

口腔バリア形成におけるセラミドの重要性を解明

～口腔疾患との関係解明や治療薬の開発に期待～

ポイント

- ・口腔粘膜に存在するセラミド分子種の詳細を解明。
- ・長い炭素鎖長をもつ特殊なセラミドが減少すると口腔バリアが低下することを発見。
- ・セラミドと口腔疾患との関係解明や、口腔疾患の治療薬の開発に期待。

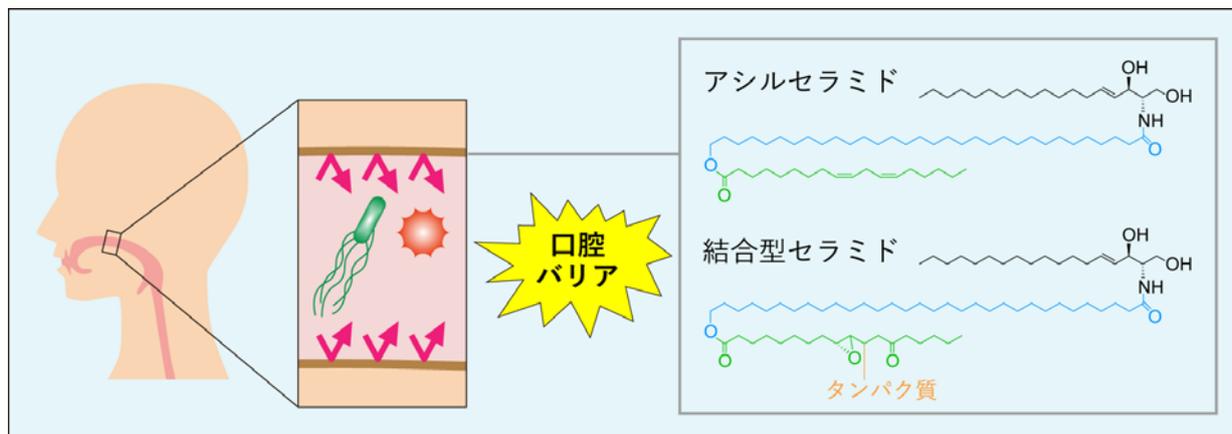
概要

北海道大学大学院薬学研究院の佐々貴之准教授と木原章雄教授の研究グループは、セラミドが口腔バリア形成に重要であることを明らかにしました。

口腔粘膜には、外からの病原体、アレルゲン、化学物質の侵入や口腔内の乾燥を防ぐ透過性バリア（口腔バリア）が存在します。口腔バリアの異常は歯周病などの口腔感染症、食物アレルギー、ドライマウスといった疾患の発症あるいはリスク増大に繋がります。しかし、口腔バリアを形成する脂質分子については理解されていませんでした。

そこで研究グループは、皮膚バリア*1に重要な脂質であるセラミドに着目し、マウスとヒトの口腔粘膜のセラミドの組成を詳細に調べました。その結果、口腔粘膜には長い炭素鎖長をもつ特殊なセラミド（アシルセラミドと結合型セラミド）が皮膚と同様に存在することを見出しました。さらに研究グループは口腔粘膜においてアシルセラミドと結合型セラミドの量が大きく減少したマウスを作製して解析し、このマウスでは口腔バリア機能が低下していることを明らかにしました。本研究成果は口腔バリアの形成にセラミドが重要であり、セラミドと口腔疾患との関係の解明や口腔疾患の治療薬の開発につながると考えられ、今後、医療や口腔ヘルスケア関連産業への応用が期待されます。

なお、本研究成果は、2023年4月13日（木）公開の *Cell Reports* 誌に掲載されました。



本研究の概要図

【背景】

生物には環境から身を守るバリアが存在します。例として、皮膚の表皮において外界からの病原体、アレルゲン、化学物質の侵入や乾燥を防ぐ透過性バリア（皮膚バリア）や眼球表面を覆う涙液による涙液バリアが挙げられます。これらのバリアの形成には脂質が重要であり、皮膚バリアではセラミド、涙液バリアではコレステリルエステルやワックスエステルなどの脂質がバリア形成に関わっていることが知られています。口腔粘膜にも透過性バリア（口腔バリア）が存在していますが、口腔バリア形成に関わる脂質分子は不明でした。しかし口腔粘膜と表皮は類似した組織学的特徴をもつため、研究グループは口腔バリアの形成にもセラミドが関わっている可能性があると考えて研究を行いました。

セラミドは二つの炭化水素鎖である脂肪酸と長鎖塩基が結合した分子で、非アシル化セラミド（一般的なタイプ）、アシルセラミド（別名 EO）、結合型セラミド（別名 P-O）に大別されます（図 1A）。これらはさらに長鎖塩基部分の違い（図 1B）からなる複数のクラスに分類されます（例：アシルセラミド EOS/EODS/EOP/EOH、結合型セラミド P-OS/P-ODS/P-OP/P-OH など。S/DS/P/H は長鎖塩基部分の違いを表す）。アシルセラミドは長い炭素鎖長をもつ脂肪酸の末端に、さらにもう一つの脂肪酸（おもにリノール酸）がエステル結合した特殊な構造をもちます（図 1A）。

一方、結合型セラミドは、表皮の角質細胞表面のタンパク質と強く結合（共有結合）しています（図 1A）。結合型セラミドはアシルセラミドの代謝によって産生されます。アシルセラミドと結合型セラミドは共に皮膚バリア形成において特に重要であり、これらのセラミドの産生不全は魚鱗癬*²と呼ばれる皮膚疾患を引き起こします。これまでの研究によって表皮のセラミド組成の詳細は明らかになっていましたが、口腔粘膜に存在するセラミド分子種の詳細は明らかにされておらず、セラミドが口腔バリアの形成に関わるかどうか不明でした。そこで研究グループは口腔粘膜のセラミド分子種の詳細を調べました。また、研究グループは口腔粘膜においてアシルセラミドと結合型セラミドの産生量を大きく減少させたマウスを人工的に作り出し、アシルセラミドと結合型セラミドが口腔バリアに重要であるかどうか調べました。

【研究手法】

マウスの口腔粘膜（頬、舌）と消化管（食道、胃、小腸、大腸）の組織及びヒトの頬と歯茎から綿棒で採取した口腔粘膜細胞から非アシル化セラミド、アシルセラミド、結合型セラミドを含む脂質を抽出し、得られた脂質に含まれるセラミドを質量分析法*³によって解析しました。口腔バリアにおけるアシルセラミドと結合型セラミドの役割を明らかにするため、脂肪酸の炭素鎖長を伸ばす酵素（脂肪酸伸長酵素）の一つである ELOVL1 をコードする遺伝子（*Elov1*：マウス遺伝子は頭文字のみ大文字のイタリック表記）が口腔粘膜と食道で欠損したマウス（*Elov1* cKO マウス）を作製し、解析しました。ELOVL1 によって産生される長い炭素鎖長をもつ脂肪酸はアシルセラミドと結合型セラミドの産生に必要なため、*Elov1* cKO マウスではアシルセラミドと結合型セラミドの産生量が低下すると予想されました。

【研究成果】

マウスの口腔粘膜（頬、舌）と消化管（食道、胃、小腸、大腸）には 11 クラスの非アシル化セラミドが存在していました。また、口腔粘膜（頬、舌）と食道、胃にはアシルセラミドと結合型セラミドも存在していました（図 2A、B）。これらの組織のアシルセラミドと結合型セラミドの主要なクラスはそれぞれ EOS と P-OS であり、いずれも S タイプの長鎖塩基をもつクラスでした。一方、小腸と大腸にはアシルセラミドと結合型セラミドがほぼ存在していませんでした。ヒトの口腔粘膜細胞（頬、歯茎）には 15 クラスの非アシル化セラミドと 5 クラスのアシルセラミドが存在し、このうち、頬にはアシルセ

ラミドの EOS、EODS、EOP、歯茎にはさらに EOH が存在していました (図 2C)。意外なことに、歯茎の粘膜細胞には P-OS クラスの結合型セラミドが存在する一方、頬の粘膜細胞には結合型セラミドが存在しませんでした (図 2D)。マウスの口腔粘膜 (頬、舌) とヒトの歯茎の粘膜は角化^{*4}しているのに対し、頬の粘膜は角化していないことから、角化と結合型セラミドの産生との関連が示唆されました。

Elov1 cKO マウスの口腔粘膜 (頬、舌)、食道、胃のセラミドを測定した結果、口腔粘膜 (頬、舌) ではアシルセラミドと結合型セラミドの量が約 3 分の 1 以下に減少し (図 3A、B)、食道では結合型セラミドの量が約 5 分の 1 に減少していました。このように、アシルセラミドと結合型セラミドの量が口腔粘膜で減少したマウスの作製に成功しました。

Elov1 cKO マウスの口腔組織を調べたところ、舌の角質層が肥厚していました (図 3C)。これは魚鱗癬の皮膚病態と類似していました。次に、*Elov1* cKO マウスの口腔バリアを調べました。マウスの舌を蛍光物質溶液に浸し、粘膜表面から浸透した蛍光物質が発する蛍光を組織学的に定量したところ、*Elov1* cKO マウスの舌粘膜は正常なマウスよりも蛍光色素が浸透しやすいことが分かりました (図 4A、B)。特に、舌の下面では約 2 倍以上の透過性を示しました。また、行動学的方法として、辛味をもたらすカプサイシン入りの水を与えて反応を調べたところ、正常なマウスではカプサイシン入りの水を飲む量が普通の水の 64% に減少し、カプサイシンに対する軽度の忌避性が見られたのに対し、*Elov1* cKO マウスでは普通の水の 9.5% に減少し、重度の忌避性が見られました (図 4C)。これらの結果から、アシルセラミドと結合型セラミドが口腔バリアに重要であることが明らかになりました。

【今後への期待】

本研究は口腔粘膜に存在するセラミド分子種の詳細を解明し、アシルセラミドと結合型セラミドが口腔バリアに重要であることを初めて明らかにしました。また、アシルセラミドと結合型セラミドがヒトの口腔粘膜にも存在することを解明しました。本研究成果は、セラミドと口腔疾患との関係の解明や新たな口腔疾患の治療薬の開発につながることで期待されます。

【謝辞】

本研究は日本学術振興会 (科学研究費補助金: JP22H04986、JP22H02757)、秋山記念生命科学振興財団 (研究助成 〈一般〉) から助成を受けて行われました。

論文情報

論文名 Involvement of ω -*O*-acylceramides and protein-bound ceramides in oral permeability barrier formation (口腔バリア形成へのアシルセラミドと結合型セラミドの関与)
著者名 佐々貴之¹、木原章雄¹ (¹北海道大学大学院薬学研究院)
雑誌名 *Cell Reports* (ライフサイエンス領域の専門誌)
DOI 10.1016/j.celrep.2023.112363
公表日 2023年4月13日(木)(オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院薬学研究院 准教授 佐々貴之 (さっさたかゆき)

TEL 011-706-3917 FAX 011-706-4900 メール tasasa@pharm.hokudai.ac.jp

北海道大学大学院薬学研究院 教授 木原章雄 (きはらあきお)

TEL 011-706-3754 FAX 011-706-4900 メール kihara@pharm.hokudai.ac.jp

URL <http://www.pharm.hokudai.ac.jp/seika/index.html>

配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目)

TEL 011-706-2610 FAX 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

【参考図】

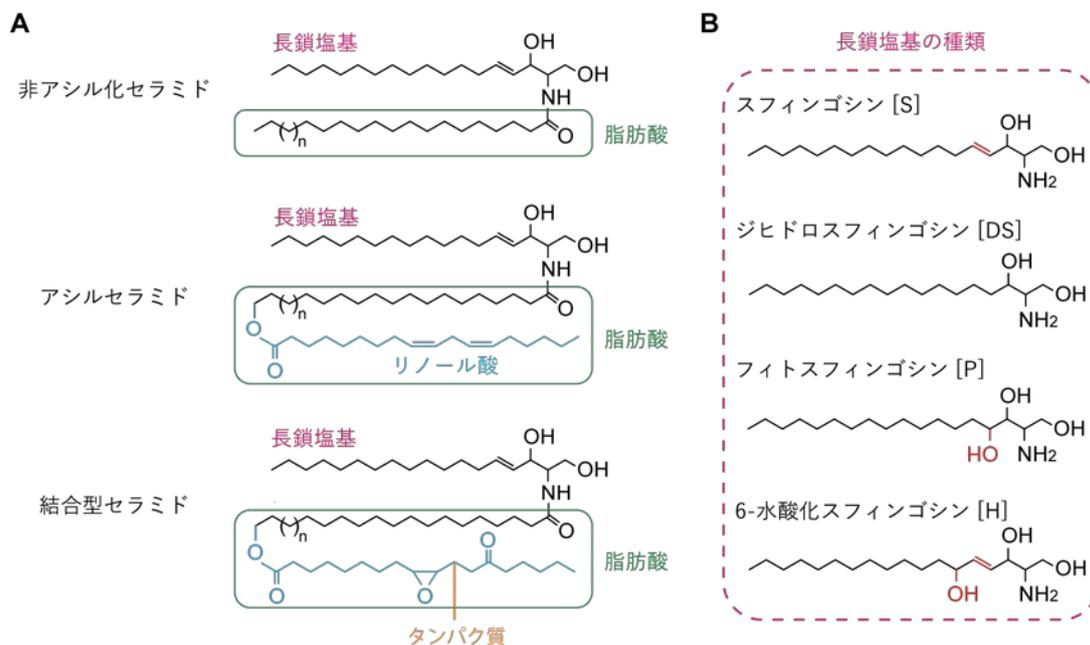


図 1. セラミドの分類と長鎖塩基の種類。A. 非水酸化セラミド、アシルセラミド、結合型セラミドの構造、B. 代表的なヒトの長鎖塩基 4 種類の構造。

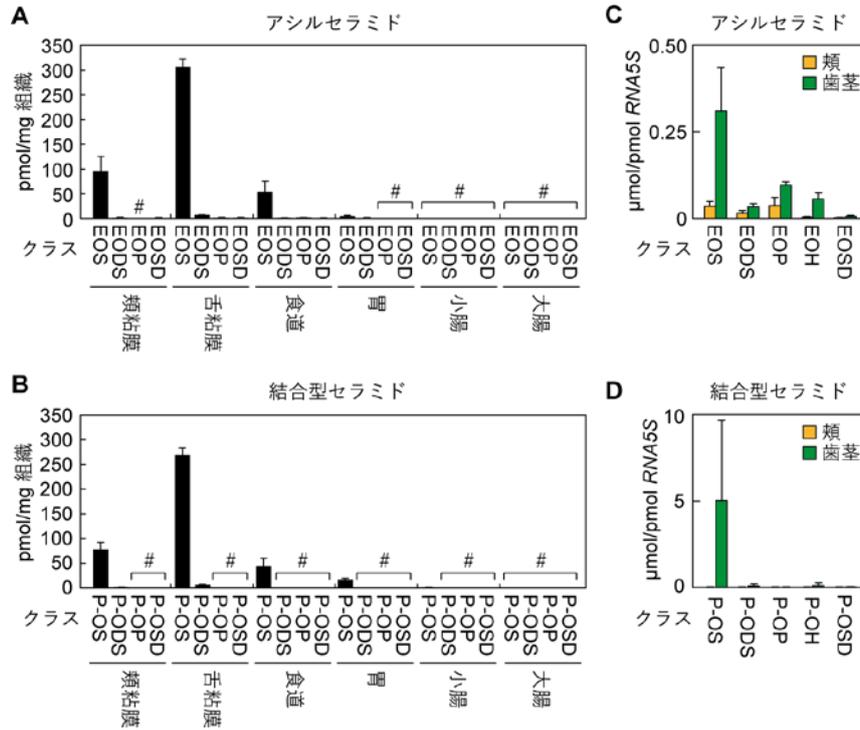


図 2. マウス口腔粘膜、食道、胃及びヒト口腔粘膜におけるアシルセラミドと結合型セラミドの存在。A. マウスの各組織のアシルセラミド、B. マウスの各組織の結合型セラミド、C. ヒト口腔粘膜のアシルセラミド、D. ヒト口腔粘膜の結合型セラミドの定量結果。#は検出限界未満を示す。

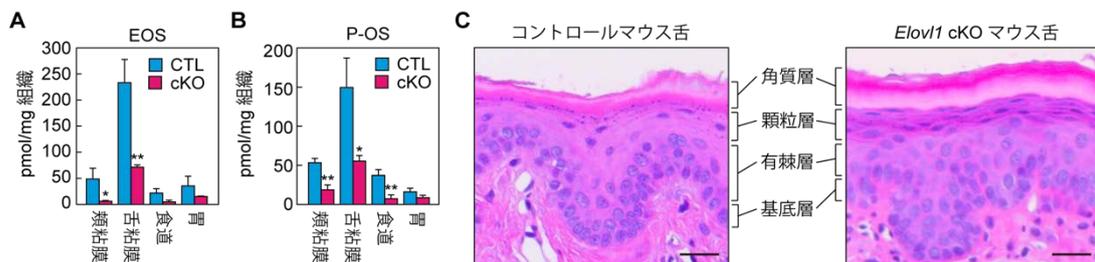


図 3. *Elov1* cKO マウスの口腔粘膜におけるアシルセラミドと結合型セラミドの減少と形態変化。A. 正常マウス (CTL、コントロール) と *Elov1* cKO マウス (cKO) の口腔粘膜 (頬、舌)、食道、胃の EOS アシルセラミドの定量結果。B. P-OS 結合型セラミドの定量結果。C. 正常マウスと *Elov1* cKO マウスの舌の下面のヘマトキシリン・エオジン染色像。*Elov1* cKO マウスでは角質層が肥厚し、顆粒層と有棘層の細胞数が増加していた。アスタリスクは統計的な有意差を示す (* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$)。

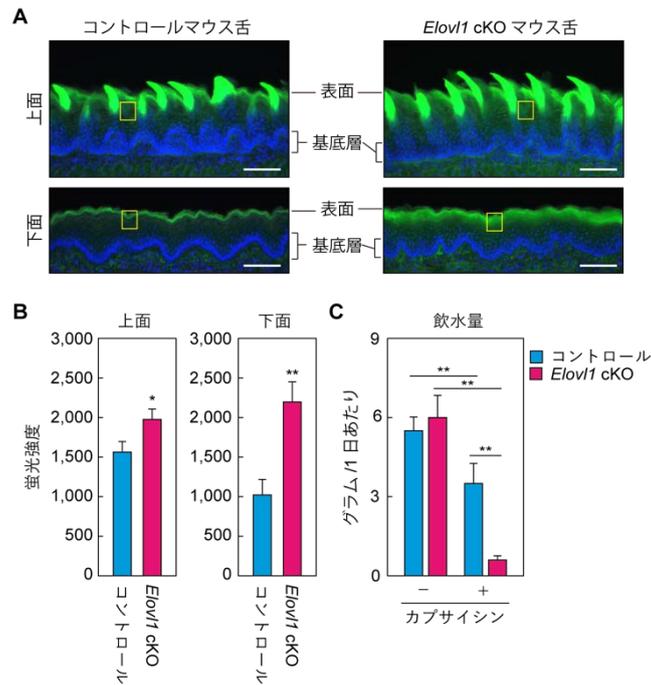


図 4. *Elov1* cKO マウスの口腔バリア低下。

A. 正常マウス（コントロール）と *Elov1* cKO マウスの舌（上面と下面）における蛍光色素（緑色）の浸透度。B. A. の黄色い枠で囲まれた領域の蛍光強度の定量結果。C. 正常マウス（コントロール）と *Elov1* cKO マウスにおける普通の水及びカプサイシン入りの水の飲水量。アスタリスクは統計的な有意差を示す（* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$ ）。

【用語解説】

- *1 皮膚バリア … 皮膚に存在する物質の透過を防ぐバリア。病原体、アレルゲン、有害物質の侵入を阻止し、体内からの水分の蒸発も防ぐ。
- *2 魚鱗癬 … 角質層が肥厚する角化症で、皮膚が魚の鱗のように見えることからその名がついた。
- *3 質量分析法 … 質量（正確には質量と電荷の比）の違いによって分子（今回は脂質）を分離・定量する方法。本研究では、液体クロマトグラフィー法によって分子を疎水性度（水に馴染まない性質）の違いによって分離した後、さらに質量分析法によって分離するという二つの方法を組み合わせることで分離の精度を高めている。
- *4 角化 … 表皮や口腔粘膜の細胞が細胞死にともなって核やミトコンドリアなどの細胞小器官を消失し、角質層を形成すること。