

27M-am05S

表皮角化細胞におけるスフィンゴミエリン合成酵素 1、2 の機能解析

○山下 麻衣¹, 横田 麻美¹, 徳留 嘉寛¹ (¹城西大薬)

【目的】セラミド(Cer)は皮膚の最外層に存在する角層の細胞間脂質の構成脂質として存在し、皮膚のバリア機能を担っている。Cer の生成経路の一つであるスフィンゴミエリン経路において Cer はスフィンゴミエリン合成酵素(SMS)によってスフィンゴミエリン(SM)へと代謝される。SMS は Cer の代謝を行うだけでなく、細胞増殖の調節にも関与することが報告されている。我々はセラミドの皮膚バリア機能と SMS の関係性に着目し、SM 量の制御における SMS1 と 2 の寄与を調査し、表皮角化細胞における SMS1、2 の機能を明らかにすることを目的とした。

【方法】HaCaT ケラチノサイトに si RNA を用いて SMS1 および SMS2(シングルノックダウン)、SMS1、2(ダブルノックダウン:DKD)の発現抑制を行い、それぞれの細胞生存率を Alamar Blue 法を用いて測定した。細胞脂質は Bligh-dyer 法により抽出し、高性能薄層クロマトグラフィー法を用いて、SM の定量を行った。

【結果および考察】SMS1、2 は、siRNA を用いることで mRNA 発現が 80%以上抑制された。SMS1、2 KD、DKD 条件下では細胞生存率に影響を与えないことが確認された。また、KD 細胞の SM 量は control 群と比較して、シングル KD では顕著な変化は見られなかったが、DKD では減少傾向を示した。このことからシングル KD では互いの酵素の働きを補い合っているため、SM 量は同程度を示したと考えられる。また、DKD では 1、2 どちらの酵素も抑制されているため SM 量は減少したと考えられる。以上の結果から SMS は正常細胞の皮膚バリア機能の維持に関与していることが示唆された。