

海外特別研究員最終報告書

独立行政法人 日本学術振興会 理事長 殿

採用年度 平成 30 年度

受付番号 201860612

氏名 澤田 雄守

(氏名は必ず自署すること)

海外特別研究員としての派遣期間を終了しましたので、下記のとおり報告いたします。

なお、下記及び別紙記載の内容については相違ありません。

記

1. 用務地 (派遣先国名) 用務地: サンディエゴ (国名: アメリカ合衆国)
2. 研究課題名 (和文) ※研究課題名は申請時のものと違わないように記載すること。
炎症性皮膚疾患におけるコアグラゼ陰性ブドウ球菌の役割についての検討
3. 派遣期間: 平成 30 年 7 月 1 日 ~ 令和 2 年 9 月 30 日
4. 受入機関名及び部局名
カリフォルニア大学サンディエゴ校 皮膚科
5. 所期の目的の遂行状況及び成果…書式任意 **書式任意 (A4 判相当 3 ページ以上、英語で記入也可)**
(研究・調査実施状況及びその成果の発表・関係学会への参加状況等)
(注) 「6. 研究発表」以降については様式 10-別紙 1~4 に記入の上、併せて提出すること。

研究実施状況

皮膚に存在する細菌は様々な皮膚疾患と密接に関連している。現在所属しているカリフォルニア大学サンディエゴ校皮膚科学教室では、その点にフォーカスを当て様々な研究が行われている。私は皮膚科医であり、常在菌がいかに皮膚疾患に関与しているか、またその新規治療法の開発に興味があり、その一つとしてアトピー性皮膚炎におけるブドウ球菌に対する治療法について検討を行っている。私が実施したプロジェクトは 2 つあり、炎症性皮膚疾患におけるブドウ球菌の役割を解明するため、①ブリーチ療法によるブドウ球菌に対する効果の検討、②皮膚細菌叢から産生される短鎖脂肪酸によるエピゲノム変化とそれに伴う炎症性皮膚疾患に対する影響、である。

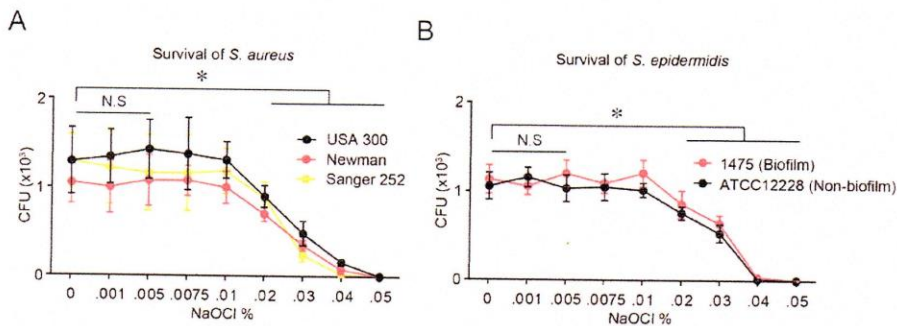
①ブリーチ療法によるブドウ球菌に対する効果の検討

アトピー性皮膚炎は代表的な炎症性皮膚疾患であり、皮膚に存在する細菌、特にブドウ球菌が病勢に寄与していることが知られている。したがって、臨床医はいかに皮膚のブドウ球菌を減らすことが出来るか、その治療法に非常に注目している。抗生物質は体内の細菌を減らすことに寄与するが、一方で耐性菌の出現などを生じるため、現実的な治療法として使用しにくい状況がある。ブリーチは古典的な抗菌物質であり、過去には第一次世界大戦における戦場にて、負傷した人を治療する目的としてブリーチが使用

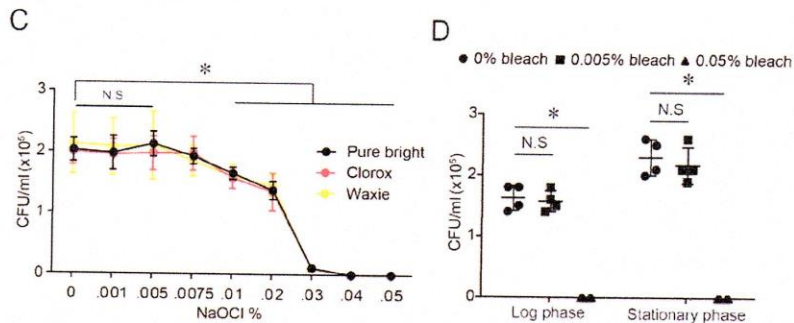
された歴史がある。また、先行研究では、0.005%のブリーチがブドウ球菌に対して走行していることが知られていることから、約10年前より、0.005%の濃度のブリーチで入浴するブリーチバスという治療法が米国を中心として一般的に使用されている。だが、実際の治療効果については現時点で一定の見解を得てないのが実情である。そこで我々は、ブリーチバスの実際の効果について検討を行った (Sawada Y, et al. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2019)。

ブドウ球菌は皮膚に存在していることから、それに模した状態で評価するため、寒天培地上に接種した後、ブリーチの効果を様々な濃度を用いて検討した。ブリーチバスの濃度である0.005%のブリーチではブドウ球菌 (*S. aureus* USA300) は死滅しなかった。他のブドウ球菌の菌種 (*S. aureus* Newman ならびに *S. aureus* Sanger252) も同様の結果を得た (Figure A)。したがって、ブリーチバスはブドウ球菌に対して殺菌作用がないのではないかと考えられた。これらは、先行研究から得られた知見とは想定外の結果であり、更に検討を進めることとした。

細菌が抗菌物質に対して抵抗性を示すものとして、バイオフィームが代表的なものである。したがって、バイオフィームを産生するもの (*S. epidermidis* 1457)、産生しないもの (*S. epidermidis* ATCC12228) でそれぞれブリーチバスの効果を検討した。しかし、0.005%ブリーチはバイオフィーム産生の有無にかかわらず抗菌作用を示さなかった (Figure B)。

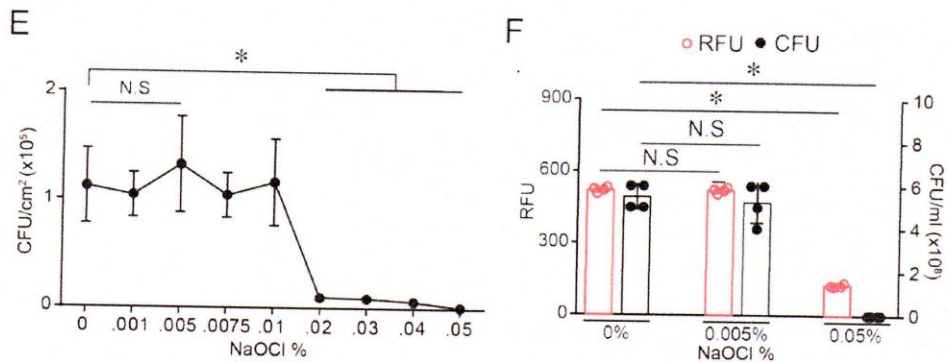


これらの結果が使用しているブリーチの種類の違いが影響している可能性は否定できないため、他のブリーチを用いて検討した。しかし、他の種類の0.005%ブリーチは殺菌作用を示さなかった (Figure C)。次に、細菌の成長期は抗菌物質に対して感受性を示すため、我々は、ブリーチバスは成長期のブドウ球菌に対して殺菌作用を示すのではないかと検討した。しかし、ブリーチバスは成長期ならびに安定期における抗菌作用を示さなかった (Figure D)。



皮膚は複雑な 3 次元構造を呈しているため、副次的にブリーチバスの殺菌効果が増強している可能性を検討した。ブドウ球菌を添加した pig skin をディッシュに載せ、実際にブリーチバスを模した形で加温したブリーチ溶液に浸し、細菌数の変化を検討したがブリーチバスの濃度では殺菌作用を示さなかった。以上より、ブリーチバスはブドウ球菌に対して殺菌作用を呈さないことが分かった (Figure E)。

最後に、ブリーチバスのブドウ球菌の病原機能に対する効果を検討した。agr system は毒素産生などの病原性を司っているため、そのシステムに影響を与えるのではないかと想定した。agr-YFP ラベルされたブドウ球菌を用いて、ブリーチバスの効果を検討したが、ブリーチバスの濃度は agr-YFP シグナルに変化を認めなかった (Figure F)。従って、laboratory examination ではブリーチバスはブドウ球菌に対して抗菌作用を示さないことが分かった。



以上の結果から、ブリーチバスはブドウ球菌に対して抗菌作用、および病原性に影響を与えないことが明らかとなった。したがって今後、アトピー性皮膚炎に対してのブリーチバスの導入に関しては慎重に検討した方が良いと考えられた。

②皮膚細菌叢から産生される短鎖脂肪酸によるエピゲノム変化に伴う炎症性皮膚疾患に対する影響

皮膚細菌叢から産生される短鎖脂肪酸が、皮膚ケラチノサイトに作用し HDAC8 ならびに HDAC9 の作用を阻害することから TLR を介した炎症性サイトカインの産生を促進する事が過去の研究から明らかとなっているが、その詳細なメカニズムは不明であった。この作用を明らかにするため、ケラチノサイトにおける HDAC8 ならびに HDAC9 の作用を阻害することにより、TLR2/6, TLR3, TLR7 に対する炎症反応が増強する事が分かった。皮膚特異的に HDAC8 ならびに HDAC9 をノックアウトしたマウスを作成し、各種皮膚炎モデルマウスを用いて、その炎症刺激に対する生体反応を現在検討している。

成果の発表

1. Sawada Y, Tong Y, Barangi M, Hata T, Williams MR, Nakatsuji T, Gallo RL. Dilute bleach baths used for treatment of atopic dermatitis are not antimicrobial in vitro. *J Allergy Clin Immunol.* 2019;143(5):1946-1948
2. Sawada Y, Nakatsuji T, Dokoshi T, Kulkarni N, Jones J, Sen GL, Liggins M,

Gallo RL. Tolerance Mechanisms in Innate Immunity: Keratinocytes limit sensitivity to TLR ligands by epigenetic regulation of MAP2K3. Annual meeting of Society for Investigative Dermatology 2020年5月

3. Sawada Y, Nakatsuji T, Dokoshi T, Kulkarni N, Jones J, Sen GL, Liggins M, Gallo RL. Epigenetic control of skin inflammation. How environment controls your DNA. UC San Diego Dermatology Research Day 2020年6月

関係学会への参加状況

特になし。