リン脂質代謝酵素ホスホリパーゼ A_2 群の皮膚における発現・機能と脂質メタボロミクス

東京都臨床医学総合研究所

村 上　誠

Phospholipase A_2 (PLA_2) enzymes catalyze the hydrolysis of glycerophospholipids to fatty acids and lysophospholipids and have been implicated in a wide variety of biological events. Of more than 30 PLA_2 enzymes identified in mammals, the secreted PLA_2 ($sPLA_2$) family contains 10 catalytically active enzymes (IB, IIA, IIC, IID, IIE, IIF, III, V, X, and XIIA). Although $sPLA_2$s have been implicated in various biological events such as gastrointestinal phospholipid digestion, inflammation, host defense and atherosclerosis, precise functions of individual $sPLA_2$s remain largely unknown. In an effort to elucidate the possible *in vivo* functions of $sPLA_2$s, we generated transgenic mice that overexpressed individual $sPLA_2$ isozymes. We found that transgenic mice overexpressing group X $sPLA_2$ under the control of the β-actin promoter displayed notable skin abnormalities characterized by alopecia, epidermal hyperplasia, hyperkeratosis and sebaceous gland hyperplasia during a period corresponding to the late stage of the initial hair cycle. However, endogenous expression of group X $sPLA_2$ was rather low and confined only to hair follicles entering the anagen phase in wild-type mouse skin. Moreover, K14 promoter-directed, skin-specific transgenic overexpression of group X $sPLA_2$ did not cause skin defects, suggesting that the epidermal abnormality resulting from overexpression of group X transgenic mice in the whole body might result from a secondary effect and not reflect the intrinsic function of this enzyme. We found that another $sPLA_2$ with unknown function, group IIF $sPLA_2$, was highly expressed in the epidermis of wild-type mice and that its expression was markedly elevated in the thickened epidermis of group X $sPLA_2$ transgenic mice, of TPA-treated wild-type mice, and of patients with skin disorders harboring epidermal hyperplasia. Notably, transgenic overexpression of group IIF $sPLA_2$ under either the β-actin or the K14 promoter led to marked skin abnormalities. The alopecic skins of group IIF and X $sPLA_2$ transgenic mice displayed an identical gene expression profile, with increased expression of genes related to terminal differentiation of epidermis and sebaceous glands as well as reduced expression of genes related to hair development. Lipid mass spectrometry revealed that group IIF $sPLA_2$ hydrolyzed particular phosphatidylethanolamine molecular species containing docosahexaenoic acid, which was further converted to the docosanoid protectin D1, in the transgenic skin. These results underscore an unexplored aspect of group IIF $sPLA_2$ as an epidermal $sPLA_2$ participating in skin biology and also suggest that protectin D1, a major group IIF $sPLA_2$ product, is a novel regulator of epidermal homeostasis and pathogenesis.

1．緒　言

分泌性ホスホリパーゼ A_2 ($sPLA_2$)は細胞外に分泌されるグリセロリン脂質脱アシル化酵素の一群であり、哺乳動物では10種類の活性型アイソザイムが同定されている[1)]。しかしながら、各アイソザイムの生体内における機能とその標的基質については、古典的なアイソザイムである $sPLA_2$-IB（膵液の消化酵素）と $sPLA_2$-IIA（炎症刺激により誘導される抗細菌酵素）以外は十分に理解されていない。我々は、$sPLA_2$ の生体内機能を解明する方策のひとつとして、$sPLA_2$ 群の各アイソザイムを過剰発現したトランスジェニックマウスを作出し、その表現型の解析を進めている[2, 3)]。本稿では、脱毛・表皮肥厚の表現型を示す $sPLA_2$-X 全身性トランスジェニックマウスの解析、ならびにこれを通じて新たに浮上してきた新規皮膚特異的 $sPLA_2$ アイソザイム、$sPLA_2$-IIF の皮膚における機能について報告する。

Expression, functions, and lipid metabolomics of phospholipase A_2 enzymes in the skin.

Makoto Murakami

The Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science

2．実　験

2－1．全身性および皮膚特異的 $sPLA_2$ トランスジェニックマウスの作出

各 $sPLA_2$ アイソザイムの全長cDNAをトランスジェニックマウス作出用のベクター pCLANL5 に導入した。これを常法にしたがってマウス受精卵に注入し、不活性型 $sPLA_2$ (LNL-$sPLA_2$)を全身に発現するトランスジェニックマウスを作出した[2, 3)]。このマウスを CAG（chiken β-actin promoter）プロモーターまたは K14 プロモーターの制御下に Cre recombinase を発現するトランスジェニックマウスと交配し、活性型 $sPLA_2$ を全身性（以下CAG-Tg）または皮膚特異的（以下K14-Tg）に発現するトランスジェニックマウスをそれぞれ得た。

2－2．皮膚の表現型の解析

2－2－1．組織学的所見

トランスジェニックマウスならびにその対照マウスの皮膚を採取し、パラフィン包埋切片を作成した。脱パラフィン後、切片をヘマトキシリン・エオジンで染色し、組織学的所見を観察した。

2－2－2. 免疫染色

上記皮膚切片をパラホルムアルデヒドで固定した後、各種抗体と反応させた。更に Alexa Fluor 645 標識二次抗体とインキュベートした後、DAPI で核染色を行い、LSM510 META 共焦点レーザー顕微鏡（Zeiss）にて蛍光画像を観察した。また、別の切片については、HRP 標識二次抗体と反応させた後、DAB 染色（Dako）を行った。

2－2－3. 遺伝子発現解析

皮膚より RNA を抽出・精製し、電気泳動を行った後、ニトロセルロース膜に転写した。この膜を各種 ^{32}P 標識プローブと反応させ、X 線フィルムに感光させて特異的バンドを検出した。また別の RNA プールについては、High Capacity cDNA Reverse Transcription kit（Applied Biosystems）を用いて逆転写反応を行った後、7300 Real Time PCR System（Applied Biosystems）を用いて定量的RT-PCR 反応を行った。更に、上記RNA を用いて Whole Mouse Genome Oligo Microarray（Agilent）による遺伝子プロファイリング解析を行った。

2－2－4. 脂質質量分析

皮膚より総脂質を抽出し、4000Q-TRAP quadrupole-linear ion trap hybrid mass spectrometer（Applied Biosystems）により脂質成分の網羅的な質量分析を行った[3]。

3．結　果

3－1. sPLA2-X 全身性トランスジェニックマウスは皮膚異常を発症する

sPLA2-X を全身に過剰発現するトランスジェニックマウスは正常に生まれたが、生後２週目から脱毛が始まり、生後３－４週にかけて無毛状態となった（図１）。この時期はマウスの第一毛周期に相当し、これに先立って sPLA2-X は何らかのプロテアーゼの作用により N 末端のプロペプチドが解裂して活性型に変換していた。sPLA2-X トランスジェニックマウスの出生直後から無毛期にかけての皮膚切片を組織学的に解析した結果、本マウスでは初期毛周期（embryonic hair cycle）における体毛の増殖期（anagen）が短く、それに続く退行期（catagen）と休止期（telogen）が長くなっていることがわかった。また sPLA2-X トランスジェニックマウスでは脱毛に加えて表皮肥厚、皮脂腺肥大、嚢胞形成（Cyst）が顕著であり、表皮分化のホメオスタシスに著しい異常が生じるものと考えられた（図２）。生後 25 日の皮膚におけるリン脂質の変化について脂質質量分析の手法により調べた結果、sPLA2-X トランスジェニックマウスでは高度不飽和脂肪酸（アラキ

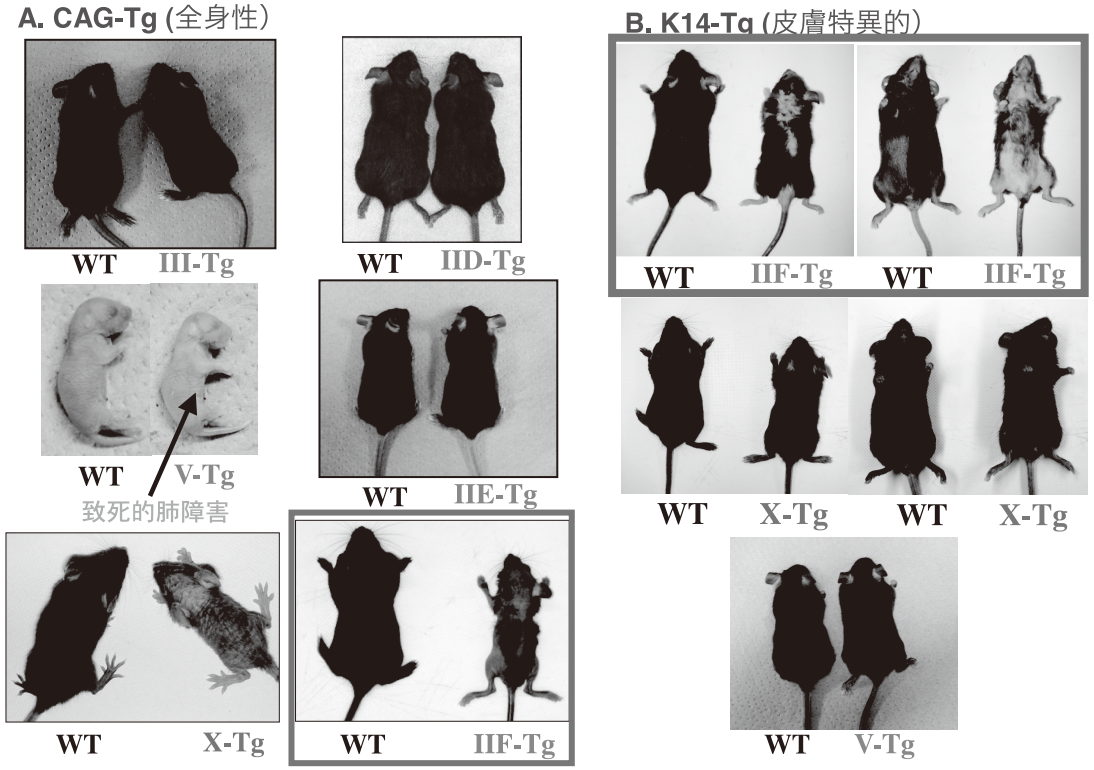

図1　各 sPLA$_2$ アイソザイムの全身性 (A) および皮膚特異的 (B) トランスジェニックマウスの外観
(A) 全身性の過剰発現では、sPLA$_2$-X (X-Tg) と sPLA$_2$-IIF (IIF-Tg) のトランスジェニックマウスが皮膚異常の表現型を示す。sPLA$_2$-V の過剰発現は肺障害による呼吸困難により新生児期に死亡する。(B) 皮膚特異的な過剰発現では、sPLA$_2$-IIF (K14-IIF-Tg) のみが皮膚異常を発症する。

ドン酸、ドコサヘキサエン酸）を含むホスファチジルエタノールアミン（PE）が WT マウスと比べて有意に減少し、これに対応してリゾホスファチジルエタノールアミン（LPE）が増加していた（図３）。また、皮膚の主要アラキドン酸代謝産物である PGE_2 ならびにドコサヘキサエン酸代謝物である Protectin D1 が $sPLA_2$-X トランスジェニッ

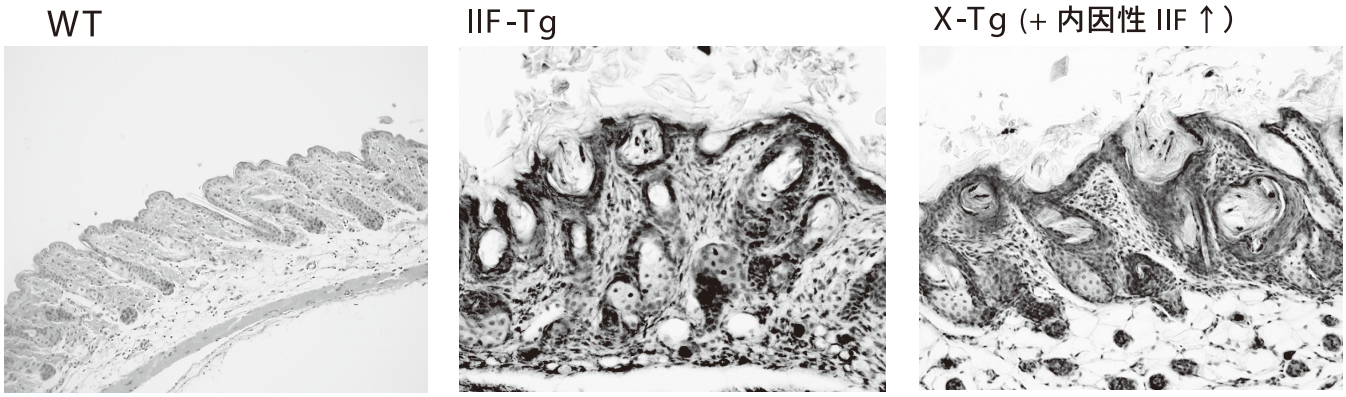

図２　$sPLA_2$-IIF（IIF-Tg）および $sPLA_2$-X（X-Tg）トランスジェニックマウスの皮膚組織所見
野生型マウスと比べて、両トランスジェニックマウスでは表皮肥厚、角質化、毛胞形成異常、皮脂腺肥大が顕著である。

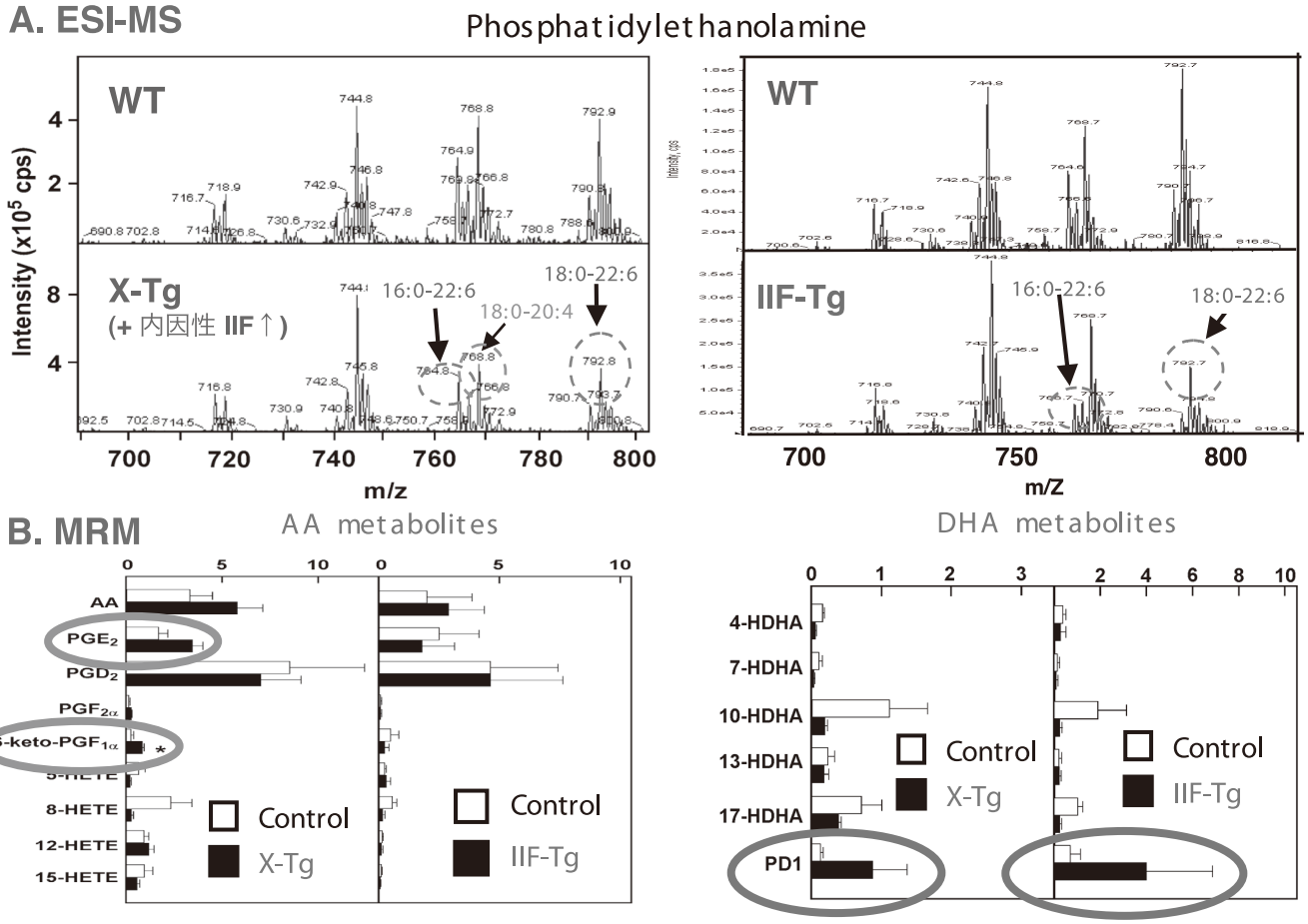

図３　$sPLA_2$-IIF (IIF-Tg) および $sPLA_2$-X (X-Tg) トランスジェニックマウスの皮膚より抽出した脂質の質量分析
(A) ESI-MS 法によるリン脂質の分析。両トランスジェニックマウスにおいてホスファチジルエタノールアミンの組成に変化が見られ、ドコサヘキサエン酸（C22:6）を含む分子種が共通して減少している。$sPLA_2$-X トランスジェニックマウスでは加えてアラキドン酸（C20:4）を含む分子種の減少も見られる。(B) 脂肪酸酸化代謝産物の網羅的解析。$sPLA_2$-X トランスジェニックマウスではアラキドン酸代謝物（AA metabolites）として PGE_2 と 6-keto-$PGF_{1\alpha}$（PGI_2）の増加が見られるが、この変化は $sPLA_2$-IIF トランスジェニックマウスでは観察されない。両トランスジェニックマウスにおいて、ドコサペンタエン酸代謝産物（DHA metabolites）である Protectin D1（PD1）が顕著に増加している。

クマウスで増加していた（図３）。この時の皮膚についてマイクロアレイによる遺伝子プロファイリング解析を行った結果、sPLA2-X トランスジェニックマウスでは表皮上層部の顆粒層および角質層に特有の遺伝子群の発現が顕著に増加しており、表皮基底層から有棘層に分布する遺伝子群の発現に大きな変化は認められなかった。また皮脂腺の肥大に対応して、脂肪酸の生合成や代謝に関わる遺伝子群の発現が sPLA2-X トランスジェニックマウスでは増加していた。一方、毛鞘を構成するケラチン群やケラチン結合タンパク群、およびその発現を制御する転写因子群の発現は sPLA2-X Tg マウスで著しく減少していた（図４）。以上の結果から、sPLA2-X トランスジェニックマウスの皮膚ではリン脂質代謝の過度の進行により皮膚幹細胞の分化バランスが崩れ、分化の方向性が毛胞ではなく表皮・皮脂腺に偏っているものと推察された。

3－2. 内因性 sPLA2-X の発現は体毛増殖期の毛胞に限局している

しかしながら、野生型マウスの皮膚における内在性 sPLA2-X の発現を皮膚全体で評価すると、sPLA2 群の中で最も発現が低いアイソザイムであることが判明した。免疫組織染色により sPLA2-X の発現を検討した結果、本酵素は体毛増殖期に相関して毛胞外根鞘に限局して発現しており、表皮や皮脂腺などのトランスジェニックマウスで顕著な異常が見られた部位には全く検出されなかった。したがって、内在性 sPLA2-X が体毛の増殖分化の制御に関わっている可能性は現段階で否定はできないが、本質的に表皮や皮脂腺で何らかの機能を担っている可能性は低いものと考えられた。それでは、上述の sPLA2-X トランスジェニックマウスに発症する皮膚異常は何を意味しているのであろうか？

3－3. sPLA2-IIF は皮膚特異的に発現している sPLA2 である

対照マウスと sPLA2-X トランスジェニックマウスの皮膚の間でマイクロアレイ解析を行った結果、トランスジェニックマウスの皮膚において別の sPLA2 アイソザイムである sPLA2-IIF の内因性発現が顕著に上昇していることを発見した（図５）。Northern blotting, 免疫組織化学染色および *in situ* hybridization の結果、sPLA2-IIF は他の sPLA2 アイソザイムよりも圧倒的に皮膚での発現が高く、表皮の上層（顆粒層から角質層）に分布している主要なアイソザイムであることが判明した。また、本酵素の発現は皮膚以外の組織では非常に弱いことから、皮膚特異的な sPLA2 であると考えられた。更に、表皮肥厚を伴う TPA 誘導マウス皮膚炎モデル、更には様々なヒト皮膚疾患において sPLA2-IIF の発現が顕著に増加することがわかった。

3－4. sPLA2-IIF の全身性および皮膚特異的トランスジェニックマウスは皮膚異常を発症する

全種類の sPLA2 の全身性トランスジェニックマウスを樹立したところ、先述の sPLA2-X に加えて、sPLA2-IIF

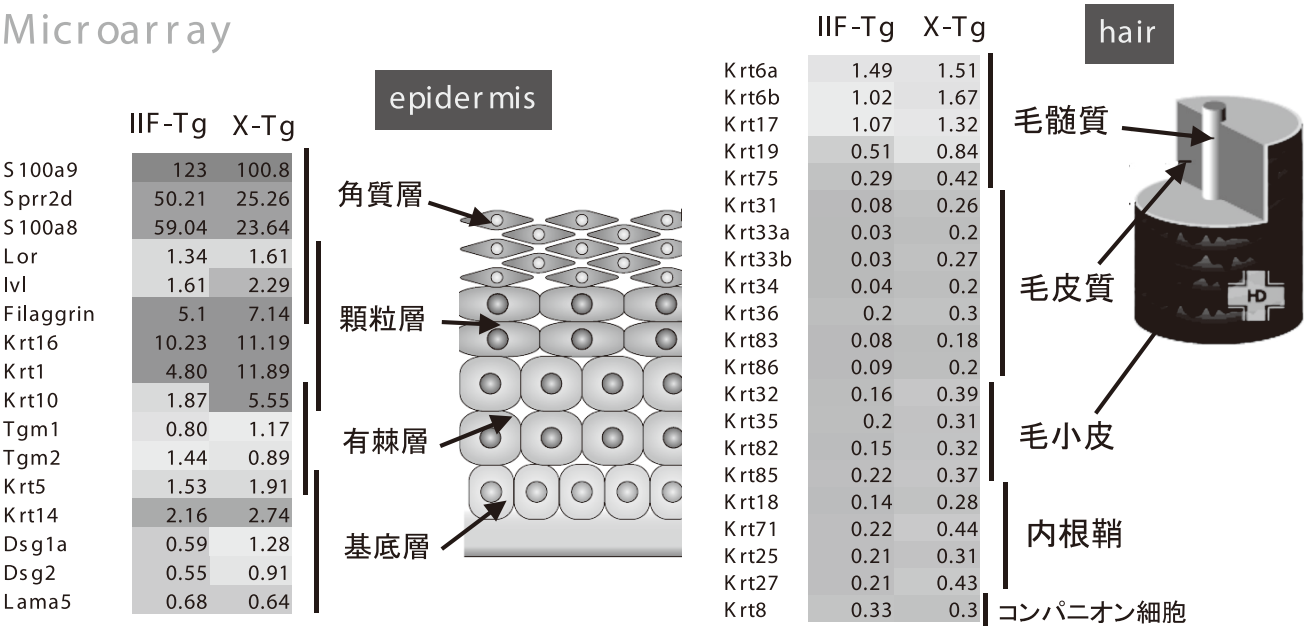

図４　sPLA2-IIF（IIF-Tg）および sPLA2-X（X-Tg）トランスジェニックマウスの皮膚における遺伝子発現のマイクロアレイ解析
数字は野生型マウス皮膚における各遺伝子の発現と比較した値（fold increase）を示す。両トランスジェニックマウスは同じ傾向の遺伝子発現変化を示しており、表皮では顆粒層、角質層の遺伝子発現が相対的に増加し、基底層の遺伝子が減少している。また、毛を構成する遺伝子群のうち、髄質を除く毛皮質、毛小皮、内毛鞘、コンパニオン層の遺伝子発現の減少は顕著である。これらの遺伝子発現変化は、表皮肥厚、角質化、脱毛などの組織学的な所見とほぼ合致している。

のトランスジェニックマウスが皮膚異常を発症することが判明した（図１）。sPLA2-V の全身性トランスジェニックマウスは肺障害により新生児期に死亡するため、皮膚に対する影響を評価できない[2)]。そこで、sPLA2-IIF, -V, -X の３種類のアイソザイムについて、K14 プロモーター制御下に皮膚特異的なトランスジェニックマウスを樹立したところ、K14-sPLA2-IIF トランスジェニックマウスのみが皮膚異常を発症した（図１）。これらの結果と、先述したように全身性 sPLA2-X トランスジェニックマウスの皮膚では内因性 sPLA2-IIF の発現が大きく増加していることを考え合わせると、皮膚の表現型を直接引き起こしているアイソザイムは sPLA2-IIF であると考えられた。なぜ全身性 sPLA2-X トランスジェニックマウスの皮膚において内因性 sPLA2-IIF の発現が上昇するのかについての原因は定かではないが、過剰発現した sPLA2-X が全身性に誘発した何らかのリン脂質代謝異常がトリガーとなって、皮膚における sPLA2-IIF の発現が二次的に増幅されたのではないかと推測している。

sPLA2-X および sPLA2-IIF それぞれの全身性 Tg マウスの皮膚についてマイクロアレイ遺伝子プロファイリングの結果を比較すると、両者はほぼ同一の遺伝子発現パターンを示し、表皮顆粒層から角質層の遺伝子発現の増加と体毛関連遺伝子の発現低下が顕著であった（図４）。また、sPLA2-IIF トランスジェニックマウスの皮膚ではドコサヘキサエン酸を含む PE が選択的に減少し、Protectin D1 の産生が亢進していた（図３）。一方、PGE_2 などのアラキドン酸代謝物の増加は sPLA2-IIF トランスジェニックマウスでは認められなかった。したがって、sPLA2-IIF は皮膚の PE からドコサヘキサエン酸を選択的に遊離しているものと考えられた。また sPLA2-X トランスジェニックマウス（＋内因性 sPLA2-IIF の発現増加）ならびに sPLA2-IIF トランスジェニックマウスの共通の所見から、両者で顕

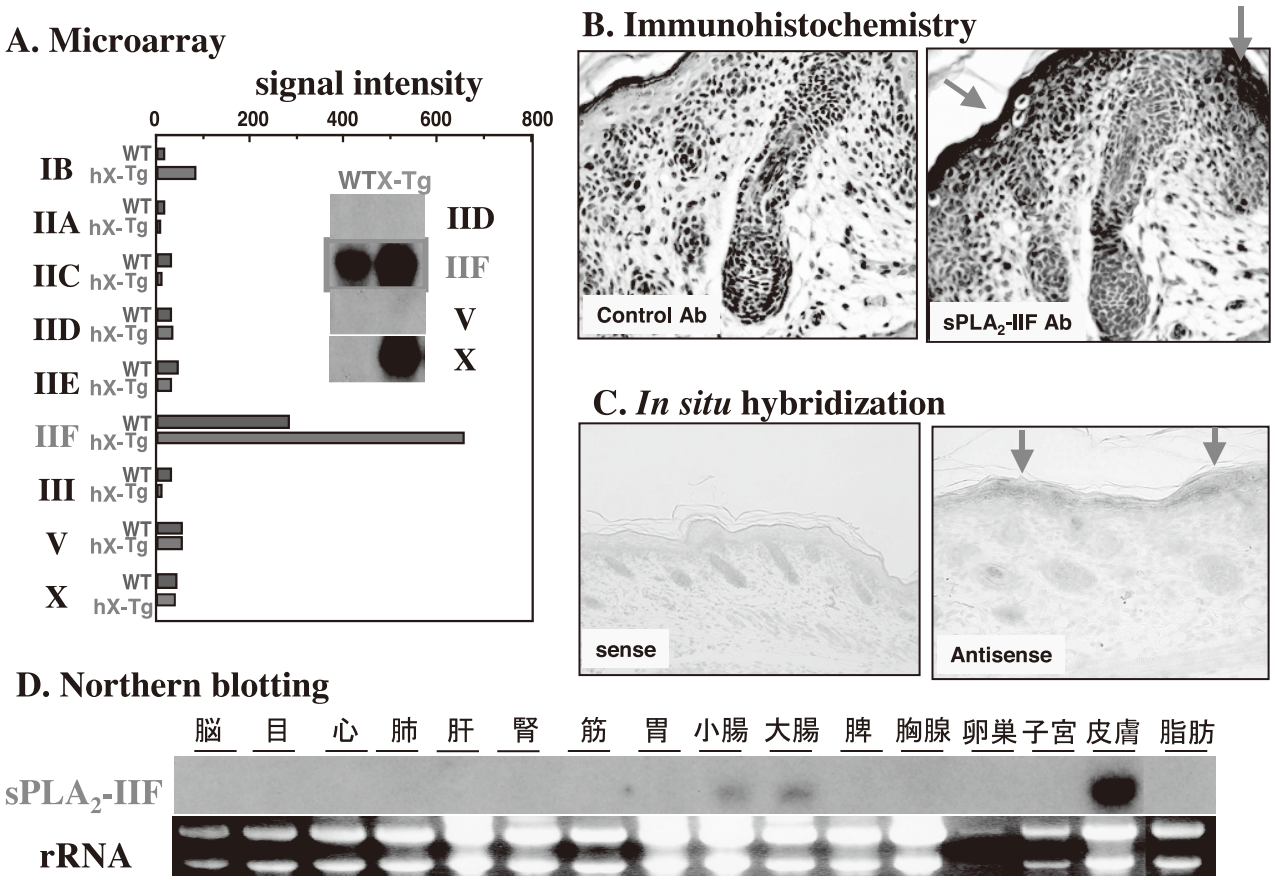

図５　sPLA2-IIF は皮膚の主要な sPLA2 アイソザイムである

(A))sPLA2-X トランスジェニックマウス（X-Tg）とその対照マウス（WT）における sPLA2 群の発現のマイクロアレイ解析。各酵素のうち sPLA2-IIF が突出して発現が高く、さらに X-Tg マウスにおいて発現が更に増加していることがわかる。（なお、ここで用いている X-Tg マウスはヒト sPLA2-X を発現させており、マイクロアレイではマウスの内因性 sPLA2-X を検出している。）(B & C) 野生型マウスの皮膚（P0）における sPLA2-IIF の免疫組織化学染色 (B) と *in situ* hybridization (C)。表皮における陽性シグナルが顕著である。(D) 野生型マウスの全身臓器（５週齢、雌）における sPLA2-IIF mRNA の発現を Northern blotting により調べた結果、皮膚に非常に強いシグナルが検出され、他の臓器では腸に弱い発現が検出されるのみである。

著に増加していたドコサヘキサエン酸代謝物Protectin D1は皮膚ホメオスタシスを制御する新しい脂質メディエーターである可能性がある。

4．考　察

本研究では、機能未知の sPLA2 アイソザイム全種のトランスジェニックマウスを作出し、皮膚の表現型を中心に解析を行った。sPLA2-X の全身性トランスジェニックマウスは脱毛、表皮肥厚、皮脂腺肥大を伴う激しい皮膚症状を発症した。このことは、sPLA2 によるリン脂質代謝反応の過度の進行が皮膚異常を誘発することを示しているが、内在性sPLA2-X の皮膚における発現は極めて低く、かつ毛胞に限られていたことから、本酵素が生体内で皮膚の病態に本質的に関わっている可能性は低いものと考えられる。この点については、本来マウスの皮膚に発現していない sPLA2-IIA のトランスジェニックマウスも類似の皮膚異常を発症することが報告されている[4]。興味深いことに、皮膚特異的な sPLA2-X トランスジェニックマウスでは目立った皮膚の異常所見は観察されなかったことから、sPLA2-X の全身性トランスジェニックマウスで見られる皮膚異常は sPLA2-X が皮膚のリン脂質を分解することに直接起因しているのではなく、皮膚以外の組織で起こっているリン脂質代謝異常（例えばリポタンパク質の過剰分解）の二次的結果を見ている可能性が高い。

sPLA2-X 全身性トランスジェニックマウスの皮膚を解析している過程で、sPLA2-IIF が本来皮膚に発現している主要アイソザイムであることを見出した。これまでに sPLA2-IIF に関する情報は極めて限られており[5, 6]、皮膚における発現は見過ごされていた。その意味で、「sPLA2-IIF = epidermal sPLA2」の発見は重要であるといえる。sPLA2-IIF の発現は全身性sPLA2-X トランスジェニックマウスの皮膚で顕著に増加しており、また TPA 誘導マウス皮膚炎モデル、更には表皮肥厚を伴うヒト皮膚疾患でも発現が増加していることが分かった。全身性sPLA2-IIF トランスジェニックマウスは全身性sPLA2-X トランスジェニックマウスと類似の皮膚異常を発症した。全身性sPLA2-X トランスジェニックマウスの皮膚で上昇した内因性sPLA2-IIF の発現レベルは、全身性sPLA2-IIF トランスジェニックマウスの皮膚における本酵素の発現レベルに匹敵していた。皮膚のマイクロアレイ解析の結果、両トランスジェニックマウスで生じる遺伝子発現変化はほぼ同一であり、組織学的所見（表皮角質化・皮脂腺異常・脱毛）を説明するものであった。更に、皮膚特異的な sPLA2-IIF トランスジェニックマウスを作出したところ、これも皮膚異常を発症した。これらの結果から、sPLA2-IIF は皮膚のホメオスタシスや病態生理に関わる新しい分子であると考えている。sPLA2-IIF の発現は表皮の上層部（顆粒層と角質層）で特に際立っており、表皮肥厚・角質化との関わりに興味が持たれる。

全身性の sPLA2-X トランスジェニックマウス（内因性 sPLA2-IIF の発現上昇を伴う）ならびに sPLA2-IIF トランスジェニックマウスの双方の皮膚において、ドコサヘキサエン酸を有する PE 分子種が選択的に減少していた。一方、前者のマウスではこれに加えてアラキドン酸含有PE も減少していたが、後者ではこの変化は観察されなかった。したがって、sPLA2-IIF は皮膚においてドコサヘキサエン酸含有PE 分子種に選択的に作用しており、全身性sPLA2-X トランスジェニックマウスのみに認められたアラキドン酸含有PE の減少とそれに付随する PGE_2 の増加は、人為的に過剰発現した sPLA2-X の付加的作用を反映しているものと思われる。sPLA2 ファミリーは本質的に細胞外に存在するリン脂質に作用すると思われるので、sPLA2-IIF が分布する表皮の顆粒層から角質層に細胞外PE のプールが存在する可能性がある。皮膚におけるドコサヘキサエン酸代謝物の一斉解析を試みた結果、検出された複数の代謝物の中で Protectin D1 の量が全身性の sPLA2-X、sPLA2-IIF 双方のトランスジェニックマウスで顕著に増加していた。このことから、sPLA2-IIF は皮膚においてPE →ドコサヘキサエン酸→Protectin D1 の代謝経路を制御している可能性を想定している。Protectin D1 は最近注目を集めている抗炎症性脂質メディエーターのひとつであり、皮膚における機能に関する知見はないが、網膜上皮細胞の細胞死を抑制して生存を延長する活性が報告されていることから[7]、表皮ケラチノサイトにも類似の効果を及ぼしている可能性がある。この点については今後の検討課題である。

表皮角質は細胞間に脂質フィルムが存在し、これが水分透過性バリアを形成している。このバリア脂質の主成分はセラミドであるが、遊離脂肪酸も 20% 程度存在しており、この存在比の乱れは水分透過性バリアに障害を起こすことが知られている。実際、バリア脂質の合成、輸送、代謝に関わる分子の遺伝子変異（ノックアウトを含む）は表皮に著しい表現型を生じる[8, 9]。sPLA2 の古典的阻害剤をマウス皮膚に塗布すると皮膚のバリア機能が損なわれ、脂肪酸塗布により回復することが報告されている[10]。このことから、sPLA2-IIF の作用機序のひとつとして、バリア脂質を形成する脂肪酸の供給に関わっている可能性を考慮する必要がある。今後、sPLA2-IIF ノックアウトマウスの解析を通じて本酵素の皮膚における役割を更に検証する必要があるが、予備的結果として、sPLA2-IIF KO マウスの皮膚はパサパサした触感があり、その超微細構造を電子顕微鏡で観察した結果、表皮角質層の表面が鱗状になる異常を認めている。この所見は角質を満たす脂質バリアに異常があることを示唆しており、sPLA2-IIF が皮膚の病態生理に関わることを更に支持するものである。

謝　辞

本研究を遂行するにあたり、ご支援をいただきました財団法人コスメトロジー研究振興財団に深く感謝致します。

（引用文献）

1）Kudo, I., and Murakami, M. (2002) Phospholipase A_2 enzymes. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 68-69, 3-58

2）Ohtsuki, M., Taketomi, Y., Arata, S., Masuda, S., Ishikawa, Y., Ishii, T., Takanezawa, Y., Aoki, J., Arai, H., Yamamoto, K., Kudo, I., and Murakami. M. (2006) Transgenic expression of group V, but not group X, secreted phospholipase A_2 in mice leads to neonatal lethality because of lung dysfunction. *J. Biol. Chem.* 281, 36420-36433

3）Sato, H., Kato, R., Isogai, Y., Saka, G., Ohtsuki, M., Taketomi, Y., Yamamoto, K., Tsutsumi, K., Yamada, J., Masuda, S., Ishikawa, Y., Ishii, T., Kobayashi, T., Ikeda, K., Taguchi, R., Hatakeyama, S., Hara, S., Kudo, I., Itabe, H., and Murakami, M. (2008) Analyses of group III secreted phospholipase A_2 transgenic mice reveals potential participation of this enzyme in plasma lipoprotein modification, macrophage foam cell formation, and atherosclerosis. *J. Biol. Chem.* 283, 33483-33497

4）Grass, D. S., Felkner, R. H., Chiang, M.-Y., Wallace, R. E., Nevalainen, T. J., Bennett, C. F., and Swanson, M. E. (1996) Expression of human group II PLA_2 in transgenic mice results in epidermal hyperplasia in the absence of inflammatory infiltrate. *J. Clin. Invest.* 97, 2233-2241

5）Valentin, E., Ghomashchi, F., Gelb, M. H., Lazdunski, M., and Lambeau, G. (1999) On the diversity of secreted phospholipases A_2. Cloning, tissue distribution, and functional expression of two novel mouse group II enzymes. *J. Biol. Chem.* 274, 31195-31202

6）Murakami, M., Yoshihara, K., Shimbara, S., Lambeau, G., Gelb, M. H., Singer, A. G., Sawada, M., Inagaki, N., Nagai, H., Ishihara, M., Ishikawa, Y., Ishii, T. and Kudo, I. (2002) Cellular arachidonate-releasing function and inflammation-associated expression of group IIF secretory phospholipase A_2. *J. Biol. Chem.* 277, 19145-19155

7）Schwab, J. M., Chiang, N., Arita, M., and Serhan, C. N. (2007) Resolvin E1 and protectin D1 activate inflammation-resolution programmes. *Nature* 447, 869-874

8）Weserberg, R., Tvrdik, P., Undén, A.-B., Månsson, J.-E., Norlén, L., Jakobsson, A., Holleran, W. H., Elias, P. M., Asadi, A., Flodby, P., Toftgård, R., Capecchi, M. R., and Jacobsson, A. (2004) Role for ELOVL3 and fatty acid chain length in development of hair and skin function. *J. Biol. Chem.* 279, 5621-5629

9）Zheng, Y., Eilertsen, K. J., Ge, L., Zhang, L., Sundberg, J. P., Prouty, S. M., Stenn, K. S., and Parimoo, S. (1999) *Scd1* is expressed in sebaceous glands and is disrupted in the asebia mouse. *Nat. Genet.* 23, 268-270

10）Elias, P. M., Menon, G. K., Grayson, S., and Brown, B. E. (1988) Membrane structural alterations in murine stratum corneum: Relationship to the localization of polar lipids and phospholipases. *J. Invest. Dermatol.* 91, 3-10