

## アトピー性皮膚炎のバリアー機能異常

### 要約

アトピー性皮膚炎患者皮膚特にその無疹部皮膚（アトピー性皮膚）にも認められるバリア機能異常は経皮吸収バリア機能の異常と抗菌バリア機能の異常がある。前者は経皮水分蒸散量（TERWL）の増加や光音響法で測定した経皮吸収速度の上昇で示され、後者は黄色ブドウ球菌のコロナイゼーションが高頻度に認められることでよく知られている。両バリア異常のメカニズムにはいずれも脂質が強く関連しており、経皮吸収バリア機能異常は主として角層細胞間にラメラ構造を形成して存在するセラミドの減少が主要因と考えられており、抗菌バリア機能異常は同様に角層細胞間に存在する抗菌脂質であるスフィンゴシンや皮脂に含まれる *cis*-6-hexadecenoic acid の減少が主として関与し、抗菌ペプチドとして知られているデフェンシン-2はむしろ角層で増加していることから抗菌バリア機能異常には関与していない可能性が高い。

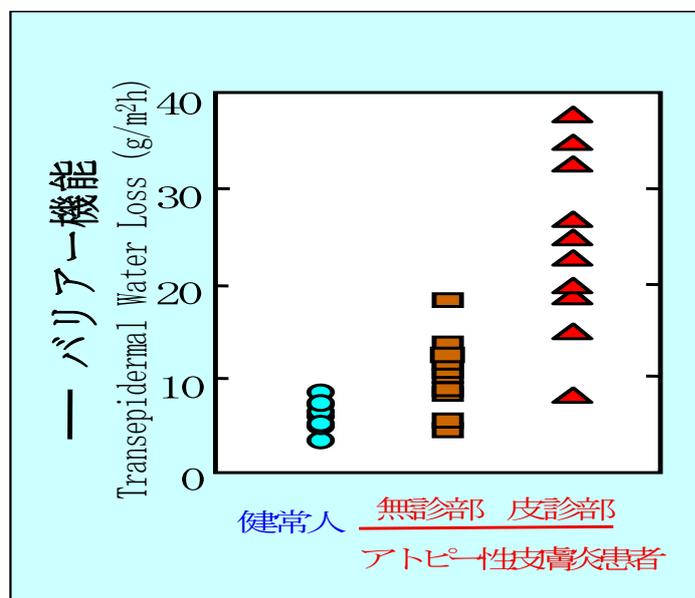
### はじめに

アトピー性皮膚炎は難治性および再発性の皮膚炎として知られ、近年従来の免疫異常に加えて、皮膚バリア機能の異常が注目されてきている。このバリア機能異常は易刺激性、ダニアレルギー、皮膚表面での黄色ブドウ球菌の colonization や本菌の感染症であるトビヒなどで見られる易感染性に代表されるアトピー性皮膚炎患者皮膚の特徴に大きく関与している。また我々の研究で、この皮膚バリア機能異常がアトピー性皮膚炎患者で認められる皮膚免疫異常の引き金になっている可能性も明らかとなりつつある【1-2】。本稿ではアトピー性皮膚炎患者皮膚に認められるバリア機能異常について、経皮吸収バリア機能および抗菌バリア機能の2局面からその異常の状態およびその発症メカニズムについて論述する。

## 1. アトピー性皮膚炎での経皮水分蒸散バリア機能異常

アトピー性皮膚炎患者皮膚は皮疹部および無疹部皮膚においても【図-1】の如く皮膚角層の水分保持機能やバリア機能が健常者にくらべ著しく低下し

図-1：アトピー性皮膚炎患者の皮疹部および無疹部皮膚における水分蒸散量の健常者皮膚との比較



ていることが知られており【3】、この無疹部皮膚はアトピー性皮膚と呼ばれアトピー性皮膚炎の再発難治化の原因の一つとしてあげられている。すなわちステロイド治療などで皮膚炎が消失した状態（無疹部）でも、このバリア機能異常は依然として回復していないことから、この無疹部皮膚のケアを怠ると、バリア機能が低下しているため種々の刺激物やアレルゲンさらには自身の汗の成分などの容易な侵入を招き、皮膚炎が再発しやすく、これがアトピー性皮膚炎の再発性や難治化に結びついているものと考えられている。またこのアトピー性皮膚はバリア機能が低下していると同時に水分保持機能も低下しているため、冬季には乾燥しやすく、衣服とのまさつなどでのかゆみが誘発されやすく、走破による皮疹の悪化を招きやすい。アトピー性皮膚炎患者の無疹部皮膚でのTEWLで評価した皮膚バリア機能は健常者と比べても有意な低下を認めると同時にその低下の程度は、アトピー性皮膚炎患者の病気重症度と極めて高い相関関係があり、軽症においてもすでに健常者と比べて有意なTEWL値の上昇を示し、さらに中等症および重症と重症度が高くなるにつれてTEWL値も有意に増加する【図-2】。このTEWL値と重症度（0, 1, 2, 3と点数を与える）の間には非常に高い相関関係（ $r=0.915267$ 、 $p<0.0001$ 、 $n=68$ ）が認められ、また皮膚での落屑などの皮膚所見が認められない軽症のアトピー性皮膚炎患者の無疹部皮膚でも、健常者に比べて有意に高いTEWL値を示すこと【図-3】【4】からTEWL値はアトピー性皮膚炎の診断や治療経過を観察する上でも便利な指標となっている。

図-2：アトピー性皮膚炎患者の病気重症度と前腕無疹部皮膚での経皮水分蒸散量（バリア機能）の関係

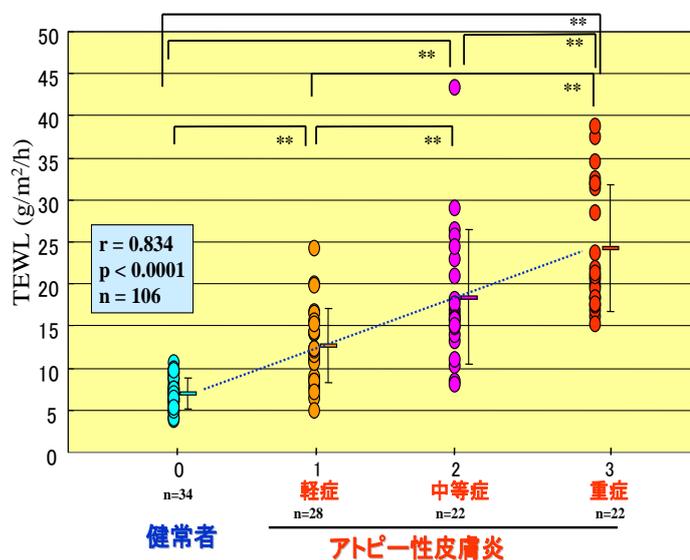
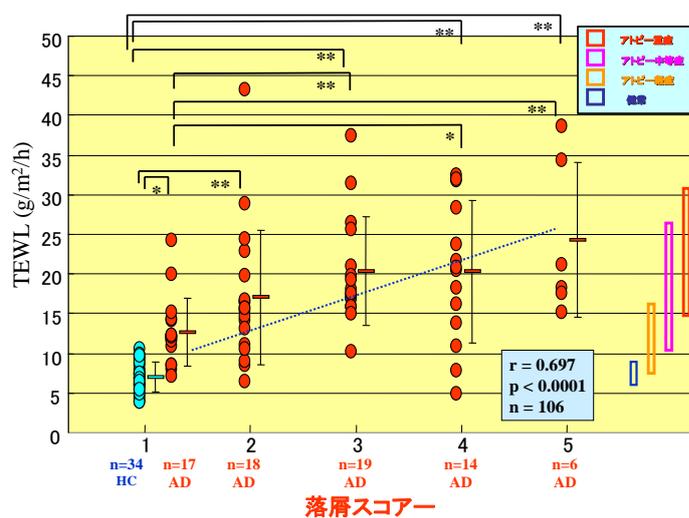


図-3：アトピー性皮膚炎患者の前腕無疹部皮膚での経皮水分蒸散量（バリア機能）と落屑スコアの関係

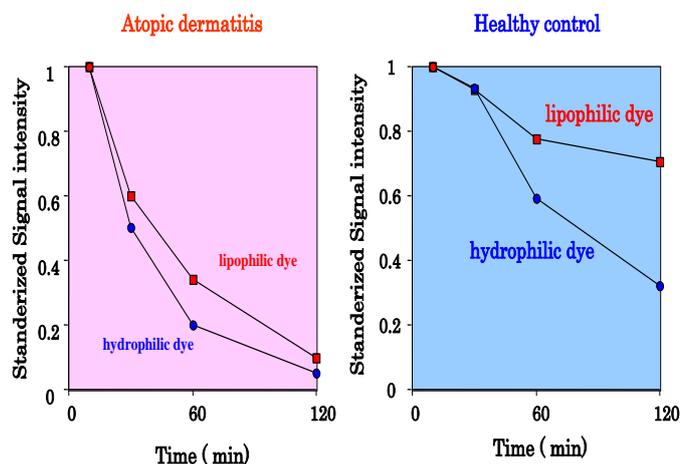


## 2. アトピー性皮膚炎での経皮吸収バリア機能異常

前項でも触れたが、経皮吸収バリア機能の評価に頻度高く使われるエバポリメーターによる経皮水分蒸散量は、水分の蒸散量を測定していることから、必ずしも経皮吸収バリア機能と同じではなく、この両因子がまったく関連していないとの論文【5】

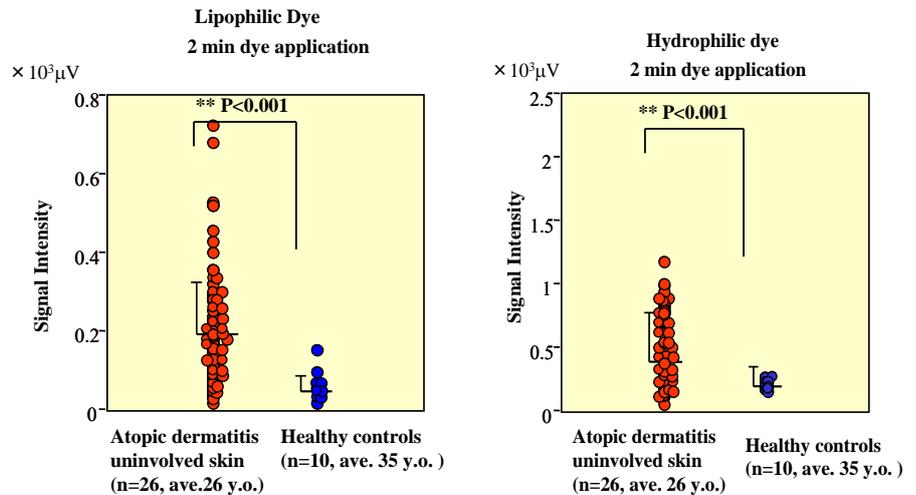
も存在する。実際にin vivoでの経皮吸収バリア機能がアトピー性皮膚炎皮膚でどの程度異常になっているのは充分には解析されていなかった。これは皮膚角層を通した物質の経皮吸収量を正確に測定するためにはアイソトープの塗布による血中や尿中への移行量の測定や、生検皮膚でのチャンバー法での実験が必要であり、いずれの方法も現状ではかなり困難であることが、アトピー性皮膚炎患者皮膚における経皮吸収バリア機能の異常を定量化することを妨げていた。我々は無浸襲で短時間で正確に物質の経皮吸収量を測定できる超音響スペクトロメーターを開発し、アトピー性皮膚炎患者皮膚における脂溶性と水溶性の2種類の色素の経皮吸収量を健常者と比較してみた【6】。この方法の原理は角層上層から約15umの間に存在する物質の量を測定するために、検出物質の光吸収ピークを含む光を断続的に皮膚に照射し、物質が光を吸収し励起状態になりその後基底状態に変化する際に放出した断続的な熱による周辺空気の断続的な膨張から生じる音を検出することにより、その物質量を測定するものである。【図-4】はアトピー性皮膚炎患者前腕皮膚の無疹部と健常者の前腕皮膚であらかじめ塗布した水溶性色素と脂溶性色素の角層からの表皮への移行量を経過時間とともに測定したもので、いずれの色素もアトピー性皮膚炎患者皮膚の方で健常者に比較してより早く角層から表皮へ移行し、経皮吸収がより高いことを示した。

図-4：アトピー性皮膚炎患者前腕無疹部皮膚での脂溶性および水溶性色素の角層からの塗付後の消失速度の健常者皮膚との比較



さらに短時間で経皮吸収量を評価するため、2-5分の色素のパッチテスト後の角層中への吸収量を測定したところ、【図-5】に示す如くアトピー性皮膚炎患者皮膚角層は健常者に比べて約2倍以上の経皮吸収の有意な上昇を水溶性色素および脂溶性色素のいずれでも示し、経皮吸収性の亢進が確認された。またこの無疹部皮膚での経皮吸収性の亢進は、アトピー性皮膚炎の重症度にほぼ比例

図-5：  
アトピー性皮膚炎患者  
前腕無疹部皮膚での  
色素の2分パッチによる  
角層への浸透量の  
健常者皮膚との比較



して強くなることも判明した【図-6】。さらに興味深いことに、重症のアトピー性皮膚炎患者群では水溶性色素の角層への吸収量と患者血中のIgE量が強い相関を示し【図-7】、重症のアトピー性皮膚炎患者で、水溶性の物質、おそらくダニ抗原などに高い経皮吸収性を示す患者は、これにより感作が成立しやすく、その結果とし

図-6：アトピー性皮膚炎病気  
重症度と前腕無疹部皮膚での2-5分  
パッチ後の色素の角層浸透量の関係

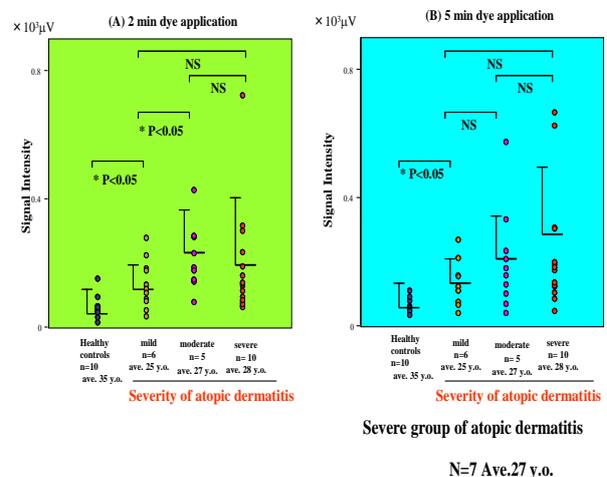
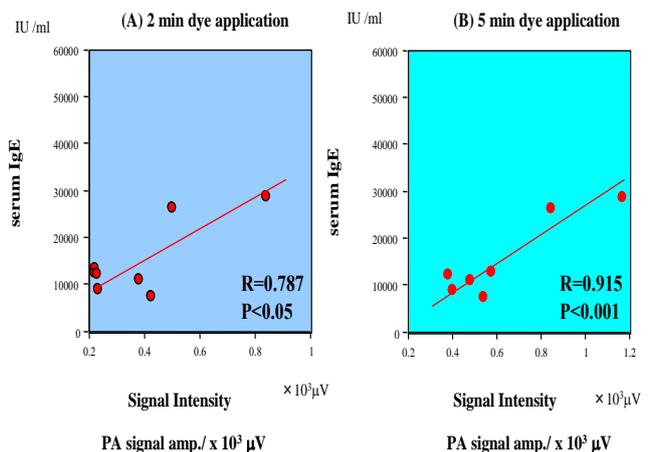


図-7：重症アトピー性皮膚炎  
患者の前腕無疹部皮膚での水溶性  
色素角層浸透量と血中IgE量との  
相関

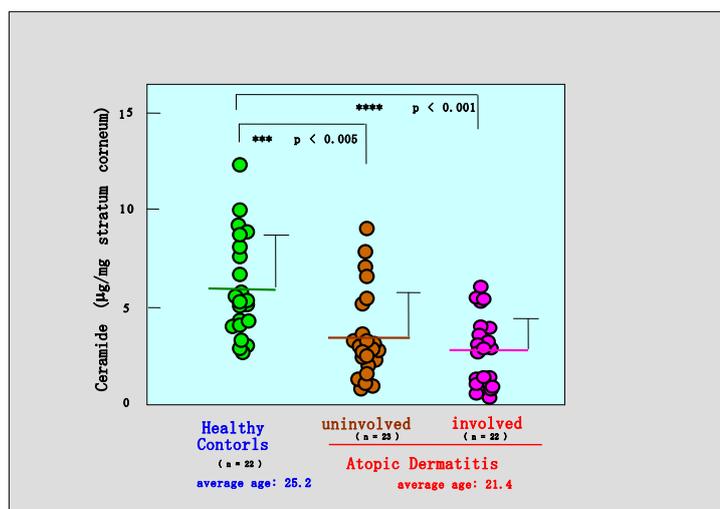


IgEの産生も高まる可能性が示唆された。また無疹部皮膚での両色素の経皮吸収性は同じ患者皮膚でのTEWL値とは良い相関関係を示さず、両者が独立した異なる物理化学的性質であることを示した。

### 3. アトピー性皮膚炎での経皮吸収バリア機能異常のメカニズム

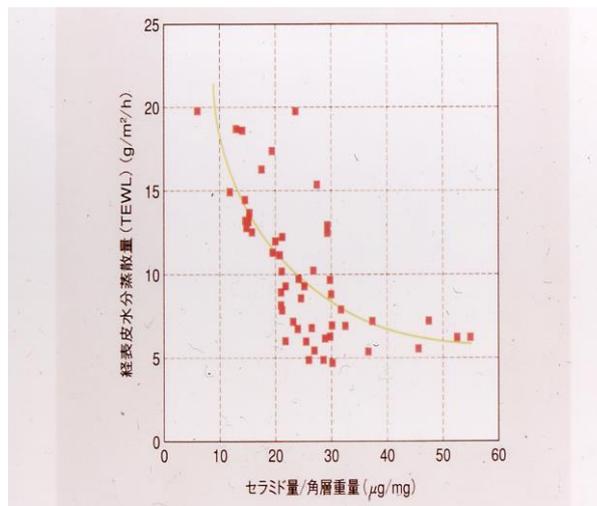
経皮吸収バリア機能に角層中のセラミドが主体となった脂質2重層(ラメラ)が重要であることから、アトピー性皮膚炎患者の皮膚角層中のセラミド量を測定してみた結果、アトピー性皮膚炎患者の皮診部及び無疹部皮膚では健常者に比べ顕著にセラミド量が減少していることが判明し【図-8】【7】、

図-8：アトピー性皮膚炎患者前腕皮診部および無疹部皮膚角層における角層重量あたりのセラミド量の健常者皮膚との比較



セラミド種のなかでもバリア機能に関連の深いアシルセラミドが最も減少しており、アトピー性皮膚炎患者皮膚での水分保持やバリアー機能の低下の原因とされている。アトピー性皮膚炎患者前腕無疹部皮膚でのバリアー機能の指標であるTEWL値と同じ皮膚部位角層中のセラミド量は【図-9】の如く

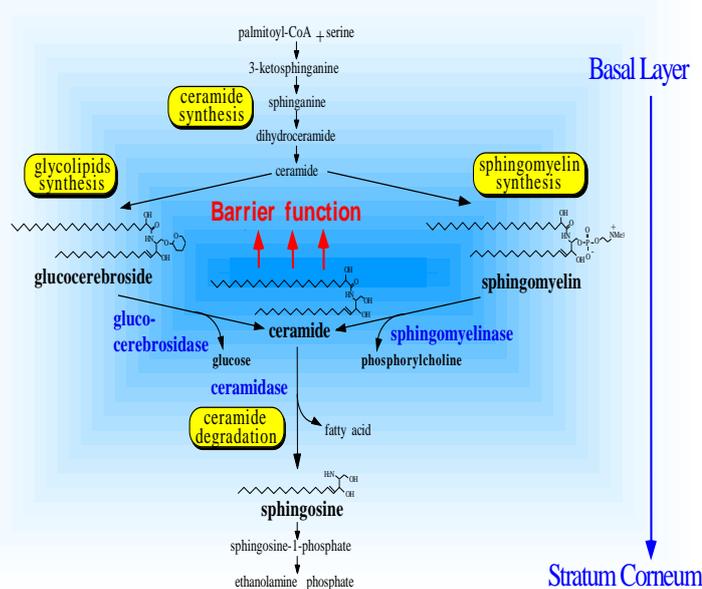
図-9：アトピー性皮膚炎患者および健常者前腕皮膚における経皮水分蒸散量と同一皮膚部位における角層重量あたりのセラミド量の関係



明確な相関を示し【8】、アトピー性皮膚炎患者皮膚角層でのセラミドの減少がバリアー機能の低下に直接的に関与していることが示されている。また最近では紫外線（UVB）暴露の際に生じるバリア機能障害の原因として示されている角層細胞膜結合セラミドの減少もアトピー性皮膚炎患者皮膚では顕著に観察されていることから【9】、この結合セラミドの減少もアトピー性皮膚炎患者皮膚でのバリアー機能異常の要因として指摘されている。アトピー性皮膚炎でのセラミドの減少のメカニズムとしては、皮膚表皮におけるセラミドの産生に関与する三つの脂質代謝酵素【図-10】の中で、

### Spingolipid Metabolisms in the Epidermis of Healthy Skin

図-10：角層セラミド量を制御するスフィンゴ脂質の代謝図



加齢によるセラミダーゼ活性の亢進【10】とは異なり、またスフィンゴミエリナーゼやベーターグルコセラブロシダーゼ活性も健常者と差がないなど、従来のセラミド代謝酵素活性レベルはなんら変化していないが、セラミドの前駆体であるスフィンゴミエリンやグルコシルセラミドをデアシレーションする未知の酵素であるスフィンゴミエリングルコシルセラミドデアシラーゼ酵素活性の異常発現【図-11、12】が推察されている【11-15】。

図-7：アトピー性皮膚炎患者前腕皮膚角層におけるスフィンゴミエリンデアシラーゼ活性の健常者との比較

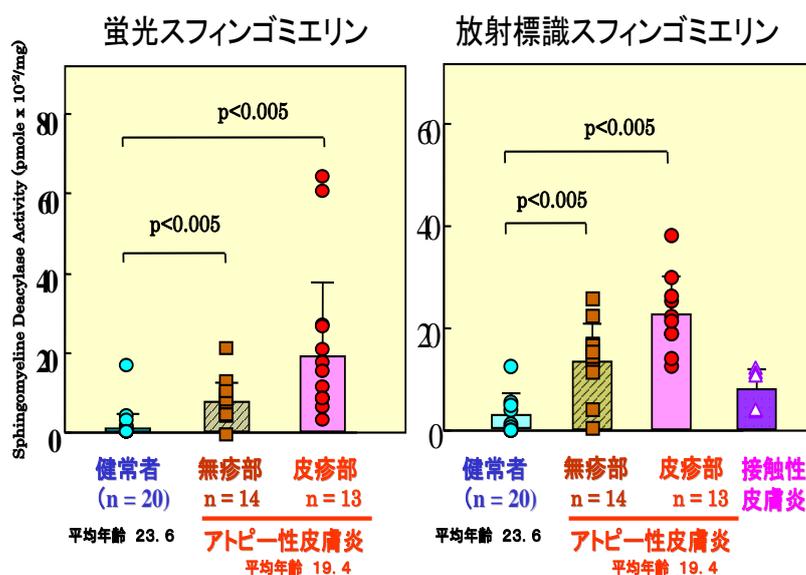
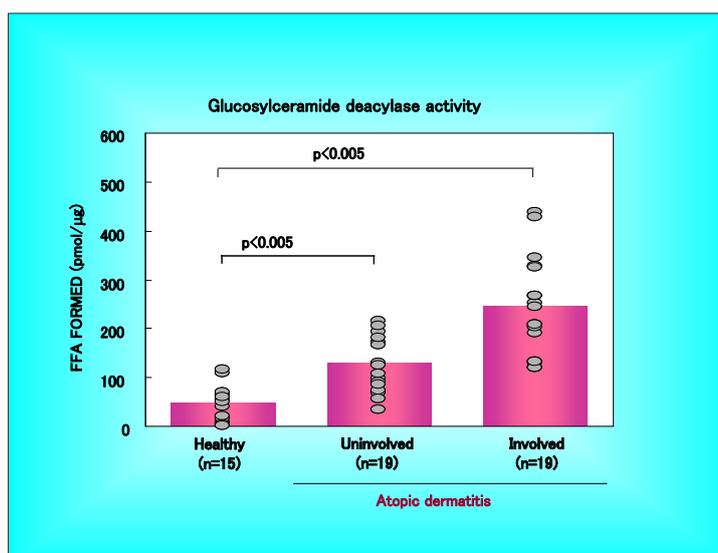
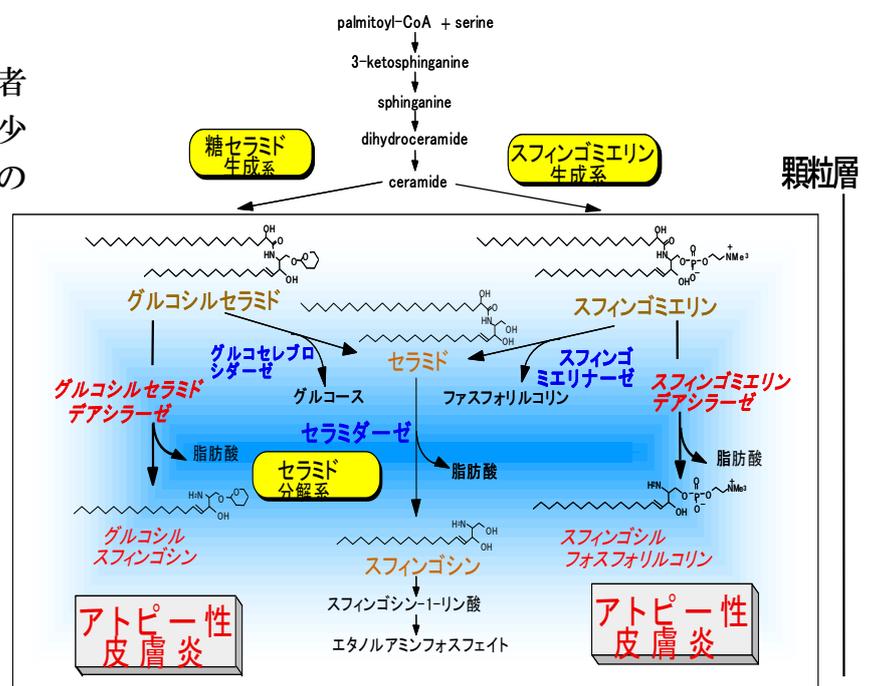


図-8：アトピー性皮膚炎患者前腕皮膚角層におけるグルコシルセラミドデアシラーゼ活性の健常者との比較



本酵素が発現すると、【図-9】で示す如くスフィンゴミエリナーゼと基質であるスフィンゴミエリンをまたはベーターグルコセレブロシダーゼとその基質であるグルコシルセラミドを競走することによりセラミドの代わりにスフィンゴシルホスフォリルコリンもしくはグルコシルスフィンゴシンを生成することにより、セラミドの減少が引き起こされると推察される。このことを裏付け

図-9：アトピー性皮膚炎患者皮膚表皮におけるセラミド減少に結びつくデアシラーゼ酵素の発現とその酵素分解物の蓄積を示す代謝図



るが如く、アトピー性皮膚炎皮膚角層中にはスフィンゴシルホスフォリルコリン【図-10】【13】およびグルコシルスフィンゴシン【図-11】【14】が無疹

図-10：アトピー性皮膚炎患者皮膚角層におけるスフィンゴミエリンデアシラーゼ酵素反応により生成するスフィンゴシルホスフォリルコリンの蓄積

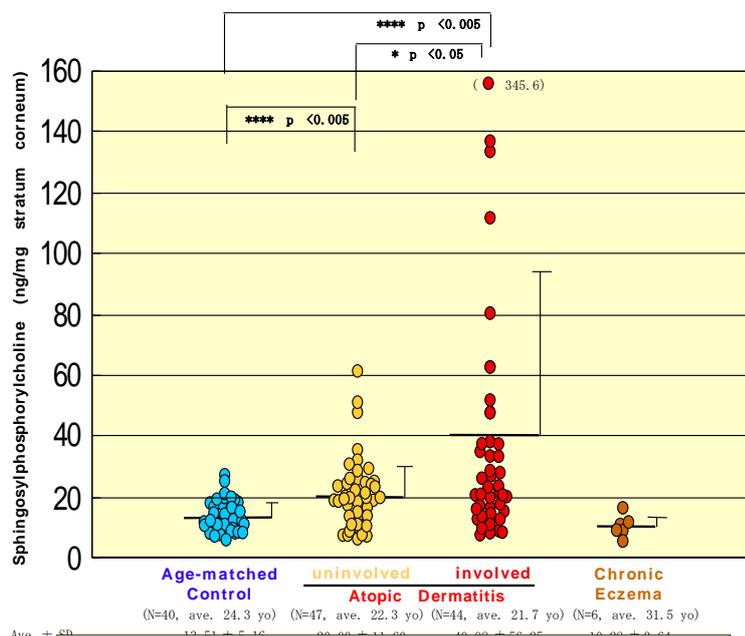
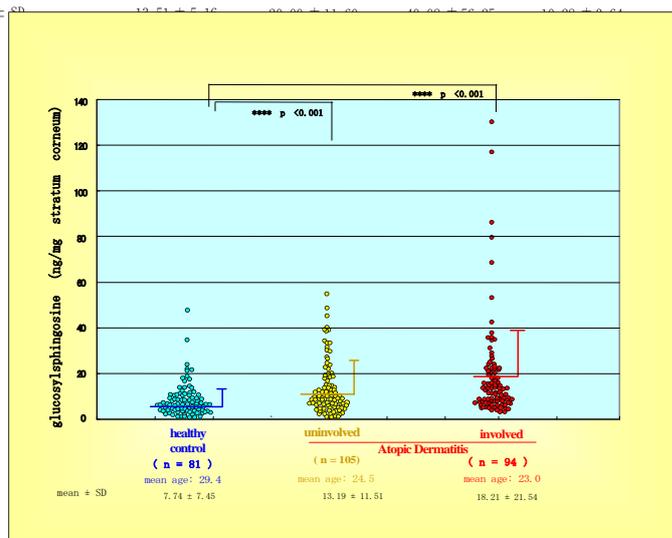


図-11：アトピー性皮膚炎患者前腕皮膚角層におけるグルコシルセラミドデアシラーゼ酵素反応により生成するグルコシルスフィンゴシンの蓄積



部および皮疹部皮膚で健常者皮膚に比べて有意に増加しており、他の皮膚炎である接触皮膚炎や慢性湿疹では増加していないこと、またこれらのデアシラーゼ活性により産生されたスフィンゴシルホスフォリルコリンおよびグルコシルスフィンゴシンの増加の程度は同じ角層部位でのセラミドの減少の程度と有意な相関関係を示すこと【図-12、13】【13-14】より、これらの酵素の

図-12：アトピー性皮膚炎患者前腕皮膚角層におけるスフィンゴシルフォスホリルコリン量とセラミド量の逆相関関係

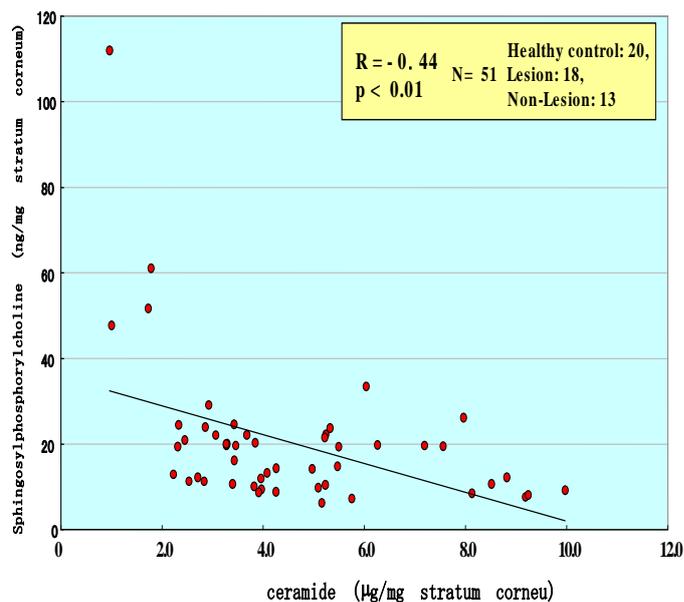
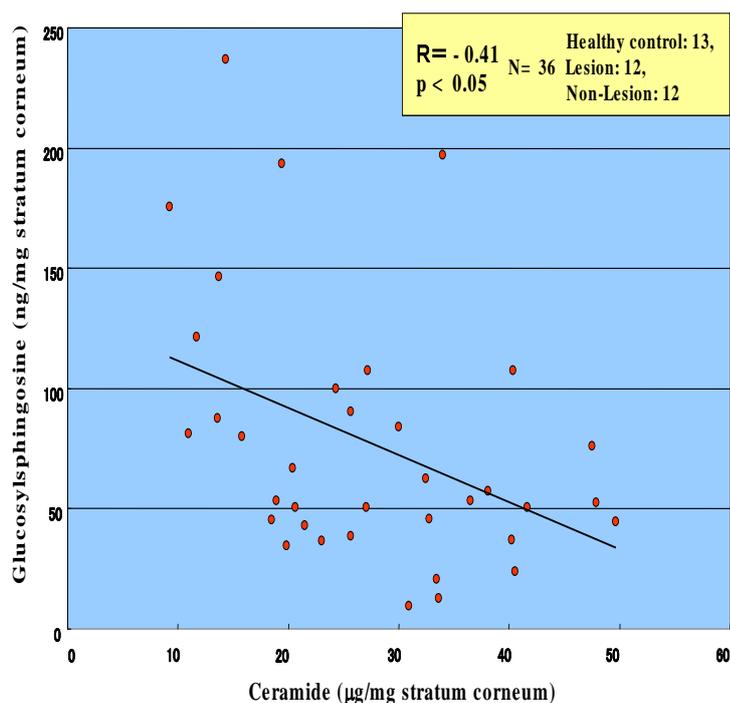


図-13：アトピー性皮膚炎患者前腕皮膚角層におけるグルコシルスフィンゴシン量とセラミド量の逆相関関係



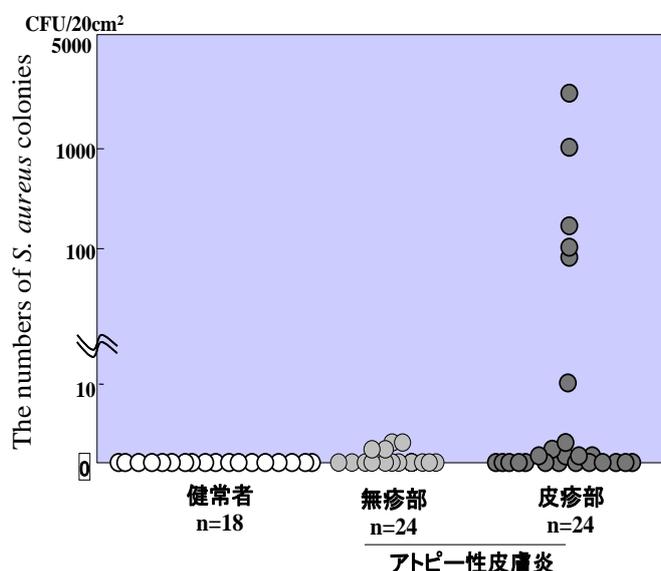
アトピー性皮膚炎患者皮膚表皮での特異的異常発現によりセラミドの減少が生じ、バリア機能が低下している可能性が確認された【図-10】。

#### 4. アトピー性皮膚炎での抗菌バリアー機能異常

アトピー性皮膚炎患者皮膚表面には黄色ブドウ球菌のコロナイゼーションが頻度高く認められ【図-14】、皮疹部ではほぼ100%、無疹部でも約30%の患者で認めら

れ、

図-14：アトピー性皮膚炎患者前腕皮膚においてコロナイズしている黄色ブドウ球菌の数



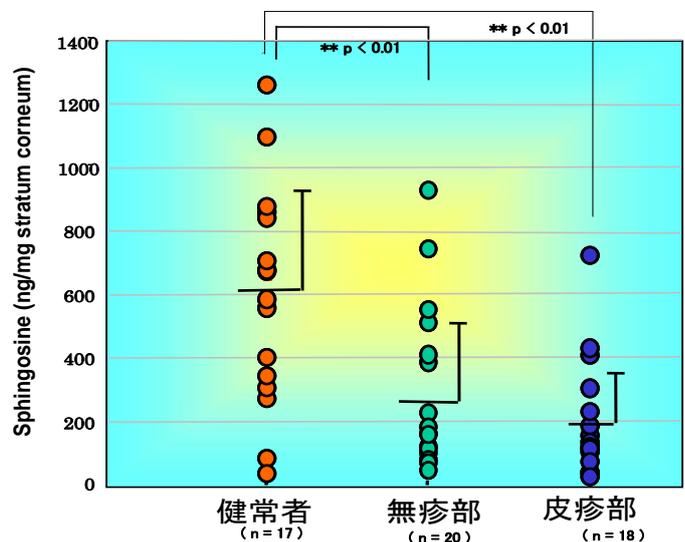
このコロナイゼーションは健常者で認められるのはまれである【16】。アトピー性皮膚炎患者皮膚で高頻度で認められる黄色ブドウ球菌のコロナイゼーションは、感染症であるトビヒの引き金になる可能性が高い。アトピー性皮膚炎患者皮膚で生じている抗菌バリアー機能の障害は、経皮吸収バリアー機能異常が菌などの角層への侵入を招きやすいことや、アトピー性皮膚炎患者皮膚は発汗異常があることから皮膚表面のpHが健常者に比べてアルカリ側に偏りやすく、このAcid Mantleの乱れが抗菌バリアーの異常に結びついているとの推測がなされていた。しかし経皮吸収バリアー異常を抗菌バリアー機能に結びつける説は少々無理があり、またpHのアルカリ側への傾斜も健常者で平均pH 5.0からアトピー性皮膚炎患者で平均pH 5.5程度の変化であり、この程度の変化で抗菌バリアー機能異常に至るとの説も十分な説得力を持ち得ないものであった。

#### 4-1. 角層細胞間脂質スフィンゴシンと抗菌バリアー機能

我々は健常角層に存在する抗菌脂質として知られる【17】であるスフィンゴシンがアトピー性皮膚炎患者皮膚角層では低下しているため、抗菌の最前線である角層の天然の抗菌活性が低下した結果、黄色ブドウ球菌のコロナイゼーションが生じやすくなる可能性を考え解析を行った(24)【16】。スフィンゴシンが黄色ブドウ球菌に強い抗菌活性を示すことは1986年にBibel DJらが報告【17-18】したが、その後スフィンゴシンがもつ抗菌活性に注目した研究はなされていなかった。アトピー性皮膚炎患者皮膚角層に存在するスフィンゴシン量を放射化ラベル法で放射化セラミドに変化し、それをRadio-TLCにて分離定量した結果、角層重量当たりのスフィンゴシン量

はアトピー性皮膚炎患者皮膚で健常者皮膚に比べて有意に無疹部および皮疹部で減少しており、その減少の程度は皮疹部で無疹部に比べより強い傾向がみとめられた【図-15】。この

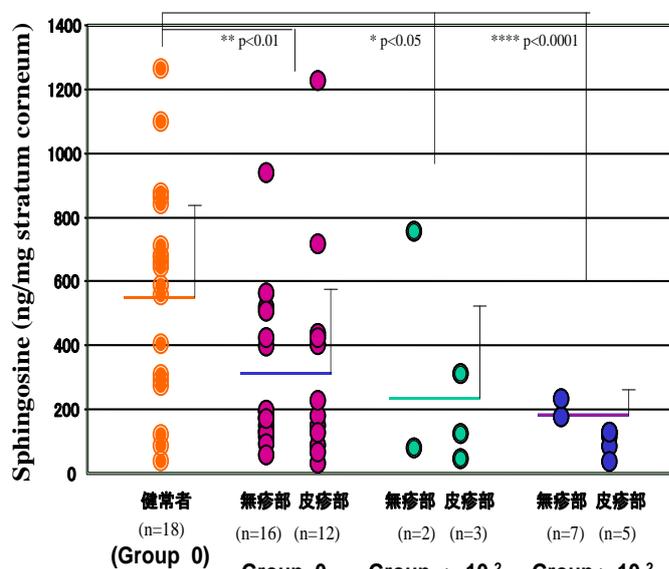
図-15：アトピー性皮膚炎患者前腕皮膚角層における角層重量当りのスフィンゴシン量の健常者皮膚との比較



アトピー性皮膚炎

スフィンゴシンの減少の程度と同じ皮膚部位における黄色ブドウ球菌のコロナイゼーションの程度を比較すると【図-16】、黄色ブドウ球菌のコロナイゼーションが

図-16：アトピー性皮膚炎患者前腕皮膚における黄色ブドウ球菌のコロナイゼーションの程度と同一皮膚部位角層におけるスフィンゴシン量の比較

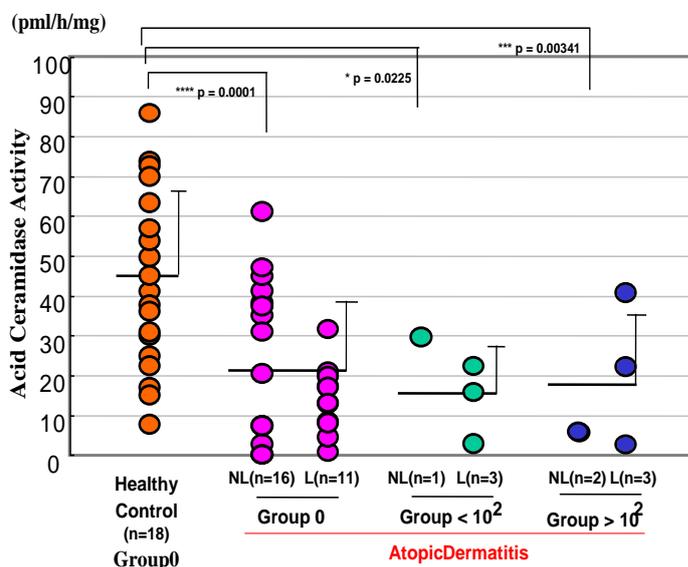


アトピー性皮膚炎

0、100 以下、および 100 以上のグループで、この順にスフィンゴシン量は健常者皮膚に比べ有意に減少していることが判明し、スフィンゴシン量の低下が黄色ブドウ球菌のコロナイゼーションの増加に関与している可能性が示唆された。またセラミドか

らスフィンゴシンを生成させる酵素である酸性セラミダーゼ活性も黄色ブドウ球菌のコロニー数の増加に伴って低下していた【図-17】。このスフィンゴシン量の低

図-17：アトピー性皮膚炎患者前腕皮膚における黄色ブドウ球菌のコロナイゼーションの程度と同一皮膚部位角層における酸性セラミダーゼ活性の比較



下の程度は同じ角層部位におけるセラミド量の低下の程度【図-18】およびセラミドの天然の分解酵素である酸性セラミダーゼ【19】活性の低下【図-19】と有意な相関を示すことから、アトピー性皮膚炎患者皮膚角層におけるスフィンゴシン量の低下は、経皮吸収バリアー機能異常の原因とされるセラミドの減少とセラミドをスフィンゴシンに分解する酸性セラミダーゼの活性の減少の両方の要因により生じていることが示唆された。

図-18：アトピー性皮膚炎患者前腕皮膚角層におけるスフィンゴシン量とセラミド量の正の相関

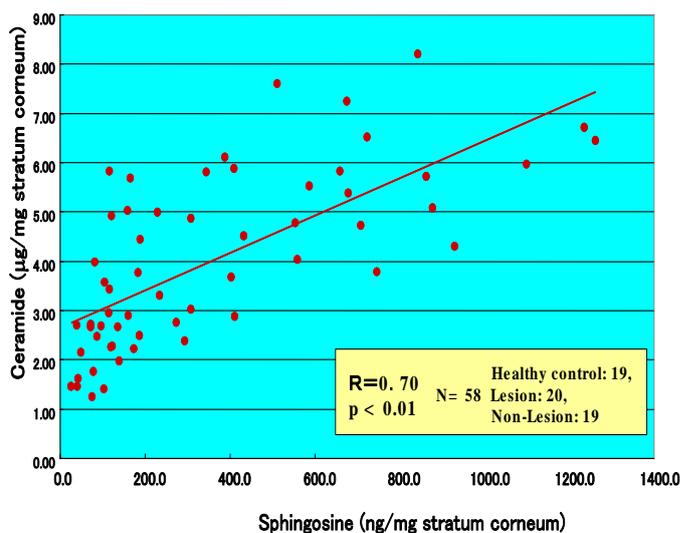
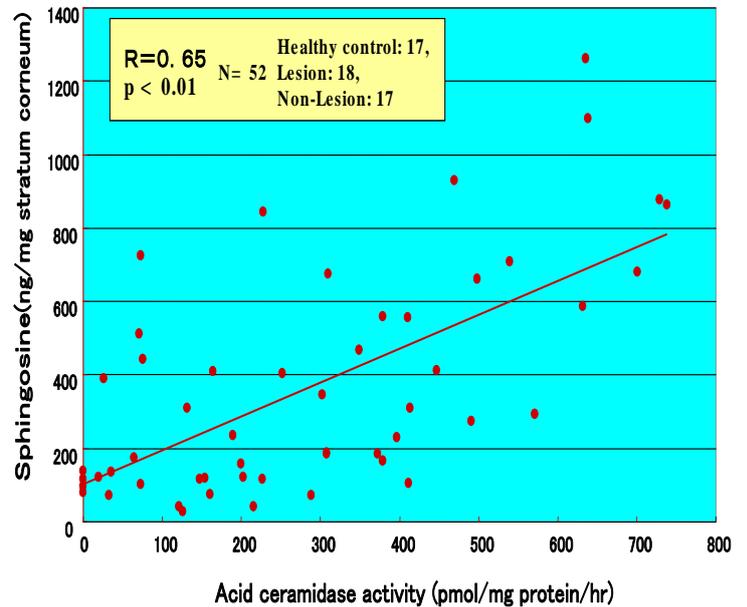


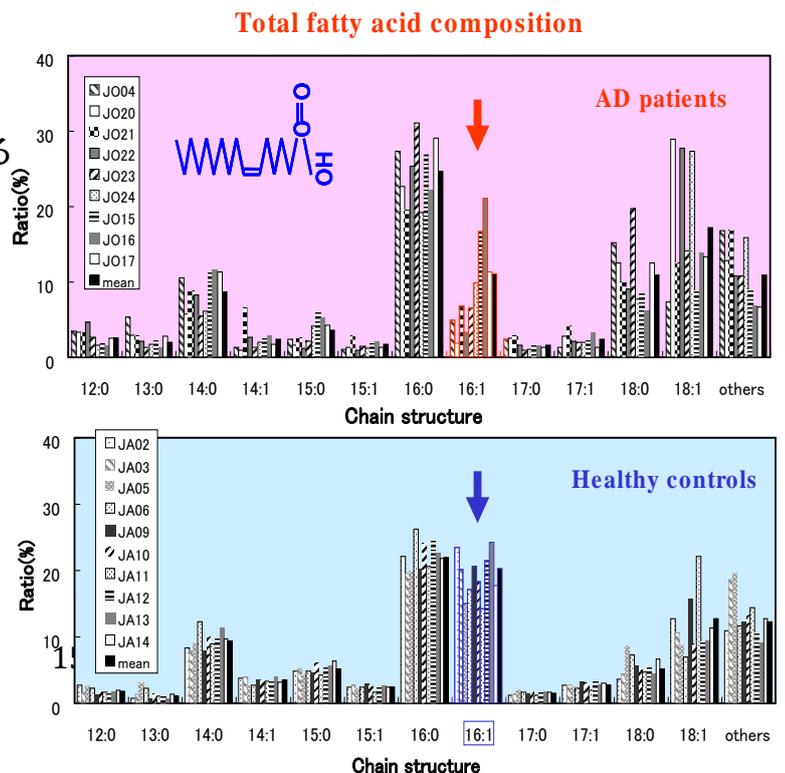
図-19：アトピー性皮膚炎患者前腕皮膚角層におけるスフィンゴシン量と酸性セラミダーゼ活性の正の相関



#### 4-2. 皮脂成分ヘキサデセノイック酸と抗菌バリアー機能

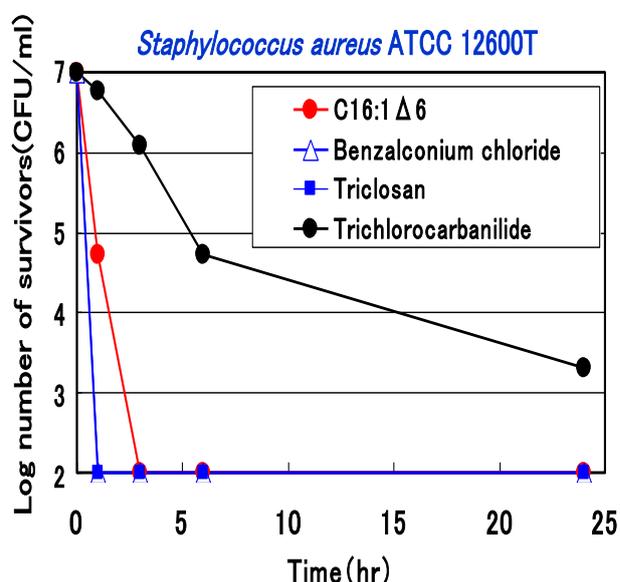
同様な抗菌脂質に関連して、以前より皮脂腺由来脂質成分も抗菌活性を示すことが報告されてきていたので、アトピー性皮膚炎患者皮膚表面の皮脂組成の健常者皮膚との比較を詳細に行ったところ、脂肪酸の一種である *cis*-6-hexadecenoic acid (C16:1Δ6) 量がアトピー性皮膚炎患者皮膚では健常者皮膚に比べ極端に減少していることが判明した【図-20】【20】。本脂肪酸は

図-20：アトピー性皮膚炎患者皮膚表面で採取した皮脂に含まれる全脂肪酸組成の健常者皮膚との比較



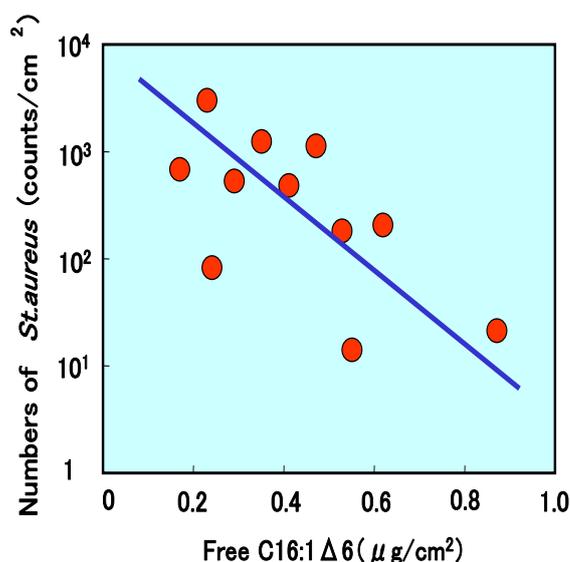
皮脂中のトリグリセライドやワックスエステルの構成脂肪酸中でもアトピー性皮膚炎患者で顕著な減少が示され、皮脂組成中の脂肪酸種そのものがアトピー性皮膚炎では変化していることを示した【20】。本脂肪酸は黄色ブドウ球菌に強い抗菌活性を示す【図-21】ことや、この減少の程度は同じ皮膚部位における

図-21：*cis*-6-hexadecenoic acidの黄色ブドウ球菌の増殖阻害作用



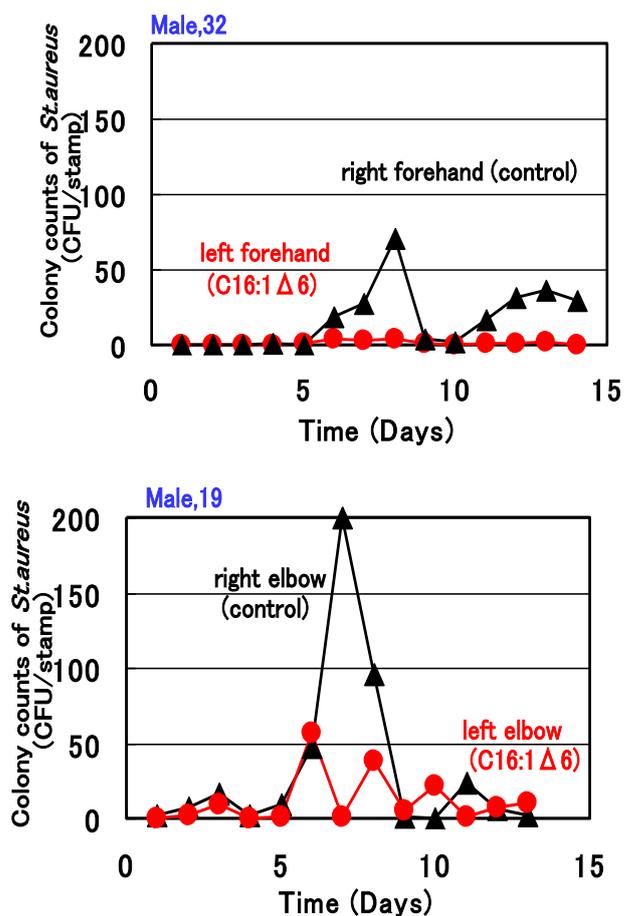
黄色ブドウ球菌のコロナイゼーションの程度と有意な相関を示す【図-22】ことから、この皮脂中に存在する*cis*-6-hexadecenoic acid 減少もアトピー性皮膚炎患者皮膚における黄色ブドウ球菌のコロナイゼーションに見られるごとき抗菌バリアー機能異常の要因として重要な役割を果たしていることが示唆さ

図-22：アトピー性皮膚炎患者前腕皮膚表面における遊離*cis*-6-hexadecenoic acid量と同一皮膚部位における黄色ブドウ球菌数との関係



れた。さらにこのことは*cis*-6-hexadecenoic acid を黄色ブドウ球菌のコロナイゼイションが生じているアトピー性皮膚炎患者皮膚に数日間塗布することにより、黄色ブドウ球菌のコロナイゼイションが減少または消失する【図-23】こと【20】からも、その重要な役割が裏付けられた。

図-23：アトピー性皮膚炎患者皮膚への*cis*-6-hexadecenoic acidの塗付による黄色ブドウ球菌数の変動



4-3. 抗菌ペプチド、ベーターデフェンシン-2と抗菌バリアー機能  
 一方、最近注目されている抗菌ペプチドであるデフェンシンやカセリシジン量に関しては、アトピー性皮膚炎患者皮膚中で乾癬患者皮膚に比べて減少してい

るとの報告【21】もあるが、健常者皮膚に比べると明確な減少は認められないことから、その黄色ブドウ球菌のコロナイゼーションに対する役割は不明であった。我々は正確にデフェンシン量を免疫沈降を利用して測定する方法を新たに開発し、抗菌バリアーの最前線である角層中のデフェンシン量を角層ケラチン量当たりで定量した結果、ベーターデフェンシン-2量はアトピー性皮膚炎患者皮膚角層では無疹部では有意ではないが増加傾向および皮疹部ではむしろ健常者皮膚に比べて有意な増加をみとめた【22】。またアトピー性皮膚炎患者皮膚に存在する黄色ブドウ球菌のコロナイゼーションの程度と同一皮膚角層中のデフェンシン量にはむしろ正の有意な相関が認められ、アトピー性皮膚炎の重症度が強くなるにしたがってデフェンシン量はむしろ増加を示したことより、抗菌ペプチドの抗菌バリアー機能への関与は弱く、むしろ炎症に伴って産生される抗炎症ペプチドの性質を持つことが示唆された。

#### 参考文献

1. Kondo H., Ichikawa Y., Imokawa G.: Percutaneous sensitization with mite antigens elicits Th2-dominant cytokine response in a cutaneous barrier-disrupted model. **Eur. J. Immunology** 28: 769-779, 1998.
2. 芋川玄爾：皮膚のバリア機能と皮膚での免疫応答。臨床免疫 35: No.6, 746-753, 2001
3. 芋川玄爾：アトピーおよび老人性乾燥皮膚に関与する酵素。酵素工学 33: 5-10, 1995.
4. Matsuki H, Kiyokane K, Matsuki T, Sato S, Imokawa G. Re-characterization of the non-lesional dry skin in atopic dermatitis through disrupted barrier function. **Exog Dermatol** 3: 282-292, 2004
5. Chilcott RP, Dalton CH, Emmanuel AJ, Allen CE, Bradley ST. 、 Transepidermal water loss does not correlate with skin barrier function in vitro. *J Invest Dermatol.* 118(5): 871-5. 2002
6. Hata M, Tokura Y, Takigawa M, Sato M, Shioya Y, Fujikura Y and Imokawa G: Assessment of epidermal barrier function by photoacoustic spectrometry in relation to its importance in the pathogenesis of atopic dermatitis. **Lab Inves** 82: 1451-1461, 2002
7. Imokawa G., Abe A., Jin K., Higaki Y., Kawashima M., Hidano A.: Decreased level of ceramides in stratum corneum of atopic dermatitis: An etiologic factor in atopic dry skin? **J. Invest. Dermatol.** 96: 523-526, 1991
8. 芋川玄爾：セラミド。新皮膚科学大系，第7巻 「角化異常性疾患」中山書店，2001： p 34-42
9. Takagi Y, Nakagawa H, Kondo H, Takema Y, Imokawa G: Decreased levels of covalently bound ceramide are associated with UVB-induced perturbation of the skin barrier. **J Invest Dermatol**, 123(6): 1102-1109, 2004

10. Jin K., Higaki Y., Takagi Y., Higuchi K., Yada Y., Kawashima M., Imokawa G.: Analysis of Beta-glucocerebrosidase and ceramidase activity in atopic and aged dry skin. **Acta. Derm-Venereol.** 74: 337-340, 1994.
11. Hara J., Higuchi K., Okamoto R., Kawashima M., Imokawa G.: High-expression of sphingomyelin deacylase is an important determinant of ceramide deficiency leading to barrier disruption in atopic dermatitis. **J Invest. Dermatol.** 115(3): 406-413, 2000
12. Higuchi K., Hara J., Okamoto R., Kawashima M., Imokawa G.: The skin of atopic dermatitis patients contains a novel enzyme, glucosylceramide sphingomyelin deacylase, which cleaves the N-acyl linkage of sphingomyelin and glucosylceramide. **Biochem. J.** 350: 747-756, 2000
13. Okamoto R, Arikawa J, Ishibashi M, Kawashima M, Takagi Y, Imokawa G: Sphingosylphosphorylcholine levels are significantly increased in the stratum corneum of patients with atopic dermatitis: Physiological and functional relevance of sphingomyelin deacylase to the ceramide deficiency. **J Lipid Res** 44: 93-102, 2003
14. Ishibashi M, Arikawa J, Okamoto R, Kawashima M, Takagi Y, Oguchi K and Imokawa G: The abnormal expression of the novel epidermal enzyme, glucosylceramide deacylase and the accumulation of its enzymatic reaction product, glucosylsphingosine in the skin of patients with atopic dermatitis. **Lab Invest** 88(3): 397-408, 2003
15. Imokawa G. **Lipid abnormalities in atopic dermatitis.** J Am Acad Dermatol 45: S29-32, 2001
16. Arikawa J, Ishibashi M, Kawashima M, Takagi Y, Ichikawa Y, Imokawa G: Decreased levels of sphingosine, a natural anti-microbial agent, may be associated with vulnerability of the stratum corneum from patients with atopic dermatitis to colonization by staphylococcus aureus. **J Invest. Dermatol** 119(2):433-439 2002
17. Bibel DJ, Raza A and Shinefield HR: Antimicrobial activity of sphingosines, *J Invest Dermatol*, 98: 269-268, 1992,
18. Bibel DJ, Aly R A, Shah S and Shinefield HR: Sphingosines: Antimicrobial barriers of the skin, *Acta Derm Venereol (Stockh)*, 73: 407-411, 1993
19. Yada Y., Higuchi K., Imokawa G.: Purification and biochemical characterization of membrane-bound epidermal ceramidase from guinea pig skin. **J. Biol. Chem.** 270: 12677-12684, 1995.
20. Hirofumi Takigawa, Hidemi Nakagawa , Michiya Kuzukawa, Hajime Mori, Genji Imokawa: Deficient production of hexadecenoic acid in the skin is associated in part with the vulnerability of atopic dermatitis patients to colonization by Staphylococcus aureus.. **Dermatology** 211(3):240-8. 2005
21. Ong PY, Ohtake T, Brandt C, Strickland I, Boguniewicz M, Ganz T, Gallo RL,

Leung DY. Endogenous antimicrobial peptides and skin infections in atopic dermatitis. *N Engl J Med.* 347:1151-60, 2002

22. Genji Imokawa, Seiko Asano, Yoshiaki Ichikawa, Tomoko Kumagai, Junko Arikawa, Mutumi Ishibashi, Makoto Kawashima: Anti-microbial peptide, beta-defensin-2 in the stratum corneum is not responsible for susceptibility to *S. aureus* colonization in atopic dermatitis. Society of Investigative Dermatology Meeting, Philadelphia, USA, May 3-6, 2006