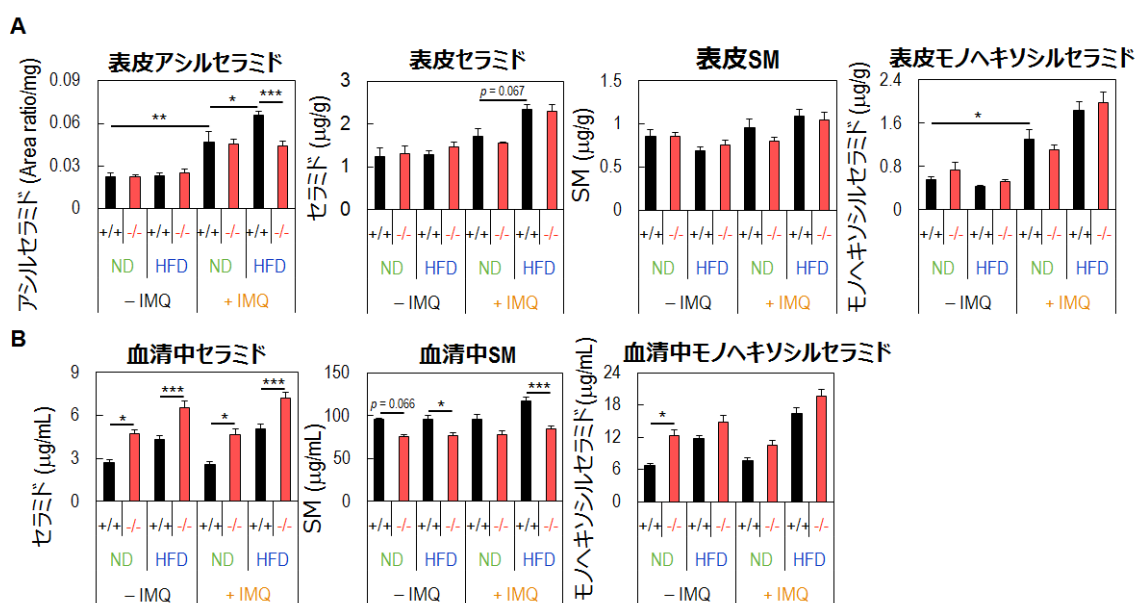


図 19 *Sms2* 欠損マウス表皮及び血清中におけるスフィンゴ脂質の変化。

WT 及び *Sms2* 欠損マウスより調製した表皮及び血清から脂質を抽出した後、LC/MS によって測定した (n=6-9)。(A) 値は各分子種のピーク面積比 (アシルセラミド) 及び各分子種の定量値 (セラミド, スフィンゴミエリン, モノヘキソシルセラミド) を合計し, 平均値±SEM として表している。(B) 値は各分子種の定量値 (セラミド, スフィンゴミエリン, モノヘキソシルセラミド) を合計し, 平均値±SEM として表している。統計学的な有意差は* $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ (Tukey-Kramer test) として示している。SM, sphingomyelin

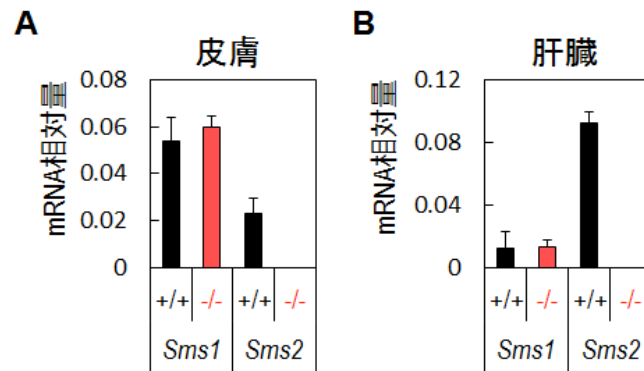


図 20 皮膚及び肝臓における *Sms1* 及び *Sms2* の遺伝子発現量比較.

ND を与えた WT 及び *Sms2* 欠損マウスの背部皮膚 (A) 及び肝臓 (B) から総 RNA を精製後, リアルタイム RT-PCR を行った. (A) 値は *Hprt1* に対する各遺伝子の発現量を算出し, 平均値±SEM として表している (n=6, 雌, 16-17 週齢). (B) 値はβ-アクチン (*Actb*) に対する各遺伝子の発現量を算出し, 平均値±SEM として表している (n=3, 雄, 5 週齢).

IMQ によって刺激した *Sms2* 欠損マウス由来の脾臓細胞における TNF- α 分泌の減少

乾癬はT細胞性免疫に基づいた全身性の炎症性疾患であると考えられている。IMQ を用いた乾癬モデルは塗布した皮膚局所だけでなく、脾臓にもその影響が観察され、乾癬の全身性作用を一部反映した有用な動物モデルである[82]。 *Sms2* 欠損マウスにおける炎症応答は IMQ を塗布した皮膚局所だけでなく、全身でも抑制されていると考え、主要な二次リンパ組織であり、免疫細胞が多く集まる脾臓の細胞を用いて炎症応答を評価することとした。耳介乾癬モデルにおいて *Sms2* 欠損によって減少した IL-17A 及び TNF- α の分泌によって炎症応答を調べた。IL-17A はIMQ によって刺激した脾臓細胞の培養上清から検出されなかった。一方、TNF- α の分泌量は IMQ 刺激によって上昇し、*Sms2* 欠損マウス由来の脾臓細胞では WT マウス由来の脾臓細胞に比べて有意に減少した (図 21)。このことから、IMQ に対する免疫細胞の TNF- α 分泌低下が *Sms2* 欠損による炎症応答の抑制に一部寄与することが示唆された。

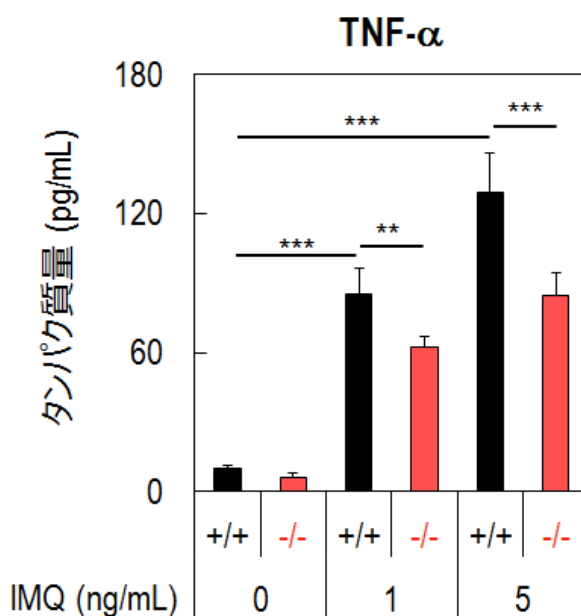


図 21 IMQ によって刺激した *Sms2* 欠損マウス由来の脾臓細胞における TNF- α 分泌の減少。

WT 及び *Sms2* 欠損マウスから採取した脾臓細胞を IMQ (1, 5 ng/mL) によって刺激し、FCS 存在下で培養した。培養 48 時間後に細胞上清の TNF- α を ELISA によって測定した (n=6, 雌)。値は平均値 \pm SEM として表している。統計学的な有意差は** P <0.01, *** P <0.001 (Tukey test) として示している。

Sms2 欠損マウス由来の血清よりも Sms2 欠損マウス由来の脾臓細胞の方が IMQ 刺激による TNF- α 分泌の減少に対する影響が大きい

Sms2 欠損マウス由来マクロファージにおける LPS 刺激に対する応答性の低下, *Sms2* をノックダウンした HEK 293 細胞における TNF- α 刺激に対する応答性の低下, *Sms1* 及び *Sms2* の両遺伝子を欠損したマウス胚繊維芽細胞における CXCL12 刺激に対する応答性の亢進はスフィンゴミエリン量の低下による細胞膜の構造変化によって引き起こされていると考えられている[94,108]. また, *Sms2* 欠損マウスの表皮においてスフィンゴミエリン量は変化しなかったが, 血清中のスフィンゴミエリン量が WT マウスに比べて減少し, セラミド及びモノヘキソシルセラミド量が増加した (図 19B). そこで, 炎症応答に対する血清の影響を調べるため, *Sms2* 欠損及び WT マウス由来の脾臓細胞に両マウス由来の血清と IMQ を添加し, TNF- α の分泌を調べた. TNF- α の分泌は *Sms2* 欠損マウス由来の脾臓細胞を FCS で培養した場合 (図 21) と同様に, WT 及び *Sms2* 欠損マウス由来の両血清で培養した場合においても, WT マウス由来の脾臓細胞に比べて有意に減少した (図 22). また, *Sms2* 欠損マウス由来の血清で培養した WT 及び *Sms2* 欠損マウス由来の両脾臓細胞において, WT マウス由来の血清で培養した場合に比べて IMQ 刺激による TNF- α の分泌が有意に減少した (図 22). しかし, *Sms2* 欠損マウス由来の脾臓細胞の方が TNF- α の減少幅が大きく, *Sms2* 欠損マウス由来の血清による TNF- α 分泌の抑制に比べて顕著であった (図 22). 炎症応答に対する *Sms2* 欠損の影響は脾臓細胞及び血清の両方で認められたが, 細胞側の影響が大きく, 血清の影響は限定的であると考えられる.

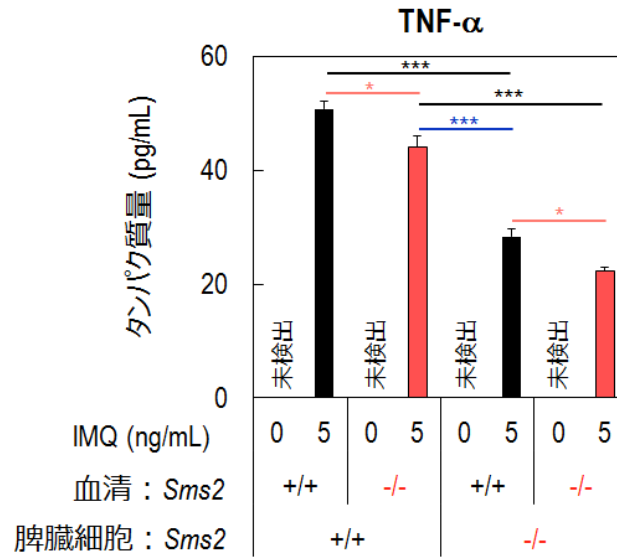


図 22 *Sms2* 欠損マウス由来の血清よりも *Sms2* 欠損マウス由来の脾臓細胞の方が IMQ 刺激による TNF- α 分泌の減少に対する影響が大きい。

WT 及び *Sms2* 欠損マウスから採取した脾臓細胞を WT 及び *Sms2* 欠損マウス由来の血清と IMQ (5 ng/mL) 添加して培養した。48 時間後に培養上清を回収し, TNF- α を ELISA によって測定した (n=6-9, 雌)。値は平均値 \pm SEM として表している。統計学的な有意差は* P <0.05, *** P <0.001 (Tukey test) として示している。

第三節 考察

SMS2 が乾癬病態に与える影響を解明するため、WT 及び *Sms2* 欠損マウスに IMQ を局所的に塗布して評価した結果、*Sms2* 欠損マウスにおける乾癬様症状は体重差のある HFD 摂取条件だけでなく、体重差のない ND 摂取条件においても軽減されることが明らかとなった。これまで *Sms2* 欠損マウスにおいて DSS 誘発の大腸炎や LPS 誘発の肺障害が抑制されていることが報告されている[98,109]。また、*Sms2* 欠損マウス由来骨髄を移植した *Ldlr* 欠損マウス及び *Sms2/Apoe* 二重欠損マウスにおいてアテローム性動脈硬化が抑制された[110,111]。これらの解析では、*Sms2* 欠損マウスにおいて DSS や LPS によって誘発される白血球の浸潤や TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 などの炎症促進性サイトカインの分泌がコントロールマウスに比べて減少していた[94,109,110]。IMQ による耳介乾癬モデルにおいて、*Sms2* 欠損マウスでは TNF- α や IL-17A などの炎症促進性サイトカインが WT マウスに比べて減少していた (図 18)。さらに、*Sms2* 欠損マウス由来の脾臓細胞では IMQ 刺激による TNF- α の分泌が WT マウスに比べて減少していた (IL-17A は未検出) (図 21)。TNF- α や IL-17A の阻害薬は乾癬病態に対して治療効果があることが示されている[71,72]。また、IL-17/IL-23 系は乾癬患者と同様に IMQ によって誘発した乾癬マウスモデルにおいても病態進展に対して重要であることが示されている[82]。そのため、*Sms2* 欠損マウスにおける TNF- α や IL-17A のような炎症促進性サイトカインの分泌抑制が IMQ 誘発乾癬様皮膚炎の軽減に一部寄与していると考えられる。

アシルセラミドは皮膚バリア形成に重要な表皮特異的セラミドクラスである[2,3]。アシルセラミド量は乾癬様症状の悪化に合わせて増加した (図 19A)。また、セラミド (狭義) 量も WT マウスにおいて HFD 摂取による症状悪化に合わせて増加した (図 19A)。これは乾癬患者の皮疹部の角質層においてセラミド (狭義) が増加する報告と同様の変化である[80]。アシルセラミド及びセラミド (狭義) は顆粒層から角質層に多く存在するため、角質層の肥厚に伴って増加したと考えられる。表皮のスフィンゴミエリン量については *Sms2* 欠損による明確な変化が認められなかった (図 19A)。また、肝臓における *Sms2* の発現は *Sms1* に比べて高いのに対し、皮膚における *Sms2* の発現は *Sms1* に比べて低かった (図 20)。そのため、表皮の主な細胞であるケラチノサイトにおいてスフィンゴミエリン産生に対する SMS2 の寄与が小さく、SMS1 の寄与が大きいことが推測される。ただし、SMS2 は細胞膜における脂質マイクロドメインのスフィンゴミエリンを維持しているため、局所的なスフィンゴミエリンの変化がシグナル伝達や細胞接着に影響を与える可能性は否定できない。

WT 及び *Sms2* 欠損マウス由来の脾臓細胞に対してそれぞれ由来の血清で培養した *in vitro* 実験では、*Sms2* 欠損細胞からの TNF- α 分泌の方が *Sms2* 欠損マウス

由来血清に比べて抑制された (図 22). CXCL12 刺激による細胞遊走, インスリン刺激によるセリン/スレオニンキナーゼである AKT のリン酸化, peroxisome proliferator-activated receptor γ 2 の遺伝子発現に対して, 外部から添加したスフィンゴミエリンやセラミドの影響が示されている[95,96,108]. しかし, 本結果から *Sms2* 欠損マウスの血清中における脂質を含む何らかの変化がシグナル伝達に与える影響は *Sms2* 欠損細胞の変化による影響に比べると限定的であると考えられる. さらに, *Sms2* 欠損による乾癬様症状の軽減に対して脾臓に含まれる免疫細胞の寄与が考えられる.

IMQ は TLR7 のアゴニスト作用の他, アデノシン受容体のアンタゴニスト作用やインフラマソームの活性化作用を示すことが報告されている[81,112]. TLR7 は主に形質細胞様樹状細胞や B 細胞で発現しており, TLR7 がほとんど検出されない骨髄系樹状細胞やマクロファージにおいては条件によって発現が誘導される[113]. IMQ はケラチノサイトにおいてアデノシン受容体シグナルに干渉すると想定されている[112]. また, インフラマソームの活性化も主に IMQ を塗布したケラチノサイトにおける応答であると考えられている[81]. 主にケラチノサイトからなる表皮では, *Sms2* 欠損によるスフィンゴミエリン量の変化が認められなかった (図 19A). このため, ケラチノサイトにおける *Sms2* 欠損による影響は小さいと予想される. TLR7 はエンドソーム膜上に局在し, リガンド結合性の二量体を形成して活性化する[114]. マウス胚性線維芽細胞では, スフィンゴミエリン量の減少によって CXCR4 の二量体形成が促進されて細胞遊走が亢進すると示されている[108]. マクロファージでは, スフィンゴミエリン量の減少によって TLR4 リガンドの LPS 刺激による NF- κ B の活性化が抑制される[94]. TLR4 や TLR7 はコレステロール認識アミノ酸コンセンサス配列を膜貫通領域近傍の細胞質内領域にもち, コレステロールとの結合が考えられる[115]. ヒトの TLR3 や TLR5 では, スフィンゴ脂質結合様モチーフが膜貫通領域内に報告されている[115]. コレステロールやスフィンゴミエリンは脂質マイクロドメインの主要な構成脂質であるため, これら TLR の脂質マイクロドメインへの局在が考えられる. 脾臓には T 細胞, B 細胞, 樹状細胞, 単球/マクロファージなどの免疫細胞が存在し, TLR7 の発現が考えられる. 各刺激に対して促進的あるいは抑制的であるかの違いがあるが, *Sms2* 欠損によるスフィンゴミエリン量の減少がこれら免疫細胞における脂質マイクロドメイン上の TLR7 の二量体形成に影響し, IMQ に対する応答性を低下させているかもしれない. 乾癬では, T 細胞が主体の獲得免疫系と樹状細胞やマクロファージが主体の自然免疫系が TNF- α , IL-1, インターフェロン γ などを含む種々のサイトカインを介して複雑に相互刺激しながら病態進展に関わると考えられている[68-70]. 炎症促進性サイトカインである TNF- α はマクロファージ, T 細胞や B 細胞を含むリンパ球, ケラチノサイト,

樹状細胞, 内皮細胞など幅広いタイプの細胞から産生される[116]. TLR7 を発現した T 細胞, B 細胞, 樹状細胞, 単球/マクロファージからの TNF- α 分泌量の低下が *Sms2* 欠損マウスにおける減少に反映されたのかもしれない.

横断研究, 症例対照研究など各種疫学研究において体重過多と乾癬の重症度の中に正の関連があることが明らかとなっている[74-76]. また, IMQ によって皮膚炎を誘発させた遺伝性肥満 (*db/db*) マウス及び食餌性肥満マウスにおいて乾癬様症状が増悪している[83]. 一方, レプチンを欠損した遺伝性肥満 (*ob/ob*) マウスでは, IMQ による乾癬様症状が軽減している[84]. これらによってレプチン自体が乾癬様症状の増悪因子として考えられている. また, レプチンと同じくアディポカインの一つであるアディポネクチンは IL-17 の産生を抑えることによって IMQ による乾癬様皮膚炎を抑制している[117]. 本研究では, HFD 摂取によって体重が増加した WT マウスにおいて, IMQ 誘発乾癬様皮膚炎が ND 摂取群に比べて増悪した (図 16 及び 17). さらに, 食餌性肥満に抵抗性を示す *Sms2* 欠損マウスにおいて HFD を摂取した WT マウスに比べて乾癬様皮膚炎の増悪が抑制された (図 16 及び 17). HFD を摂取した *Sms2* 欠損マウスの肝臓では, WT に比べて高いアディポネクチンの遺伝子発現が認められている[93]. HFD を摂取した *Sms2* 欠損マウスでは, 肥満によって低下するアディポネクチンの量が減少せず, 肥満によって増加するレプチンの量が抑えられることが乾癬様皮膚炎の抑制に一部関与しているかもしれない.

食事制限や運動による体重抑制は乾癬症状の改善に効果的であることが示されている[78]. また, 今後上市される IL-23p19 を標的としたグセルクマブの第 III 相試験において, 近年上市された IL-17A を阻害するセクキヌマブと同様にベースライン PASI スコアから 90%以上の減少 (症状改善) を表した PASI 90 の高い達成率が示されている[73]. 本研究による乾癬様皮膚炎と体重増加の両方に抵抗性を示した *Sms2* 欠損マウスの結果は体重過多の乾癬患者における肥満と乾癬病態に対して, SMS2 阻害といった単一阻害での治療の可能性を供する有用な知見となるかもしれない.

本研究では, 体重差のある HFD 摂取条件において *Sms2* 欠損マウスの乾癬様症状が WT マウスに比べて軽減されるだけでなく, 体重差のない ND 摂取条件においても症状が軽減された. また, TNF- α 及び IL-17A の減少が *Sms2* 欠損マウスにおける症状の軽減に関与していることを示した. さらに, 免疫細胞における TNF- α 分泌の減少が *Sms2* 欠損マウスにおける症状の軽減に一部寄与していることを示した. 今後, SMS2 の影響を調べた本研究結果が乾癬と肥満の両方を標的とした治療薬の開発に対して有益な知見となることを期待する.

実験方法

動物

北海道大学医学研究院（札幌）及び塩野義製薬株式会社（大阪）の動物実験委員会によって動物実験計画書が承認された後、機関ガイドラインを順守して動物実験を実施した。自由摂餌，自由摂水，12 時間ごとの明／暗サイクルの一定温度／湿度下で雄及び雌マウスを飼育した。実験前に一週間以上の馴化飼育を行った。*Sms2* 欠損マウスの作製は以前の報告に記載された通りである[93]。C57BL6/N の同じ遺伝的背景をもつマウスを WT のコントロールマウスとした。

IMQ 誘発乾癬様皮膚炎モデルの作製

ND (4.6% fat, CE-2; 日本クレア, 東京) または HFD (34.9% fat, 58Y1; TestDiet, St. Louis, USA) を 7-8 週の週齢から 8-9 週間で与えた WT 及び *Sms2* 欠損マウスの背部に IMQ クリーム (5% ベセルナクリーム; 持田製薬, 東京) を塗布して背部乾癬モデルを作製した。一週間に一度, 体重を測定した。雄または雌マウス背部への IMQ クリーム塗布は以前の報告に従った[118]。ND または HFD 負荷 7-8 週間後にバリカン及び脱毛クリーム (エピラット; クラシエ, 東京) によってマウス背部の毛を除毛した。除毛 4 日後から 62.5 mg の IMQ クリームを 2 日に一度, 計 4 回塗布した。IMQ クリーム最終塗布から 4 時間後以降にイソフルラン (Pfizer, New York, USA) 麻酔下で TEWA meter (TM 120; Courage and Khazaka, Köln, Germany) によって背部の皮膚における TEWL を測定した。

ND を与えた 10-15 週齢の WT 及び *Sms2* 欠損マウスに片耳あたり 25 mg の IMQ クリームを 2 日に一度, 計 4 回, 両耳介の内外両面に塗布して耳介乾癬モデルを作製した。イソフルラン麻酔下でシックネスゲージ (SMD-540; テクロック, 長野) を用いた耳介の厚さ測定によって耳介浮腫を評価した。イソフルラン麻酔下で腹部下大静脈から採血し, 放血及び頸椎脱臼によって屠殺した後に組織を回収した。組織学的解析用の背部皮膚組織を 10% 中性緩衝ホルマリン液に浸潤させた。血清分離用チューブ (フチガミ器械, 京都) に血液を移し, 血液が凝固した後, 1,000 x g, 5 分, 4°C の遠心によって血清と血餅を分離した。採取した血清や組織を液体窒素によって急速凍結し, 解析まで -80°C に保存した。

組織学的解析

皮膚試料を 10% 中性緩衝ホルマリン液で 2 日間固定した後, パラフィンに包埋した。パラフィン包埋した皮膚から 3-4 μm の厚さで切片を作製し, HE 染色を行った[41]。各切片において無作為に選んだ独立 3 視野の値の平均値から表皮の厚さを算出した。

紅班評価

マウスの背部へ IMQ を塗布した後、以下の基準に従って 2 人の研究者の視診によって背部乾癬モデルの紅班を評価した。視診による紅班スコア：0, 紅班なしまたは軽微（紅班面積：0–10%）；1, 軽度（紅班面積：10–50%）；2, 中等度（紅班面積：50–75%）；3, 重度（紅班面積：75–100%） [23]。2 人の研究者が評価したスコアの平均値によって各個体の紅班スコアを算出した。

リアルタイム RT-PCR

第一章に記載の方法に従って各遺伝子特異的なプライマー（表 11）を用いてリアルタイム RT-PCR を実施した。

in vivo サイトカイン応答

凍結下で木槌によって粗く破碎した皮膚試料をプロテアーゼインヒビターカクテル（Thermo Fisher Scientific）含有 T-PER タンパク質抽出試薬（Thermo Fisher Scientific）に浸し、破碎機（Shake Master neo；バイオメディカルサイエンス、東京）を用いてジルコニアビーズによって冷却下で破碎した。破碎した皮膚試料を 10,000 x g で 5 分間遠心して上清を回収した。ELISA キット（R&D Systems, Minneapolis, USA）を用いて添付のプロトコルに従い、皮膚破碎上清中 IL-1 β , IL-17A, TNF- α の濃度を測定した。

LC/MS による脂質解析

皮膚試料をディスパーゼ含有培地（2,000 U/mL のディスパーゼ及び 10% FCS を含む DMEM）に浸し、4°C で 16 時間静置させた後、表皮を分離した。分離した表皮を一晩凍結乾燥（FDU-1100；東京理化工機、東京）した。第一章に記載の方法に従って表皮及び血清中の脂質を解析した（表 12, 13, 14）。

in vitro サイトカイン応答

10–15 週齢の WT 及び *Sms2* 欠損マウスからイソフルラン麻酔下で腹部下大静脈から採血し、放血及び頸椎脱臼によって屠殺した後に脾臓を回収した。培地 [10% FCS, 1% 抗生物質–抗真菌剤溶液（Thermo Fisher Scientific）を含む DMEM] 中で断片化した脾臓をセルストレーナー（70 μ m；Corning, Corning, USA）に通した後、300 x g, 5 分間の遠心によって細胞を沈殿させて回収した。次に、細胞に 2 mL の赤血球溶解バッファー（Thermo Fisher Scientific）を加えて赤血球を破壊した後、10 倍量の培地を添加した。細胞をゆっくりと攪拌した後、セルストレーナー（40 μ m；Corning）に通し、300 x g, 5 分間の遠心によって細胞を沈殿させて回収した。脾臓細胞を 1 x 10⁶ cells/mL で 10% FCS または 5% の WT 及

び *Sms2* 欠損マウス由来血清を含む培地 [1%抗生物質-抗真菌剤溶液を含む Roswell Park Memorial Institute 1640 (和光純薬)] に懸濁後, IMQ (1あるいは5 ng/mL; Sigma-Aldrich) を添加し, 37°C, 5% CO₂ 条件下で 48 時間培養した. ELISA キットを用いて添付のプロトコルに従い, 培養上清中 TNF- α の濃度を測定した.

統計解析

2 群間の比較を Student's *t*-test によって, 多群間の比較を Tukey test または Tukey-Kramer test によって行った. SAS v9.4 ソフトウェアを用いて統計解析を行った.

総括

脂質の組成／代謝変化の観点から角化症（OS 及び乾癬）モデルを用いて病態を調べた結果、以下のことが明らかになった。

第一章

OS モデルラット皮膚の組織学的／生化学的解析により、無疹部が OS 様病態の発症につながる前段階にあると考えられた。さらに、OS モデルラット無疹部を用いた脂質／遺伝子発現の解析により、TRPV3 の機能亢進による細胞内 Ca^{2+} の増加、カルシウム結合タンパク質の遺伝子発現の増加、炎症促進性のケモカイン／サイトカインの遺伝子発現の増加、抗炎症性脂質メディエーターの前駆体である 15-LOX 代謝物の減少を明らかにした。この炎症促進に傾いた状態が OS 病態発症の引き金となる可能性をもつ。今後、OS 治療に対する 15-LOX 代謝物やその誘導体の貢献が期待される[119]。

第二章

Sms2 欠損マウスに対して IMQ による乾癬様皮膚炎を誘発させた結果、体重差のある HFD 摂取条件において症状が軽減されるだけでなく、体重差のない ND 摂取条件においても症状が軽減されることを明らかにした。乾癬モデルの皮膚を用いた遺伝子／タンパク質の発現解析により、TNF- α 及び IL-17A の減少が *Sms2* 欠損マウスでの症状の軽減に寄与していることを示唆した。また、*Sms2* 欠損によるスフィンゴ脂質の変化は表皮ではなく、血清において認められたため、脾臓細胞を用いて IMQ 刺激に対する TNF- α の分泌を調べた結果、免疫細胞における炎症応答の抑制が *Sms2* 欠損マウスにおける症状の軽減に関与している可能性が考えられた。今後、本研究結果が乾癬と肥満の両方を標的とした治療薬の開発に対して有益な知見となることを期待する。

表 1 WT 及び *Ht* ラットの背部無疹部の脂質分子種の量の比較

Lipid species	WT ($\mu\text{g/g dry weight} \pm \text{SEM}$)	<i>Ht</i> ($\mu\text{g/g dry weight} \pm \text{SEM}$)	Fold increase	<i>P</i> -value
Lysophosphatidic acid (16:0)	0.0392 \pm 0.004	0.043 \pm 0.02	1.1	
Lysophosphatidic acid (16:0)	0.377 \pm 0.037	0.45 \pm 0.053	1.2	
Lysophosphatidic acid (18:1)	0.183 \pm 0.069	0.381 \pm 0.104	2.1	
Lysophosphatidic acid (18:1)	0.396 \pm 0.03	0.394 \pm 0.107	0.99	
Lysophosphatidic acid (18:2)	0.425 \pm 0.071	0.678 \pm 0.124	1.6	
Lysophosphatidic acid (20:4)	0.403 \pm 0.076	0.486 \pm 0.057	1.2	
Lysophosphatidylcholine (14:0)	1.41 \pm 0.25	4.02 \pm 0.8	2.9	0.0367
Lysophosphatidylcholine (15:0)	2.32 \pm 0.12	4.74 \pm 1.11	2	
Lysophosphatidylcholine (16:0)	11.7 \pm 0.1	16.5 \pm 1.1	1.4	0.0473
Lysophosphatidylcholine (16:0)	144 \pm 3	217 \pm 38	1.5	
Lysophosphatidylcholine (16:1)	0.816 \pm 0.215	6.83 \pm 2.9	8.4	
Lysophosphatidylcholine (16:1)	2.1 \pm 0.43	9.53 \pm 2.58	4.5	
Lysophosphatidylcholine (17:0)	3.64 \pm 0.07	4.64 \pm 0.85	1.3	
Lysophosphatidylcholine (18:0)	8.14 \pm 0.23	10.2 \pm 0.1	1.3	0.0009
Lysophosphatidylcholine (18:0)	128 \pm 4	155 \pm 17	1.2	
Lysophosphatidylcholine (18:1)	4.74 \pm 0.45	12.1 \pm 3.2	2.6	
Lysophosphatidylcholine (18:1)	15.2 \pm 1.3	24.7 \pm 4.6	1.6	
Lysophosphatidylcholine (18:2)	15 \pm 0.8	51 \pm 14.8	3.4	
Lysophosphatidylcholine (18:2)	13.5 \pm 0.2	31.4 \pm 1.8	2.3	0.0095
Lysophosphatidylcholine (19:0)	1.48 \pm 0.01	2.29 \pm 0.23	1.5	

Lysophosphatidylcholine (20:0)	2.18 ± 0.04	5.03 ± 0.75	2.3	
Lysophosphatidylcholine (20:1)	1.03 ± 0.02	3 ± 0.59	2.9	
Lysophosphatidylcholine (20:4)	4.97 ± 0.38	11.4 ± 3.6	2.3	
Lysophosphatidylcholine (20:4)	2.96 ± 0.11	6.13 ± 0.38	2.1	0.0013
Lysophosphatidylcholine (22:0)	9.66 ± 0.19	27.8 ± 5.1	2.9	
Lysophosphatidylcholine (24:0)	58.9 ± 6	102 ± 14	1.7	0.0444
Lysophosphatidylcholine (24:1)	2.02 ± 0.17	4.38 ± 0.83	2.2	
Lysophosphatidylcholine (26:0)	7.67 ± 1.49	9.92 ± 1.95	1.3	
Lysophosphatidylethanolamine (16:0)	1.6 ± 0.15	4.29 ± 0.52	2.7	0.0074
Lysophosphatidylethanolamine (16:0)	18.3 ± 2.2	42.6 ± 12.5	2.3	
Lysophosphatidylethanolamine (16:1)	1.48 ± 0.3	7.66 ± 3.46	5.2	
Lysophosphatidylethanolamine (16:1)	2.1 ± 0.53	11.1 ± 2.7	5.3	
Lysophosphatidylethanolamine (18:0)	2.61 ± 0.25	5.67 ± 0.68	2.2	0.0135
Lysophosphatidylethanolamine (18:0)	41.9 ± 4.3	75.9 ± 19.8	1.8	
Lysophosphatidylethanolamine (18:1)	9.55 ± 0.15	21.7 ± 5.7	2.3	
Lysophosphatidylethanolamine (18:1)	15.7 ± 3.6	38.2 ± 7.7	2.4	
Lysophosphatidylethanolamine (18:2)	11 ± 0.9	38.4 ± 15.6	3.5	
Lysophosphatidylethanolamine (18:2)	4.94 ± 0.41	29.3 ± 4.1	5.9	0.0258
Lysophosphatidylethanolamine (20:0)	0.371 ± 0.16	1.93 ± 0.37	5.2	0.0181
Lysophosphatidylethanolamine (20:0)	0.639 ± 0.094	2.03 ± 0.65	3.2	
Lysophosphatidylethanolamine (20:1)	1.08 ± 0.28	3.78 ± 0.68	3.5	0.0211
Lysophosphatidylethanolamine (20:4)	25.3 ± 1.3	43.4 ± 8.4	1.7	
Lysophosphatidylethanolamine (20:4)	3.85 ± 0.18	13.2 ± 1.3	3.4	0.0176

Lysophosphatidylethanolamine (22:0)	1.36 ± 0.06	4.09 ± 1.16	3	
Lysophosphatidylethanolamine (22:1)	0.724 ± 0.182	3.49 ± 1.38	4.8	
Lysophosphatidylethanolamine (22:4)	3.7 ± 0.11	5.95 ± 1	1.6	
Lysophosphatidylethanolamine (22:4)	0.492 ± 0.042	2.02 ± 0.23	4.1	0.0196
Lysophosphatidylethanolamine (22:6)	7.45 ± 0.53	12.9 ± 4.1	1.7	
Lysophosphatidylethanolamine (22:6)	1.36 ± 0.12	2.96 ± 0.37	2.2	0.0147
Lysophosphatidylglycerol (16:0)	0.181 ± 0.027	0.19 ± 0.025	1	
Lysophosphatidylglycerol (16:0)	0.457 ± 0.03	0.752 ± 0.187	1.6	
Lysophosphatidylglycerol (16:1)	0.0803 ± 0.01	0.195 ± 0.038	2.4	0.0429
Lysophosphatidylglycerol (16:1)	0.116 ± 0.006	0.119 ± 0.015	1	
Lysophosphatidylglycerol (18:0)	0.152 ± 0.022	0.111 ± 0.015	0.73	
Lysophosphatidylglycerol (18:0)	0.544 ± 0.075	0.33 ± 0.057	0.61	
Lysophosphatidylglycerol (18:1)	1.01 ± 0.06	1.49 ± 0.32	1.5	
Lysophosphatidylglycerol (18:1)	0.723 ± 0.053	0.73 ± 0.137	1	
Lysophosphatidylglycerol (18:2)	1.02 ± 0.05	1.15 ± 0.23	1.1	
Lysophosphatidylglycerol (18:2)	0.311 ± 0.022	0.543 ± 0.05	1.7	0.0134
Lysophosphatidylglycerol (20:4)	0.254 ± 0.01	0.278 ± 0.064	1.1	
Lysophosphatidylglycerol (20:4)	0.086 ± 0.009	0.136 ± 0.015	1.6	0.045
Lysophosphatidylglycerol (22:0)	0.0697 ± 0.003	0.517 ± 0.119	7.4	
Lysophosphatidylglycerol (22:6)	0.688 ± 0.041	1.49 ± 0.39	2.2	
Lysophosphatidylglycerol (22:6)	0.275 ± 0.006	0.698 ± 0.093	2.5	0.0443
Lysophosphatidylglycerol (24:0)	0.322 ± 0.025	1.47 ± 0.27	4.6	0.0486
Lysophosphatidylinositol (16:0)	0.519 ± 0.026	0.749 ± 0.122	1.4	

Lysophosphatidylinositol (16:0)	4.46 ± 0.66	12.1 ± 2.3	2.7	0.0328
Lysophosphatidylinositol (17:0)	1.27 ± 0.11	2.9 ± 0.72	2.3	
Lysophosphatidylinositol (18:0)	1.35 ± 0.14	3.85 ± 0.47	2.9	0.0071
Lysophosphatidylinositol (18:0)	41.5 ± 4.3	97.7 ± 23.2	2.4	
Lysophosphatidylinositol (18:1)	1.51 ± 0.26	6.95 ± 2.38	4.6	
Lysophosphatidylinositol (18:1)	2.53 ± 0.11	7.13 ± 1.05	2.8	0.0468
Lysophosphatidylinositol (18:2)	1.71 ± 0.13	4.88 ± 1.27	2.9	
Lysophosphatidylinositol (18:2)	0.586 ± 0.055	2.54 ± 0.32	4.3	0.0228
Lysophosphatidylinositol (19:0)	0.41 ± 0.076	1.75 ± 0.38	4.3	
Lysophosphatidylinositol (20:0)	0.485 ± 0.111	2.38 ± 0.69	4.9	
Lysophosphatidylinositol (20:2)	0.431 ± 0.148	2.36 ± 0.81	5.5	
Lysophosphatidylinositol (20:2)	0.183 ± 0.088	1.42 ± 0.13	7.8	0.0013
Lysophosphatidylinositol (20:3)	0.624 ± 0.043	1.1 ± 0.35	1.8	
Lysophosphatidylinositol (20:4)	8.01 ± 0.65	16.6 ± 4.9	2.1	
Lysophosphatidylinositol (20:4)	2.03 ± 0.15	9.2 ± 0.97	4.5	0.0159
Lysophosphatidylinositol (22:4)	0.677 ± 0.066	2.61 ± 0.71	3.9	
Lysophosphatidylinositol (22:4)	0.116 ± 0.029	1.34 ± 0.23	12	0.0311
Lysophosphatidylinositol (22:6)	0.458 ± 0.101	1.16 ± 0.41	2.5	
Lysophosphatidylserine (16:0)	0.234 ± 0.03	0.233 ± 0.038	1	
Lysophosphatidylserine (18:0)	0.573 ± 0.073	0.291 ± 0.053	0.51	0.0349
Lysophosphatidylserine (18:0)	7.79 ± 0.76	6.23 ± 1.09	0.8	
Lysophosphatidylserine (18:1)	0.792 ± 0.048	1.6 ± 0.16	2	0.0087
Lysophosphatidylserine (18:1)	0.765 ± 0.158	0.904 ± 0.175	1.2	

Lysophosphatidylserine (18:2)	0.325 ± 0.023	1.08 ± 0.27	3.3	
Lysophosphatidylserine (18:2)	0.107 ± 0.026	0.635 ± 0.102	5.9	0.0074
Lysophosphatidylserine (20:0)	0.152 ± 0.0003	0.188 ± 0.017	1.2	
Lysophosphatidylserine (20:4)	0.27 ± 0.022	0.538 ± 0.118	2	
Lysophosphatidylserine (20:4)	0.0912 ± 0.015	0.334 ± 0.048	3.7	0.0082
Lysophosphatidylserine (22:0)	0.602 ± 0.065	0.995 ± 0.126	1.7	
Lysophosphatidylserine (22:1)	0.181 ± 0.015	0.288 ± 0.068	1.6	
Lysophosphatidylserine (24:0)	1.68 ± 0.28	2.43 ± 0.27	1.4	
Phosphatidic acid (14:0/16:0)	1.31 ± 0.05	0.725 ± 0.22	0.55	
Phosphatidic acid (16:0/16:0)	6.69 ± 0.51	8.68 ± 0.9	1.3	
Phosphatidic acid (16:0/16:1)	3.33 ± 0.1	6.24 ± 1.77	1.9	
Phosphatidic acid (16:0/18:1)	10.7 ± 1.3	16.1 ± 3.8	1.5	
Phosphatidic acid (16:0/18:2)	23.4 ± 4	47.7 ± 15.4	2	
Phosphatidic acid (16:0/20:4)	8.33 ± 0.74	16.7 ± 5.9	2	
Phosphatidic acid (16:0/22:6)	1.37 ± 0.24	2.49 ± 0.46	1.8	
Phosphatidic acid (16:1/18:2)	3.62 ± 0.24	7.05 ± 1.84	1.9	
Phosphatidic acid (16:1/20:4)	1.91 ± 0.1	3.1 ± 0.58	1.6	
Phosphatidic acid (18:1/18:1)	7.21 ± 1.45	13.1 ± 5.5	1.8	
Phosphatidic acid (18:1/18:2)	10.4 ± 2.1	16 ± 6.1	1.5	
Phosphatidic acid (18:1/20:4)	4.92 ± 1.25	6.36 ± 3.07	1.3	
Phosphatidic acid (18:2/18:2)	6.43 ± 0.92	9.36 ± 2.85	1.5	
Phosphatidic acid (18:2/20:4)	3.72 ± 0.29	6.45 ± 1.8	1.7	
Phosphatidylcholine (14:0/16:0)	90 ± 8.2	103 ± 22	1.1	

Phosphatidylcholine (14:0/16:1)	7.52 ± 2.23	17.9 ± 4.4	2.4	
Phosphatidylcholine (14:0/18:2)	18.2 ± 3.7	43.8 ± 10.1	2.4	
Phosphatidylcholine (14:0/20:4)	11 ± 1.4	12.4 ± 1.1	1.1	
Phosphatidylcholine (15:0/16:1)	8.44 ± 0.15	18.7 ± 3.2	2.2	
Phosphatidylcholine (15:0/18:2)	57.6 ± 9.5	83.1 ± 11.1	1.4	
Phosphatidylcholine (16:0/16:0)	456 ± 48	580 ± 51	1.3	
Phosphatidylcholine (16:0/16:1)	127 ± 11	223 ± 34	1.8	
Phosphatidylcholine (16:0/17:0)	17.4 ± 0.7	19.6 ± 2.5	1.1	
Phosphatidylcholine (16:0/17:1)	29.1 ± 1.7	42.1 ± 3.5	1.4	0.0279
Phosphatidylcholine (16:0/18:0)	89.2 ± 6.1	113 ± 9	1.3	
Phosphatidylcholine (16:0/18:1)	442 ± 22	565 ± 49	1.3	
Phosphatidylcholine (16:0/18:2)	672 ± 58	990 ± 89	1.5	0.0405
Phosphatidylcholine (16:0/20:3)	55.9 ± 4	44.1 ± 7.8	0.79	
Phosphatidylcholine (16:0/20:4)	397 ± 29	467 ± 47	1.2	
Phosphatidylcholine (16:0/20:5)	23.6 ± 2.2	30.6 ± 4.4	1.3	
Phosphatidylcholine (16:0/22:5)	7.98 ± 0.84	11.4 ± 0.6	1.4	0.0291
Phosphatidylcholine (16:0/22:6)	166 ± 14	247 ± 97	1.5	
Phosphatidylcholine (16:1/18:2)	57.6 ± 1	131 ± 18	2.3	
Phosphatidylcholine (16:1/20:4)	22.1 ± 2.4	33.5 ± 6.9	1.5	
Phosphatidylcholine (17:0/18:2)	19.9 ± 3.5	30.7 ± 2.9	1.5	
Phosphatidylcholine (17:1/20:4)	5.17 ± 0.26	7.1 ± 1.82	1.4	
Phosphatidylcholine (18:0/18:1)	163 ± 3	222 ± 20	1.4	
Phosphatidylcholine (18:0/20:3)	21.6 ± 2.7	15.5 ± 1.1	0.72	

Phosphatidylcholine (18:0/20:4)	181 ± 18	240 ± 22	1.3	
Phosphatidylcholine (18:0/22:4)	11.5 ± 1.8	13 ± 1.5	1.1	
Phosphatidylcholine (18:0/22:5)	15.9 ± 1.2	25 ± 3.8	1.6	
Phosphatidylcholine (18:1/18:1)	133 ± 10	191 ± 15	1.4	0.0347
Phosphatidylcholine (18:1/18:2)	211 ± 13	272 ± 39	1.3	
Phosphatidylcholine (18:1/20:4)	150 ± 12	172 ± 26	1.1	
Phosphatidylcholine (18:1/22:5)	28.4 ± 1.3	49 ± 11.5	1.7	
Phosphatidylcholine (18:1/22:6)	28.2 ± 1.4	46.6 ± 17.7	1.7	
Phosphatidylcholine (18:1/24:0)	37.6 ± 3.3	61.6 ± 7.1	1.6	0.037
Phosphatidylcholine (18:2/19:0)	5.93 ± 1.13	14.3 ± 0.8	2.4	0.0035
Phosphatidylcholine (18:2/20:0)	24.4 ± 4.4	49.7 ± 7.3	2	0.0409
Phosphatidylcholine (18:2/20:1)	11.9 ± 0.8	25.3 ± 5.2	2.1	
Phosphatidylcholine (18:2/20:4)	66 ± 2.7	96.1 ± 21.6	1.5	
Phosphatidylcholine (18:2/20:5)	2.82 ± 0.4	4.43 ± 1.34	1.6	
Phosphatidylcholine (18:2/22:0)	26.5 ± 3.2	49.8 ± 7.5	1.9	0.0468
Phosphatidylcholine (18:2/22:1)	12.6 ± 0.4	21.5 ± 3.6	1.7	
Phosphatidylcholine (18:2/23:0)	6.88 ± 0.92	7.66 ± 0.85	1.1	
Phosphatidylcholine (18:2/24:0)	49.5 ± 6.3	72.1 ± 8.9	1.5	
Phosphatidylcholine (18:2/24:1)	10.9 ± 0.6	19.8 ± 4.4	1.8	
Phosphatidylcholine (19:1/20:4)	2.24 ± 0.23	3 ± 0.78	1.3	
Phosphatidylcholine (20:0/20:4)	3.54 ± 0.46	3.89 ± 0.64	1.1	
Phosphatidylcholine (20:4/20:4)	30.2 ± 1.2	46.9 ± 17.4	1.6	
Phosphatidylcholine (24:4/16:0)	7.22 ± 0.64	7.79 ± 1.42	1.1	

Phosphatidylcholine (26:0/18:1)	1.68 ± 0.33	3.37 ± 0.25	2	0.0152
Phosphatidylethanolamine (15:0/18:1)	2.61 ± 0.36	3.85 ± 0.52	1.5	
Phosphatidylethanolamine (16:0/16:0)	3.41 ± 0.08	3.31 ± 0.42	0.97	
Phosphatidylethanolamine (16:0/18:0)	4.61 ± 0.26	5.32 ± 0.66	1.2	
Phosphatidylethanolamine (16:0/18:1)	31.4 ± 1.7	47.7 ± 5.9	1.5	
Phosphatidylethanolamine (16:0/18:2)	41.3 ± 3	95 ± 11.6	2.3	0.0109
Phosphatidylethanolamine (16:0/20:3)	3.72 ± 0.13	4.79 ± 0.76	1.3	
Phosphatidylethanolamine (16:0/20:4)	39.4 ± 1.7	55.6 ± 6.3	1.4	
Phosphatidylethanolamine (16:0/20:5)	2.84 ± 0.08	4.5 ± 0.71	1.6	
Phosphatidylethanolamine (16:0/22:4)	9 ± 0.93	8.48 ± 0.98	0.94	
Phosphatidylethanolamine (16:0/22:6)	54.9 ± 3.4	59.9 ± 8.7	1.1	
Phosphatidylethanolamine (16:1/16:1)	3.37 ± 0.67	14.1 ± 2.7	4.2	0.0172
Phosphatidylethanolamine (16:1/18:2)	13.6 ± 0.5	49.3 ± 7.1	3.6	0.0369
Phosphatidylethanolamine (16:1/20:4)	9.36 ± 0.78	16.3 ± 2.6	1.7	
Phosphatidylethanolamine (16:1/22:6)	4.51 ± 0.42	4.02 ± 0.81	0.89	
Phosphatidylethanolamine (17:0/18:1)	2.63 ± 0.65	4.24 ± 0.72	1.6	
Phosphatidylethanolamine (17:0/20:4)	6.77 ± 0.77	8.76 ± 1.01	1.3	
Phosphatidylethanolamine (17:1/18:1)	3.93 ± 0.43	7.43 ± 0.77	1.9	0.0166
Phosphatidylethanolamine (18:0/18:0)	0.985 ± 0.108	1.12 ± 0.12	1.1	
Phosphatidylethanolamine (18:0/18:1)	98.3 ± 5.2	112 ± 11	1.1	
Phosphatidylethanolamine (18:0/20:1)	8.49 ± 0.7	16.3 ± 1.9	1.9	0.0169
Phosphatidylethanolamine (18:0/20:3)	11.8 ± 0.3	9.87 ± 1.36	0.84	
Phosphatidylethanolamine (18:0/20:4)	161 ± 14	238 ± 24	1.5	

Phosphatidylethanolamine (18:0/20:5)	7.11 ± 0.16	10.1 ± 1.2	1.4	
Phosphatidylethanolamine (18:0/22:3)	2.33 ± 0.13	1.65 ± 0.33	0.71	
Phosphatidylethanolamine (18:0/22:5)	13.7 ± 1.7	19.7 ± 2.4	1.4	
Phosphatidylethanolamine (18:0/22:6)	42.3 ± 5.2	73 ± 24.7	1.7	
Phosphatidylethanolamine (18:1/18:1)	58.8 ± 4.3	83.9 ± 11.8	1.4	
Phosphatidylethanolamine (18:1/18:2)	77.2 ± 7.1	141 ± 19	1.8	0.0334
Phosphatidylethanolamine (18:1/19:0)	1.4 ± 0.19	3.29 ± 0.64	2.4	0.0478
Phosphatidylethanolamine (18:1/20:4)	68.3 ± 2.8	86.4 ± 11.1	1.3	
Phosphatidylethanolamine (18:1/22:0)	6.35 ± 0.38	12.7 ± 2	2	
Phosphatidylethanolamine (18:1/22:5)	5.29 ± 0.45	6.08 ± 0.95	1.1	
Phosphatidylethanolamine (18:1/22:6)	41.9 ± 2.7	40.5 ± 10.6	0.97	
Phosphatidylethanolamine (18:1/24:0)	8.03 ± 0.3	11.2 ± 1.4	1.4	
Phosphatidylethanolamine (18:1/24:6)	1.43 ± 0.31	1.81 ± 0.36	1.3	
Phosphatidylethanolamine (18:2/18:2)	13.6 ± 1.3	26.3 ± 4.2	1.9	0.0451
Phosphatidylethanolamine (18:2/19:0)	2.32 ± 0.23	6.53 ± 1.1	2.8	
Phosphatidylethanolamine (18:2/20:1)	16.4 ± 1.6	24 ± 2.6	1.5	
Phosphatidylethanolamine (18:2/20:4)	12.9 ± 0.7	21 ± 3.5	1.6	
Phosphatidylethanolamine (18:2/22:0)	4.78 ± 0.17	11 ± 1.9	2.3	
Phosphatidylethanolamine (18:2/22:1)	3.07 ± 0.17	11.6 ± 2.7	3.8	
Phosphatidylethanolamine (18:2/22:5)	1.57 ± 0.2	1.97 ± 0.69	1.3	
Phosphatidylethanolamine (18:2/22:6)	13.4 ± 1.3	22.1 ± 9.8	1.6	
Phosphatidylethanolamine (18:2/24:0)	3.18 ± 0.11	6.16 ± 1.27	1.9	
Phosphatidylethanolamine (18:2/24:1)	3.62 ± 0.14	9.16 ± 2.37	2.5	

Phosphatidylethanolamine (18:3/20:4)	0.984 ± 0.168	1.37 ± 0.26	1.4	
Phosphatidylethanolamine (19:0/20:4)	3.04 ± 0.28	4.84 ± 0.79	1.6	
Phosphatidylethanolamine (20:0/20:4)	1.48 ± 0.15	5.47 ± 0.58	3.7	0.0026
Phosphatidylethanolamine (20:4/22:0)	6.01 ± 0.52	8.96 ± 1.06	1.5	
Phosphatidylethanolamine (20:4/22:1)	6.38 ± 0.56	15.2 ± 2.5	2.4	
Phosphatidylethanolamine (20:4/23:0)	1.4 ± 0.15	1.84 ± 0.19	1.3	
Phosphatidylethanolamine (20:4/24:0)	7.13 ± 0.51	10.1 ± 1.2	1.4	
Phosphatidylethanolamine (20:4/24:1)	5.9 ± 0.23	13.8 ± 2.7	2.3	
Phosphatidylethanolamine (20:4/24:2)	2.06 ± 0.25	2.12 ± 0.45	1	
Phosphatidylethanolamine (24:4/18:0)	3.1 ± 0.49	4.73 ± 0.87	1.5	
Phosphatidylglycerol (16:0/18:1)	19.1 ± 0.5	28 ± 3.4	1.5	
Phosphatidylglycerol (16:0/18:2)	9.07 ± 0.36	13 ± 1	1.4	0.0233
Phosphatidylglycerol (16:0/20:4)	3.59 ± 0.11	4.46 ± 0.74	1.2	
Phosphatidylglycerol (16:1/18:1)	1.73 ± 0.13	3.04 ± 0.3	1.8	0.0155
Phosphatidylglycerol (16:1/18:2)	0.634 ± 0.066	1.23 ± 0.12	1.9	0.0125
Phosphatidylglycerol (16:1/18:2)	0.455 ± 0.026	1.04 ± 0.14	2.3	0.0455
Phosphatidylglycerol (18:0/18:1)	2.01 ± 0.21	3.97 ± 0.55	2	0.0297
Phosphatidylglycerol (18:0/18:2)	30.2 ± 2.2	34.2 ± 7	1.1	
Phosphatidylglycerol (18:0/20:4)	1.32 ± 0.13	1.78 ± 0.36	1.3	
Phosphatidylglycerol (18:1/18:2)	7.94 ± 0.75	7.11 ± 0.32	0.9	
Phosphatidylglycerol (18:1/20:3)	0.74 ± 0.028	1.07 ± 0.18	1.4	
Phosphatidylglycerol (18:1/20:4)	2.46 ± 0.02	1.91 ± 0.3	0.78	
Phosphatidylglycerol (18:2/18:2)	6.36 ± 0.72	4.75 ± 0.46	0.75	

Phosphatidylglycerol (18:2/18:2)	3.13 ± 0.05	5.54 ± 0.84	1.8	
Phosphatidylglycerol (18:2/20:3)	1.21 ± 0.14	1.48 ± 0.13	1.2	
Phosphatidylglycerol (18:2/20:4)	1.97 ± 0.2	1.34 ± 0.23	0.68	
Phosphatidylglycerol (18:2/22:5)	0.764 ± 0.042	1.11 ± 0.23	1.5	
Phosphatidylglycerol (18:2/22:6)	5.48 ± 0.36	6.67 ± 1.12	1.2	
Phosphatidylglycerol (18:2/24:0)	0.3 ± 0.014	0.515 ± 0.109	1.7	
Phosphatidylglycerol (20:4/22:6)	1.61 ± 0.18	1.78 ± 0.3	1.1	
Phosphatidylglycerol (22:5/22:6)	1.04 ± 0.07	2.74 ± 0.28	2.6	0.0042
Phosphatidylglycerol (22:6/22:6)	4.78 ± 0.08	11.1 ± 2.5	2.3	
Phosphatidylinositol (13:0/13:0)	0.311 ± 0.068	0.375 ± 0.028	1.2	
Phosphatidylinositol (15:0/20:4)	3.21 ± 0.33	4.4 ± 0.56	1.4	
Phosphatidylinositol (16:0/16:0)	9.4 ± 0.28	6.01 ± 0.18	0.64	0.0005
Phosphatidylinositol (16:0/16:1)	14.9 ± 0.6	26.5 ± 4	1.8	
Phosphatidylinositol (16:0/16:2)	2.87 ± 0.05	4.47 ± 0.74	1.6	
Phosphatidylinositol (16:0/18:0)	4.47 ± 0.22	4.41 ± 0.61	0.99	
Phosphatidylinositol (16:0/18:1)	73.6 ± 4.5	96.4 ± 9.3	1.3	
Phosphatidylinositol (16:0/20:3)	18.1 ± 0.4	20.3 ± 2.2	1.1	
Phosphatidylinositol (16:0/20:4)	159 ± 15	196 ± 19	1.2	
Phosphatidylinositol (16:0/20:5)	2.38 ± 0.19	4.07 ± 0.47	1.7	0.0291
Phosphatidylinositol (16:0/22:6)	37.4 ± 3.2	37.7 ± 5	1	
Phosphatidylinositol (16:1/18:1)	72.5 ± 7.4	98.5 ± 8.9	1.4	
Phosphatidylinositol (16:1/18:2)	3.01 ± 0.1	6.34 ± 1.16	2.1	
Phosphatidylinositol (16:1/20:4)	1.67 ± 0.2	5.06 ± 1.01	3	

Phosphatidylinositol (16:2/18:0)	7.78 ± 0.62	10.6 ± 1.4	1.4	
Phosphatidylinositol (17:0/18:2)	6.82 ± 1.31	7.18 ± 1.1	1.1	
Phosphatidylinositol (17:0/20:4)	36 ± 3.3	40.5 ± 3.7	1.1	
Phosphatidylinositol (17:0/22:5)	2.74 ± 0.27	2.67 ± 0.25	0.97	
Phosphatidylinositol (17:0/22:6)	2.2 ± 0.13	2.33 ± 0.5	1.1	
Phosphatidylinositol (18:0/18:0)	1.29 ± 0.04	2.62 ± 0.51	2	
Phosphatidylinositol (18:0/18:1)	25.9 ± 1	53.1 ± 7.1	2.1	
Phosphatidylinositol (18:0/18:2)	74.3 ± 9.3	104 ± 13	1.4	
Phosphatidylinositol (18:0/20:2)	12.9 ± 1.4	32.4 ± 3.9	2.5	0.0094
Phosphatidylinositol (18:0/20:3)	78.5 ± 4.5	67.6 ± 5	0.86	
Phosphatidylinositol (18:0/20:4)	329 ± 45	437 ± 36	1.3	
Phosphatidylinositol (18:0/22:4)	45.3 ± 4.3	59.1 ± 5.9	1.3	
Phosphatidylinositol (18:0/22:5)	12.4 ± 0.6	16.3 ± 3.2	1.3	
Phosphatidylinositol (18:0/22:6)	77 ± 6.1	96.6 ± 27.1	1.3	
Phosphatidylinositol (18:1/18:1)	8.38 ± 0.51	13.4 ± 2.5	1.6	
Phosphatidylinositol (18:1/18:2)	47.5 ± 4.5	55.5 ± 5.4	1.2	
Phosphatidylinositol (18:1/20:2)	44.7 ± 6	58.6 ± 4.6	1.3	
Phosphatidylinositol (18:1/20:3)	9.09 ± 0.44	6.9 ± 0.38	0.76	0.0192
Phosphatidylinositol (18:1/20:4)	134 ± 7	143 ± 13	1.1	
Phosphatidylinositol (18:1/22:4)	16.4 ± 1.6	22.1 ± 5.6	1.3	
Phosphatidylinositol (18:1/22:6)	12.2 ± 0.6	13.4 ± 2.2	1.1	
Phosphatidylinositol (18:2/18:2)	8.77 ± 1.12	8.57 ± 0.25	0.98	
Phosphatidylinositol (18:2/20:4)	7.92 ± 0.32	11.9 ± 1.4	1.5	

Phosphatidylinositol (19:0/20:4)	6.62 ± 0.8	10.4 ± 1.3	1.6	
Phosphatidylinositol (20:0/20:4)	2.87 ± 0.11	6.34 ± 1.09	2.2	
Phosphatidylserine (16:0/16:0)	7.58 ± 0.4	6.36 ± 1.19	0.84	
Phosphatidylserine (16:0/18:0)	18.4 ± 0.7	20.4 ± 3.2	1.1	
Phosphatidylserine (16:0/18:1)	39.3 ± 4.7	42.2 ± 5.2	1.1	
Phosphatidylserine (16:0/20:4)	28.2 ± 1.9	20.3 ± 1.8	0.72	0.0416
Phosphatidylserine (16:0/22:6)	24.8 ± 2.2	20.8 ± 3.6	0.84	
Phosphatidylserine (17:0/18:1)	20.7 ± 2.7	21.4 ± 3.2	1	
Phosphatidylserine (17:0/18:2)	13.5 ± 2.3	15.6 ± 2.4	1.2	
Phosphatidylserine (17:0/20:4)	12.8 ± 2.1	13.9 ± 1.3	1.1	
Phosphatidylserine (18:0/18:1)	57.2 ± 10.3	80.1 ± 9.2	1.4	
Phosphatidylserine (18:0/18:2)	459 ± 63	682 ± 121	1.5	
Phosphatidylserine (18:0/20:3)	149 ± 10	122 ± 10	0.82	
Phosphatidylserine (18:0/20:4)	365 ± 52	479 ± 69	1.3	
Phosphatidylserine (18:0/22:4)	116 ± 17	142 ± 15	1.2	
Phosphatidylserine (18:0/22:5)	103 ± 11	132 ± 9	1.3	
Phosphatidylserine (18:0/22:6)	287 ± 23	326 ± 56	1.1	
Phosphatidylserine (18:0/24:6)	7.44 ± 0.69	8.74 ± 1.16	1.2	
Phosphatidylserine (18:1/18:2)	44.3 ± 6.2	55.5 ± 7.6	1.3	
Phosphatidylserine (18:1/20:4)	35.4 ± 3.3	35.4 ± 3.7	1	
Phosphatidylserine (18:1/22:4)	84.7 ± 11.3	82.5 ± 5.6	0.97	
Phosphatidylserine (18:1/22:6)	23.6 ± 0.9	19.5 ± 3.2	0.83	
Phosphatidylserine (18:2/18:2)	5.24 ± 0.59	6.63 ± 1.39	1.3	

Phosphatidylserine (18:2/22:1)	25.1 ± 3.4	54.3 ± 7.6	2.2	0.0245
Phosphatidylserine (18:2/24:1)	46.6 ± 2.3	82.7 ± 13.9	1.8	
Phosphatidylserine (20:4/24:1)	14.2 ± 0.6	25.1 ± 6	1.8	
Myristic acid (14:0)	26.8 ± 2.3	12.4 ± 0.9	0.46	0.00458
Myristoleic acid (14:1)	1.15 ± 0.12	0.389 ± 0.06	0.34	0.00518
Pentadecanoic acid (15:0)	3.27 ± 0.2	3.06 ± 0.35	0.94	
Palmitic acid (16:0)	192 ± 14	108 ± 1	0.56	0.0269
Palmitoleic acid (16:1)	26.1 ± 1.2	17.7 ± 1.9	0.68	0.0197
Margaric acid (17:0)	5.24 ± 0.51	3.36 ± 0.09	0.64	
Heptadecenoic acid (17:1)	2.6 ± 0.14	2.28 ± 0.29	0.88	
Stearic acid (18:0)	186 ± 14	81.5 ± 5	0.44	0.00204
Oleic acid (18:1)	237 ± 16	96.6 ± 8.5	0.41	0.0015
Linoleic acid (18:2)	28.9 ± 2.8	20.3 ± 1.5	0.7	
α-Linolenic acid (18:3)	10.7 ± 0.9	5.66 ± 1	0.53	0.0184
γ-Linolenic acid (18:3)	1.23 ± 0.07	0.442 ± 0.062	0.36	0.000997
Stearidonic acid (18:4)	0.413 ± 0.033	0.149 ± 0.031	0.36	0.00434
Nonadecanoic acid (19:0)	1.1 ± 0.06	0.837 ± 0.061	0.76	0.0388
Nonadecenoic acid (19:1)	0.0875 ± 0.0078	0.047 ± 0.0041	0.54	0.00997
Arachidic acid (20:0)	2.96 ± 0.1	2.2 ± 0.22	0.74	0.0346
Gondoic acid (20:1)	20.2 ± 1.8	7.77 ± 0.48	0.38	0.00242
Eicosadienoic acid (20:2)	1.33 ± 0.07	1.14 ± 0.07	0.86	
Dihomo-γ-linolenic acid (20:3)	1.25 ± 0.04	0.416 ± 0.024	0.33	6.06E-05
Mead acid (20:3)	1.31 ± 0.12	0.0854 ± 0.0023	0.065	0.00874

Arachidonic acid (20:4)	33.6 ± 1.4	23.7 ± 0.7	0.71	0.0031
Eicosapentaenoic acid (20:5)	1.33 ± 0.12	1.14 ± 0.03	0.86	
Heneicosanoic acid (21:0)	0.302 ± 0.019	0.304 ± 0.027	1	
Heneicosenoic acid (21:1)	0.158 ± 0.018	0.181 ± 0.049	1.1	
Behenic acid (22:0)	12 ± 0.6	10.5 ± 0.6	0.88	
Erucic acid (22:1)	9.57 ± 1.05	5.47 ± 0.7	0.57	0.0318
Docosadienoic acid (22:2)	0.261 ± 0.034	0.165 ± 0.027	0.63	
Docosatrienoic acid (22:3)	1.62 ± 0.14	0.141 ± 0.008	0.087	0.00884
Docosatetraenoic acid (22:4)	0.673 ± 0.035	0.355 ± 0.024	0.53	0.00169
Docosapentaenoic acid (22:5)	3.02 ± 0.1	2.49 ± 0.07	0.82	0.0133
Docosahexaenoic acid (22:6)	10.3 ± 0.7	7 ± 0.17	0.68	0.00875
Tricosanoic acid (23:0)	3.78 ± 0.2	2.33 ± 0.14	0.62	0.00393
Tricosenoic acid (23:1)	0.273 ± 0.044	0.12 ± 0.046	0.44	
Lignoceric acid (24:0)	33.6 ± 1.3	19.5 ± 1.5	0.58	0.00223
Nervonic acid (24:1)	6.45 ± 0.55	3.34 ± 0.43	0.52	0.0111
Pentacosanoic acid (25:0)	3.11 ± 0.51	0.979 ± 0.15	0.31	0.016
Pentacosenoic acid (25:1)	0.171 ± 0.013	0.12 ± 0.029	0.7	
Hexacosanoic acid (26:0)	11.5 ± 1.1	4.8 ± 0.28	0.42	0.00467
Hexacosenoic acid (26:1)	1.13 ± 0.12	0.66 ± 0.121	0.58	0.0496
Heptacosanoic acid (27:0)	0.15 ± 0.035	0.00743 ± 0.0072	0.05	
Octacosanoic acid (28:0)	0.669 ± 0.052	0.528 ± 0.039	0.79	
Octacosenoic acid (28:1)	0.342 ± 0.045	0.287 ± 0.072	0.84	
Triacontanoic acid (30:0)	0.263 ± 0.054	0.269 ± 0.045	1	

Triacontenoic acid (30:1)	0.395 ± 0.085	0.33 ± 0.104	0.84	
Dotriacontenoic acid (32:1)	0.512 ± 0.043	0.593 ± 0.048	1.2	
2-Hydroxyoleic acid	0.0711 ± 0.0136	0.301 ± 0.048	4.23	0.00985
9-Hydroxyoctadecadienoic acid	0.158 ± 0.032	0.0891 ± 0.0037	0.564	
13-Hydroxyoctadecadienoic acid	0.522 ± 0.067	0.111 ± 0.007	0.213	0.0243
9,10-Epoxyoctadecenoic acid	0.128 ± 0.023	0.0395 ± 0.0034	0.309	
12,13-Epoxyoctadecenoic acid	0.49 ± 0.118	0.184 ± 0.025	0.376	
9-Oxoctadecadienoic acid	0.103 ± 0.012	0.0919 ± 0.007	0.892	
9,10-Dihydroxyoctadecenoic acid	0.68 ± 0.171	0.263 ± 0.005	0.387	
12,13-Dihydroxyoctadecenoic acid	0.95 ± 0.192	0.402 ± 0.062	0.423	
9-HOTrE	0.0793 ± 0.0154	0.0411 ± 0.003	0.518	
9-Oxoctadecatrienoic acid	0.0274 ± 0.006	N.D.		
13-HOTrE γ	0.813 ± 0.171	N.D.		
5-Hydroxyeicosatrienoic acid	0.412 ± 0.047	N.D.		
8-Hydroxyeicosatrienoic acid	0.412 ± 0.058	N.D.		
15-Hydroxyeicosatrienoic acid	19.8 ± 1.1	0.261 ± 0.052	0.0132	0.00327
6-Keto-prostaglandin F $_{1\alpha}$	0.0678 ± 0.0133	0.145 ± 0.027	2.14	
Prostaglandin E $_2$	0.106 ± 0.026	0.0592 ± 0.013	0.558	
Prostaglandin F $_{2\alpha}$	0.0612 ± 0.0054	0.0595 ± 0.0072	0.972	
Prostaglandin D $_2$	0.387 ± 0.065	0.211 ± 0.032	0.545	
15-Keto-prostaglandin E $_2$	0.0239 ± 0.0021	0.044 ± 0.0022	1.84	0.00286
15-Keto-prostaglandin D $_2$	0.0167 ± 0.0046	0.0319 ± 0.0026	1.91	0.0462
Leukotriene C $_4$	0.0242 ± 0.01	0.0234 ± 0.0104	0.967	

14,15-Leukotriene C ₄	0.0134 ± 0.0057	0.00359 ± 0.0004	0.268	
5-HETE	0.0321 ± 0.0043	0.0175 ± 0.0007	0.545	
8-HETE	0.0574 ± 0.0042	0.0117 ± 0.0008	0.204	0.00643
9-HETE	0.0291 ± 0.0034	0.00802 ± 0.0007	0.276	0.0218
11-HETE	0.12 ± 0.007	0.0332 ± 0.0006	0.277	0.00644
12-HETE	0.0299 ± 0.0028	0.0068 ± 0.0006	0.227	0.0114
15-HETE	2.52 ± 0.18	0.0209 ± 0.0003	0.00829	0.00524
18-HETE	0.00764 ± 0.0016	0.00643 ± 0.0004	0.842	
5,6-Epoxyeicosatrienoic acid	0.0371 ± 0.0019	N.D.		
8,9-Epoxyeicosatrienoic acid	0.0119 ± 0.0008	0.004 ± 0.0004	0.336	0.00099
11,12-Epoxyeicosatrienoic acid	0.00854 ± 0.0008	0.00278 ± 0.0001	0.326	0.0152
14,15-Epoxyeicosatrienoic acid	0.0127 ± 0.0018	0.00693 ± 0.0014	0.546	
5,6-Dihydroxyeicosatrienoic acid	0.00841 ± 0.0012	N.D.		
8,9-Dihydroxyeicosatrienoic acid	0.00514 ± 0.0007	N.D.		
11,12-Dihydroxyeicosatrienoic acid	0.00411 ± 0.0003	0.00374 ± 0.0001	0.91	
5-Oxoeicosatetraenoic acid	0.00943 ± 0.0005	0.00498 ± 0.0006	0.528	0.00504
15-oxETE	0.0965 ± 0.01	0.00561 ± 0.0004	0.0581	0.0118
5-HEPE	0.441 ± 0.042	0.202 ± 0.008	0.458	0.026
11-HEPE	0.245 ± 0.019	0.109 ± 0.014	0.445	0.00444
12-HEPE	0.768 ± 0.102	0.202 ± 0.037	0.263	0.00635
15-HEPE	7.62 ± 1.23	N.D.		
18-HEPE	0.24 ± 0.037	0.114 ± 0.029	0.475	
14,15-Epoxyeicosatetraenoic acid	0.115 ± 0.012	N.D.		

17,18-Epoxyeicosatetraenoic acid	0.285 ± 0.041	N.D.		
5,6-Dihydroxyeicosatetraenoic acid	6.13 ± 1.44	1.39 ± 0.22	0.227	
14,15-Dihydroxyeicosatetraenoic acid	0.931 ± 0.193	0.366 ± 0.03	0.393	
17,18-Dihydroxyeicosatetraenoic acid	1.83 ± 0.35	1.34 ± 0.05	0.732	
4-HDoHE	0.0717 ± 0.0082	0.04 ± 0.0018	0.558	
7-HDoHE	0.053 ± 0.0064	0.0167 ± 0.0016	0.315	0.00543
8-HDoHE	0.141 ± 0.014	0.0651 ± 0.0073	0.462	0.0092
10-HDoHE	0.0542 ± 0.0054	0.0164 ± 0.001	0.303	0.0174
11-HDoHE	0.0742 ± 0.0179	0.029 ± 0.0032	0.391	
13-HDoHE	0.134 ± 0.004	0.0644 ± 0.0079	0.481	0.00136
14-HDoHE	0.746 ± 0.013	0.0732 ± 0.0109	0.0981	2.49E-06
16-HDoHE	0.0813 ± 0.0134	0.0177 ± 0.0018	0.218	0.0397
17-HDoHE	8.17 ± 0.1	N.D.		
20-HDoHE	0.123 ± 0.018	0.0564 ± 0.0073	0.459	0.0256
19,20-Epoxydocosapentaenoic acid	0.0961 ± 0.0177	N.D.		
7,17-Dihydroxydocosapentaenoic acid	0.0475 ± 0.0107	N.D.		
19,20-Dihydroxydocosapentaenoic acid	0.0461 ± 0.0029	0.0544 ± 0.0016	1.18	
N-Acylethanolamine (16:0)	0.0936 ± 0.0061	0.0739 ± 0.0127	0.79	
N-Acylethanolamine (16:1)	0.0473 ± 0.0023	0.0868 ± 0.0225	1.8	
N-Acylethanolamine (18:0)	0.119 ± 0.0072	0.0566 ± 0.0058	0.48	0.00252
N-Acylethanolamine (18:1)	0.422 ± 0.0406	0.188 ± 0.0238	0.45	0.00765
N-Acylethanolamine (18:2)	0.0274 ± 0.0029	0.0325 ± 0.0043	1.2	
N-Acylethanolamine (18:3)	0.00111 ± 0.0001	0.000457 ± 0.0000465	0.41	0.00965

N-Acylethanolamine (20:4)	0.0117 ± 0.0015	0.00627 ± 0.0009	0.54	0.0335
N-Acylethanolamine (20:5)	0.000461 ± 0.0000474	N.D.		
N-Acylethanolamine (22:6)	0.0261 ± 0.0024	0.0203 ± 0.0018	0.78	
N-Acylethanolamine (5,6-Epoxyeicosatrienoic acid)	0.000591 ± 0.0000984	0.000423 ± 0.0000591	0.71	
N-Acylglycine (16:0)	0.0282 ± 0.0035	0.0107 ± 0.003	0.38	0.0187
N-Acylglycine (18:1)	0.0411 ± 0.0057	0.0136 ± 0.0037	0.33	0.0156
N-Acylglycine (18:2)	0.014 ± 0.0016	0.00962 ± 0.0025	0.687	
N-Acylglycine (20:4)	0.00798 ± 0.001	0.00462 ± 0.001	0.579	
N-Acylglycine (22:6)	0.00267 ± 0.0004	0.00131 ± 0.0002	0.489	0.0458
Cholesterol	2320 ± 30	2480 ± 230	1.07	0.56
Monoacylglycerol 1-(16:0)	0.0411 ± 0.0042	0.029 ± 0.0085	0.71	
Monoacylglycerol 1-(18:1)	0.351 ± 0.0019	0.283 ± 0.0048	0.79	
Monoacylglycerol 2-(18:1)	0.681 ± 0.0243	0.489 ± 0.0222	0.81	
Monoacylglycerol 1-(18:2)	1.22 ± 0.0608	1.21 ± 0.0685	0.72	
Monoacylglycerol 2-(18:2)	1.74 ± 0.129	1.6 ± 0.0956	0.99	
Monoacylglycerol 1-(20:4)	0.507 ± 0.151	0.435 ± 0.163	0.92	
Monoacylglycerol 2-(20:4)	1.99 ± 0.0543	1.38 ± 0.053	0.86	
Diacylglycerol (16:0/16:0)	4.96 ± 2.6	6.13 ± 2.09	1.2	
Diacylglycerol (16:1/18:2)	73.4 ± 36.1	105 ± 14	1.4	
Diacylglycerol (18:1/18:1)	64.5 ± 30.3	164 ± 15	2.5	0.0413
Diacylglycerol (18:1/18:2)	832 ± 392	2080 ± 350	2.5	
Diacylglycerol (18:2/18:2)	1220 ± 570	3310 ± 690	2.7	
Diacylglycerol (16:0/20:4)	128 ± 65	279 ± 19	2.2	

Diacylglycerol (18:2/18:3)	197 ± 93	470 ± 87	2.4
Diacylglycerol (18:0/20:4)	187 ± 97	348 ± 29	1.9
Diacylglycerol (18:1/20:4)	231 ± 112	547 ± 48	2.4
Diacylglycerol (18:2/20:4)	93.7 ± 46.2	278 ± 77	3
Diacylglycerol (16:0/22:6)	303 ± 147	636 ± 26	2.1
Triacylglycerol (10:0/12:0/12:0)	308 ± 161	121 ± 119	0.39
Triacylglycerol (12:0/12:0/12:0)	438 ± 223	204 ± 201	0.47
Triacylglycerol (4:0/16:0/16:0)	76.3 ± 38.1	90.1 ± 60.4	1.2
Triacylglycerol (12:0/12:0/16:0)	982 ± 493	496 ± 476	0.51
Triacylglycerol (10:0/12:0/18:1)	539 ± 271	259 ± 246	0.48
Triacylglycerol (4:0/18:0/18:1)	25.6 ± 13	39.7 ± 19.6	1.6
Triacylglycerol (12:0/14:0/16:0)	480 ± 249	256 ± 218	0.53
Triacylglycerol (12:0/12:0/18:1)	1670 ± 840	851 ± 783	0.51
Triacylglycerol (16:0/18:2/8:0)	2230 ± 1110	1080 ± 980	0.48
Triacylglycerol (6:0/18:2/18:2)	27.7 ± 13.7	35.2 ± 17	1.3
Triacylglycerol (4:0/16:0/22:6)	54.1 ± 26.6	97 ± 34.5	1.8
Triacylglycerol (14:0/16:0/16:0)	549 ± 285	399 ± 128	0.73
Triacylglycerol (15:0/16:0/16:0)	38.4 ± 20.2	55.9 ± 9.3	1.5
Triacylglycerol (14:0/15:0/18:1)	56.1 ± 28.2	63.3 ± 13.9	1.1
Triacylglycerol (16:0/16:0/16:0)	2120 ± 1080	2510 ± 640	1.2
Triacylglycerol (14:0/16:0/18:1)	912 ± 483	810 ± 270	0.89
Triacylglycerol (14:0/16:0/18:2)	1790 ± 930	1370 ± 690	0.77
Triacylglycerol (14:0/16:0/18:3)	2800 ± 1470	2280 ± 990	0.81

Triacylglycerol (14:0/16:0/18:3)	135 ± 69	136 ± 64	1
Triacylglycerol (12:0/18:1/18:3)	2290 ± 1170	1360 ± 920	0.59
Triacylglycerol (12:0/18:2/18:3)	342 ± 170	222 ± 140	0.65
Triacylglycerol (10:0/16:0/22:6)	99 ± 50	45 ± 27.4	0.46
Triacylglycerol (15:0/16:0/18:2)	698 ± 359	1200 ± 100	1.7
Triacylglycerol (15:0/16:0/18:3)	366 ± 182	587 ± 85	1.6
Triacylglycerol (16:0/18:0/18:0)	220 ± 109	375 ± 47	1.7
Triacylglycerol (16:0/18:1/18:2)	4250 ± 2250	6980 ± 340	1.6
Triacylglycerol (16:0/18:2/18:2)	742 ± 371	1030 ± 190	1.4
Triacylglycerol (17:0/18:1/18:1)	1270 ± 620	2340 ± 180	1.8
Triacylglycerol (17:1/18:2/18:2)	302 ± 151	463 ± 65	1.5
Triacylglycerol (18:0/18:0/18:0)	29 ± 14.1	50.5 ± 7.8	1.7
Triacylglycerol (18:0/18:0/18:1)	600 ± 289	1050 ± 100	1.7
Triacylglycerol (18:0/18:1/18:1)	3580 ± 1790	6590 ± 440	1.8
Triacylglycerol (18:1/18:1/18:1)	3620 ± 1730	7310 ± 670	2
Triacylglycerol (18:1/18:1/18:2)	3980 ± 2060	7170 ± 630	1.8
Triacylglycerol (18:1/18:1/18:2)	249 ± 122	406 ± 37	1.6
Triacylglycerol (18:1/18:2/18:2)	3760 ± 1970	8420 ± 1690	2.2
Triacylglycerol (16:0/18:1/20:4)	1650 ± 830	2380 ± 220	1.4
Triacylglycerol (18:2/18:2/18:2)	3070 ± 1630	5450 ± 430	1.8
Triacylglycerol (18:1/18:2/18:3)	545 ± 277	922 ± 86	1.7
Triacylglycerol (18:2/18:2/18:3)	1330 ± 650	2150 ± 220	1.6
Triacylglycerol (18:2/18:2/18:3)	198 ± 105	263 ± 26	1.3

Triacylglycerol (18:2/18:3/18:3)	150 ± 73	244 ± 48	1.6	
Triacylglycerol (14:0/18:2/22:6)	143 ± 71	179 ± 21	1.3	
Triacylglycerol (17:0/18:1/20:1)	271 ± 128	681 ± 60	2.5	0.0445
Triacylglycerol (18:2/18:2/19:1)	175 ± 88	335 ± 40	1.9	
Triacylglycerol (16:0/17:0/22:6)	29.6 ± 15.2	52.2 ± 4.5	1.8	
Triacylglycerol (16:0/17:1/22:6)	46 ± 23.3	76.1 ± 5.9	1.7	
Triacylglycerol (16:0/16:0/24:0)	3.72 ± 2.6	39.4 ± 12.5	11	
Triacylglycerol (16:0/16:0/24:0)	14 ± 6.8	24.7 ± 4.9	1.8	
Triacylglycerol (18:1/18:1/20:0)	719 ± 354	1540 ± 50	2.1	
Triacylglycerol (18:1/18:1/20:1)	1520 ± 750	2990 ± 180	2	
Triacylglycerol (18:0/18:0/20:4)	42.1 ± 20.2	88.4 ± 8.7	2.1	
Triacylglycerol (18:2/18:2/20:1)	295 ± 154	672 ± 145	2.3	
Triacylglycerol (18:1/18:1/20:3)	438 ± 220	673 ± 36	1.5	
Triacylglycerol (16:0/18:0/22:6)	109 ± 54	225 ± 36	2.1	
Triacylglycerol (18:1/18:1/20:5)	1740 ± 900	3150 ± 230	1.8	
Triacylglycerol (16:0/18:1/22:6)	358 ± 180	653 ± 72	1.8	
Triacylglycerol (18:2/18:2/20:4)	1030 ± 500	1790 ± 80	1.7	
Triacylglycerol (16:0/18:2/22:6)	655 ± 312	1470 ± 350	2.3	
Triacylglycerol (18:0/20:4/22:6)	30.6 ± 16.4	55.2 ± 8.2	1.8	
Triacylglycerol (18:1/18:1/24:1)	150 ± 71	416 ± 56	2.8	0.0423
Triacylglycerol (18:1/18:2/24:1)	187 ± 89	463 ± 51	2.5	
Triacylglycerol (18:2/18:2/24:1)	103 ± 51	234 ± 24	2.3	
Triacylglycerol (18:2/22:6/22:6)	13.8 ± 6.5	34.4 ± 9.1	2.5	

Triacylglycerol (26:1/18:1/18:2)	40.5 ± 18.6	122 ± 16	3	0.0287
Triacylglycerol (26:1/18:2/18:2)	24.4 ± 11.6	66.7 ± 6.8	2.7	0.035
Dihydrosphingosine (d17:0)	0.252 ± 0.139	0.248 ± 0.051	0.99	
Sphingosine (d17:1)	1.29 ± 0.67	1.4 ± 0.09	1.1	
Dihydrosphingosine (d18:0)	5.92 ± 3.02	7.85 ± 2.92	1.3	
Sphingosine (d18:1)	11.3 ± 5.5	23.1 ± 2.4	2	
Ceramide (d18:0/16:0+O)	3.92 ± 0.23	1.51 ± 0.13	0.38	0.000807
Ceramide (d18:0/18:0+O)	2.85 ± 0.3	0.259 ± 0.053	0.091	0.0113
Ceramide (d18:0/20:0+O)	10.8 ± 1.4	N.D.		
Ceramide (d18:0/22:0+O)	1.51 ± 0.18	0.0214 ± 0.009	0.014	0.0145
Ceramide (t18:1/16:0+O)	0.862 ± 0.189	0.73 ± 0.115	0.85	
Ceramide (d18:1/16:0+O)	5.42 ± 0.38	8.98 ± 0.82	1.7	0.0172
Ceramide (d18:1/18:0+O)	1.13 ± 0.16	0.325 ± 0.021	0.29	0.0359
Ceramide (d18:1/20:0+O)	1.13 ± 0.14	0.141 ± 0.036	0.13	0.00251
Ceramide (d18:1/22:0+O)	0.221 ± 0.031	0.103 ± 0.043	0.46	
Ceramide (d18:0/16:0)	3.64 ± 0.32	1.42 ± 0.31	0.39	0.00734
Ceramide (d18:0/18:0)	38.3 ± 4.6	2.48 ± 0.52	0.065	0.015
Ceramide (d18:0/20:0)	138 ± 10	3.99 ± 1.04	0.029	0.00508
Ceramide (d18:0/22:0)	14.9 ± 0.8	4.43 ± 0.34	0.3	0.000323
Ceramide (d18:0/24:0)	10.9 ± 0.7	13.2 ± 1.1	1.2	
Ceramide (d18:0/28:0)	0.393 ± 0.055	1.31 ± 0.31	3.3	
Ceramide (d18:0/18:1)	0.202 ± 0.003	N.D.		
Ceramide (d18:0/22:1)	0.859 ± 0.122	0.32 ± 0.038	0.37	0.0136

Ceramide (d18:1/24:1)	2.52 ± 0.2	1.84 ± 0.33	0.73	
Ceramide (t18:0/16:0)	0.319 ± 0.051	0.457 ± 0.026	1.4	
Ceramide (t18:0/18:0)	0.814 ± 0.028	0.319 ± 0.013	0.39	8.37E-05
Ceramide (t18:0/20:0)	2.77 ± 0.29	0.732 ± 0.084	0.26	0.00254
Ceramide (t18:0/22:0)	1.21 ± 0.06	2.23 ± 0.29	1.8	
Ceramide (t18:0/24:0)	8.83 ± 0.84	20.8 ± 2.4	2.4	0.00899
Ceramide (t18:0/26:0)	8.91 ± 0.56	16.1 ± 1.7	1.8	0.0166
Ceramide (t20:0/26:0)	2.4 ± 0.26	6.7 ± 0.48	2.8	0.00136
Ceramide (d18:1/16:0)	8.75 ± 0.48	12.4 ± 1.3	1.4	
Ceramide (d18:1/18:0)	8.09 ± 1.01	4.32 ± 0.57	0.53	0.0314
Ceramide (d18:1/20:0)	10.8 ± 0.8	4.64 ± 0.57	0.43	0.00366
Ceramide (d18:1/22:0)	6.05 ± 0.34	10.2 ± 1	1.7	0.0184
Ceramide (d18:1/24:0)	26.9 ± 0.7	47.9 ± 5.9	1.8	
Ceramide (d18:1/18:1)	0.255 ± 0.01	0.221 ± 0.016	0.87	
Ceramide (d18:1/20:1)	0.138 ± 0.024	0.0505 ± 0.032	0.36	
Ceramide (d18:1/22:1)	0.571 ± 0.047	1.01 ± 0.15	1.8	
Ceramide (d18:1/24:1)	7.89 ± 0.1	9.1 ± 1.17	1.2	
Ceramide (d18:1/28:0)	2.09 ± 0.24	6.47 ± 0.58	3.1	0.00219
Ceramide (d18:1/30:0)	0.751 ± 0.085	1.88 ± 0.24	2.5	0.0118
Ceramide (d18:2/22:0)	0.831 ± 0.138	1.22 ± 0.15	1.5	
Ceramide (d18:2/24:0)	8.84 ± 0.35	10.5 ± 1.4	1.2	
Sphingomyelin (d18:0/16:0)	3.06 ± 0.12	3.54 ± 0.45	1.16	
Sphingomyelin (d18:0/18:0)	0.817 ± 0.029	0.689 ± 0.06	0.844	

Sphingomyelin (d18:0/20:0)	1.83 ± 0.37	0.796 ± 0.11	0.436	
Sphingomyelin (d18:0/22:0)	1.78 ± 0.2	1.5 ± 0.13	0.846	
Sphingomyelin (d18:0/24:0)	3.01 ± 0.63	2.6 ± 0.38	0.864	
Sphingomyelin (d18:1/16:0)	117 ± 8	164 ± 16	1.4	
Sphingomyelin (d18:1/18:0)	34.6 ± 1.8	47.7 ± 5.2	1.38	
Sphingomyelin (d18:1/20:0)	12.1 ± 0.6	16 ± 1.5	1.32	
Sphingomyelin (d18:1/22:0)	23.5 ± 1	29.3 ± 1.7	1.25	0.0406
Sphingomyelin (d18:1/24:0)	45.6 ± 2.3	52.7 ± 3.8	1.16	
Sphingomyelin (d18:1/26:0)	3.51 ± 0.07	4.61 ± 0.5	1.31	
Sphingomyelin (d18:1/16:1)	6.9 ± 0.37	6.7 ± 0.9	0.971	
Sphingomyelin (d18:1/18:1)	3.6 ± 0.21	3.5 ± 0.41	0.972	
Sphingomyelin (d18:1/20:1)	0.128 ± 0.022	0.361 ± 0.066	2.82	0.0285
Sphingomyelin (d18:1/22:1)	3.46 ± 0.21	7.93 ± 0.87	2.29	0.0074
Sphingomyelin (d18:1/24:1)	72.3 ± 5.5	88.5 ± 6.8	1.22	
Sphingomyelin (d18:1/26:1)	3.15 ± 0.02	3.16 ± 0.4	1	
Sphingomyelin (d18:2/16:0)	1.32 ± 0.08	1.29 ± 0.16	0.974	
Sphingomyelin (d18:2/18:0)	0.179 ± 0.012	0.173 ± 0.019	0.967	
Sphingomyelin (d18:2/20:0)	0.135 ± 0.015	0.168 ± 0.01	1.24	
Sphingomyelin (d18:2/22:0)	0.237 ± 0.028	0.208 ± 0.011	0.876	
Sphingomyelin (d18:2/24:0)	1.24 ± 0.28	0.9 ± 0.184	0.725	
Monohexosylceramide (d18:0/16:0)	0.231 ± 0.132	0.404 ± 0.205	1.8	
Monohexosylceramide (d18:1/16:0)	0.788 ± 0.374	2.3 ± 0.15	2.9	0.02
Monohexosylceramide (d18:2/16:0+O)	1.15 ± 0.56	2.49 ± 0.43	2.2	

Monohexosylceramide (d18:0/18:0)	0.904 ± 0.465	1.59 ± 1.24	1.8	
Monohexosylceramide (d18:1/18:0)	0.614 ± 0.332	1.55 ± 0.19	2.5	
Monohexosylceramide (d18:0/22:0)	0.772 ± 0.379	1.56 ± 0.61	2	
Monohexosylceramide (d18:1/22:0)	1.01 ± 0.49	2.5 ± 0.22	2.5	0.049
Monohexosylceramide (d18:1/22:1)	2 ± 0.96	3.28 ± 0.09	1.6	
Monohexosylceramide (d17:1/24:0)	0.631 ± 0.315	1.3 ± 0.18	2.1	
Monohexosylceramide (d18:0/24:0)	0.95 ± 0.482	3.48 ± 0.81	3.7	
Monohexosylceramide (d18:1/24:0)	4.41 ± 2.07	11.5 ± 1.4	2.6	0.0449
Monohexosylceramide (d18:1/24:1)	2.85 ± 1.39	6.33 ± 0.51	2.2	
Dihexosylceramide (d18:1/16:0)	0.172 ± 0.091	0.354 ± 0.073	2.1	
Dihexosylceramide (d18:1/24:0)	0.258 ± 0.153	0.459 ± 0.044	1.8	
Dihexosylceramide (d18:1/24:1)	0.0811 ± 0.0417	0.164 ± 0.093	2	
Ceramide 1-phosphate (d18:1/16:0)	0.00776 ± 0.0039	0.0114 ± 0.0086	1.5	
Ceramide 1-phosphate (d18:1/18:1)	0.0118 ± 0.001	0.077 ± 0.0421	6.5	

Fold increase : *Ht*/WT 値の割合.

WT と *Ht* の間の統計学的有意差は Student's *t*-test の *P* 値によって示している.

表 2 WT 及び *Ht* ラットの背部無疹部のアシルセラミド量の比較

Acylceramide EOS	WT (area ratio/g dry weight \pm SEM)	<i>Ht</i> (area ratio/g dry weight \pm SEM)	fold increase	<i>P</i> -value
Acylceramide E(18:2)O(30:0)S(18)	11.8 \pm 1.6	10.7 \pm 1.7	0.91	
Acylceramide E(18:2)O(32:0)S(18)	59.5 \pm 5.8	69 \pm 8.2	1.2	
Acylceramide E(18:2)O(34:0)S(18)	16.1 \pm 1.5	22.8 \pm 0.6	1.4	0.0137
Acylceramide E(18:2)O(36:0)S(18)	1.11 \pm 0.06	2.75 \pm 0.22	2.5	0.00199
Acylceramide E(18:2)O(32:1)S(18)	1.73 \pm 0.1	4.21 \pm 0.33	2.4	0.00191
Acylceramide E(18:2)O(34:1)S(18)	5.65 \pm 1.03	21.3 \pm 3.8	3.8	0.0163
Acylceramide E(18:2)O(36:1)S(18)	45.7 \pm 4.2	106 \pm 15	2.3	0.0189
Acylceramide E(18:2)O(38:1)S(18)	16.9 \pm 1.4	34.8 \pm 4	2.1	0.0135

Fold increase : *Ht*/WT 値の割合.

Area ratio はアシルセラミドのピーク面積/内部標準物質 (ceramide (d18:1/16:0) -d31) のピーク面積の比を示している.
WT と *Ht* の間の統計学的有意差は Student's *t*-test の *P* 値によって示している.

表 3 *Ht* ラット無疹部において発現が低下した上位 30 遺伝子

Gene symbol	FC	Signal		Description	GenBank accession number
		WT	<i>Ht</i>		
<i>Krtap19-5</i>	-5.6	5591	119	Keratin associated protein 19-5	NM_001195612
<i>Krtap1-5</i>	-4.8	41371	1457	Keratin associated protein 1-5	NM_001025135
<i>Cds2</i>	-4.8	3083	113	CDP-diacylglycerol synthase	NM_053643
<i>Krtap16-5</i>	-4.7	61428	2319	Keratin associated protein 16-5	NM_001109424
<i>LOC685544</i>	-4.3	35272	1836	Hypothetical protein	NM_001109474
<i>Krt34</i>	-4.1	42229	2449	Keratin 34	NM_001008758
<i>RT1-CE4</i>	-4.1	7462	435	RT1 class I, locus CE4	NM_001008842
<i>Krt81</i>	-4.1	40812	2385	Keratin 81, type II	NM_001008814
<i>Krtap7-1</i>	-3.7	153113	11530	Keratin associated protein 7-1	NM_001145002
<i>Kb23</i>	-3.7	116983	9268	Keratin 23, type II	NM_001008813
<i>Krt77</i>	-3.6	1331	108	Keratin 77, type II	NM_001008807
<i>Krt85</i>	-3.5	13283	1184	Keratin 85, type II	NM_001008811
<i>Krt72</i>	-3.4	3185	293	Keratin 72, type II	NM_001008809
<i>Gprc5d</i>	-3.1	6386	725	G protein-coupled receptor, class C, group 5, member D	NM_001109254
<i>Krt83</i>	-3.1	30743	3499	Keratin 83, type II	NM_001101675
<i>LOC690386</i>	-2.8	1710	240	Hypothetical protein	NM_001109586
<i>Acy3</i>	-2.6	4106	657	Aminoacylase 3	NM_001009603
<i>Stra6</i>	-2.5	772	132	Stimulated by retinoic acid 6	NM_001029924
<i>Krtap31-1</i>	-2.5	2676	473	Keratin associated protein 31-1	NM_001109409
<i>Ly6g6d</i>	-2.5	8327	1485	Lymphocyte antigen 6 complex, locus G6D	NM_001001970
<i>Gsg1</i>	-2.4	1710	314	Germ cell associated 1	NM_001013166
<i>Krt26</i>	-2.4	955	177	Keratin 26, type I	NM_001008823
<i>Psors1c2</i>	-2.4	4135	773	Psoriasis susceptibility 1 candidate 2	NM_001166016

<i>Igf2</i>	-2.4	4361	849	Insulin-like growth factor 2, transcript variant 1	NM_031511
<i>LOC690478</i>	-2.3	2905	579	Similar to keratin associated protein 10-7	NM_001109595
<i>RGD1561557</i>	-2.3	563	118	Similar to chromosome 21, open reading frame 29	NM_001108929
<i>LOC689927</i>	-2.3	1789	376	Similar to keratin associated protein 10-10	NM_001109555
<i>Lrrc15</i>	-2.2	1904	405	Leucine rich repeat containing 15	NM_145083
<i>Sln</i>	-2.2	2824	622	Sarcolipin	NM_001013247
<i>Car2</i>	-2.1	2052	480	Carbonic anhydrase 2	NM_019291

FC, fold change ($\log_2 Ht/WT$).

値はマイクロアレイのシグナルから算出している.

Ht signal > 100 の遺伝子を選択している.

表 4 *Ht* ラット無疹部において発現が増加した上位 30 遺伝子

Gene symbol	FC	Signal		Description	GenBank accession number
		WT	<i>Ht</i>		
<i>Defb5</i>	7.2	6	865	Defensin β 5	NM_001037549
<i>Defb4</i>	7.1	2	250	Defensin β 4	NM_022544
<i>Lao1</i>	6.6	27	2612	L-amino acid oxidase 1	NM_001106682
<i>Ear11</i>	5.7	2	105	Eosinophil-associated, ribonuclease A family, member 11	NM_138902
<i>Cxcl2</i>	5.3	3	110	Chemokine ligand 2	NM_053647
<i>Cxcl1</i>	4.7	19	508	Chemokine ligand 1	NM_030845
<i>Lcn11</i>	4.7	4	103	Lipocalin 11	NM_001135809
<i>Lyg1</i>	4.0	52	847	Lysozyme G-like 1	NM_001098838
<i>Slc22a2</i>	4.0	15	248	Solute carrier family 22, member 2	NM_031584
<i>S100a9</i>	4.0	628	10240	S100 calcium binding protein A9	NM_053587
<i>Oas1h</i>	3.9	7	102	2'-5' Oligoadenylate synthetase 1H	NM_001009491
<i>Fosb</i>	3.8	17	248	FBJ osteosarcoma oncogene B	NM_001256509
<i>Serpib3</i>	3.8	347	4831	Serpin peptidase inhibitor, clade B, member 3	NM_001008887
<i>Stfa3</i>	3.7	5089	65014	Stefin A3	NM_001105877
<i>Slc5a5</i>	3.5	68	768	Solute carrier family 5, member 5	NM_052983
<i>Serpib10</i>	3.4	133	1394	Serpin peptidase inhibitor, clade B, member 10	NM_153733
<i>Nppb</i>	3.3	128	1231	Natriuretic peptide B	NM_031545
<i>RGD1560324</i>	3.3	348	3342	Similar to hypothetical protein C130079G13	NM_001106436
<i>Fos</i>	3.2	104	976	FBJ osteosarcoma oncogene	NM_022197
<i>Acot5</i>	3.1	32	282	Acyl-CoA thioesterase 5	NM_001079709
<i>Ccl20</i>	3.1	95	811	Chemokine ligand 20	NM_019233
<i>Lbp</i>	3.0	29	233	Lipopolysaccharide binding	NM_017208

				protein	
<i>Mmp13</i>	3.0	14	114	Matrix metalloproteinase 13	NM_133530
<i>S100g</i>	3.0	14	113	S100 calcium binding protein G	NM_012521
<i>Wfdc18</i>	3.0	281	2203	WAP four-disulfide core domain 18	NM_133537
<i>Vnn3</i>	2.9	38	289	Vanin 3	NM_001109136
<i>Mss51</i>	2.9	163	1192	MSS51 mitochondrial translational activator	NM_001106025
<i>Csta</i>	2.8	12864	90337	Cystatin A (stefin A)	NM_001105876
<i>Rilpl1</i>	2.7	70	463	Rab interacting lysosomal protein-like 1	NM_001191665
<i>Serpinb12</i>	2.7	565	3711	Serpin peptidase inhibitor, clade B, member 12	NM_001135867

FC, fold change ($\log_2 Ht/WT$).

値はマイクロアレイのシグナルから算出している.

Ht signal > 100 の遺伝子を選択している.

表 5 *Ht* ラットにおいて発現が増加した遺伝子の中で高発現の上位 30 遺伝子

Gene symbol	FC	Signal		Description	GenBank accession number
		WT	<i>Ht</i>		
<i>Krt1</i>	2.0	29944	119033	Keratin 1, type II	NM_001008802
<i>Csta</i>	2.8	12864	90337	Cystatin A (stefin A)	NM_001105876
<i>Stfa3</i>	3.7	5089	65014	Stefin A3	NM_001105877
<i>Klk8</i>	1.6	7274	22645	Kallikrein related-peptidase 8	NM_001107509
<i>Mup4</i>	2.1	4155	18207	Major urinary protein 4	NM_198784
<i>Ebp</i>	1.8	4688	16287	Emopamil binding protein (sterol isomerase)	NM_057137
<i>LOC310926</i>	1.5	5513	15701	Hypothetical protein	NM_001025002
<i>Akr1c2</i>	1.8	4157	14935	Aldo-keto reductase family 1, member C2	NM_001013057
<i>LOC259244</i>	2.1	3328	14586	α 2u Globulin PGCL3	NM_147212
<i>Rbp7</i>	1.6	4537	13520	Retinol binding protein 7	NM_001108693
<i>Ggh</i>	1.7	3982	13289	γ -Glutamyl hydrolase	NM_012960
<i>Elovl3</i>	2.0	2553	10570	Fatty acid elongase 3	NM_001107602
<i>S100a9</i>	4.0	628	10240	S100 calcium binding protein A9	NM_053587
<i>Hacl1</i>	2.0	2529	9926	2-Hydroxyacyl-CoA lyase 1	NM_053493
<i>LOC298111</i>	2.3	1974	9706	α 2u Globulin	NM_001024248
<i>Idi1</i>	1.6	2697	8241	Isopentenyl-diphosphate δ isomerase 1	NM_053539
<i>Dusp26</i>	1.6	2585	8010	Dual specificity phosphatase 26	NM_001012352
<i>S100a8</i>	2.5	1236	7193	S100 calcium binding protein A8	NM_053822
<i>Awat1</i>	1.7	2001	6694	Acyl-CoA wax alcohol acyltransferase 1	NM_001109371
<i>Myh6</i>	1.6	2141	6519	Myosin heavy chain 6	NM_017239
<i>Defb1</i>	1.7	1565	5163	Defensin β 1	NM_031810
<i>Fam57b</i>	2.2	1087	4967	Family with sequence	NM_001106296

<i>Klk11</i>	1.6	1585	4900	similarity 57, member B Kallikrein related-peptidase 11	NM_001106252
<i>Serpinb3</i>	3.8	347	4831	Serpin peptidase inhibitor, clade B, member 3	NM_001008887
<i>Myh7</i>	1.6	1379	4231	Myosin heavy chain 7	NM_017240
<i>Serpinb12</i>	2.7	565	3711	Serpin peptidase inhibitor, clade B, member 12	NM_001135867
<i>RGD1560324</i>	3.3	348	3342	Similar to hypothetical protein C130079G13	NM_001106436
<i>Il36b</i>	1.6	956	2945	Interleukin 36 β	NM_001108570
<i>Rnase12</i>	2.4	554	2937	Ribonuclease A family 12	NM_001012209
<i>Ocm2</i>	1.7	930	2933	Oncomodulin 2	NM_012995

FC, fold change ($\log_2 Ht/WT$).

値はマイクロアレイのシグナルから算出している.

$Ht/WT > 1.5$ の遺伝子を選択している.

表 6 LC/MS 解析に用いたグリセロ脂質, スフィンゴ脂質, コレステロールの内部標準物質

Lipid	Supplier
Triacylglycerol (17:0/17:1/17:0)-d ₅	Avanti Polar Lipids
Diacylglycerol 1,3-(18:1/18:1)-d ₅	Avanti Polar Lipids
Lysophosphatidylinositol (13:0)	Avanti Polar Lipids
Lysophosphatidylcholine (16:0)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Phosphatidic acid (16:0/18:1)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Phosphatidylcholine (16:0/18:1)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Phosphatidylethanolamine (16:0/18:1)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Phosphatidylglycerol (16:0/18:1)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Phosphatidylinositol (16:0/18:1)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Phosphatidylserine (16:0/18:1)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Dihydrosphingosine-d ₇	Avanti Polar Lipids
Sphingosine-d ₇	Avanti Polar Lipids
Sphingosine 1-phosphate-d ₇	Avanti Polar Lipids
Ceramide (d18:1/16:0)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Ceramide 1-phosphate (d18:1/12:0)	Avanti Polar Lipids
Sphingomyelin (d18:1/16:0)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Glucosylceramide (d18:1/17:0)	Avanti Polar Lipids
Lactosylceramide (d18:1/12:0)	Avanti Polar Lipids
Cholesterol ester (19:0)	Avanti Polar Lipids
Cholesterol-d ₇	Avanti Polar Lipids

Avanti Polar Lipids (Alabaster, USA)

重水素標識脂質は重水素の数を添え字に加えて“-d”として示している.

表 7 LC/MS 解析に用いた脂肪酸, 脂肪酸代謝物, モノアシルグリセロールの内
部標準物質

Lipid	Supplier
Palmitic acid-d ₃₁	Cayman Chemical
Palmitoleic acid-d ₁₄	Cayman Chemical
Oleic acid-d ₁₇	Cayman Chemical
Linoleic acid-d ₄	Cayman Chemical
α -Linolenic acid-d ₁₄	Cayman Chemical
Dihomo- γ -linolenic acid-d ₆	Cayman Chemical
Arachidonic acid-d ₈	Cayman Chemical
Eicosapentaenoic acid-d ₅	Cayman Chemical
Docosahexaenoic acid-d ₅	Cayman Chemical
9-Hydroxyoctadecadienoic acid-d ₄	Cayman Chemical
15-Hydroxyeicosatetraenoic acid-d ₈	Cayman Chemical
5,6-Epoxyeicosatrienoic acid-d ₁₁	Cayman Chemical
14,15-dihydroxyeicosatrienoic acid-d ₁₁	Cayman Chemical
Lipoxin A ₄ -d ₅	Cayman Chemical
Prostaglandin D ₂ -d ₄	Cayman Chemical
Prostaglandin E ₂ -d ₄	Cayman Chemical
Thromboxane B ₂ -d ₄	Cayman Chemical
15-Deoxy-prostaglandin J ₂ -d ₄	Cayman Chemical
Leukotriene C ₄ -d ₅	Cayman Chemical
Leukotriene D ₄ -d ₅	Cayman Chemical
Monoacylglycerol 2-(20:4)-d ₅	Cayman Chemical
<i>N</i> -Acylethanolamine (20:4)-d ₈	Cayman Chemical
<i>N</i> -Acylglycine (20:4)-d ₈	Cayman Chemical
<i>N</i> -Acyldopamine (20:4)-d ₈	Cayman Chemical

Cayman Chemical (Ann Arbor, USA)

重水素標識脂質は重水素の数を添え字に加えて“-d”として示している。

表 8 LC/MS 解析に用いたグリセロ脂質, スフィンゴ脂質, コレステロールの標準物質

Lipid	Internal standard lipid	Supplier
Lysophosphatidic acid (18:1)	Lysophosphatidylinositol (13:0)	Avanti Polar Lipids
Lysophosphatidylcholine (16:0)	Lysophosphatidylcholine (16:0)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Lysophosphatidylethanolamine (18:0)	Lysophosphatidylcholine (16:0)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Lysophosphatidylglycerol (16:0)	Lysophosphatidylcholine (16:0)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Lysophosphatidylglycerol (18:0)	Lysophosphatidylcholine (16:0)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Lysophosphatidylinositol (16:0)	Lysophosphatidylinositol (13:0)	Avanti Polar Lipids
Lysophosphatidylinositol (18:0)	Lysophosphatidylinositol (13:0)	Avanti Polar Lipids
Lysophosphatidylinositol (18:1)	Lysophosphatidylinositol (13:0)	Avanti Polar Lipids
Lysophosphatidylinositol (20:4)	Lysophosphatidylinositol (13:0)	Avanti Polar Lipids
Lysophosphatidylserine (18:1)	Lysophosphatidylcholine (16:0)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Lysophosphatidylserine (18:0)	Lysophosphatidylcholine (16:0)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Phosphatidic acid (16:0/16:0)	Phosphatidic acid (16:0/18:1)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Phosphatidic acid (18:0/18:0)	Phosphatidic acid (16:0/18:1)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Phosphatidic acid (18:1/18:1)	Phosphatidic acid (16:0/18:1)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Phosphatidylcholine (16:0/20:4)	Phosphatidylcholine (16:0/18:1)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Phosphatidylethanolamine (16:0/18:2)	Phosphatidylethanolamine (16:0/18:1)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Phosphatidylethanolamine (18:1/18:1)	Phosphatidylethanolamine (16:0/18:1)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Phosphatidylglycerol (16:0/18:1)	Phosphatidylglycerol (16:0/18:1)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Phosphatidylinositol (18:1/18:1)	Phosphatidylinositol (16:0/18:1)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Phosphatidylinositol (18:0/20:4)	Phosphatidylinositol (16:0/18:1)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids

Phosphatidylserine (18:1/18:1)	Phosphatidylserine (16:0/18:1)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Phosphatidylserine (18:0/18:1)	Phosphatidylserine (16:0/18:1)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Sphingosine	Sphingosine-d ₇	Avanti Polar Lipids
Dihydrosphingosine 1-phosphate	Sphingosine 1-phosphate-d ₇	Avanti Polar Lipids
Sphingosine 1-phosphate	Sphingosine 1-phosphate-d ₇	Avanti Polar Lipids
Phytosphingosine	Dihydrosphingosine-d ₇	Tokyo Chemical Industry
Lyso-sphingomyelin (d18:1)	Sphingomyelin (d18:1/16:0)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Sphingomyelin (d18:1/16:0)	Sphingomyelin (d18:1/16:0)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Sphingomyelin (d18:1/18:0)	Sphingomyelin (d18:1/16:0)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Sphingomyelin (d18:1/18:1)	Sphingomyelin (d18:1/16:0)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Sphingomyelin (d18:1/24:0)	Sphingomyelin (d18:1/16:0)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Sphingomyelin (d18:1/24:1)	Sphingomyelin (d18:1/16:0)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Ceramide (d18:1/16:0)	Ceramide (d18:1/16:0)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Ceramide (d18:1/18:0)	Ceramide (d18:1/16:0)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Ceramide (d18:1/18:1)	Ceramide (d18:1/16:0)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Ceramide (d18:1/20:0)	Ceramide (d18:1/16:0)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Ceramide (d18:1/22:0)	Ceramide (d18:1/16:0)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Ceramide (d18:1/24:1)	Ceramide (d18:1/16:0)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Ceramide (d18:1/24:0)	Ceramide (d18:1/16:0)-d ₃₁	Avanti Polar Lipids
Ceramide 1-phosphate (d18:1/16:0)	Ceramide 1-phosphate (d18:1/12:0)	Avanti Polar Lipids
Ceramide 1-phosphate (d18:1/18:1)	Ceramide 1-phosphate (d18:1/12:0)	Avanti Polar Lipids
Ceramide 1-phosphate (d18:1/24:1)	Ceramide 1-phosphate (d18:1/12:0)	Avanti Polar Lipids
Glucosylceramide (d18:1/16:0)	Glucosylceramide (d18:1/17:0)	Avanti Polar Lipids
Glucosylceramide (d18:1/18:0)	Glucosylceramide (d18:1/17:0)	Avanti Polar Lipids
Glucosylceramide (d18:1/18:1)	Glucosylceramide (d18:1/17:0)	Avanti Polar Lipids
Glucosylceramide (d18:1/24:1)	Glucosylceramide (d18:1/17:0)	Avanti Polar Lipids
Lactosylceramide (d18:1/16:0)	Lactosylceramide (d18:1/12:0)	Avanti Polar Lipids
Lactosylceramide (d18:1/18:0)	Lactosylceramide (d18:1/12:0)	Avanti Polar Lipids

Lactosylceramide (d18:1/24:0)	Lactosylceramide (d18:1/12:0)	Avanti Polar Lipids
Lactosylceramide (d18:1/24:1)	Lactosylceramide (d18:1/12:0)	Avanti Polar Lipids
Triacylglycerol (16:0/16:0/16:0)	Triacylglycerol (17:0/17:1/17:0)-d ₅	Avanti Polar Lipids
Diacylglycerol 1,2-(16:0/16:0)	Diacylglycerol 1,3-(18:1/18:1)-d ₅	Sigma-Aldrich
Diacylglycerol 1,2-(18:0/18:0)	Diacylglycerol 1,3-(18:1/18:1)-d ₅	Sigma-Aldrich
Diacylglycerol 1,2-(18:1/18:1)	Diacylglycerol 1,3-(18:1/18:1)-d ₅	Sigma-Aldrich
Diacylglycerol 1,3-(18:2/18:2)	Diacylglycerol 1,3-(18:1/18:1)-d ₅	Avanti Polar Lipids
Diacylglycerol 1,2-(16:0/18:1)	Diacylglycerol 1,3-(18:1/18:1)-d ₅	Avanti Polar Lipids
Diacylglycerol 1,2-(18:0/20:0)	Diacylglycerol 1,3-(18:1/18:1)-d ₅	Avanti Polar Lipids
Cholesterol	Cholesterol-d ₇	Avanti Polar Lipids
Lauric acid (12:0)	Palmitoleic acid-d ₁₄	Matreya
Myristic acid (14:0)	Palmitoleic acid-d ₁₄	Sigma-Aldrich
Pentadecanoic acid (15:0)	Palmitoleic acid-d ₁₄	Matreya
Palmitic acid (16:0)	Palmitic acid-d ₃₁	Sigma-Aldrich
Palmitoleic acid (16:1)	Palmitoleic acid-d ₁₄	Cayman Chemical
Heptadecanoic acid (17:0)	Oleic acid-d ₁₇	Sigma-Aldrich
Stearic acid (18:0)	Oleic acid-d ₁₇	Sigma-Aldrich
Oleic acid (18:1)	Oleic acid-d ₁₇	Tokyo Chemical Industry
Linoleic acid (18:2)	Linoleic acid-d ₄	Tokyo Chemical Industry
α -Linolenic acid (18:3)	α -Linolenic acid-d ₁₄	Sigma-Aldrich
γ -Linolenic acid (18:3)	α -Linolenic acid-d ₁₄	Sigma-Aldrich
Stearidonic acid (18:4)	Palmitoleic acid-d ₁₄	Sigma-Aldrich
Nonadecanoic acid (19:0)	Oleic acid-d ₁₇	Tokyo Chemical Industry
Arachidic acid (20:0)	Oleic acid-d ₁₇	Matreya
Gondoic acid (20:1)	Oleic acid-d ₁₇	Sigma-Aldrich
Mead acid (20:3)	Arachidonic acid-d ₈	Cayman Chemical
Dihomo- γ -linolenic acid (20:3)	Dihomo- γ -linolenic acid-d ₆	Sigma-Aldrich
Arachidonic acid (20:4)	Arachidonic acid-d ₈	Cayman Chemical
Eicosapentaenoic acid (20:5)	Eicosapentaenoic acid-d ₅	Cayman Chemical

Heneicosanoic acid (21:0)	Oleic acid-d ₁₇	Matreya
Behenic acid (22:0)	Oleic acid-d ₁₇	Sigma-Aldrich
Erucic acid (22:1)	Oleic acid-d ₁₇	Sigma-Aldrich
Docosapentaenoic acid (22:5)	Docosahexaenoic acid-d ₅	Sigma-Aldrich
Docosahexaenoic acid (22:6)	Docosahexaenoic acid-d ₅	Cayman Chemical
Lignoceric acid (24:0)	Oleic acid-d ₁₇	Sigma-Aldrich
Nervonic acid (24:1)	Oleic acid-d ₁₇	Sigma-Aldrich

Avanti Polar Lipids (Alabaster, USA); 東京化成工業 (東京, 日本); Sigma-Aldrich (Saint Louis, USA); Matreya (State College, USA); Cayman Chemical (Ann Arbor, USA)

重水素標識脂質は重水素の数を添え字に加えて“-d”として示している。

表 9 LC/MS 解析に用いた脂肪酸, 脂肪酸代謝物, モノアシルグリセロールの標準物質

Lipid	Internal standard lipid	Supplier
6-Keto-prostaglandin F _{1α}	Thromboxane B ₂ -d ₄	Cayman Chemical
Thromboxane B ₂	Thromboxane B ₂ -d ₄	Cayman Chemical
Prostaglandin E ₂	Prostaglandin E ₂ -d ₄	Cayman Chemical
Prostaglandin F _{2α}	Prostaglandin E ₂ -d ₄	Cayman Chemical
Prostaglandin D ₂	Prostaglandin D ₂ -d ₄	Cayman Chemical
15-Keto-prostaglandin E ₂	Prostaglandin E ₂ -d ₄	Cayman Chemical
15-Keto-prostaglandin F ₂	Prostaglandin E ₂ -d ₄	Cayman Chemical
15-Keto-prostaglandin D ₂	Prostaglandin D ₂ -d ₄	Cayman Chemical
15-Deoxy-prostaglandin J ₂	15-Deoxy-prostaglandin J ₂ -d ₄	Cayman Chemical
Lipoxin A ₄	Lipoxin A ₄ -d ₅	Cayman Chemical
Leukotriene B ₄	14,15-Dihydroxyeicosatrienoic acid-d ₁₁	Cayman Chemical
20-OH Leukotriene B ₄	14,15-Dihydroxyeicosatrienoic acid-d ₁₁	Cayman Chemical
Leukotriene C ₄	Leukotriene C ₄ -d ₅	Cayman Chemical
14,15-Leukotriene C ₄	Leukotriene C ₄ -d ₅	Cayman Chemical
Leukotriene D ₄	Leukotriene C ₄ -d ₅	Cayman Chemical
Leukotriene E ₄	Leukotriene C ₄ -d ₅	Cayman Chemical
14,15-Leukotriene E ₄	Leukotriene C ₄ -d ₅	Cayman Chemical
5-HETE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
8-HETE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
9-HETE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
11-HETE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
12-HETE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
15-HETE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
16-HETE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
17-HETE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
18-HETE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
19-HETE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
20-HETE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical

5,6-Epoxyeicosatrienoic acid	5,6-Epoxyeicosatrienoic acid-d ₁₁	Cayman Chemical
8,9-Epoxyeicosatrienoic acid	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
11,12-Epoxyeicosatrienoic acid	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
14,15-Epoxyeicosatrienoic acid	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
5,6-Dihydroxyeicosatrienoic acid	14,15-Dihydroxyeicosatrienoic acid-d ₁₁	Cayman Chemical
8,9-Dihydroxyeicosatrienoic acid	14,15-DHET-d ₁₁	Cayman Chemical
11,12-Dihydroxyeicosatrienoic acid	14,15-Dihydroxyeicosatrienoic acid-d ₁₁	Cayman Chemical
14,15-Dihydroxyeicosatrienoic acid	14,15-Dihydroxyeicosatrienoic acid-d ₁₁	Cayman Chemical
5-Oxoeicosatetraenoic acid	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
12-Oxoeicosatetraenoic acid	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
15-oxETE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
4-HDoHE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
7-HDoHE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
8-HDoHE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
10-HDoHE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
11-HDoHE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
13-HDoHE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
14-HDoHE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
16-HDoHE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
17-HDoHE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
20-HDoHE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
17-Oxodocosahexaenoic acid	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
17-Oxodocosapentaenoic acid	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
17-Hydroperoxydocosahexaenoic acid	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
16,17-Epoxydocosapentaenoic acid	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
19,20-Epoxydocosapentaenoic acid	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
7,17-Dihydroxydocosapentaenoic acid	14,15-Dihydroxyeicosatrienoic acid-d ₁₁	Cayman Chemical

19,20-Dihydroydocosapentaenoic acid	14,15-Dihydroxyeicosatrienoic acid-d ₁₁	Cayman Chemical
Protectin D1	14,15-Dihydroxyeicosatrienoic acid-d ₁₁	Cayman Chemical
Resolvin D1	14,15-Dihydroxyeicosatrienoic acid-d ₁₁	Cayman Chemical
17(<i>R</i>)-Resolvin D1	14,15-Dihydroxyeicosatrienoic acid-d ₁₁	Cayman Chemical
7(<i>S</i>)-Maresin	9-Hydroxyoctadecadienoic acid-d ₄	Cayman Chemical
Resolvin D2	14,15-Dihydroxyeicosatrienoic acid-d ₁₁	Cayman Chemical
5-HEPE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
8-HEPE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
9-HEPE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
11-HEPE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
12-HEPE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
15-HEPE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
18-HEPE	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
8,9-Epoxyeicosatetraenoic acid	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
11,12-Epoxyeicosatetraenoic acid	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
14,15-Epoxyeicosatetraenoic acid	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
17,18-Epoxyeicosatetraenoic acid	15-HETE-d ₈	Cayman Chemical
5,6-Dihydroxyeicosatetraenoic acid	14,15-Dihydroxyeicosatrienoic acid-d ₁₁	Cayman Chemical
14,15-Dihydroxyeicosatetraenoic acid	14,15-Dihydroxyeicosatrienoic acid-d ₁₁	Cayman Chemical
17,18-Dihydroxyeicosatetraenoic acid	14,15-Dihydroxyeicosatrienoic acid-d ₁₁	Cayman Chemical
9-Hydroxyoctadecadienoic acid	9-Hydroxyoctadecadienoic acid-d ₄	Cayman Chemical
13-Hydroxyoctadecadienoic acid	9-Hydroxyoctadecadienoic acid-d ₄	Cayman Chemical
9,10-Epoxyoctadecenoic acid	9-Hydroxyoctadecadienoic acid-d ₄	Cayman Chemical

12,13-Epoxyoctadecenoic acid	9-Hydroxyoctadecadienoic acid-d ₄	Cayman Chemical
9-HOTrE	9-Hydroxyoctadecadienoic acid-d ₄	Cayman Chemical
13-Hydroxyoctadecatrienoic acid	9-Hydroxyoctadecadienoic acid-d ₄	Cayman Chemical
13-HOTrE γ	9-Hydroxyoctadecadienoic acid-d ₄	Cayman Chemical
5-Hydroxyeicosatrienoic acid	9-Hydroxyoctadecadienoic acid-d ₄	Cayman Chemical
8-Hydroxyeicosatrienoic acid	9-Hydroxyoctadecadienoic acid-d ₄	Cayman Chemical
15-Hydroxyeicosatrienoic acid	9-Hydroxyoctadecadienoic acid-d ₄	Cayman Chemical
9-Oxoctadecadienoic acid	9-Hydroxyoctadecadienoic acid-d ₄	Cayman Chemical
13-Oxoctadecadienoic acid	9-Hydroxyoctadecadienoic acid-d ₄	Cayman Chemical
9-Oxoeicosatetraenoic acid	9-Hydroxyoctadecadienoic acid-d ₄	Cayman Chemical
9,10-Dihydroxyoctadecenoic acid	14,15-Dihydroxyeicosatrienoic acid-d ₁₁	Cayman Chemical
12,13-Dihydroxyoctadecenoic acid	14,15-Dihydroxyeicosatrienoic acid-d ₁₁	Cayman Chemical
2-Hydroxyoleic acid	9-HODE-d ₄	Sigma-Aldrich
14,20-Dihydroxydocosahexaenoic acid	14,15-Dihydroxyeicosatrienoic acid-d ₁₁	Cayman Chemical
Resolvin E3	14,15-Dihydroxyeicosatrienoic acid-d ₁₁	Cayman Chemical
<i>N</i> -Acylethanolamine (16:0)	<i>N</i> -Acylethanolamine (20:4)-d ₈	Cayman Chemical
<i>N</i> -Acylethanolamine (16:1)	<i>N</i> -Acylethanolamine (20:4)-d ₈	Cayman Chemical
<i>N</i> -Acylethanolamine (18:0)	<i>N</i> -Acylethanolamine (20:4)-d ₈	Cayman Chemical
<i>N</i> -Acylethanolamine (18:1)	<i>N</i> -Acylethanolamine (20:4)-d ₈	Cayman Chemical
<i>N</i> -Acylethanolamine (18:2)	<i>N</i> -Acylethanolamine (20:4)-d ₈	Cayman Chemical
<i>N</i> -Acylethanolamine (18:3)	<i>N</i> -Acylethanolamine (20:4)-d ₈	Cayman Chemical

<i>N</i> -Acylethanolamine (20:4)	<i>N</i> -Acylethanolamine (20:4)-d ₈	Cayman Chemical
<i>N</i> -Acylethanolamine (20:5)	<i>N</i> -Acylethanolamine (20:4)-d ₈	Cayman Chemical
<i>N</i> -Acylethanolamine (22:6)	<i>N</i> -Acylethanolamine (20:4)-d ₈	Cayman Chemical
<i>N</i> -Acylglycine (16:0)	<i>N</i> -Acylglycine (20:4)-d ₈	Cayman Chemical
<i>N</i> -Acylglycine (18:1)	<i>N</i> -Acylglycine (20:4)-d ₈	Cayman Chemical
<i>N</i> -Acylglycine (18:2)	<i>N</i> -Acylglycine (20:4)-d ₈	Cayman Chemical
<i>N</i> -Acylglycine (18:4)	<i>N</i> -Acylglycine (20:4)-d ₈	Cayman Chemical
<i>N</i> -Acylglycine (20:4)	<i>N</i> -Acylglycine (20:4)-d ₈	Cayman Chemical
<i>N</i> -Acylglycine (22:6)	<i>N</i> -Acylglycine (20:4)-d ₈	Cayman Chemical
<i>N</i> -Acyl dopamine (16:0)	<i>N</i> -Acyl dopamine (20:4)-d ₈	Cayman Chemical
<i>N</i> -Acyl dopamine (18:1)	<i>N</i> -Acyl dopamine (20:4)-d ₈	Cayman Chemical
<i>N</i> -Acyl dopamine (20:4)	<i>N</i> -Acyl dopamine (20:4)-d ₈	Cayman Chemical
Monoacylglycerol 1-(16:0)	Monoacylglycerol 2-(20:4)-d ₅	Avanti Polar Lipids
Monoacylglycerol 1-(17:0)	Monoacylglycerol 2-(20:4)-d ₅	Avanti Polar Lipids
Monoacylglycerol 1-(18:1)	Monoacylglycerol 2-(20:4)-d ₅	Avanti Polar Lipids
Monoacylglycerol 2-(18:1)	Monoacylglycerol 2-(20:4)-d ₅	Cayman Chemical
Monoacylglycerol 1-(18:2)	Monoacylglycerol 2-(20:4)-d ₅	Cayman Chemical
Monoacylglycerol 2-(18:2)	Monoacylglycerol 2-(20:4)-d ₅	Cayman Chemical
Monoacylglycerol 1-(20:4)	Monoacylglycerol 2-(20:4)-d ₅	Cayman Chemical
Monoacylglycerol 2-(20:4)	Monoacylglycerol 2-(20:4)-d ₅	Cayman Chemical

Sigma-Aldrich (Saint Louis, USA) ; Cayman Chemical (Ann Arbor, USA) ; Avanti Polar Lipids (Alabaster, USA)

重水素標識脂質は重水素の数を添え字に加えて“-d”として示している。

表 10 第一章において使用したプライマー

<i>Gene</i>	Direction	Sequence
<i>Alox5</i>	Forward	5'-TCTCCGCACACATCTGGTGTC-3'
	Reverse	5'-TTCCCGGGCCTTAGTGTTGA-3'
<i>Alox12b</i>	Forward	5'-TCAATGGTCAGAAGCAGCATCAC-3'
	Reverse	5'-CCACTCAGAATCATTAGGCAGGAA-3'
<i>Alox12e</i>	Forward	5'-TGATTTCCAAGTGCACCAGTTACAG-3'
	Reverse	5'-TTGATCTCCATGGTGTAGCGAAAG-3'
<i>Alox15</i>	Forward	5'-CTGAAGCTGATGCCTGATGGAC-3'
	Reverse	5'-CGGACCCAGCATTTGGCTA-3'
<i>Alox15b</i>	Forward	5'-GTTTAACTTCCACAACACTCCAGCA-3'
	Reverse	5'-AGAACTGGGTTGAGGCCATTTAG-3'
<i>Ccl2</i>	Forward	5'-CTATGCAGGTCTCTGTCACGCTTC-3'
	Reverse	5'-CAGCCGACTCATTGGGATCA-3'
<i>CerS3</i>	Forward	5'-CCCATCCAGAACCAGCTGAGA-3'
	Reverse	5'-TCTAGTGCAGCGAAGACCACTAACA-3'
<i>CerS4</i>	Forward	5'-TGGTGACCCATGGCTATCTTTA-3'
	Reverse	5'-CCTGCTTTGTATCCCAGGTTC-3'
<i>Cxcl1</i>	Forward	5'-TGCACCCAAACCGAAGTC-3'
	Reverse	5'-ACGCCATCGGTGCAATCTA-3'
<i>Cxcl2</i>	Forward	5'-TCATGAAGTTTGTCTCAACCCTGAA-3'
	Reverse	5'-AGACAGCGAGGCACATCAGGTA-3'
<i>Degs1</i>	Forward	5'-TCAATGTGGGCTATCACAACGAA-3'
	Reverse	5'-CGTCCATCACAAAGTCATACAGCA-3'
<i>Elovl1</i>	Forward	5'-CTGGCTTTGGCCAGAGGTTC-3'
	Reverse	5'-CAACAGCCTCCATCCTGGCTA-3'
<i>Elovl3</i>	Forward	5'-GGTCCTTCTGCCTGGCAAT-3'
	Reverse	5'-AGGATGATGAAGGCCGTGT-3'
<i>Elovl4</i>	Forward	5'-GTACCATCACTGCACCATGTTTAC-3'
	Reverse	5'-TCAGGTACCGCTTCCACCAA-3'
<i>Gapdh</i>	Forward	5'-GGCACAGTCAAGGCTGAGAATG-3'
	Reverse	5'-ATGGTGGTGAAGACGCCAGTA-3'
<i>Hprt1</i>	Forward	5'-TCCTCATGGACTGATTATGGACA-3'

	Reverse	5'-TAATCCAGCAGGTCAGCAAAGA-3'
<i>Il36b</i>	Forward	5'-TCCTGGGAATCAAAGGCAGAAG-3'
	Reverse	5'-GGTGGCTATAAACCAGCCAGGATAC-3'
<i>Ptgs2</i>	Forward	5'-TGAACACGGACTTGCTCACTTTG-3'
	Reverse	5'-AGGCCTTTGCCACTGCTTGTA-3'
<i>Sgms1</i>	Forward	5'-GTACCCGGCATGCACTTCAAC-3'
	Reverse	5'-CCACCTCCAGCAATGAGCTTC-3'
<i>Sgms2</i>	Forward	5'-ACGTCGACCGGGTCAAATG-3'
	Reverse	5'-TTCCGGGCACAGGTAACGTAG-3'

表 11 第二章において使用したプライマー

<i>Gene</i>	Direction	Sequence
<i>Actb</i>	Forward	5'-CATCCGTAAAGACCTCTATGCCAAC-3'
	Reverse	5'-ATGGAGCCACCGATCCACA-3'
<i>Defb3</i>	Forward	5'-TCAGTCATGAGGATCCATTACCTTC-3'
	Reverse	5'-GCCAATGCACCGATTCCAG-3'
<i>Hprt1</i>	Forward	5'-TTGTTGTTGGATATGCCCTTGACTA-3'
	Reverse	5'-AGGCAGATGGCCACAGGACTA-3'
<i>Il17a</i>	Forward	5'-GAAGGCCCTCAGACTACCTCAA-3'
	Reverse	5'-TCATGTGGTGGTCCAGCTTTC-3'
<i>Il17c</i>	Forward	5'-CTCCTGCTTCTAGGCTGGTTG-3'
	Reverse	5'-CCACCTGGCACTTCGAGTTAG-3'
<i>Il23a</i>	Forward	5'-ATGCTGGATTGCAGAGCAGTA-3'
	Reverse	5'-ACGGGGCACATTATTTTTAGTCT-3'
<i>S100a8</i>	Forward	5'-TGACAATGCCGTCTGAACTG-3'
	Reverse	5'-ATCACCATCGCAAGGAACTC-3'
<i>S100a9</i>	Forward	5'-GGAAGCACAGTTGGCAACCTTTA-3'
	Reverse	5'-GATCAACTTTGCCATCAGCATCA-3'
<i>Sgms1</i>	Forward	5'-ACCACCGTGTGCTTCGTATCCTA-3'
	Reverse	5'-AAATGGCTTACAGCCCTGTCTTTG-3'
<i>Sgms2</i>	Forward	5'-GATTACTTCGACCGGGTCAA-3'
	Reverse	5'-GCACAGGTAACGTAGTGACA-3'

表 12 WT 及び *Sms2* 欠損雌マウスの背部の表皮におけるアシルセラミドレベル

IMQ treatment	-	-	-	-	+	+	+	+
Diet	Normal diet	Normal diet	High fat diet	High fat diet	Normal diet	Normal diet	High fat diet	High fat diet
<i>Sms2</i>	+/+	-/-	+/+	-/-	+/+	-/-	+/+	-/-
(area ratio/mg dry weight ± SEM)								
Acylceramide	0.00528 ±	0.00531 ±	0.00511 ±	0.00569 ±	0.0132 ±	0.012 ±	0.0184 ±	0.0117 ±
E(18:2)O(32:0)S(18)	0.00088	0.00071	0.00056	0.00062	0.0024	0.0011	0.0009	0.0009
Acylceramide	0.00988 ±	0.0096 ±	0.0108 ±	0.0115 ±	0.0259 ±	0.0259 ±	0.0398 ±	0.0267 ±
E(18:2)O(34:0)S(18)	0.00115	0.00079	0.001	0.0011	0.0046	0.0019	0.0019	0.0024
Acylceramide	0.0073 ±	0.00742 ±	0.00704 ±	0.00796 ±	0.00782 ±	0.00753 ±	0.00759 ±	0.00561 ±
E(18:2)O(36:0)S(18)	0.00105	0.00076	0.00088	0.00116	0.00073	0.00071	0.00063	0.0005

面積比はアシルセラミド EOS の分子種のピーク面積／内部標準 (ceramide (d18:1/16:0-d₃₁)) のピーク面積である。

表 13 WT 及び *Sms2* 欠損雌マウスの背部の表皮におけるスフィンゴ脂質分子種レベル

IMQ treatment	-	-	-	-	+	+	+	+
Diet	Normal diet	Normal diet	High fat diet	High fat diet	Normal diet	Normal diet	High fat diet	High fat diet
<i>Sms2</i>	+/+	-/-	+/+	-/-	+/+	-/-	+/+	-/-
(µg/g dry weight ± SEM)								
Ceramide	0.0312 ±	0.0284 ±	0.0531 ±	0.0616 ±	0.0406 ±	0.0405 ±	0.0671 ±	0.0561 ±
(d18:1/16:0)	0.0031	0.0028	0.0077	0.0072	0.0059	0.0016	0.0058	0.0061
Ceramide	0.0169 ±	0.0128 ±	0.0249 ±	0.0258 ±	0.0253 ±	0.0232 ±	0.0343 ±	0.033 ±
(d18:1/18:0)	0.0025	0.001	0.0019	0.001	0.0032	0.001	0.002	0.0031
Ceramide	0.0322 ±	0.033 ±	0.0363 ±	0.0452 ±	0.0517 ±	0.0486 ±	0.0707 ±	0.0633 ±
(d18:1/20:0)	0.002	0.0022	0.0027	0.0037	0.0062	0.0021	0.0029	0.0048
Ceramide	0.173 ±	0.171 ±	0.172 ±	0.197 ±	0.209 ±	0.199 ±	0.299 ±	0.256 ±
(d18:1/22:0)	0.015	0.015	0.01	0.009	0.02	0.005	0.013	0.02
Ceramide	0.411 ±	0.419 ±	0.402 ±	0.451 ±	0.619 ±	0.57 ±	0.854 ±	0.834 ±
(d18:1/24:0)	0.064	0.057	0.024	0.031	0.055	0.01	0.052	0.064
Ceramide	0.51 ±	0.561 ±	0.527 ±	0.608 ±	0.647 ±	0.57 ±	0.836 ±	0.869 ±
(d18:1/26:0)	0.115	0.099	0.053	0.078	0.067	0.014	0.048	0.064
Ceramide	0.0307 ±	0.0347 ±	0.0358 ±	0.039 ±	0.0532 ±	0.0451 ±	0.0776 ±	0.0829 ±
(d18:1/28:0)	0.0067	0.0061	0.0039	0.0058	0.0071	0.0015	0.0058	0.0065
Ceramide	0.0152 ±	0.0171 ±	0.0156 ±	0.0174 ±	0.0285 ±	0.0245 ±	0.0387 ±	0.0429 ±
(d18:1/30:0)	0.0024	0.0027	0.0015	0.0024	0.0034	0.0005	0.0026	0.0034
Ceramide	0.0021 ±	0.00252 ±	0.00358 ±	0.00352 ±	0.00227 ±	0.00225 ±	0.00338 ±	0.00289 ±
(d18:1/18:1)	0.00022	0.00045	0.00035	0.0004	0.00029	0.00015	0.0004	0.00031

Ceramide	0.0132 ±	0.0126 ±	0.00964 ±	0.0113 ±	0.0209 ±	0.0167 ±	0.0332 ±	0.0265 ±
(d18:1/24:1)	0.0008	0.0008	0.00062	0.0008	0.0041	0.0013	0.0045	0.0037
Ceramide	0.00591 ±	0.00585 ±	0.00392 ±	0.00459 ±	0.0127 ±	0.0106 ±	0.0227 ±	0.0201 ±
(d18:1/26:1)	0.0005	0.00039	0.00021	0.00044	0.003	0.0009	0.0032	0.0031
Sphingomyelin	0.0241 ±	0.0212 ±	0.0245 ±	0.0243 ±	0.0158 ±	0.0207 ±	0.0124 ±	0.0176 ±
(d18:0/16:0)	0.0043	0.0019	0.0027	0.0018	0.0021	0.0029	0.0009	0.0022
Sphingomyelin	0.0407 ±	0.0305 ±	0.0463 ±	0.0342 ±	0.0218 ±	0.013 ±	0.0188 ±	0.0137 ±
(d18:0/24:0)	0.0032	0.0024	0.0027	0.0033	0.0021	0.0018	0.0026	0.0021
Sphingomyelin	0.337 ±	0.285 ±	0.338 ±	0.321 ±	0.352 ±	0.382 ±	0.311 ±	0.363 ±
(d18:1/16:0)	0.039	0.025	0.026	0.024	0.042	0.027	0.018	0.045
Sphingomyelin	0.0341 ±	0.0257 ±	0.036 ±	0.0279 ±	0.0239 ±	0.0176 ±	0.0197 ±	0.0183 ±
(d18:1/18:0)	0.0017	0.001	0.0019	0.0021	0.0033	0.0011	0.0018	0.0016
Sphingomyelin	0.0471 ±	0.0315 ±	0.0483 ±	0.0347 ±	0.0425 ±	0.0345 ±	0.0394 ±	0.0322 ±
(d18:1/20:0)	0.0021	0.002	0.0031	0.0038	0.0041	0.0018	0.0036	0.0025
Sphingomyelin	0.113 ±	0.0867 ±	0.11 ±	0.0937 ±	0.122 ±	0.134 ±	0.103 ±	0.123 ±
(d18:1/22:0)	0.007	0.0056	0.004	0.0076	0.013	0.008	0.006	0.011
Sphingomyelin	0.163 ±	0.13 ±	0.156 ±	0.142 ±	0.261 ±	0.354 ±	0.205 ±	0.334 ±
(d18:1/24:0)	0.016	0.009	0.008	0.01	0.029	0.029	0.011	0.03
Sphingomyelin	0.0496 ±	0.0436 ±	0.0519 ±	0.0469 ±	0.0653 ±	0.0805 ±	0.0513 ±	0.0856 ±
(d18:1/26:0)	0.0077	0.0042	0.0049	0.003	0.0064	0.006	0.0023	0.0065
Sphingomyelin	0.0456 ±	0.0305 ±	0.0424 ±	0.0353 ±	0.0534 ±	0.0605 ±	0.04 ±	0.0573 ±
(d18:1/24:1)	0.0034	0.0024	0.0023	0.0033	0.0081	0.0057	0.0021	0.0069
Monohexosylceramide	0.0263 ±	0.0329 ±	0.017 ±	0.0204 ±	0.0319 ±	0.0335 ±	0.035 ±	0.0384 ±

(d18:1/16:0)	0.0045	0.0066	0.0015	0.0021	0.0037	0.0034	0.0031	0.0055
Monohexosylceramide	0.0127 ±	0.0126 ±	0.00645 ±	0.00654 ±	0.00557 ±	0.00556 ±	0.0037 ±	0.00418 ±
(d18:1/18:0)	0.0027	0.0019	0.0006	0.00109	0.00075	0.00056	0.00039	0.0004
Monohexosylceramide	0.0271 ±	0.0376 ±	0.0177 ±	0.0221 ±	0.0189 ±	0.0181 ±	0.0124 ±	0.014 ±
(d18:1/20:0)	0.0053	0.0076	0.0022	0.0031	0.0021	0.0021	0.0011	0.0017
Monohexosylceramide	0.0409 ±	0.057 ±	0.0281 ±	0.0334 ±	0.0446 ±	0.0409 ±	0.0426 ±	0.048 ±
(d18:1/22:0)	0.0078	0.0119	0.0035	0.0047	0.0053	0.0043	0.0025	0.0047
Monohexosylceramide	0.206 ±	0.271 ±	0.158 ±	0.18 ±	0.554 ±	0.468 ±	0.746 ±	0.81 ±
(d18:1/24:0)	0.027	0.056	0.012	0.016	0.073	0.043	0.07	0.085
Monohexosylceramide	0.217 ±	0.297 ±	0.192 ±	0.242 ±	0.602 ±	0.5 ±	0.901 ±	0.963 ±
(d18:1/26:0)	0.021	0.065	0.013	0.013	0.077	0.038	0.087	0.088
Monohexosylceramide	0.00158 ±	0.00279 ±		0.00344 ±	0.0294 ±	0.0256 ±	0.068 ±	0.0728 ±
(d18:1/28:0)	0.00009	0.0011	N.D.	0.0004	0.0046	0.0017	0.008	0.0065
Monohexosylceramide	0.0154 ±	0.0183 ±	0.012 ±	0.0192 ±	0.0194 ±	0.0158 ±	0.023 ±	0.0256 ±
(d18:1/24:1)	0.003	0.0042	0.0008	0.0015	0.0035	0.0019	0.0028	0.0042
Dihydrosphingosine	0.0293 ±	0.0391 ±	0.0357 ±	0.039 ±	0.0129 ±	0.00816 ±	0.0134 ±	0.0108 ±
(d18:0)	0.0073	0.0073	0.0035	0.0038	0.0042	0.00041	0.0016	0.0011
Sphingosine (d18:1)	0.103 ±	0.12 ±	0.106 ±	0.118 ±	0.0557 ±	0.0608 ±	0.0723 ±	0.0684 ±
	0.01	0.015	0.006	0.006	0.0061	0.0014	0.0033	0.0047

N.D. : 未検出

表 14 WT 及び *Sms2* 欠損雌マウスの血清中のスフィンゴ脂質の分子種レベル

Imiquimod treatment	-	-	-	-	+	+	+	+
Diet	Normal diet	Normal diet	High fat diet	High fat diet	Normal diet	Normal diet	High fat diet	High fat diet
<i>Sms2</i>	+/+	-/-	+/+	-/-	+/+	-/-	+/+	-/-
(μg/mL ± SEM)								
Ceramide (d18:0/16:0)	0.034 ± 0.0043	0.0324 ± 0.0012	0.176 ± 0.019	0.15 ± 0.015	0.0342 ± 0.0039	0.042 ± 0.0022	0.117 ± 0.012	0.118 ± 0.01
Ceramide (d18:0/18:0)	0.0165 ± 0.0032	0.0173 ± 0.0011	0.0646 ± 0.0036	0.0589 ± 0.0067	0.0123 ± 0.001	0.0146 ± 0.0006	0.0549 ± 0.0033	0.0521 ± 0.0037
Ceramide (d18:0/20:0)	0.0308 ± 0.0129	0.0244 ± 0.0031	0.0828 ± 0.0048	0.0669 ± 0.0071	0.0213 ± 0.0018	0.0242 ± 0.0005	0.0694 ± 0.0067	0.0612 ± 0.0046
Ceramide (d18:0/22:0)	0.145 ± 0.021	0.106 ± 0.006	0.476 ± 0.033	0.395 ± 0.041	0.117 ± 0.011	0.137 ± 0.005	0.386 ± 0.049	0.331 ± 0.026
Ceramide (d18:0/24:0)	0.116 ± 0.017	0.0869 ± 0.0042	0.235 ± 0.014	0.196 ± 0.016	0.0865 ± 0.0057	0.11 ± 0.004	0.184 ± 0.02	0.162 ± 0.012
Ceramide (d18:1/16:0)	0.111 ± 0.017	0.156 ± 0.014	0.308 ± 0.032	0.369 ± 0.03	0.116 ± 0.008	0.177 ± 0.02	0.355 ± 0.018	0.479 ± 0.029
Ceramide (d18:1/18:0)	0.044 ± 0.0103	0.0587 ± 0.0086	0.156 ± 0.012	0.267 ± 0.028	0.0302 ± 0.0021	0.0353 ± 0.006	0.181 ± 0.007	0.243 ± 0.025
Ceramide (d18:1/20:0)	0.0616 ± 0.0161	0.066 ± 0.0073	0.176 ± 0.026	0.256 ± 0.025	0.0416 ± 0.0041	0.0617 ± 0.0072	0.18 ± 0.01	0.221 ± 0.019
Ceramide (d18:1/22:0)	0.515 ± 0.037	0.928 ± 0.065	1.19 ± 0.22	1.96 ± 0.16	0.509 ± 0.046	0.977 ± 0.094	1.35 ± 0.12	1.95 ± 0.14

Ceramide (d18:1/24:0)	0.834 ± 0.036	1.86 ± 0.11	0.817 ± 0.018	1.84 ± 0.15	0.818 ± 0.075	1.79 ± 0.12	1.12 ± 0.09	2.05 ± 0.13
Ceramide (d18:1/26:0)	0.0372 ± 0.0143	0.0327 ± 0.0011	0.0231 ± 0.0006	0.0343 ± 0.0019	0.0184 ± 0.001	0.0274 ± 0.0013	0.0271 ± 0.0009	0.0372 ± 0.0021
Ceramide (d18:1/18:1)	0.0115 ± 0.0016	0.0127 ± 0.001	0.0187 ± 0.0012	0.0244 ± 0.0019	0.00962 ± 0.00028	0.00993 ± 0.0004	0.0174 ± 0.0007	0.0197 ± 0.001
Ceramide (d18:1/24:1)	0.769 ± 0.028	1.34 ± 0.09	0.559 ± 0.028	0.892 ± 0.037	0.772 ± 0.076	1.26 ± 0.12	0.981 ± 0.091	1.45 ± 0.1
Sphingomyelin (d18:0/16:0)	1.02 ± 0.04	0.913 ± 0.028	1.81 ± 0.08	1.42 ± 0.06	0.967 ± 0.028	0.854 ± 0.025	1.97 ± 0.06	1.31 ± 0.05
Sphingomyelin (d18:1/16:0)	41.2 ± 1	36.6 ± 1.9	55 ± 2.5	46.6 ± 2.4	41.2 ± 2.3	34.6 ± 2	69.5 ± 2.7	50.8 ± 2.3
Sphingomyelin (d18:1/20:0)	0.942 ± 0.038	0.743 ± 0.039	2.34 ± 0.33	1.67 ± 0.15	0.917 ± 0.07	0.699 ± 0.058	1.88 ± 0.08	1.18 ± 0.06
Sphingomyelin (d18:1/22:0)	8.65 ± 0.25	5.59 ± 0.36	12.4 ± 2.2	7.65 ± 0.68	9.56 ± 0.76	6.27 ± 0.52	11.3 ± 0.4	6.78 ± 0.47
Sphingomyelin (d18:1/24:0)	10.8 ± 0.3	6.88 ± 0.35	7.3 ± 0.3	4.78 ± 0.34	11.6 ± 0.9	7.46 ± 0.56	8.41 ± 0.35	4.93 ± 0.36
Sphingomyelin (d18:1/22:1)	0.954 ± 0.031	0.735 ± 0.033	1.27 ± 0.14	0.952 ± 0.062	1.02 ± 0.05	0.857 ± 0.091	1.41 ± 0.06	1.12 ± 0.08
Sphingomyelin (d18:1/24:1)	28.4 ± 0.9	25.2 ± 0.8	15.5 ± 0.7	13.4 ± 0.5	30.1 ± 1.9	26.6 ± 2	22.3 ± 0.9	17.9 ± 1.1
Monohexosylceramide	0.906 ±	1.93 ±	2.16 ±	2.87 ±	1.22 ±	1.83 ±	3.68 ±	4.95 ±

(d18:1/16:0)	0.034	0.22	0.15	0.26	0.11	0.17	0.26	0.41
Monohexosylceramide	0.182 ±	0.399 ±	1.22 ±	1.64 ±	0.152 ±	0.197 ±	1.22 ±	1.34 ±
(d18:1/18:0)	0.021	0.075	0.15	0.2	0.021	0.029	0.09	0.15
Monohexosylceramide	0.281 ±	0.553 ±	0.942 ±	1.18 ±	0.286 ±	0.447 ±	0.886 ±	0.944 ±
(d18:1/20:0)	0.016	0.05	0.065	0.1	0.016	0.021	0.034	0.058
Monohexosylceramide	1.41 ±	2.43 ±	3.41 ±	4 ±	1.39 ±	2.02 ±	3.68 ±	4.27 ±
(d18:1/22:0)	0.06	0.21	0.37	0.4	0.1	0.17	0.22	0.28
Monohexosylceramide	1.21 ±	2.09 ±	1.55 ±	2.04 ±	1.38 ±	1.82 ±	2.37 ±	2.7 ±
(d18:1/24:0)	0.05	0.15	0.06	0.16	0.08	0.1	0.12	0.14
Monohexosylceramide	2.77 ±	4.97 ±	2.52 ±	3.07 ±	3.22 ±	4.21 ±	4.65 ±	5.37 ±
(d18:1/24:1)	0.15	0.44	0.12	0.22	0.25	0.34	0.26	0.38
Sphingosine (d18:1)	0.0635 ±	0.0529 ±	0.0524 ±	0.0571 ±	0.0523 ±	0.0535 ±	0.0548 ±	0.0579 ±
	0.0096	0.0019	0.0014	0.0021	0.001	0.0009	0.001	0.0012

參考論文

- [1] K.R. Feingold, P.M. Elias, Role of lipids in the formation and maintenance of the cutaneous permeability barrier, *Biochim. Biophys. Acta* 1841 (2014) 280-294.
- [2] A. Kihara, Synthesis and degradation pathways, functions, and pathology of ceramides and epidermal acylceramides, *Prog. Lipid Res.* 63 (2016) 50-69.
- [3] B. Breiden, K. Sandhoff, The role of sphingolipid metabolism in cutaneous permeability barrier formation, *Biochim. Biophys. Acta* 1841 (2014) 441-452.
- [4] M. Akiyama, Corneocyte lipid envelope (CLE), the key structure for skin barrier function and ichthyosis pathogenesis, *J. Dermatol. Sci.* 88 (2017) 3-9.
- [5] T. Takeichi, M. Akiyama, Inherited ichthyosis: Non-syndromic forms, *J. Dermatol.* 43 (2016) 242-251.
- [6] K. Yoneda, Inherited ichthyosis: Syndromic forms, *J. Dermatol.* 43 (2016) 252-263.
- [7] S. Duchatelet, A. Hovnanian, Olmsted syndrome: clinical, molecular and therapeutic aspects, *Orphanet J. Rare Dis.* 10 (2015) 33.
- [8] Z. Lin, Q. Chen, M. Lee, X. Cao, J. Zhang, D. Ma, L. Chen, X. Hu, H. Wang, X. Wang, P. Zhang, X. Liu, L. Guan, Y. Tang, H. Yang, P. Tu, D. Bu, X. Zhu, K. Wang, R. Li, Y. Yang, Exome sequencing reveals mutations in *TRPV3* as a cause of Olmsted syndrome, *Am. J. Hum. Genet.* 90 (2012) 558-564.
- [9] A. Haghghi, C.A. Scott, D.S. Poon, R. Yaghoobi, N. Saleh-Gohari, V. Plagnol, D.P. Kelsell, A missense mutation in the *MBTPS2* gene underlies the X-linked form of Olmsted syndrome, *J. Invest. Dermatol.* 133 (2013) 571-573.
- [10] G.D. Smith, M.J. Gunthorpe, R.E. Kelsell, P.D. Hayes, P. Reilly, P. Facer, J.E. Wright, J.C. Jerman, J.P. Walhin, L. Ooi, J. Egerton, K.J. Charles, D. Smart, A.D. Randall, P. Anand, J.B. Davis, TRPV3 is a temperature-sensitive vanilloid receptor-like protein, *Nature* 418 (2002) 186-190.
- [11] A.M. Peier, A.J. Reeve, D.A. Andersson, A. Moqrich, T.J. Earley, A.C. Hergarden, G.M. Story, S. Colley, J.B. Hogenesch, P. McIntyre, S. Bevan, A. Patapoutian, A heat-sensitive TRP channel expressed in keratinocytes, *Science* 296 (2002) 2046-2049.
- [12] H. Xu, I.S. Ramsey, S.A. Kotecha, M.M. Moran, J.A. Chong, D. Lawson, P. Ge, J. Lilly, I. Silos-Santiago, Y. Xie, P.S. DiStefano, R. Curtis, D.E. Clapham, TRPV3 is a calcium-permeable temperature-sensitive cation channel, *Nature* 418 (2002) 181-186.
- [13] B. Nilius, T. Biro, G. Owsianik, TRPV3: time to decipher a poorly understood family member!, *J. Physiol.* 592 (2014) 295-304.
- [14] Y. He, K. Zeng, X. Zhang, Q. Chen, J. Wu, H. Li, Y. Zhou, G. Glusman, J. Roach, A.

- Etheridge, S. Qing, Q. Tian, I. Lee, X. Tian, X. Wang, Z. Wu, L. Hood, Y. Ding, K. Wang, A gain-of-function mutation in TRPV3 causes focal palmoplantar keratoderma in a Chinese family, *J. Invest. Dermatol.* 135 (2015) 907-909.
- [15] O. Eytan, D. Fuchs-Telem, B. Mevorach, M. Indelman, R. Bergman, O. Sarig, I. Goldberg, N. Adir, E. Sprecher, Olmsted syndrome caused by a homozygous recessive mutation in TRPV3, *J. Invest. Dermatol.* 134 (2014) 1752-1754.
- [16] H.J. Wang, Z.L. Tang, Z.M. Lin, L.L. Dai, Q. Chen, Y. Yang, Recurrent splice-site mutation in MBTPS2 underlying IFAP syndrome with Olmsted syndrome-like features in a Chinese patient, *Clin. Exp. Dermatol.* 39 (2014) 158-161.
- [17] G. Chen, X. Zhang, New insights into S2P signaling cascades: regulation, variation, and conservation, *Protein Sci.* 19 (2010) 2015-2030.
- [18] M.K. Chung, H. Lee, A. Mizuno, M. Suzuki, M.J. Caterina, 2-Aminoethoxydiphenyl borate activates and sensitizes the heat-gated ion channel TRPV3, *J. Neurosci.* 24 (2004) 5177-5182.
- [19] S. Bang, S. Yoo, T.J. Yang, H. Cho, S.W. Hwang, Farnesyl pyrophosphate is a novel pain-producing molecule via specific activation of TRPV3, *J. Biol. Chem.* 285 (2010) 19362-19371.
- [20] H.Z. Hu, R. Xiao, C. Wang, N. Gao, C.K. Colton, J.D. Wood, M.X. Zhu, Potentiation of TRPV3 channel function by unsaturated fatty acids, *J. Cell. Physiol.* 208 (2006) 201-212.
- [21] S. Bang, S. Yoo, T.J. Yang, H. Cho, S.W. Hwang, 17(R)-resolvin D1 specifically inhibits transient receptor potential ion channel vanilloid 3 leading to peripheral antinociception, *Br. J. Pharmacol.* 165 (2012) 683-692.
- [22] M. Asakawa, T. Yoshioka, T. Matsutani, I. Hikita, M. Suzuki, I. Oshima, K. Tsukahara, A. Arimura, T. Horikawa, T. Hirasawa, T. Sakata, Association of a mutation in TRPV3 with defective hair growth in rodents, *J. Invest. Dermatol.* 126 (2006) 2664-2672.
- [23] I. Hikita, T. Yoshioka, T. Mizoguchi, K. Tsukahara, K. Tsuru, H. Nagai, T. Hirasawa, Y. Tsuruta, R. Suzuki, M. Ichihashi, T. Horikawa, Characterization of dermatitis arising spontaneously in DS-*Nh* mice maintained under conventional conditions: another possible model for atopic dermatitis, *J. Dermatol. Sci.* 30 (2002) 142-153.
- [24] M. Asakawa, T. Yoshioka, I. Hikita, T. Matsutani, T. Hirasawa, A. Arimura, T. Sakata, T. Horikawa, WBN/Kob-*Ht* rats spontaneously develop dermatitis under conventional conditions: another possible model for atopic dermatitis, *Exp. Anim.* 54 (2005) 461-465.
- [25] T. Yoshioka, K. Imura, M. Asakawa, M. Suzuki, I. Oshima, T. Hirasawa, T. Sakata,

- T. Horikawa, A. Arimura, Impact of the Gly573Ser substitution in TRPV3 on the development of allergic and pruritic dermatitis in mice, *J. Invest. Dermatol.* 129 (2009) 714-722.
- [26] X. Cheng, J. Jin, L. Hu, D. Shen, X.P. Dong, M.A. Samie, J. Knoff, B. Eisinger, M.L. Liu, S.M. Huang, M.J. Caterina, P. Dempsey, L.E. Michael, A.A. Dlugosz, N.C. Andrews, D.E. Clapham, H. Xu, TRP channel regulates EGFR signaling in hair morphogenesis and skin barrier formation, *Cell* 141 (2010) 331-343.
- [27] E. Yamamoto-Kasai, K. Imura, K. Yasui, M. Shichijou, I. Oshima, T. Hirasawa, T. Sakata, T. Yoshioka, TRPV3 as a therapeutic target for itch, *J. Invest. Dermatol.* 132 (2012) 2109-2112.
- [28] Y. Ohno, S. Nakamichi, A. Ohkuni, N. Kamiyama, A. Naoe, H. Tsujimura, U. Yokose, K. Sugiura, J. Ishikawa, M. Akiyama, A. Kihara, Essential role of the cytochrome P450 CYP4F22 in the production of acylceramide, the key lipid for skin permeability barrier formation, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 112 (2015) 7707-7712.
- [29] Y. Masukawa, H. Tsujimura, H. Narita, Liquid chromatography-mass spectrometry for comprehensive profiling of ceramide molecules in human hair, *J. Lipid Res.* 47 (2006) 1559-1571.
- [30] S. Duchatelet, L. Guibbal, S. de Veer, S. Fraitag, P. Nitschke, M. Zarhrate, C. Bodemer, A. Hovnanian, Olmsted syndrome with erythromelalgia caused by recessive transient receptor potential vanilloid 3 mutations, *Br. J. Dermatol.* 171 (2014) 675-678.
- [31] R.L. Eckert, A.M. Broome, M. Ruse, N. Robinson, D. Ryan, K. Lee, S100 proteins in the epidermis, *J. Invest. Dermatol.* 123 (2004) 23-33.
- [32] Y. Carrier, H.L. Ma, H.E. Ramon, L. Napierata, C. Small, M. O'Toole, D.A. Young, L.A. Fouser, C. Nickerson-Nutter, M. Collins, K. Dunussi-Joannopoulos, Q.G. Medley, Inter-regulation of Th17 cytokines and the IL-36 cytokines *in vitro* and *in vivo*: implications in psoriasis pathogenesis, *J. Invest. Dermatol.* 131 (2011) 2428-2437.
- [33] Y. Ohno, S. Suto, M. Yamanaka, Y. Mizutani, S. Mitsutake, Y. Igarashi, T. Sassa, A. Kihara, ELOVL1 production of C24 acyl-CoAs is linked to C24 sphingolipid synthesis, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107 (2010) 18439-18444.
- [34] A. Kihara, Very long-chain fatty acids: elongation, physiology and related disorders, *J. Biochem.* 152 (2012) 387-395.
- [35] M. Casteels, M. Sniekers, P. Fraccascia, G.P. Mannaerts, P.P. Van Veldhoven, The role of 2-hydroxyacyl-CoA lyase, a thiamin pyrophosphate-dependent enzyme, in

- the peroxisomal metabolism of 3-methyl-branched fatty acids and 2-hydroxy straight-chain fatty acids, *Biochem. Soc. Trans.* 35 (2007) 876-880.
- [36] A.R. Turkish, A.L. Henneberry, D. Cromley, M. Padamsee, P. Oelkers, H. Bazzi, A.M. Christiano, J.T. Billheimer, S.L. Sturley, Identification of two novel human acyl-CoA wax alcohol acyltransferases: members of the diacylglycerol acyltransferase 2 (DGAT2) gene superfamily, *J. Biol. Chem.* 280 (2005) 14755-14764.
- [37] V.G. Paton, J.E. Shackelford, S.K. Krisans, Cloning and subcellular localization of hamster and rat isopentenyl diphosphate dimethylallyl diphosphate isomerase. A PTS1 motif targets the enzyme to peroxisomes, *J. Biol. Chem.* 272 (1997) 18945-18950.
- [38] D. Warde-Farley, S.L. Donaldson, O. Comes, K. Zuberi, R. Badrawi, P. Chao, M. Franz, C. Grouios, F. Kazi, C.T. Lopes, A. Maitland, S. Mostafavi, J. Montojo, Q. Shao, G. Wright, G.D. Bader, Q. Morris, The GeneMANIA prediction server: biological network integration for gene prioritization and predicting gene function, *Nucleic Acids Res.* 38 (2010) W214-220.
- [39] A.M. Gregus, D.S. Dumlao, S.C. Wei, P.C. Norris, L.C. Catella, F.G. Meyerstein, M.W. Buczynski, J.J. Steinauer, B.L. Fitzsimmons, T.L. Yaksh, E.A. Dennis, Systematic analysis of rat 12/15-lipoxygenase enzymes reveals critical role for spinal eLOX3 hepoxilin synthase activity in inflammatory hyperalgesia, *FASEB J.* 27 (2013) 1939-1949.
- [40] P. Ternes, S. Franke, U. Zahringer, P. Sperling, E. Heinz, Identification and characterization of a sphingolipid Δ^4 -desaturase family, *J. Biol. Chem.* 277 (2002) 25512-25518.
- [41] T. Sassa, Y. Ohno, S. Suzuki, T. Nomura, C. Nishioka, T. Kashiwagi, T. Hirayama, M. Akiyama, R. Taguchi, H. Shimizu, S. Itohara, A. Kihara, Impaired epidermal permeability barrier in mice lacking *Elovl1*, the gene responsible for very-long-chain fatty acid production, *Mol. Cell. Biol.* 33 (2013) 2787-2796.
- [42] P. Ebel, S. Imgrund, K. Vom Dorp, K. Hofmann, H. Maier, H. Drake, J. Degen, P. Dormann, M. Eckhardt, T. Franz, K. Willecke, Ceramide synthase 4 deficiency in mice causes lipid alterations in sebum and results in alopecia, *Biochem. J.* 461 (2014) 147-158.
- [43] I. Borbiro, E. Lisztes, B.I. Toth, G. Czifra, A. Olah, A.G. Szollosi, N. Szentandrassy, P.P. Nanasi, Z. Peter, R. Paus, L. Kovacs, T. Biro, Activation of transient receptor potential vanilloid-3 inhibits human hair growth, *J. Invest. Dermatol.* 131 (2011) 1605-1614.

- [44] A.R. Brash, W.E. Boeglin, M.S. Chang, Discovery of a second 15S-lipoxygenase in humans, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94 (1997) 6148-6152.
- [45] S.B. Shappell, D.S. Keeney, J. Zhang, R. Page, S.J. Olson, A.R. Brash, 15-Lipoxygenase-2 expression in benign and neoplastic sebaceous glands and other cutaneous adnexa, *J. Invest. Dermatol.* 117 (2001) 36-43.
- [46] A.D. Dobrian, D.C. Lieb, B.K. Cole, D.A. Taylor-Fishwick, S.K. Chakrabarti, J.L. Nadler, Functional and pathological roles of the 12- and 15-lipoxygenases, *Prog. Lipid Res.* 50 (2011) 115-131.
- [47] C.N. Serhan, N. Chiang, T.E. Van Dyke, Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators, *Nat. Rev. Immunol.* 8 (2008) 349-361.
- [48] C.N. Serhan, N. Chiang, Endogenous pro-resolving and anti-inflammatory lipid mediators: a new pharmacologic genus, *Br. J. Pharmacol.* 153 Suppl 1 (2008) S200-215.
- [49] M. Romano, E. Cianci, F. Simiele, A. Recchiuti, Lipoxins and aspirin-triggered lipoxins in resolution of inflammation, *Eur. J. Pharmacol.* 760 (2015) 49-63.
- [50] O. Soyombo, B.W. Spur, T.H. Lee, Effects of lipoxin A₄ on chemotaxis and degranulation of human eosinophils stimulated by platelet-activating factor and N-formyl-L-methionyl-L-leucyl-L-phenylalanine, *Allergy* 49 (1994) 230-234.
- [51] J.F. Maddox, C.N. Serhan, Lipoxin A₄ and B₄ are potent stimuli for human monocyte migration and adhesion: selective inactivation by dehydrogenation and reduction, *J. Exp. Med.* 183 (1996) 137-146.
- [52] C. Bandeira-Melo, M.F. Serra, B.L. Diaz, R.S. Cordeiro, P.M. Silva, H.L. Lenzi, Y.S. Bakhle, C.N. Serhan, M.A. Martins, Cyclooxygenase-2-derived prostaglandin E₂ and lipoxin A₄ accelerate resolution of allergic edema in *Angiostrongylus costaricensis*-infected rats: relationship with concurrent eosinophilia, *J. Immunol.* 164 (2000) 1029-1036.
- [53] C. Godson, S. Mitchell, K. Harvey, N.A. Petasis, N. Hogg, H.R. Brady, Cutting edge: lipoxins rapidly stimulate nonphlogistic phagocytosis of apoptotic neutrophils by monocyte-derived macrophages, *J. Immunol.* 164 (2000) 1663-1667.
- [54] T.A. Wynn, Cellular and molecular mechanisms of fibrosis, *J. Pathol.* 214 (2008) 199-210.
- [55] Y. Le, Y. Zhou, P. Iribarren, J. Wang, Chemokines and chemokine receptors: their manifold roles in homeostasis and disease, *Cell. Mol. Immunol.* 1 (2004) 95-104.
- [56] M.S. Gresnigt, F.L. van de Veerdonk, Biology of IL-36 cytokines and their role in disease, *Semin. Immunol.* 25 (2013) 458-465.

- [57] H. Blumberg, H. Dinh, E.S. Trueblood, J. Pretorius, D. Kugler, N. Weng, S.T. Kanaly, J.E. Towne, C.R. Willis, M.K. Kuechle, J.E. Sims, J.J. Peschon, Opposing activities of two novel members of the IL-1 ligand family regulate skin inflammation, *J. Exp. Med.* 204 (2007) 2603-2614.
- [58] I.S. Thorey, J. Roth, J. Regenbogen, J.P. Halle, M. Bittner, T. Vogl, S. Kaesler, P. Bugnon, B. Reitmaier, S. Durka, A. Graf, M. Wockner, N. Rieger, A. Konstantinow, E. Wolf, A. Goppelt, S. Werner, The Ca²⁺-binding proteins S100A8 and S100A9 are encoded by novel injury-regulated genes, *J. Biol. Chem.* 276 (2001) 35818-35825.
- [59] M.A. Grimbaldston, C.L. Geczy, N. Tedla, J.J. Finlay-Jones, P.H. Hart, S100A8 induction in keratinocytes by ultraviolet A irradiation is dependent on reactive oxygen intermediates, *J. Invest. Dermatol.* 121 (2003) 1168-1174.
- [60] A.M. Broome, D. Ryan, R.L. Eckert, S100 protein subcellular localization during epidermal differentiation and psoriasis, *J. Histochem. Cytochem.* 51 (2003) 675-685.
- [61] C. Kerkhoff, A. Voss, T.E. Scholzen, M.M. Averill, K.S. Zänker, K.E. Bornfeldt, Novel insights into the role of S100A8/A9 in skin biology, *Exp. Dermatol.* 21 (2012) 822-826.
- [62] L.G. Luna, *Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology, 3rd ed*, Blakiston Division, McGraw-Hill, New York, 1968.
- [63] R.M. Pellegrino, A. Di Veroli, A. Valeri, L. Goracci, G. Cruciani, LC/MS lipid profiling from human serum: a new method for global lipid extraction, *Anal. Bioanal. Chem.* 406 (2014) 7937-7948.
- [64] T. Sanaki, T. Fujiwara, R. Iwamoto, T. Yoshioka, K. Higashino, T. Nakano, Y. Numata, Improvements in the high-performance liquid chromatography and extraction conditions for the analysis of oxidized fatty acids using a mixed-mode spin column, *Mod. Chem. Appl.* 3 (2015) 1000161.
- [65] T. Sanaki, Y. Inaba, T. Fujiwara, T. Yoshioka, K. Matsushima, K. Minagawa, K. Higashino, T. Nakano, Y. Numata, A hybrid strategy using global analysis of oxidized fatty acids and bioconversion by *Bacillus circulans*, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 30 (2016) 751-762.
- [66] M. Sugimoto, Y. Shimizu, T. Yoshioka, M. Wakabayashi, Y. Tanaka, K. Higashino, Y. Numata, S. Sakai, A. Kihara, Y. Igarashi, Y. Kuge, Histological analyses by matrix-assisted laser desorption/ionization-imaging mass spectrometry reveal differential localization of sphingomyelin molecular species regulated by particular ceramide synthase in mouse brains, *Biochim. Biophys. Acta* 1851 (2015) 1554-1565.

- [67] T. Yamada, T. Uchikata, S. Sakamoto, Y. Yokoi, E. Fukusaki, T. Bamba, Development of a lipid profiling system using reverse-phase liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry with rapid polarity switching and an automated lipid identification software, *J. Chromatogr. A* 1292 (2013) 211-218.
- [68] M.P. Schön, W.H. Boehncke, Psoriasis, *N. Engl. J. Med.* 352 (2005) 1899-1912.
- [69] F.O. Nestle, D.H. Kaplan, J. Barker, Psoriasis, *N. Engl. J. Med.* 361 (2009) 496-509.
- [70] W.H. Boehncke, M.P. Schön, Psoriasis, *Lancet.* 386 (2015) 983-994.
- [71] A.B. Gottlieb, Psoriasis: emerging therapeutic strategies, *Nat. Rev. Drug. Discov.* 4 (2005) 19-34.
- [72] P. Miossec, J.K. Kolls, Targeting IL-17 and TH17 cells in chronic inflammation, *Nat. Rev. Drug. Discov.* 11 (2012) 763-776.
- [73] M. Amin, K. Darji, D.J. No, J.J. Wu, Review of phase III trial data on IL-23 inhibitors tildrakizumab and guselkumab for psoriasis, *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 31 (2017) 1627-1632.
- [74] L. Naldi, L. Chatenoud, D. Linder, A. Belloni-Fortina, A. Peserico, A.R. Virgili, P.L. Bruni, V. Ingordo, G. Lo Scocco, C. Solaroli, D. Schena, A. Barba, A. Di Landro, E. Pezzarossa, F. Arcangeli, C. Gianni, R. Betti, P. Carli, A. Farris, G.F. Barabino, C. La Vecchia, Cigarette smoking, body mass index, and stressful life events as risk factors for psoriasis: results from an Italian case-control study, *J. Invest. Dermatol.* 125 (2005) 61-67.
- [75] M.D. Herron, M. Hinckley, M.S. Hoffman, J. Papenfuss, C.B. Hansen, K.P. Callis, G.G. Krueger, Impact of obesity and smoking on psoriasis presentation and management, *Arch. Dermatol.* 141 (2005) 1527-1534.
- [76] A.L. Neimann, D.B. Shin, X. Wang, D.J. Margolis, A.B. Troxel, J.M. Gelfand, Prevalence of cardiovascular risk factors in patients with psoriasis, *J. Am. Acad. Dermatol.* 55 (2006) 829-835.
- [77] J.M. Gelfand, A.L. Neimann, D.B. Shin, X. Wang, D.J. Margolis, A.B. Troxel, Risk of myocardial infarction in patients with psoriasis, *JAMA* 296 (2006) 1735-1741.
- [78] S. Upala, A. Sanguankeo, Effect of lifestyle weight loss intervention on disease severity in patients with psoriasis: a systematic review and meta-analysis. *Int. J. Obes.* 39 (2015) 1197-1202.
- [79] M. Akhyani, A.H. Ehsani, R.M. Robati, A.M. Robati, The lipid profile in psoriasis: a controlled study, *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 21 (2007) 1330-1332.
- [80] A. Checa, N. Xu, D.G. Sar, J.Z. Haeggström, M. Ståhle, C.E. Wheelock, Circulating levels of sphingosine-1-phosphate are elevated in severe, but not mild

- psoriasis and are unresponsive to anti-TNF- α treatment, *Sci. Rep.* 5 (2015) 12017.
- [81] B. Flutter, F.O. Nestle, TLRs to cytokines: mechanistic insights from the imiquimod mouse model of psoriasis, *Eur. J. Immunol.* 43 (2013) 3138-3146.
- [82] L. van der Fits, S. Mourits, J.S. Voerman, M. Kant, L. Boon, J.D. Laman, F. Cornelissen, A.M. Mus, E. Florencia, E.P. Prens, E. Lubberts, Imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice is mediated via the IL-23/IL-17 axis, *J. Immunol.* 182 (2009) 5836-5845.
- [83] K. Kanemaru, A. Matsuyuki, Y. Nakamura, K. Fukami, Obesity exacerbates imiquimod-induced psoriasis-like epidermal hyperplasia and interleukin-17 and interleukin-22 production in mice, *Exp. Dermatol.* 24 (2015) 436-442.
- [84] T. Stjernholm, P. Ommen, A. Langkilde, C. Johansen, L. Iversen, C. Rosada, K. Stenderup, Leptin deficiency in mice counteracts imiquimod (IMQ)-induced psoriasis-like skin inflammation while leptin stimulation induces inflammation in human keratinocytes, *Exp. Dermatol.* 26 (2017) 338-345.
- [85] M. Rabionet, K. Gorgas, R. Sandhoff, Ceramide synthesis in the epidermis, *Biochim. Biophys. Acta.* 1841 (2014) 422-434.
- [86] E. Sidransky, D.M. Sherer, E.I. Ginns, Gaucher disease in the neonate: a distinct Gaucher phenotype is analogous to a mouse model created by targeted disruption of the glucocerebrosidase gene, *Pediatr. Res.* 32 (1992) 494-498.
- [87] M. Schmuth, M.Q. Man, F. Weber, W. Gao, K.R. Feingold, P. Fritsch, P.M. Elias, W.M. Holleran, Permeability barrier disorder in Niemann-Pick disease: sphingomyelin-ceramide processing required for normal barrier homeostasis, *J. Invest. Dermatol.* 115 (2000) 459-466.
- [88] K. Huitema, J. van den Dikkenberg, J.F. Brouwers, J.C. Holthuis, Identification of a family of animal sphingomyelin synthases, *EMBO J.* 23 (2004) 33-44.
- [89] S. Yamaoka, M. Miyaji, T. Kitano, H. Umehara, T. Okazaki, Expression cloning of a human cDNA restoring sphingomyelin synthesis and cell growth in sphingomyelin synthase-defective lymphoid cells, *J. Biol. Chem.* 279 (2004) 18688-18693.
- [90] M. Taniguchi, T. Okazaki, The role of sphingomyelin and sphingomyelin synthases in cell death, proliferation and migration-from cell and animal models to human disorders, *Biochim. Biophys. Acta.* 1841 (2014) 692-703.
- [91] A.M. Vacaru, F.G. Tafesse, P. Ternes, V. Kondylis, M. Hermansson, J.F. Brouwers, P. Somerharju, C. Rabouille, J.C. Holthuis, Sphingomyelin synthase-related protein SMSr controls ceramide homeostasis in the ER, *J. Cell. Biol.* 185 (2009) 1013-1027.

- [92] M. Yano, K. Watanabe, T. Yamamoto, K. Ikeda, T. Senokuchi, M. Lu, T. Kadomatsu, H. Tsukano, M. Ikawa, M. Okabe, S. Yamaoka, T. Okazaki, H. Umehara, T. Gotoh, W.J. Song, K. Node, R. Taguchi, K. Yamagata, Y. Oike, Mitochondrial dysfunction and increased reactive oxygen species impair insulin secretion in sphingomyelin synthase 1-null mice, *J. Biol. Chem.* 286 (2011) 3992-4002.
- [93] S. Mitsutake, K. Zama, H. Yokota, T. Yoshida, M. Tanaka, M. Mitsui, M. Ikawa, M. Okabe, Y. Tanaka, T. Yamashita, H. Takemoto, T. Okazaki, K. Watanabe, Y. Igarashi, Dynamic modification of sphingomyelin in lipid microdomains controls development of obesity, fatty liver, and type 2 diabetes, *J. Biol. Chem.* 286 (2011) 28544-28555.
- [94] T. K. Hailemariam, C. Huan, J. Liu, Z. Li, C. Roman, M. Kalbfleisch, H.H. Bui, D.A. Peake, M.S. Kuo, G. Cao, R. Wadgaonkar, X.C. Jiang, Sphingomyelin synthase 2 deficiency attenuates NF κ B activation, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 28 (2008) 1519-1526.
- [95] Z. Li, H. Zhang, J. Liu, C.P. Liang, Y. Li, Y. Li, G. Teitelman, T. Beyer, H.H. Bui, D.A. Peake, Y. Zhang, P.E. Sanders, M.S. Kuo, T.S. Park, G. Cao, X.C. Jiang, Reducing plasma membrane sphingomyelin increases insulin sensitivity, *Mol. Cell. Biol.* 31 (2011) 4205-4218.
- [96] Y. Li, J. Dong, T. Ding, M.S. Kuo, G. Cao, X.C. Jiang, Z. Li, Sphingomyelin synthase 2 activity and liver steatosis: an effect of ceramide-mediated peroxisome proliferator-activated receptor γ 2 suppression, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 33 (2013) 1513-1520.
- [97] M. Sugimoto, Y. Shimizu, S. Zhao, N. Ukon, K. Nishijima, M. Wakabayashi, T. Yoshioka, K. Higashino, Y. Numata, T. Okuda, N. Tamaki, H. Hanamatsu, Y. Igarashi, Y. Kuge, Characterization of the role of sphingomyelin synthase 2 in glucose metabolism in whole-body and peripheral tissues in mice, *Biochim. Biophys. Acta.* 1861 (2016) 688-702.
- [98] T. Ohnishi, C. Hashizume, M. Taniguchi, H. Furumoto, J. Han, R. Gao, S. Kinami, T. Kosaka, T. Okazaki, Sphingomyelin synthase 2 deficiency inhibits the induction of murine colitis-associated colon cancer, *FASEB J.* 31 (2017) 3816-3830.
- [99] R. Jennemann, M. Rabionet, K. Gorgas, S. Epstein, A. Dalpke, U. Rothermel, A. Bayerle, F. van der Hoeven, S. Imgrund, J. Kirsch, W. Nickel, K. Willecke, H. Riezman, H.J. Gröne, R. Sandhoff R, Loss of ceramide synthase 3 causes lethal skin barrier disruption, *Hum. Mol. Genet.* 21 (2012) 586-608.
- [100] A. Di Cesare, P. Di Meglio, F. O. Nestle, The IL-23/Th17 axis in the immunopathogenesis of psoriasis, *J. Invest. Dermatol.* 129 (2009) 1339-1350.

- [101] E. Bettelli, M. Oukka, V.K. Kuchroo, T_H-17 cells in the circle of immunity and autoimmunity, *Nat. Immunol.* 8 (2007) 345-350.
- [102] Y. Iwakura, H. Ishigame, S. Saijo, S. Nakae, Functional specialization of interleukin-17 family members, *Immunity.* 34 (2011) 149-162.
- [103] M. Veldhoen, Interleukin 17 is a chief orchestrator of immunity, *Nat. Immunol.* 18 (2017) 612-621.
- [104] V. Ramirez-Carrozzi, A. Sambandam, E. Luis, Z. Lin, S. Jeet, J. Lesch, J. Hackney, J. Kim, M. Zhou, J. Lai, Z. Modrusan, T. Sai, W. Lee, M. Xu, P. Caplazi, L. Diehl, J. de Voss, M. Balazs, L. Gonzalez Jr, H. Singh, W. Ouyang, R. Pappu, IL-17C regulates the innate immune function of epithelial cells in an autocrine manner, *Nat. Immunol.* 12 (2011) 1159-1166.
- [105] A. Johnston, Y. Fritz, S.M. Dawes, D. Diaconu, P.M. Al-Attar, A.M. Guzman, C.S. Chen, W. Fu, J.E. Gudjonsson, T.S. McCormick, N.L. Ward, Keratinocyte overexpression of IL-17C promotes psoriasiform skin inflammation, *J. Immunol.* 190 (2013) 2252-2262.
- [106] G.J. de Jongh, P.L. Zeeuwen, M. Kucharekova, R. Pfundt, P.G. van der Valk, W. Blokk, A. Dogan, P.S. Hiemstra, P.C. van de Kerkhof, J. Schalkwijk, High expression levels of keratinocyte antimicrobial proteins in psoriasis compared with atopic dermatitis, *J. Invest. Dermatol.* 125 (2005) 1163-1173.
- [107] J. Liu, H. Zhang, Z. Li, T.K. Hailemariam, M. Chakraborty, K. Jiang, D. Qiu, H.H. Bui, D.A. Peake, M.S. Kuo, R. Wadgaonkar, G. Cao, X.C. Jiang, Sphingomyelin synthase 2 is one of the determinants for plasma and liver sphingomyelin levels in mice, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 29 (2009) 850-856.
- [108] S. Asano, K. Kitatani, M. Taniguchi, M. Hashimoto, K. Zama, S. Mitsutake, Y. Igarashi, H. Takeya, J. Kigawa, A. Hayashi, H. Umehara, T. Okazaki T, Regulation of cell migration by sphingomyelin synthases: sphingomyelin in lipid rafts decreases responsiveness to signaling by the CXCL12/CXCR4 pathway, *Mol. Cell. Biol.* 32 (2012) 3242-3252.
- [109] S. Gowda, C. Yeang, S. Wadgaonkar, F. Anjum, N. Grinkina, M. Cutaia, X.C. Jiang, R. Wadgaonkar, Sphingomyelin synthase 2 (SMS2) deficiency attenuates LPS-induced lung injury, *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 300 (2011) L430-440.
- [110] J. Liu, C. Huan, M. Chakraborty, H. Zhang, D. Lu, M.S. Kuo, G. Cao, X.C. Jiang, Macrophage sphingomyelin synthase 2 deficiency decreases atherosclerosis in mice, *Circ. Res.* 105 (2009) 295-303.
- [111] Y. Fan, F. Shi, J. Liu, J. Dong, H.H. Bui, D.A. Peake, M.S. Kuo, G. Cao, X.C.

- Jiang, Selective reduction in the sphingomyelin content of atherogenic lipoproteins inhibits their retention in murine aortas and the subsequent development of atherosclerosis, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 30 (2010) 2114-2120.
- [112] M.P. Schön, M. Schön, K.N. Klotz, The small antitumoral immune response modifier imiquimod interacts with adenosine receptor signaling in a TLR7- and TLR8-independent fashion, *J. Invest. Dermatol.* 126 (2006) 1338-1347.
- [113] C. Petes, N. Odoardi, K. Gee, The Toll for Trafficking: Toll-Like Receptor 7 Delivery to the Endosome, *Front. Immunol.* 8 (2017) 1075.
- [114] Z. Zhang, U. Ohto, T. Shibata, E. Krayukhina, M. Taoka, Y. Yamauchi, H. Tanji, T. Isobe, S. Uchiyama, K. Miyake, T. Shimizu, Structural analysis reveals that Toll-like receptor 7 is a dual receptor for guanosine and single-stranded RNA, *Immunity* 45 (2016) 737-748.
- [115] J.M. Ruysschaert, C. Loney, Role of lipid microdomains in TLR-mediated signaling, *Biochim. Biophys. Acta.* 1848 (2015) 1860-1867.
- [116] R.M. Locksley, N. Killeen, M.J. Lenardo, The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology, *Cell* 104 (2001) 487-501.
- [117] S. Shibata, Y. Tada, C.S. Hau, A. Mitsui, M. Kamata, Y. Asano, M. Sugaya, T. Kadono, Y. Masamoto, M. Kurokawa, T. Yamauchi, N. Kubota, T. Kadowaki, S. Sato, Adiponectin regulates psoriasiform skin inflammation by suppressing IL-17 production from $\gamma\delta$ -T cells, *Nat. Commun.* 6 (2015) 7687.
- [118] A. Ueyama, M. Yamamoto, K. Tsujii, Y. Furue, C. Imura, M. Shichijo, K. Yasui, Mechanism of pathogenesis of imiquimod-induced skin inflammation in the mouse: a role for interferon-alpha in dendritic cell activation by imiquimod, *J. Dermatol.* 41 (2014) 135-143.
- [119] M. Wakabayashi, T. Yoshioka, K. Higashino, Y. Numata, Y. Igarashi, A. Kihara, Decreases in 15-lipoxygenase metabolites in Olmsted syndrome model rats, *J. Dermatol. Sci.* (2017) 186-196.

謝辞

本研究を実施するにあたり，多大なご指導とご高閲を賜りました北海道大学大学院薬学研究院 生化学研究室 木原章雄教授に深く感謝いたします．また，本研究を進めるにあたり脂質生化学の視点から貴重なご助言を頂きました北海道大学大学院先端生命科学研究院 生体機能研究室 五十嵐靖之教授や研究員の皆様，動物実験施設の使用を許可頂いた北海道大学大学院医学研究院 病態情報学講座 応用分子画像科学分野・アイソトープ総合センター 久下裕司教授に厚く御礼を申し上げます．そして，本研究を取り組む機会を与えてくださった塩野義製薬株式会社 創薬イノベーションセンター 沼田義人センター長始め，研究員の皆様にも感謝申し上げます．